



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA

Dottorato di ricerca in Biologia vegetale

Ciclo XXIV

POPULATION VIABILITY ANALYSIS DI
CENTAUREA MONTIS-BORLAE SOLDANO
(*ASTERACEAE*)

Coordinatore:

Chiar.mo Prof. Marcello Tomaselli

Tutore: Chiar.mo Prof. Marcello Tomaselli

Co-Tutore: Chiar.mo Prof. Gianni Bedini

Dottorando: Riccardo Vaira

RIASSUNTO

Nella presente tesi di dottorato, utilizzando la Population Viability Analysis (PVA), sono state studiate le dinamiche di popolazione della *Centaurea montis-borlae* Soldano (*Asteraceae*), specie stenoendemica delle Alpi Apuane dove è localizzata soltanto in due popolazioni. Il modello di PVA utilizzato è stato quello demografico strutturato in stadi di sviluppo che si avvale di matrici di transizione. Le simulazioni ottenute sono per la maggior parte deterministiche, ma per una popolazione, si è riusciti anche a condurre simulazioni stocastiche, più rispondenti alla variabilità esistente in natura. Si è cercato di capire le cause alle quali è dovuta la distribuzione ridotta e puntuale della specie. Per questo sono stati indagati la biologia riproduttiva, l'Area Occupata, i meccanismi di impollinazione e di dispersione e gli elementi chimici contenuti in campioni di piante, rocce e suoli. È stata condotta anche un'analisi di sensitività per stabilire quale stadio di accrescimento sia più sensibile ad un eventuale intervento di gestione teso alla conservazione della specie. Infine sono state impostate linee gestionali per preservare questo prezioso endemismo, simbolo della diversità biologica che caratterizza il territorio apuano. L'Area Occupata dalla specie è risultata di poco superiore ai 17 ettari. Le prove di germinazione *in situ* ed *ex situ* dimostrano che la percentuale di germinazione in natura è molto bassa, inoltre non esiste una riserva di seme nel suolo. Le analisi chimiche non hanno chiarito se la diffusione ridotta della specie sia dovuta anche a fattori edafici. La ridotta capacità di germinazione che si traduce in un basso numero di plantule, l'elevata riproduzione clonale, congiuntamente alla bassa fertilità dei capolini e alla ridotta capacità di dispersione determinano una diffusione puntuale e circoscritta. Le matrici di transizione mostrano che entrambe le popolazioni stanno declinando e la popolazione dello Spigolo Est del M.Sagro ha un tasso di declino molto elevato. L'analisi di sensitività indica che lo stadio di sviluppo più sensibile è quello degli individui vegetativi. Si consiglia l'eradicazione delle capre inselvatichite come misura di conservazione primaria.

SOMMARIO

1. INTRODUZIONE	6
1.1 Definizioni	6
1.2 Storia della PVA	6
1.3 Tipologie di PVA	10
1.4 PVA nelle piante	13
2. AREA DI STUDIO	14
2.1 Limiti territoriali	14
2.2 Aspetti geologici e climatici	15
2.3 Aspetti floristici	18
2.4 Aspetti vegetazionali	20
2.5 Aspetti gestionali e protezionistici	22
3. SPECIE OGGETTO DI STUDIO	25
3.1 Inquadramento sistematico	25
3.2 Ecologia	27
4. SCOPI E LIMITI DELLA RICERCA	29
5. MATERIALI E METODI	31
5.1 Perimetrazione e calcolo Area Occupata	31
5.2 Raccolta capolini, conteggio e misurazione cipsele	31
5.3 Prove di germinazione <i>in situ</i> ed <i>ex situ</i>	32
5.4 Installazione poligoni di monitoraggio	37
5.5 Marcatura e misurazione individui	38
5.6 Monitoraggio e misurazione plantule <i>in situ</i> ed <i>ex situ</i>	42
5.7 Fattori di rischio e danni	42
5.8 Rilevamenti densità di popolazione	43
5.9 Analisi chimiche	45
5.10 Indagini sui meccanismi di impollinazione	49
5.11 Indagini sui meccanismi di dispersione	50
5.12 Suddivisione in classi di accrescimento e calcolo matrici di transizione	53
5.13 Modelli matematici PVA	56
5.14 Sensitività ed Elasticità stocastiche	63
5.15 Simulazioni di gestione	63
5.16 Raccolta campioni ed analisi DNA	64
6. RISULTATI	67
6.1 Area Occupata	67
6.2 Dati relativi ai capolini raccolti	68
6.3 Prove di germinazione <i>in situ</i> ed <i>ex situ</i>	70
6.4 Monitoraggio e misurazione plantule <i>in situ</i> ed <i>ex situ</i>	73
6.5 Struttura di popolazione	76
6.6 Fattori di rischio e danni	76
6.7 Analisi chimiche	78
6.8 Meccanismi di impollinazione	80

6.9 Meccanismi di dispersione	81
6.10 Densità di popolazione	85
6.11 Modelli matematici PVA	87
6.12 Sensitività ed Elasticità Stocastiche	102
6.13 Simulazioni di gestione	102
6.14 Analisi DNA	104
7. DISCUSSIONE	105
7.1 Area Occupata	105
7.2 Dati relativi ai capolini raccolti	105
7.3 Prove di germinazione <i>in situ</i> ed <i>ex situ</i>	106
7.4 Monitoraggio e misurazione plantule <i>in situ</i> ed <i>ex situ</i>	106
7.5 Struttura di popolazione	107
7.6 Fattori di rischio e danni	107
7.7 Analisi chimiche	108
7.8 Meccanismi di impollinazione	109
7.9 Meccanismi di dispersione	109
7.10 Densità di popolazione	111
7.11 Modelli matematici PVA	112
7.12 Simulazioni di gestione	115
7.13 Analisi DNA	117
8. CONCLUSIONI	118
9. RINGRAZIAMENTI	119
10. BIBLIOGRAFIA	120

*“Chi sente soltanto il profumo di un fiore, non lo conosce, e nemmeno
non lo conosce chi lo coglie solo per farne materia di studio”*
Friedrich Hölderlin (Hyperion - 1799)

1. INTRODUZIONE

1.1 Definizioni

Una **popolazione** è un gruppo di individui conspecifici che siano demograficamente, geneticamente, o spazialmente disgiunti da altri gruppi o individui (Wells & Richmond, 1995).

Una **metapopolazione** è un insieme di popolazioni disgiunte spazialmente, discrete, largamente (ma non interamente) indipendenti, le cui dinamiche sono guidate da estinzioni locali e ricolonizzazioni attraverso dispersione o colonizzazione dalle altre popolazioni (Hanski, 1999).

L'analisi di vitalità di popolazione (in inglese Population Viability Analysis, da cui l'acronimo PVA usato in seguito) è un processo di identificazione dei requisiti di vitalità di una specie e delle minacce cui essa è soggetta al fine di valutare la probabilità che le popolazioni (o la popolazione) studiate persisteranno in un dato periodo di tempo nel futuro.

La PVA è spesso orientata nella direzione della gestione di specie rare e minacciate con due obiettivi espliciti:

- 1) a breve termine minimizzare il rischio di estinzione
- 2) a lungo termine promuovere condizioni nelle quali le specie conservino il loro potenziale per un cambiamento evolutivo (Akçakaya & Sjögren-Gulve, 2000)

I dati reali sulla storia naturale delle popolazioni sono usati per fare delle proiezioni future sulla loro dinamica mediante simulazioni eseguite con appositi software che consentono di variare i parametri demografici ed ambientali per ottenere diversi scenari popolazionistici (Primack & Carotenuto, 2003).

1.2 Storia della PVA

La PVA si è sviluppata negli Stati Uniti nella seconda metà degli anni '70 ed è stata generata da una controversia sull'orso Grizzly (*Ursus arctos horribilis*) nel parco di Yellowstone. La

direzione del parco infatti aveva chiuso l'accesso alle discariche agli orsi e un modello matematico sviluppato al computer da John e Frank Craighead mostrava che il conseguente aumento della mortalità stava conducendo la popolazione degli orsi verso l'estinzione. Dale McCullough sviluppò un modello alternativo che portava a differenti predizioni sul destino dell'orso grizzly; ambedue questi modelli erano deterministici (Beissinger & McCullough, 2002). Un modello per l'orso grizzly che includeva il concetto di stocasticità sia ambientale¹ che demografica² fu concepito da Mark Shaffer nel 1978 nella dissertazione della sua tesi di dottorato alla Duke University. L'approccio di Shaffer rappresentò una nuova direzione nell'uso di modelli per la conservazione, perché egli sviluppò una simulazione stocastica della popolazione che incorporava la possibilità di alcuni eventi, nello specifico ambientali e demografici, e produceva probabilità di estinzione. Il suo modello stimava anche un numero al di sotto del quale la, o le popolazioni studiate, non erano più vitali: il Minimum Viable Population size o MVP (Shaffer, 1981). Il metodo di Shaffer permette di trovare le dimensioni della più piccola popolazione che abbia almeno il 95% di possibilità di rimanere vitale dopo un periodo simulato di 100 anni.

Il concetto di MVP convinse molti autori soprattutto H. Salwasser e F. Samson dello United States Forest Service: essi infatti negli anni successivi cercarono diversi metodi per stimare l'MVP e incoraggiarono l'U.S.F.S. ad incorporare l'approccio della PVA nella pianificazione forestale (Beissinger & McCullough, 2002). Negli anni '80 si pose l'attenzione sugli aspetti genetici per valutare la vitalità delle popolazioni. Gli effetti a breve e a lungo termine dell'inbreeding e della deriva genetica sono stati collocati in un quadro che ha dimostrato i loro impatti erosivi sulla diversità genetica. Molte equazioni demografiche sono state adattate e riparametrate per rivalutare gli aspetti genetici a discapito della demografia perché in quegli

¹ dovuta alla variazione temporale dei parametri dell'habitat, delle popolazioni di competitori, predatori, parassiti e malattie

² deriva da eventi casuali nella sopravvivenza e nel successo riproduttivo di un numero finito di soggetti

anni la potenza e la praticità dei calcolatori a schede perforate non permetteva di sviluppare applicazioni del Metodo Monte Carlo³ di facile utilizzo, necessarie per produrre MVP basati su simulazioni stocastiche, anzi queste erano difficili e richiedevano parecchio tempo. Le applicazioni della PVA crebbero rapidamente alla fine degli anni '80 e nei primi anni '90; questo incremento fu dovuto principalmente a due fattori: 1) i giardini zoologici impiegavano i concetti della vitalità come aiuto alla gestione di piccole popolazioni in cattività per minimizzare la perdita di variabilità genetica; 2) le PVA demografiche si svilupparono rapidamente di pari passo con lo sviluppo di svariati pacchetti software come VORTEX, RAMAS e ALEX, che resero le simulazioni popolazionistiche con il Metodo Monte Carlo relativamente facili da eseguire (Boyce, 1992; Lindenmayer *et al.*, 1995). I modelli da molto semplici e riferiti a singole popolazioni, divennero più complessi e riferiti a metapopolazioni. Con l'affermazione delle tecnologie GIS i biologi della conservazione hanno avuto a disposizione gli strumenti per costruire mappe degli habitat relativamente dettagliate e sviluppare così dei modelli molto articolati. In questo quadro dinamico, che vedeva un continuo proliferare di modelli, anche gli obiettivi della PVA cominciarono a cambiare e ad evolversi: non si ricercava più il semplice MVP⁴, ma si analizzavano le varie proiezioni che il modello poteva generare, variando i parametri, e usando l'analisi dell'Elasticità e della Sensitività per impostare dei meccanismi gestionali in grado di ridurre i rischi di estinzione (Maschinski *et al.*, 1997; Beissinger & Westphal, 1998; Akçakaya & Sjögren-Gulve, 2000; Morris *et al.*, 2002).

Morris & Doak (2002) elencano otto possibili usi della PVA:

1. Valutare il rischio di estinzione di una singola popolazione
2. Comparare i rischi relativi di due o più popolazioni
3. Analizzare e sintetizzare i dati di monitoraggio

³ il MCM è un metodo statistico non parametrico usato per trarre stime attraverso simulazioni

⁴ il concetto di MVP è stato recentemente criticato da alcuni autori (Flather *et al.*, 2011)

4. Identificare gli stadi vitali o i processi demografici chiave come obiettivi di gestione
5. Determinare quanto grande deve essere una riserva per ottenere il livello di protezione dall'estinzione desiderato
6. Determinare quanti individui reintrodurre per ottenere una nuova popolazione
7. Impostare limiti alla raccolta o al prelievo da una popolazione che siano compatibili con la sua esistenza futura
8. Determinare quante (e quali) popolazioni sono necessarie per ottenere la probabilità desiderata di persistenza della specie

Da questo elenco si evince che i possibili usi della PVA possono essere distinti in 2 gruppi principali: dal n. 1 al n. 3 afferiscono al gruppo “valutativo” in cui il fine è semplicemente di chiedersi qual è la tendenza della popolazione e cioè se è stabile, in crescita o in diminuzione. Gli usi dal n. 4 al n. 8 invece afferiscono al gruppo “gestionale” in cui il fine è determinare quali interventi ridurranno le probabilità di estinzione della popolazione.

L'Unione Internazionale per la Conservazione della Natura (IUCN) ha inserito sin dal 1994 le analisi quantitative tra i criteri compilativi delle Liste Rosse per valutare lo *status* di minaccia di un *taxon* animale o vegetale (Criterio E) (IUCN, 1994; IUCN 2001); inoltre nelle Linee Guida per la compilazione delle Liste Rosse la PVA viene ritenuta l'analisi quantitativa più attendibile per quanto riguarda il Criterio E (Mace *et al.*, 2008; IUCN, 2011).

Attualmente alcuni autori propongono un collegamento diretto tra i modelli di controllo e gestionali con i modelli di popolazione in modo da ampliare la tradizionale PVA in uno strumento in grado di guidare decisioni dettagliate, rendendo la gestione adattiva più rigorosa ed efficace. Questo strumento di conservazione viene chiamato: “Population Viability Management” o PVM (Bakker & Doak, 2009).

1.3 Tipologie di PVA

Varie tipologie di modelli matematici permettono di realizzare una PVA, in questo paragrafo verrà fatta una panoramica sui principali tipi di modelli mettendone in luce vantaggi e svantaggi.

I più semplici sono i **modelli non strutturati** che descrivono cambiamenti in tutta la popolazione o, in alcuni casi, in frazioni importanti come ad esempio in tutti gli individui femminili. Questi tipi di modelli non tengono conto delle differenze nella mortalità o riproduzione tra gli individui della popolazione e sono spesso basati su dati che consistono in una serie temporale di conteggi degli individui, vengono per questo anche definiti “count-based PVAs” (Morris & Doak, 2002; Bringham & Schwartz, 2003). All’interno dei modelli non strutturati bisogna ricordare il metodo della Approssimazione diffusiva (Diffusion Approximation) sviluppato da Dennis *et al.* (1991). Questa tecnica usa una serie temporale di censimenti della popolazione per stimare la media e la varianza del tasso stocastico di crescita. I vantaggi principali di questi modelli sono che richiedono dati facili da raccogliere, di solito con cadenza annuale. Lo svantaggio è che con il metodo della Approssimazione diffusiva per uno studio che produca buone stime sulle probabilità di persistenza di una popolazione occorrono almeno 10 anni di censimenti.

I **modelli strutturati** sono più complessi e tengono conto delle differenze nei tassi di mortalità e riproduzione tra gli individui di differenti età, taglia o stadi di sviluppo. Gli individui possono essere divisi infatti per età e i dati raccolti vengono assommati in forma di matrici di Leslie che prendono il nome dallo sviluppatore di questo tipo di matrici (Leslie, 1945). Non è sempre possibile però conoscere l’età esatta degli individui, anzi in molti casi come ad esempio nella maggior parte delle piante, è praticamente impossibile. In questi casi, gli individui vengono divisi per taglia o stadi di sviluppo (ad esempio: plantule, vegetativi e riproduttivi nelle piante) e, nell’impostazione del modello, si usano delle matrici differenti

chiamate matrici di Lefkovitch dal nome del loro sviluppatore (Lefkovitch, 1965). I modelli strutturati per età o per stadi sono i più comunemente usati per ottenere una PVA; con i dati raccolti la popolazione viene divisa in classi di età (taglia, o stadi di accrescimento) che differiscono tra loro per i loro tassi vitali (sopravvivenza e fecondità). I tassi vitali vengono usati per calcolare le probabilità di transizione da una classe all'altra, una volta inseriti nella matrice più appropriata, descrivendo come il numero di individui in ogni classe cambi da un anno al successivo. Gli strumenti dell'algebra lineare permettono quindi di generare un campo di predizioni sulla crescita e struttura della popolazione (Caswell, 2001). Modelli basati sulle matrici sono utili non solo perché incorporano dettagli sulla biologia degli individui che spesso hanno importanti implicazioni sulla vitalità, ma perché generano un più largo campo di predizioni, più di quanto non facciano modelli non strutturati. I più semplici modelli a matrici partono da 2 assunzioni: 1) sono indipendenti dalla densità e 2) le dinamiche di popolazione, che possono condurre alla crescita esponenziale o al declino, sono deterministiche.

Essi predicono il tasso di crescita finito (deterministico) a lungo termine o λ e i valori riproduttivi degli individui nelle differenti classi. La cosa forse più importante è che le matrici permettono di valutare come i cambiamenti nei tassi vitali influenzano la crescita della popolazione attraverso l'analisi della Sensitività. Per questa ragione possono essere usati come ottimi strumenti per esplorare gli effetti di diverse strategie gestionali sulla vitalità della popolazione. Modelli più complessi sono quelli che incorporano anche la stocasticità, perché richiedono un insieme di dati demografici a lungo termine. In teoria è possibile costruire un modello deterministico basato su 2 anni di dati (1 transizione) ed uno stocastico con 3 o più anni di dati (2 o più transizioni); in pratica un modello stocastico basato su meno di 5-10 anni di dati è raramente giustificato (Morris *et al*, 1999). Alcuni autori hanno proposto strade alternative per migliorare i modelli stocastici, cioè cercare relazioni tra la variabilità dei tassi vitali e i “drivers ambientali”⁵ come il clima; questo approccio potrebbe migliorare

⁵ I drivers ambientali sono grandi categorie di fattori che influenzano direttamente la biodiversità

l'inserimento della stocasticità nelle PVA strutturate a stadi di accrescimento con set di dati demografici di corta durata (Fieberg & Ellner, 2001).

I modelli a matrici presuppongono però per la loro realizzazione una raccolta intensiva di dati molto dettagliati sulla struttura della popolazione: censimenti, effettuati ad intervalli regolari, di individui marcati per tracciare la loro mortalità e riproduzione; prove di germinazione per determinare la presenza o meno di una riserva di semi nel suolo e i tassi di germinazione. Bisogna porre anche molta attenzione alla suddivisione in classi, perché un'errata suddivisione si ripercuoterà sulle predizioni del modello; in generale la migliore suddivisione è quella che ricalca più da vicino il ciclo vitale naturale dell'organismo studiato.

I **modelli strutturati spazialmente** rappresentano una categoria di modelli estremamente complessa che necessita per la loro impostazione di una grande varietà di dati, non solo demografici, ma anche geografici e comportamentali: bisogna descrivere dettagliatamente le collocazioni dei differenti tipi di habitat ed inserirle in un database supportato da un programma GIS (Akçakaya, 2000; Lethbridge *et al.*, 2001; Reed *et al.*, 2002). L'analisi non è più riferita ad una popolazione ma si estende alla metapopolazione. I modelli metapopolazionali fanno predizioni sulla persistenza di un sistema di chiazze di habitat (habitat patches), di solito si misurano le aree delle chiazze, l'isolamento e l'occupazione per stimare i tassi di colonizzazione ed estinzione; questi modelli richiedono l'identificazione di habitat appropriati alla vita della specie studiata e la capacità di valutare se un habitat è occupato o no (Possingham & Davies, 1995). Alcuni vengono chiamati con l'acronimo inglese SEIB (spatially explicit, individually-based models), essi tracciano: posizione attuale di tutti gli individui, nascite, spostamenti, riproduzione e morte in una dettagliata tipologia di habitat, le PVA che si originano da questi modelli vengono chiamate "multi-site PVAs" (Dunning *et al.*, 1995; Morris & Doak, 2002). Un altro approccio, largamente usato, ai modelli metapopolazionali è quello dei modelli a funzione di incidenza (Incidence function

model, IFM) oppure a regressione logistica (Logistic Regression Model, LRM) (Hanski, 1999; Sjögren-Gulve & Hanski, 2000). Questo approccio usa i dati di presenza/assenza nelle chiazze di habitat e la distanza tra le chiazze per calcolare nel modello la probabilità che una data chiazza sarà occupata in un dato step temporale, un modello IFM richiede però parecchi anni di osservazioni. I **modelli a matrici strutturati spazialmente** costituiscono un'ulteriore passo avanti rispetto ai modelli IFM e LRM in quanto oltre all'occupazione delle chiazze, alla colonizzazione, alla migrazione e all'estinzione, comuni agli altri modelli, includono le dinamiche di popolazione all'interno delle chiazze di habitat (Brigham & Schwartz, 2003).

1.4 PVA nelle piante

L'uso dell'analisi di vitalità di popolazione per studiare organismi vegetali merita un cenno particolare perché, essendo la PVA nata per i vertebrati, è stata applicata inizialmente solo per questi ultimi. Nel 1990 venne pubblicata la prima valutazione di vitalità per una popolazione di piante a rischio di estinzione (Menges, 1990); da allora gli studi di PVA sulle piante sono cresciuti molto (Menges, 2000), ma quelli riguardanti i vertebrati sono ancora la maggior parte nonostante, almeno negli USA, le piante a rischio di estinzione siano una percentuale molto più alta dei vertebrati (Brigham & Schwartz, 2003). Tra animali e piante esistono grosse differenze nella loro biologia quindi anche gli studi delle loro popolazioni devono necessariamente seguire strade differenti. Nello studio degli animali il censo è basato su modelli di cattura-ricattura, osservazione a distanza, oppure di ascolto dei richiami. Le piante sono più semplici da marcare, ma pongono problemi differenti come ad esempio la presenza di una riserva permanente nel suolo, la riproduzione vegetativa, la dormienza di alcune specie per anni (Lesica & Steele, 1994), stadi vitali molto lunghi. La differenza principale però è che i vertebrati spesso vengono divisi in gruppi di età, le piante vengono sempre divise in stadi di accrescimento o taglia; i pacchetti software presenti in rete o sul mercato sono quasi tutti adatti solo per i vertebrati, pochi altri si adattano con difficoltà alle piante (Tews, 2004).

2. AREA DI STUDIO

2.1 Limiti territoriali

La regione apuana viene definita da alcuni autori (Ferrarini & Marchetti 1994; Ferrarini *et al.* 1997; Pichi Sermolli, 1999; Ferrarini, 2001) in senso piuttosto ampio, comprendendo oltre al gruppo montuoso, anche la pianura costiera e le zone planiziali d'oltre Serchio sino a Lucca; si può parlare in questo caso di “Regione Apuana *sensu lato*”.

Altri preferiscono indicare come regione apuana la sola porzione montuosa del territorio in oggetto, individuando come confini delle linee naturali che sono rappresentate a occidente dall'inizio della pianura costiera (linea pedemontana), a Nord dal corso dei fiumi Magra e Aulella, a Est e a Sud da quello del Serchio (Bechi, 1992). Questa può essere indicata come “Regione Apuana *sensu stricto*”, regione alla quale si riferisce il presente lavoro. (Fig. 1)

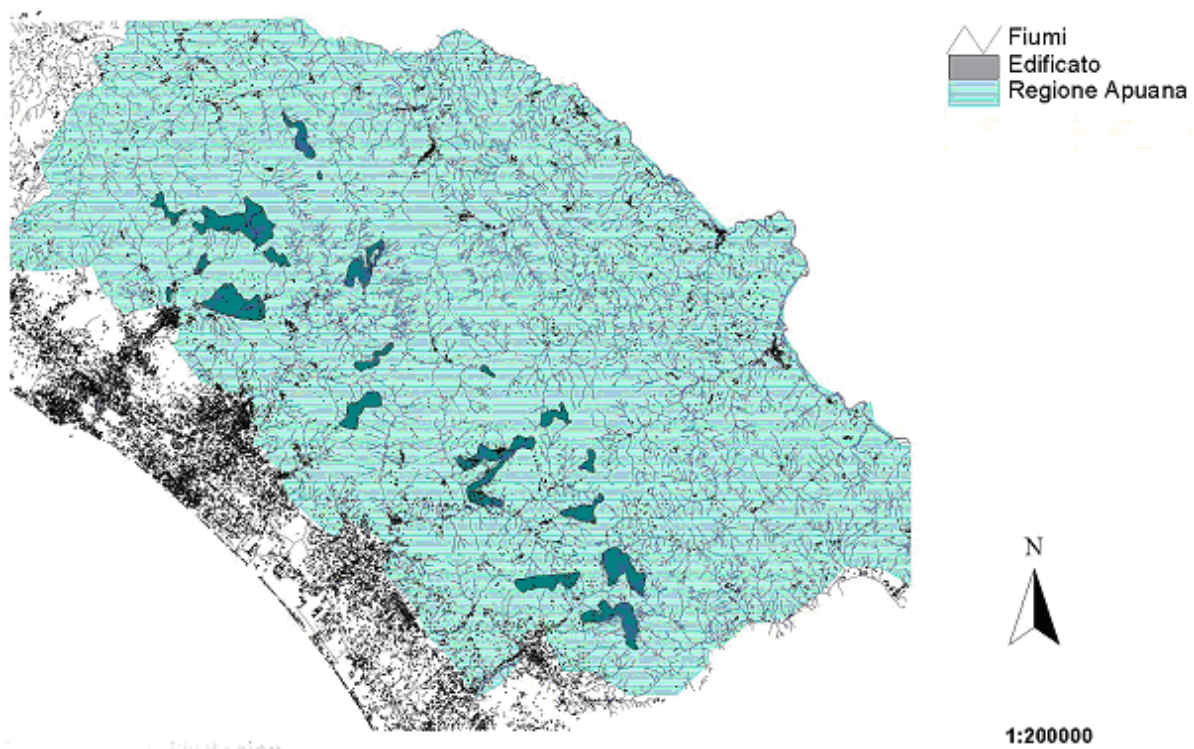


Fig. 1 – La regione apuana “*sensu stricto*”

La “Regione Apuana *sensu stricto*” ha una lunghezza di circa 50 km tra Aulla e il Serchio, mentre la larghezza è di circa 23 km tra il Serchio e il limite interno della pianura costiera. L'estensione totale è di 744,55 Km², pari a circa 1/400 della superficie dell'Italia.

All'isolamento geografico va ad aggiungersi quello ecologico: la diversa composizione litologica - prevalentemente calcarea - a cui consegue una particolare geomorfologia, rispetto alle zone limitrofe, conferisce a queste montagne quel carattere di “insularità” che secondo la definizione di Stebbins (1942) si può applicare a molti tipi di ambienti radicalmente differenti da quelli circostanti (Bechi, 1992).

2.2 Aspetti geologici e climatici

Le Alpi Apuane costituiscono una finestra tettonica dove la sequenza metamorfica toscana, l'unità più profonda conosciuta dell'Appennino settentrionale, affiora attraverso la sequenza toscana non metamorfica. Alla sequenza toscana non metamorfica è sovrapposto un complesso di rocce appartenenti alle serie liguri, totalmente diverse dalle precedenti, che affiorano in maniera discontinua nell'area apuana. In questi complessi sono presenti anche rocce ignee ma le rocce sedimentarie e metasedimentarie di ambiente marino sono dominanti per massa ed estensione (Giannini, 1970).

Per quanto riguarda la composizione litologica al centro della catena delle Alpi Apuane sono dominanti i substrati rocciosi di natura calcarea (calcari, marmi, dolomie), attornati da substrati di natura silicea (“Verrucano”, porfiroidi, arenarie, diaspri) (Carmignani *et al.*, 2001). La colonna litostratigrafica è mostrata in Fig. 2.

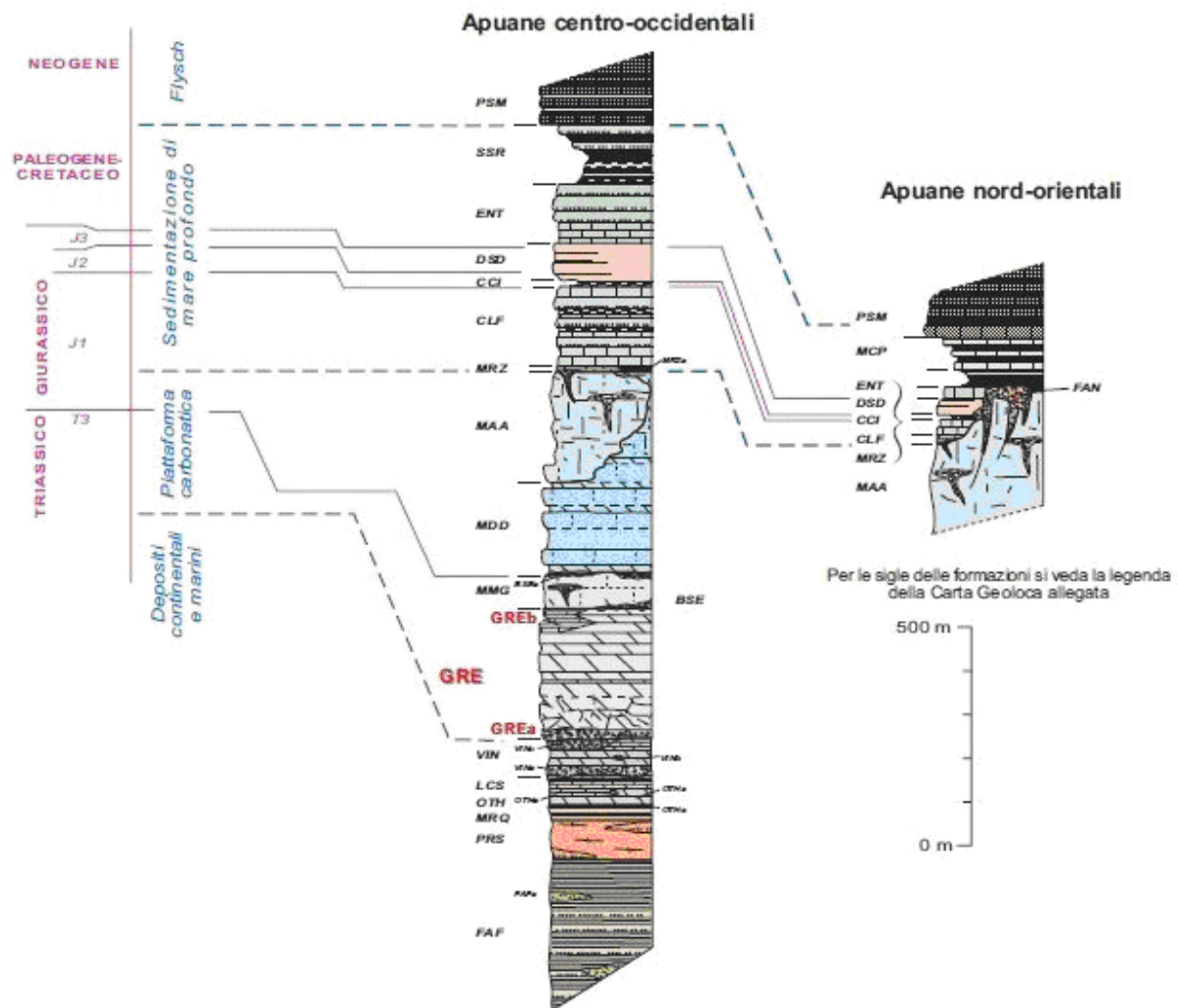


Fig. 2 – Colonna litostratigrafica dell'Unità delle Apuane da (www.marmiapuane.info)

La storia geologica della catena comprende almeno tre stadi. Un primo stadio dal Triassico al Cretaceo inferiore, durante il quale si sono identificati i principali domini paleogeografici e si è determinata l'apertura di un'area oceanica (bacino ligure-piemontese) in cui il regime tettonico è stato di tipo prevalentemente distensivo. Un secondo stadio, dal Cretaceo superiore all'Eocene superiore- Oligocene inferiore, durante il quale si è avuta la chiusura del bacino oceanico e la formazione della catena alpina in un regime tettonico di tipo compressivo. Un terzo stadio mediterraneo, dall'Oligocene superiore fino ad oggi, responsabile della costruzione della catena Appenninica e Maghrebide, e della contemporanea formazione dei bacini mediterranei (Boccaletti *et al.*, 1990).

La vicinanza della costa influisce in modo determinante sul clima e sulla morfologia della catena: i venti carichi di umidità che provengono dal mare incontrando l'improvvisa elevazione delle Apuane, sono costretti a salire e il conseguente raffreddamento dà luogo ad abbondanti precipitazioni, che si rovesciano sulle montagne in quantità che oscillano tra i 1500 mm/anno del versante tirrenico e gli oltre 3000 di alcune località del versante settentrionale (la punta massima, 3100 mm/anno, è stata registrata nella conca di Orto di Donna, al piede del M. Contrario). Anche la violenza dei venti marini ha contribuito a erodere più profondamente il versante Sud-Ovest, i cui dislivelli e pendenze sono quasi sempre assai più forti di quelli del versante Nord-Est. L'insieme di tutte queste caratteristiche ha come risultato una netta diversità climatica tra i due versanti della montagna. La catena funge infatti da barriera sia contro i venti freddi e secchi che giungono da Nord (mitigando così il clima del versante sud- occidentale), sia contro i venti più caldi e umidi che arrivano dal mare, la cui violenza si attenua sul versante Nord-Est. La parte della catena esposta a Sud-Ovest presenta dunque un clima mite, con estati fresche e inverni non troppo rigidi e risente dell'influsso del mare (temperatura media annua 15°C), mentre quella esposta a Nord-Est ha un clima con inverni freddi ed estati relativamente brevi. L'articolazione del rilievo tuttavia è tale che si riscontra una considerevole varietà di microclimi. Versanti assolati e battuti dal vento si alternano a forre umide e freddi fondovalle, spianate luminose e protette dal vento a boschi folti e ombreggiati. È frequente in primavera inoltrata e anche in estate, quando i pendii a mare sono già caldi e assolati, incontrare sul versante opposto nevai residui; non a caso si incontrano toponimi come Canale della Neve, Buca della Neve, Cantoni di Neve Vecchia (Ansaldi *et al.*, 1994).

2.3 Aspetti floristici⁶

Per le loro molteplici peculiarità le Apuane esercitarono ed esercitano tuttora un'attrattiva molto forte verso i naturalisti, in gran parte botanici ma anche zoologi e geologi, che sin dai tempi più remoti furono tra i primi a spingersi in queste impervie montagne in cerca di specie nuove da far conoscere. Fra loro ricordiamo Luca Ghini e Luigi Anguillara che vi si recarono nel 1544, in seguito Andrea Cesalpino, Ulisse Aldrovandi e Paolo Boccone. In tempi più recenti le Apuane furono meta di Antonio Bertoloni e del figlio Giuseppe, di Emilio Simi e di Pietro Pellegrini (Pichi Sermolli, 1999); questi ultimi furono autori di opere magistrali sulla flora apuana che sono servite come basi per tutte le successive ricerche floristiche nella zona. È opportuno ricordare la “*Flora della Provincia di Apuania*” del medico massese Pietro Pellegrini, edita nel 1942, che contiene informazioni molto utili tra le quali tutte le località di ritrovamento delle singole piante che l'Autore ha indicato con grande precisione. Le indagini sono proseguite nel tempo fino ad oggi; gli aspetti biosistematici della flora delle Alpi Apuane sono fin dal 1969 oggetto di studio da parte di un gruppo di ricercatori del Dipartimento di Scienze Botaniche dell'Università di Pisa (Bechi *et al.*, 1996).

La lista floristica della Regione Apuana comprende **1672 taxa**, pari al **29,86%** dell'intera Flora d'Italia (Pignatti, 1982).

I *taxa* strettamente endemici delle Alpi Apuane sono **14** corrispondenti allo **0,84%** del totale.

Le forme biologiche sono state raggruppate secondo la classificazione di Raunkiær (1934). Emicriptofite, terofite e geofite costituiscono oltre l'84% della flora apuana, dove pertanto prevalgono forme biologiche adattate alla vita in ambienti aridi (Fig. 3).

⁶ da (Vaira *et al.*, 2004) modificato

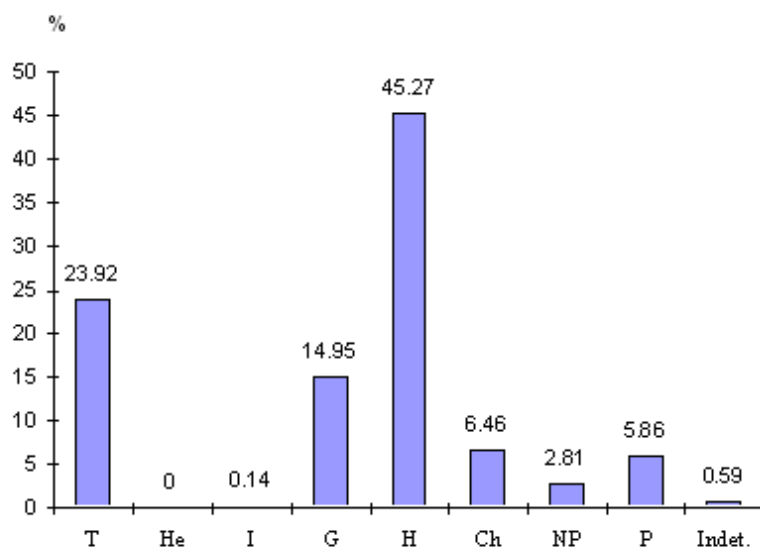


Fig. 3 – Spettro biologico

Le categorie corologiche sono state raggruppate come segue:

Endem. (Endem., Endem. Alpica, Endem. E-Alpica)

Subendem.

Stenomedit. (Stenomedit., Stenomedit.-Macarones., Stenomedit. Occid., W-Medit.-Macarones., Medit. Macarones.)

Eurimedit. (Eurimedit., Eurimedit.-Pontica, Eurimedit.-Turan., Medit.-Pontica, Medit., Medit.-Turan., S-Medit., Submedit., SW-Medit., W-Medit., Centro-Medit., E-Medit.)

Medit.-Mont.

Eurasiat. (Eurasiat., Europ., Europ.-Caucas., Centro e S-Europ., Centro-Europ., Centro-Europ.-Caucas., Anfiadriatica, Paleotemp., Paleotemp. e Subtrop., SW-Europ., Illirico-Appen., S-Europ., S-Europ.-Pontica, SE-Europ., SE-Europ.-Caucas., SE-Europ.-Pontica)

Atlant. (Anfiatlantica, Atlant., Medit.-Atl., Subatl., Submedit.-Subatl., W-Europ.)

Artico-Alp. (Artico-Alp., Circumbor., Eurosib., Alpica, Alpico-Dinarica, E-Alpino-Dinarica, Europ.-Centrosib., Europ.-Sudsiber.)

Orof. (Orof. Alpico-Piren., Orof. Alpico-W-Carpat., Orof. Centro-Europ., Orof. Centro-S-Europ.-Caucas., Orof. Centroasiat.-Medit., Orof.-Eurasiat., Orof. Eurasiat., Orof. Europ., Orof. Europ., Orof.-Medit., Orof. Medit., Orof. Medit. e Submedit., Orof. Paleotemp. e Trop., Orof. S- e Centro-Europ., Orof. S-Europ., Orof. S-Medit., Orof. SE-Europ., Orof. Subcosmop., Orof. SW-Europ., Orof. W-Eurasiat., Orof. W-Europ.)

Pontiche (Pontica, Pontica-Centroeurop., Europ.-Pontica, Submedit.-Pontica)

Ampia distribuz. (Cosmop., Subcosmop., Paleotrop., Pantrop., Subtrop.)

Cat. indeterminata (Indeterminata)

La flora apuana è composta per quasi il 70% da elementi eurasiatici, eurimediterranei, artico-alpini e orofili. Vi è un significativo contingente di stenomediterranee (Fig. 4).

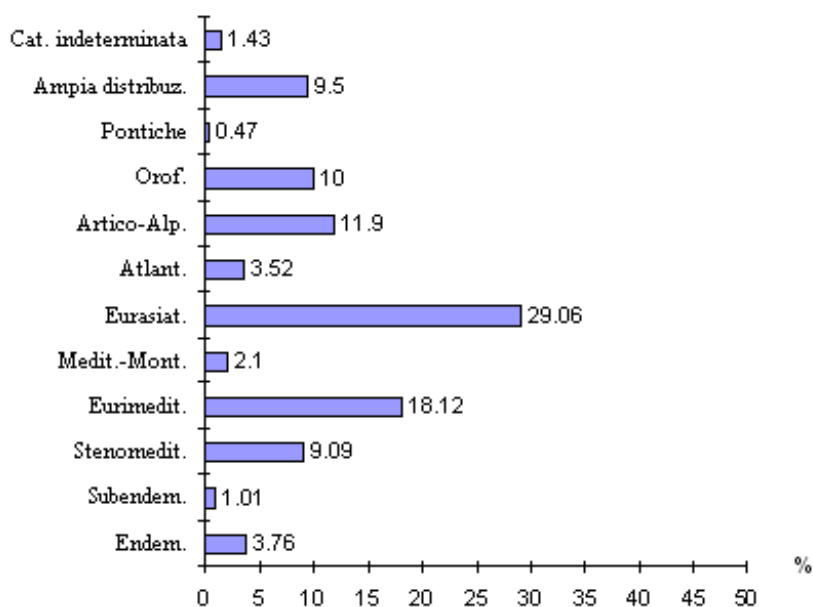


Fig. 4 - Spettro corologico

2.4 Aspetti vegetazionali⁷

Sui primi rilievi, esposti a mare, la copertura vegetale è di tipo mediterraneo: dove il terreno è calcareo, fino a 300 m circa di altitudine è presente la **macchia mediterranea a sclerofille sempreverdi**, composta da *Quercus ilex* L., *Myrtus communis* L. e *Phyllirea latifolia* L.; questa copertura vegetale in vaste zone è stata sostituita con oliveti; dove il terreno è siliceo, fino a 600 m circa di altitudine, si trova la pineta a *Pinus pinaster* Aiton. Procedendo verso l'interno, con l'aumento dell'altitudine, si incontrano i ostrieti ed le cerrete, largamente sostituiti dall'uomo con vasti castagneti; gli **ostrieti** sono diffusi in tutti i terreni calcarei soleggiati del versante tirrenico delle Apuane da una quota di 400 metri fino a 1400 metri circa. L'albero che domina è *Ostrya carpinifolia* Scop., accompagnato da *Quercus pubescens* Willd. e da *Fraxinus ornus* L.. Nelle aree di pertinenza degli ostrieti, sugli affioramenti

⁷ da (Lombardi *et al.*, 1998) modificato

rocciosi e fra i detriti, sono frequenti alcune delle specie endemiche delle Apuane: *Globularia incanescens* Viv., *Santolina pinnata* Viv., *Bupthalmum salicifolium* L. subsp. *flexile* (Bertol.) Garbari, *Molkea suffruticosa* (L.) Brand subsp. *bigazziana* Peruzzi & Soldano, *Cerastium apuanum* Parl., *Salix crataegifolia* Bertol. ed altre. **Le cerrete** sono diffuse per lo più nei terreni freschi, specialmente del versante lunigianese e garfagnino. È sempre presente *Quercus cerris* L. insieme a *Ostrya carpinifolia* Scop., *Carpinus betulus* L., e *Corylus avellana* L. Gran parte dei boschi caducifogli in passato è stata trasformata in **castagneti** cedui o da frutto: l'uomo ha piantato o favorito il castagno (*Castanea sativa* Miller) in tutti i terreni leggermente acidi adatti alla pianta per ricavare castagne e legname; è infatti largamente conosciuta l'importanza che il castagno ha rivestito, soprattutto in passato, nella vita e nell'economia delle popolazioni apuane. A maggiori altitudini si trovano le **faggete**, dominate da *Fagus sylvatica* L., con maggiore estensione nel versante settentrionale delle Apuane, nella Garfagnana e nella Lunigiana, da quota 800-900 m fino a 1600-1700 m. Nel versante tirrenico, specialmente dove il substrato geologico è costituito dal marmo, le faggete hanno una minore estensione, e si trovano per lo più comprese fra le quote 1200-1400 m. La vegetazione che caratterizza la zona di altitudine presenta aspetti differenti sulle vette di natura calcarea rispetto a quelle di natura silicea; sulle parti più elevate delle vette costituite da rocce silicee vivono le **brughiere di altitudine**. Si trovano per lo più nelle Apuane centro-settentrionali, ad esempio a Passo Giovo (tra il Pizzo d'Uccello e la Cresta Garnerone) e sulla parte più elevata del Monte Fiocca e sono costituite principalmente da due diverse specie di mirtillo (*Vaccinium myrtillus* L. e *V. gaultherioides* Bigelow). Le aride vette calcaree, apparentemente prive di vegetazione, ospitano in realtà numerose specie erbacee che vivono sulle pareti rocciose; si tratta per lo più erbe non graminoidi, cespugli ed arbusti, che determinano un tipo di vegetazione discontinua, chiamata **vegetazione casmofila**; questa rada copertura vegetale caratterizza largamente il paesaggio vegetale apuano d'altitudine e si

sviluppa sulle vette costituite da marmo (parte del Monte Contrario, Monte Tambura, Monte Sella, parte del Monte Sumbra, Monte Altissimo, Monte Corchia), grezzone (Pizzo d'Uccello, Cresta Garnerone, Monte Grondilice, Catena degli Uncini, "Torrioni" del Monte Corchia), e calcare selcifero (Monte Sagro, parte del Monte Contrario, Zucchi di Cardeto, parte del Monte Sumbra). In queste situazioni ambientali compaiono numerose specie endemiche, quali *Athamanta cortiana* Ferrarini e *Silene lanuginosa* Bertol.

2.5 Aspetti gestionali e protezionistici

L'importanza della Regione apuana, dal punto di vista naturalistico- ambientale, e la necessità di tutelare quest'area attraverso le forme previste dalle leggi, erano già argomento di forte dibattito alla metà degli anni '70 perché si andavano a scontrare con i forti interessi economici presenti nella zona, legati soprattutto all'escavazione del marmo e di altre risorse lapidee (Cattani, 2005). Le Alpi Apuane sono divenute Parco Regionale con L.R. 21 gennaio 1985 n. 5 e successive modificaz. ed integraz. (Istituzione del Parco delle Alpi Apuane). Questa legge è stata abrogata dalla Legge Regionale 11 agosto 1997 n.65 (Istituzione dell'Ente per la gestione del "Parco Regionale delle Alpi Apuane". Soppressione del relativo Consorzio) la quale ha sostituito il consorzio di gestione con un ente regionale.

L'area protetta ha una superficie di 205,98 Km² (Fig. 5).

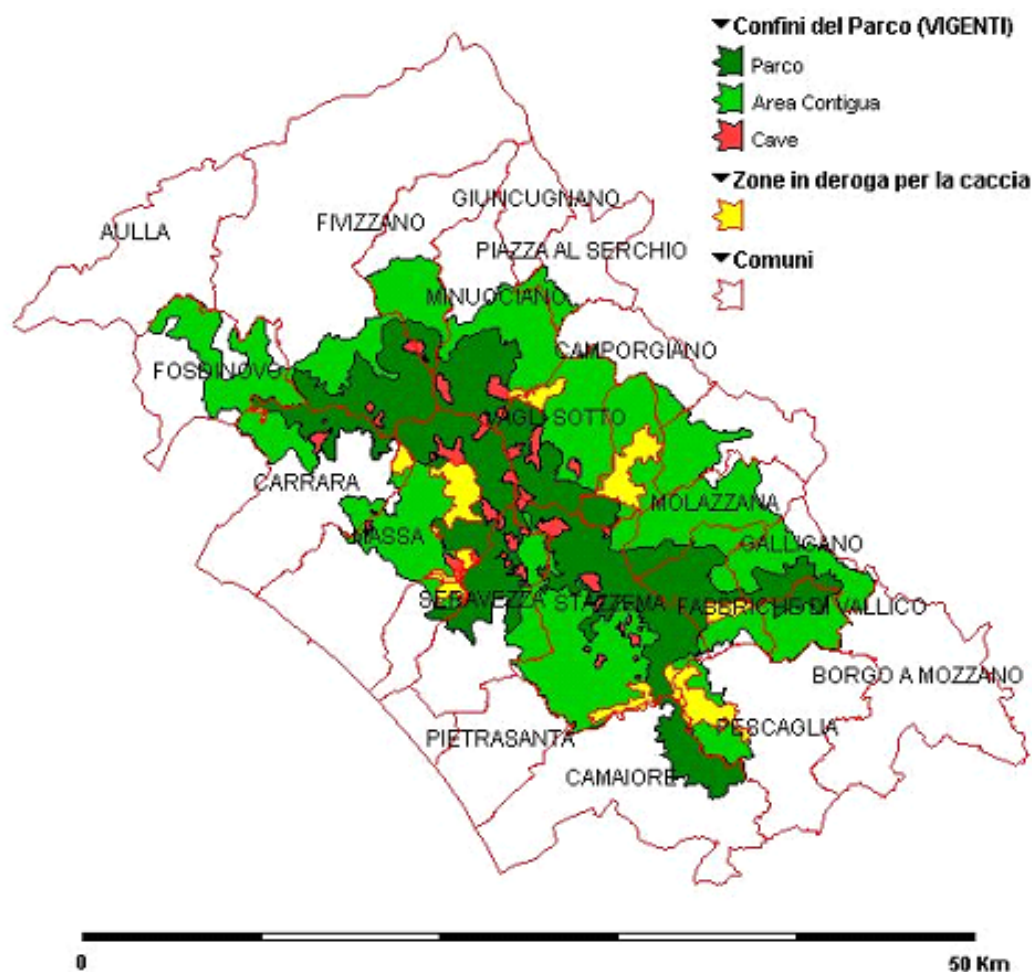


Fig. 5 – Confini Parco Alpi Apuane e Area contigua

L'Ente Parco Regionale delle Alpi Apuane si è dotato dei seguenti strumenti di gestione:

- 1) il Piano del Parco, adottato con delibera n. 46 del 29 novembre 2007
- 2) il Regolamento del Parco, adottato con delibera n. 64 del 17 dicembre 2010

Nelle norme tecniche di attuazione del Piano del Parco (N.T.A.P.P.) all'art. 15 il territorio del Parco viene suddiviso in 9 Unità Territoriali che contengono degli obiettivi di gestione, primari e secondari; l'Unità Territoriale n.9 denominata "M. Sagro-Vinca" ha tra gli obiettivi primari: "Conservazione della biodiversità e degli habitat naturali e seminaturali; tutela dei siti geologici, archeologici e storico-culturali, e delle forme naturali del territorio; ricostituzione della continuità delle matrici ambientali, con particolare riferimento alla popolazione di *Centaurea montis-borlae* dell'omonimo rilievo". Nell'art. 16 delle N.T.A.P.P. sono contenute le norme per le

Zone a diverso grado di protezione; viene designata come zona “A”(riserva integrale) una parte delle pendici SE e SW del Monte Borla che contengono una porzione minoritaria dell’area occupata dalla *Centaurea montis-borlae* a Foce di Pianza, la porzione maggiore si trova in zona “B1”(riserva generale orientata, a prevalente carattere naturalistico). La popolazione dello Spigolo Est Monte Sagro (Vaira *et al.*, 2010) ricade interamente in zona “B1”.

Le due popolazioni sono anche comprese all’interno di due pSIC : IT5110006 “Monte Sagro” e IT5110008 “Monte Borla – Rocca di Tenerano” e della ZPS n. 23 “Praterie primarie e secondarie delle Alpi Apuane”

3. SPECIE OGGETTO DI STUDIO

3.1 Inquadramento sistematico

La *Centaurea montis-borlae* Soldano appartiene alla famiglia delle *Asteraceae* Sect. *Lepteranthus* (DC.) Dumort ed è stata identificata come nuova specie dal botanico massese Adriano Soldano che ne raccolse alcuni campioni per la prima volta sui fianchi del Monte Borla (da cui l'epiteto specifico) nelle Alpi Apuane settentrionali, il 28 luglio 1974 (Soldano, 1978, 1978a). Prima di allora erano stati raccolti altri campioni (cfr. *Specimina visa*), soprattutto dal Prof. E. Ferrarini, determinati però come *Centaurea jacea* L. var. *nigra* (L.) Fiori. Nelle pubblicazioni di flore precedenti non vi sono segnalazioni per il genere *Centaurea* riferite a quella località (Bertoloni, 1819; 1833-1854; Parlatore, 1848-1896; Caruel, 1860; Fiori, 1923-1929; Bolzon, 1894-1895; Pellegrini, 1942; Tutin *et al.*, 1960; Zangheri, 1976). Soldano per primo si accorse che i campioni presentavano caratteristiche non riconducibili ad altre specie presenti in Italia; il differenziale era rappresentato soprattutto dal portamento prostrato e dalla lunghezza del pappo, più lungo delle altre specie appartenenti alla stessa sezione.

La descrizione della specie è tratta da Soldano (1978) modificata⁸: *Centaurea montis-borlae* è **specie** perenne con apparato radicale che si immerge profondamente nelle fessure del substrato. Il fusto, prostrato ed appena ramoso, è coperto di abbondante peluria fioccosa bianca. Le foglie inferiori, **raccolte in rosetta basale**, sono ovato-lanceolate, lungamente picciolate, denticolate o maggiormente dentate e, meno frequentemente, pennatifide o lirate; le superiori ellittico lanceolate, intere o quasi, sessili. Tutte sono mucronate, vellutato-tomentose nel fresco, scabro-tomentose nel secco. L'involucro è cilindrico-ovoideo, largo 9-12 mm, con squame bianco-tomentose da giovani – ma presto denudate – e recanti appendici brune, triangolari-lanceolate, fimbriato-piumose (non mascheranti le squame) con la parte

⁸ modifiche in grassetto; ulteriori particolari relativi alla riproduzione verranno descritti in seguito

superiore, spesso scolorata, arcuata in fuori e solo la lacinia terminale a volte riflessa. Nelle brattee inferiori l'appendice è a volte decorrente ai margini della brattea stessa. I fiori sono roseo-violetti, gli estremi largamente raggianti. Il frutto misura 3,5-4 (4,5) mm ed è compresso e larghetto (1,7-2,2 mm). Il pappo è in media di 2-3 mm e giunge raramente a 4,5 mm. (Fig. 6)

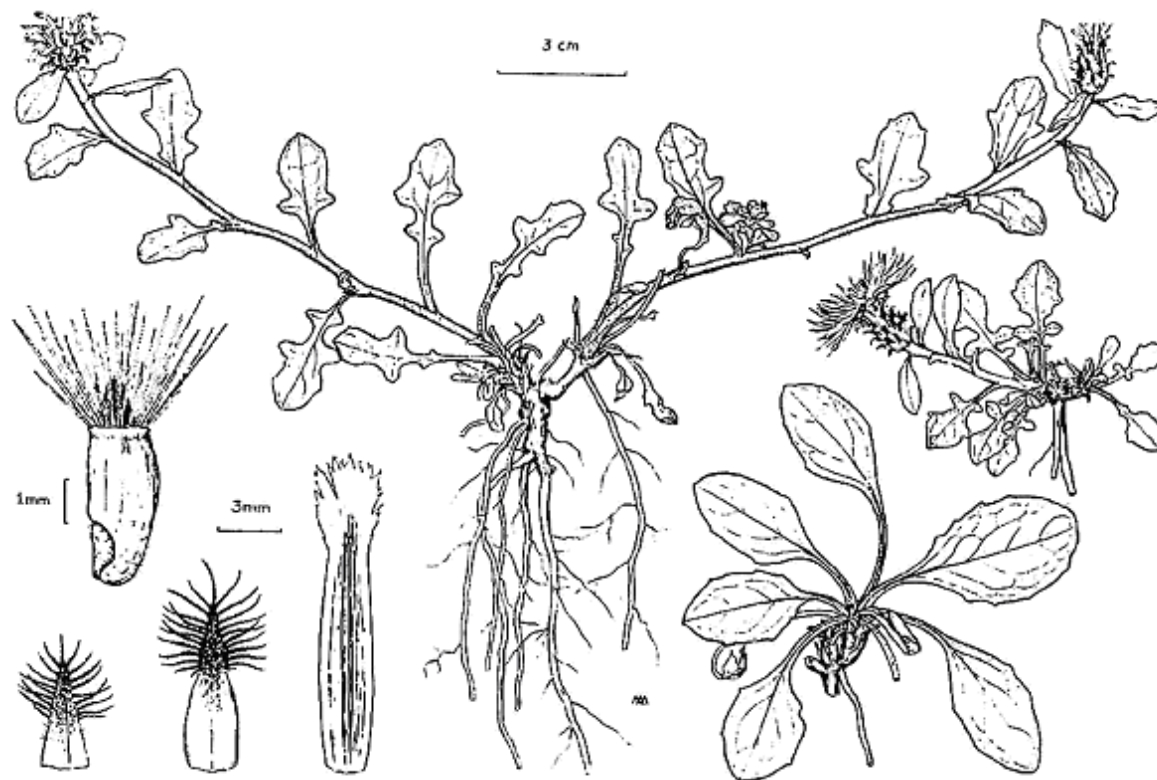


Fig. 6 – *Centaurea montis-borlae* Soldano, da (Bechi, *et al.*, 1996)

La specie più prossima dal punto di vista sistematico sembrerebbe essere *Centaurea procumbens* Balbis con le sue 4 sottospecie (Soldano, 1978), nome non più valido, sinonimo di *Centaurea jordaniana* Godron & Gren. subsp. *balbisiana* (Soldano) Kerguelén (Kerguelén, 1998). Questa entità è un endemismo molto localizzato in luoghi rocciosi calcarei a N, NE di Nizza.

Specimina visa

Nelle fessure delle rupi di marmo, a q. 1300 m, esp. Sud, alla Foce di Pianza nelle pendici del M. Borla, Alpi Apuane. 27.VIII.1960. *Ferrarini* (SIENA); Spigolo est del Sagro, nelle cenge erbose su calcare a liste di selce, esp. Est, alt. 1600 m 29.VII.1963. *E. Ferrarini* (Herbarium Liceo Scientifico “G. Marconi”, Carrara (MS)) sub *Centaurea jacea* L. var. *nigra* (L.) Fiori Versante meridionale del Poggio della Signora, nelle pendici del M. Spallone, a q. 1500 m circa. Gruppo del M. Sagro, sopra Carrara. Alpi Apuane. Su calcare a liste di selce. 5.IX.1983. *Marchetti* (SIENA); Foce di Pianza (gruppo del Sagro: Alpi Apuane. Alt. 1200 m; 3.VIII.1977 (Typus). *Soldano* (FI sub *Centaurea montis-borlae* mihi); Toscana. Massa. Fivizzano: piedi del Monte Borla alle cave Walton. M 1250. 24.VII.1977. *Soldano* (FI sub *Centaurea montis-borlae* mihi).

3.2 Ecologia

La specie vegeta tra i 1000 e i 1600 m nelle fessure di rupi, di tavolati calcarei e nei detriti, quasi esclusivamente di marmo, presentando adattamenti xerofitici come il cospicuo sviluppo radicale. Il periodo della fioritura va dall’inizio di giugno a tutto il mese di agosto. Può essere trovata da sola oppure assieme a *Santolina pinnata* Viv., *Moltkia suffruticosa* (L.) Brand subsp. *bigazziana* Peruzzi & Soldano, *Globularia incanescens* Viv., *Silene lanuginosa* Bertol. oppure con *Carex mucronata* All. Rifugge la competizione con altre specie come *Brachypodium genuense* (DC.) Roem. & Schult., situandosi solo ai margini dei prati. Le due segnalazioni, di Ferrarini del 1963, per lo Spigolo Est del Sagro a q. 1600m e di Marchetti del 1983, per il “Poggio della Signora” sul M. Sagro a q.1500m (cfr. *Specimina visa*) nelle quali si indica un substrato di calcare a liste di selce, sono da considerarsi erranee o quantomeno fortemente dubbie in quanto sullo Spigolo Est a quella quota è presente un substrato di marmo e in località “Poggio della Signora”, dove peraltro il ritrovamento non è mai stato riconfermato, è altresì presente un affioramento di marmo (Carmignani *et al.*, 2001). Durante

le ricerche sul campo relative a questa tesi di dottorato nessun individuo è mai stato trovato vegetante su un substrato di calcare selcifero. Dal punto di vista bio-ecologico seguendo la classificazione di Raunkiær (1934) la specie viene collocata sia da Conti *et al.* (1997) che da Ansaldi *et al.* (2008) nelle emicriptofite scapose (H scap) ma, considerando il portamento del fusto che non è mai eretto e le foglie basali, sempre riunite a rosetta, a nostro avviso la forma biologica più corretta per questa specie dovrebbe essere: emicriptofita rosulata (H ros).

4. SCOPI E LIMITI DELLA RICERCA

La presente tesi di dottorato ha un duplice scopo:

1. Lo studio delle dinamiche di popolazione di *Centaurea montis-borlae* Soldano (*Asteraceae*), stenoendemica delle Alpi Apuane settentrionali dove è presente con due sole popolazioni. Questo studio è stato condotto utilizzando le tecniche di analisi quantitativa proprie della PVA, in particolare matrici di transizione strutturate per stadi di accrescimento.
2. La proposta di adozione di determinate decisioni gestionali per limitare i rischi di estinzione. Con gli strumenti dell'Analisi di Sensitività e di Elasticità sono stati simulati degli scenari gestionali, per modificare i trend delle popolazioni studiate, e poterli applicare con una certa sicurezza nella realtà.

La scelta della specie da studiare è stata determinata da differenti fattori:

1. si tratta di una specie minacciata con distribuzione estremamente ridotta (Vaira *et al.*, 2004);
2. sono note soltanto due popolazioni;
3. le eventuali azioni di conservazione possono essere concordate con l'Ente Parco Regionale delle Alpi Apuane, diretto responsabile della gestione del territorio.

Una parte importante della ricerca è stata dedicata ai fattori che limitano la diffusione della specie indagata, sono stati per questo studiati: l'esposizione e l'inclinazione, i tempi dell'antesi, l'impollinazione, la dispersione e la germinazione; è stata fatta l'analisi chimica dei suoli e di alcuni individui provenienti dalle 2 popolazioni.

Da una ricerca effettuata sul Web con i più potenti motori di ricerca dedicati (Isiwebofknowledge e Googlescholar) non risultano studi pubblicati di PVA, riguardanti le piante, condotti in Italia. Questo è il primo, il che testimonia il valore innovativo di questa tesi di dottorato, almeno nel panorama della Biologia della Conservazione delle piante in Italia .

I limiti della presente ricerca sono rappresentati dalla durata temporale che, essendo di 3 anni, permette di ottenere dai dati raccolti sul campo solo 2 matrici di transizione, abbastanza per ottenere risultati deterministici, appena sufficienti per risultati stocastici (cfr. pag. 11).

Un limite importante è stato non aver potuto condurre analisi biomolecolari utilizzando i markers SSR (o microsatelliti) per conoscere la variabilità genetica intra e interpopolazione e calcolare il coefficiente di inbreeding che assume maggiore importanza in modo inversamente proporzionale alla dimensione delle popolazioni in declino esponendole ad una più rapida discesa verso l'estinzione.

5. MATERIALI E METODI

5.1 Perimetrazione e calcolo Area Occupata

Il calcolo della “Area Of Occupancy” (AOO) è stato effettuato utilizzando un metodo alternativo a quello basato sul calcolo del prodotto dell’area di una singola cella per il numero delle celle occupate ($AOO = \text{numero celle occupate} \cdot \text{area singola cella}$) (IUCN, 2001), poiché questo avrebbe portato ad una grossa sovrastima dell’area occupata. Il metodo usato consiste nella mappatura dei poligoni contenenti tutta quella parte di habitat materialmente occupato dalla specie e successivo calcolo dell’area dei poligoni (IUCN, 2011). Sono state eseguite numerose ricognizioni preliminari per valutare le zone di effettiva presenza della specie, tutte le zone adiacenti sono state accuratamente controllate per escluderla, in modo da ottenere una perimetrazione la più precisa possibile. La mappatura è stata eseguita con un ricevitore GPS Trimble PRO XR a precisione submetrica⁹, associato al palmare Intermec e utilizzando la funzione “Poligono” del software ESRI ArcPad 6.0.3. I files in formato shape sono stati scaricati su PC e gestiti con il software ESRI ArcGIS 3.2a, contenente una base cartografica vettoriale e georeferenziata della zona interessata.

5.2 Raccolta capolini, conteggio e misurazione cipsele

Nei periodi compresi tra luglio e agosto 2009 e tra luglio e agosto 2010 sono stati raccolti rispettivamente 52 e 51 capolini nella stazione di Foce di Pianza. Prima del prelievo è stata misurata (in mm) la distanza verticale dal suolo di ogni capolino, presa dal centro di quest’ultimo. Gli acheni contenuti in ogni capolino sono stati conteggiati, suddividendoli nelle varie tipologie (fertili, vuoti, abortiti).

Tra gli acheni fertili sono state scelte casualmente 100 cipsele (Fig. 7) (achenio + pappo) e misurati:

1. i diametri dei pappi utilizzando un calibro in acciaio inox (precisione ± 0.05 mm)

⁹ concesso in prestito dal Comando Regionale di Genova del Corpo Forestale dello Stato

2. i pesi delle cipsele utilizzando una bilancia analitica (precisione ± 0.0001 g)

gli altri acheni fertili raccolti sono stati impiegati nelle prove di germinazione a vario livello.

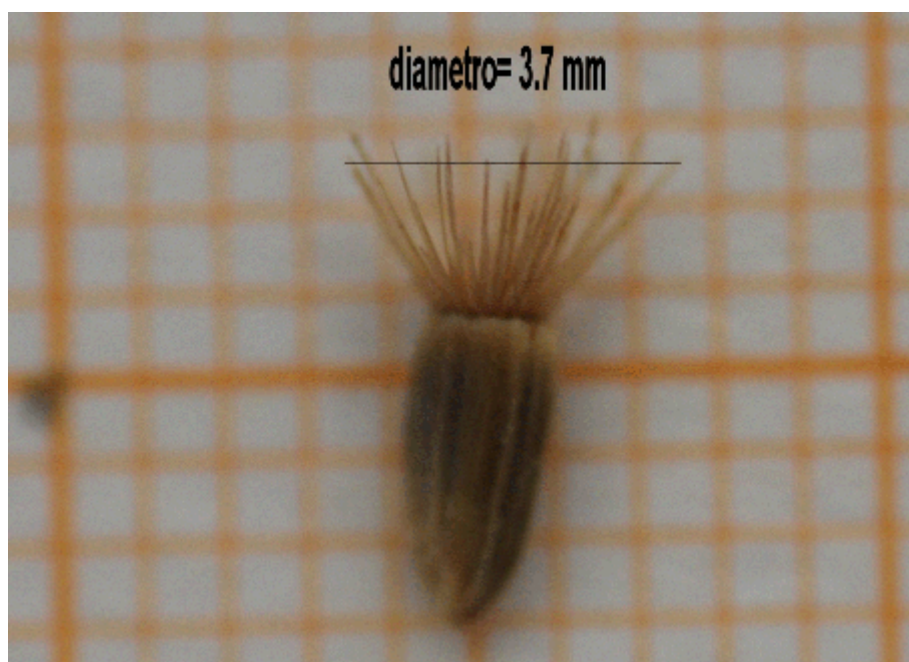


Fig. 7 – Cipsela di *Centaurea montis-borlae* con indicazione del diametro del pappo

5.3 Prove di germinazione *in situ* ed *ex situ*

Le prove di germinazione rivestono un'importanza fondamentale nella PVA perché servono per ottenere due dati fondamentali :

- 1) la percentuale di germinazione
- 2) la presenza di una riserva di seme nel suolo (seed soil bank)

Il dato 1) è importante perché, una bassa percentuale di germinazione (< del 50%), può indicare la presenza della riserva di seme nel suolo¹⁰. In questi casi vi è la necessità di condurre un ulteriore ciclo di germinazione sulla percentuale dei semi non germinati.

Il dato 2) è un punto chiave della divisione in stadi di accrescimento perché, se confermata, la riserva di seme nel suolo deve essere inserita nella matrice di transizione come un vero e proprio stadio vitale della pianta (Morris & Doak, 2002; Adams *et al.*, 2005).

¹⁰ quella parte di seme che non germina la stagione successiva (t+1) ma rimane ugualmente vitale e germina la stagione dopo ancora (t+2)

Le prove di germinazione *in situ*, condotte secondo le indicazioni di Mondoni *et al.* (2007; 2008), sono cominciate il 12 novembre 2009 in località Morlungo alle pendici del M. Borla e hanno riguardato n.200 acheni fertili ripartiti in 2 differenti terreni:

- 1) n.100 seminati in 5 vasetti con substrato di calcare selcifero dove la pianta non vegeta e non è mai stata trovata;
- 2) n.100 seminati in 5 vasetti con substrato di marmo dove la pianta vegeta.

Tutti i terreni di semina sono stati preventivamente vagliati per evitare che la presenza di acheni nel terreno, dovuti a disseminazione naturale, alterasse i risultati delle prove.

Gli acheni erano racchiusi a gruppi di 10 in piccoli sacchetti di tulle, per evitare dispersioni. Sono stati interrati 2 sacchetti per ogni vasetto, per un totale di 20 sacchetti. I vasetti sono stati incastrati in fessure della roccia, posizionati in luoghi non facilmente accessibili ed invisibili dalla strada, per evitare vandalismi e danneggiamenti; le coordinate esatte dei vasetti sono state rilevate con il GPS. (Fig. 8)

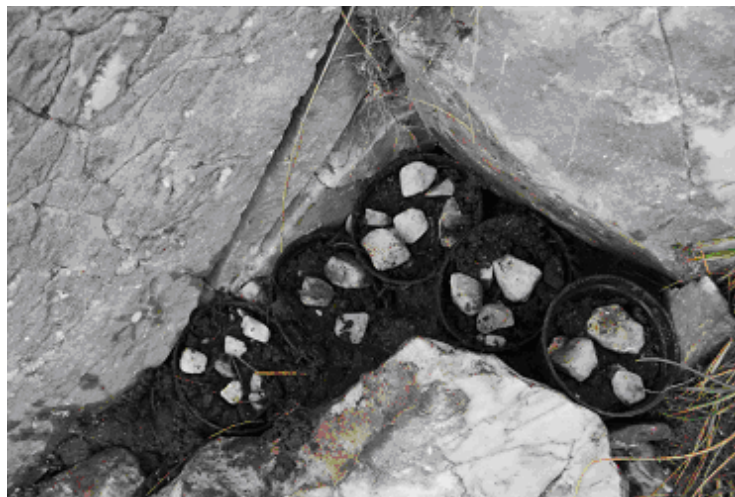


Fig.8 – Prove di germinazione *in situ* 2009

Ad intervalli regolari tutti e due i siti di germinazione sono stati visitati ed annotati i risultati. In data 13 dicembre 2009 il sito n.2 di germinazione con tutti i vasetti è stato completamente spazzato via da un forte acquazzone.

Le prove hanno avuto termine, per quanto riguarda la prima fase di osservazione, a giugno 2010. La seconda fase di osservazione, per verificare l'eventuale presenza della riserva di seme nel suolo, è iniziata a marzo 2011 e ha avuto termine a giugno 2011.

Una seconda prova di germinazione *in situ* è stata condotta a partire dal 24 gennaio 2011 ed ha riguardato 200 acheni fertili suddivisi in 20 vasetti (10 acheni per ogni vasetto) con substrato di terreno marmoreo prelevato nei punti dove vegeta la specie. Tutti i terreni di semina sono stati preventivamente vagliati per evitare che la presenza di acheni nel terreno, dovuti a disseminazione naturale, alterasse i risultati delle prove.

I vasetti sono stati fissati mediante viti e bulloni ad 2 vassoi di plastica (10 vasetti in ogni vassoio), a loro volta ancorati al terreno mediante tasselli ad espansione (Fig.9), per evitare che si ripettesse quanto accaduto nel 2009 al sito di germinazione n. 2 .



Fig. 9 – Prove di germinazione *in situ* 2011

Gli acheni sono stati interrati lasciando fuori la parte terminale del pappo, per simulare la disseminazione naturale. I vasetti sono stati coperti con il tulle, per impedire la dispersione degli acheni; sono stati praticati 3 fori aggiuntivi sul fondo di ogni vasetto per ottenere un maggior effetto drenante, analogo a quello del substrato naturale. I due vassoi sono stati fissati in luoghi differenti, lontano dalla strada e celati per evitare vandalismi.

Ad intervalli regolari tutti e due i siti di germinazione sono stati visitati ed annotati i risultati.

Il ciclo di osservazioni è terminato a giugno 2011.

Le prove di germinazione *ex situ* sono state eseguite contemporaneamente a quelle *in situ* e si sono svolte nel laboratorio di Biosistemica Vegetale del Dipartimento di Biologia dell'Università di Pisa. Da studi precedenti (Ansaldi *et al.*, 1998) è emerso che gli acheni di *Centaurea montis-borlae* Soldano per germinare necessitano di un periodo di vernalizzazione. 300 acheni sono stati immersi in una soluzione di Ipoclorito di sodio (NaClO) allo 0,2% per 20 secondi, per eliminare le spore fungine, poi lavati con H₂O deionizzata e posti a vernalizzare in frigo a +5° in Capsule Petri da 9 cm adagiati su di un substrato costituito da Agar Gel all'1% disciolto in H₂O deionizzata .

La suddivisione degli acheni nelle capsule è stata la seguente:

1. 5 capsule (ripetizioni) da 20 acheni ciascuna con H₂O deionizzata + Agar Gel all'1% , pH = 7.78
2. 5 capsule da 20 acheni ciascuna con H₂O deionizzata + Agar Gel all'1% + soluzione tampone, pH= 6.00
3. 5 capsule da 20 acheni ciascuna con H₂O deionizzata + Agar Gel all'1% + soluzione tampone, pH= 8.00

Sono state provate soluzioni tampone, in aggiunta alla prova principale, per capire se pH differenti influenzavano in qualche modo la percentuale di germinazione. Le soluzioni tampone utilizzate sono state:

1) Titolchimica Buffer solution pH 6 cod. 211006 con la seguente composizione:

110 ÷ 150 g/l Acido citrico monoidrato

180 ÷ 220 g/l Sodio Idrossido 32%

0,1 ÷ 0,5 ml/l soluzione Nessler A composta (su litro) da Mercurio Ioduro 130 ÷ 170 g/l e Potassio Ioduro 100 ÷ 120 g/l.

2) Titolchimica Buffer solution pH 8 cod.211008 con la seguente composizione:

30 ÷ 60 g/l Sodio Borato-tetra decaidrato

5 ÷ 10 g/l Acido Cloridrico

0,1 ÷ 0,5 ml/l soluzione Nessler A composta (su litro) da Mercurio Ioduro 130 ÷ 170 g/l e Potassio Ioduro 100 ÷ 120 g/l.

Nel protocollo di germinazione si è deciso di simulare il più possibile le condizioni presenti in natura, prolungando quindi la fase di vernalizzazione in frigo e al buio a + 5°C (2 mesi) e successivamente innalzando gradatamente la temperatura.

Sono stati considerati germinati tutti gli acheni in cui l'apice radicale dell'embrione fosse fuoriuscito dai tegumenti di almeno 1 mm.

Il primo ciclo di germinazione ha avuto inizio il 24 novembre 2009 con la vernalizzazione e si è concluso il 15 aprile 2010 per una durata complessiva di 142 gg.

È stato fatto un controllo durante la fase di vernalizzazione il 17 dicembre 2009 ed i risultati emersi sono stati annotati. La vernalizzazione è terminata il 22 gennaio 2010; si è quindi provveduto a spostare le capsule in banca semi a +10°C, controllando giornalmente l'andamento della germinazione. La temperatura è stata aumentata gradatamente fino a +15°C, ogni volta che si raggiungeva un plateau nella percentuale di germinazione. Infine, in data 23 marzo 2010, le capsule sono state poste in camera di germinazione alla temperatura costante di +21°C, dove sono rimaste fino al termine del primo ciclo di germinazione (15 aprile 2010).

I risultati ottenuti sono stati quantificati calcolando:

1. la percentuale totale di germinazione a differenti valori di pH
2. T_{50} o T.M.G. cioè il tempo necessario a raggiungere il 50% del totale dei germinati
3. Deviazione standard delle 5 ripetizioni.
4. Tempo totale (in giorni) = data finale - data iniziale

5. Ritardo di germinazione (in giorni) = tempo necessario per la prima germinazione

Gli acheni germinati sono stati via via prelevati dalle capsule e posti a dimora in vasetti contenenti terreno neutro e sabbia calcarea nelle proporzioni di 1:1; il successivo sviluppo delle plantule è stato documentato in tutte le sue fasi per due anni per compararlo con lo sviluppo delle plantule *in situ* e per ottenere dati sulla biologia della specie.

Gli acheni non germinati sono stati lavati con H₂O deionizzata, scarificati con mezzi meccanici per simulare l'invecchiamento di un anno, quindi posti in Capsule Petri da 9 cm con substrato di H₂O deionizzata + Agar Gel all'1% e sottoposti ad un secondo ciclo di germinazione identico al precedente. Il secondo ciclo di germinazione ha avuto inizio il 19 aprile 2010 con la vernalizzazione e si è concluso il 7 settembre 2010 per una durata complessiva di 142 gg. Al termine del secondo ciclo di germinazione sono stati annotati i risultati ottenuti sono stati espressi in forma numerica procedendo come per il primo ciclo di germinazione.

Tutti i risultati ottenuti sono stati trasposti in forma di grafico mediante Microsoft Excel.

5.4 Installazione dei poligoni di monitoraggio

Per popolazioni vegetali di ridotte dimensioni il monitoraggio, cioè la marcatura e la misurazione degli individui, è esteso alla popolazione *in toto*. Per popolazioni di rilevanti dimensioni, con un numero cospicuo di individui e con habitat variabili vengono scelte e delimitate da 1 a 3 aree idonee, rappresentative di tutta la popolazione, nelle quali sono monitorati almeno 300 individui (Iriondo *et al.*, 2009), seguendo le dinamiche dei quali, si possono costruire le matrici di transizione.

La specie oggetto di studio è caratterizzata dall'avere **solo due distinte popolazioni: Foce di Pianza e Spigolo Est del Monte Sagro** (Vaira *et al.*, 2010), quest'ultima è stata scoperta durante i rilevamenti relativi a questa tesi di dottorato. Per creare un modello di PVA vanno

monitorate tutte le popolazioni di una specie. Questo ha imposto l'installazione di almeno 1 poligono di monitoraggio per ogni popolazione conosciuta.

Nel caso della popolazione presente a Foce di Pianza è stata scelta un'unica area quadrangolare che contenesse i differenti microhabitat presenti (fessure rocciose, piccoli depositi detritici, frammenti di praterie aperte) e che contemporaneamente fosse lontana dalla strada, che divide in due la popolazione, quindi difficilmente individuabile per evitare perturbazioni occasionali al naturale ciclo vitale degli individui monitorati. Data l'estensione, sia territoriale, che come numero di individui, dell'intera popolazione si è preferito aumentare il numero di individui sotto monitoraggio costruendo un poligono quadrangolare che comprendeva inizialmente 491 individui (cfr. par. 5.5). A ciascun vertice del poligono è stato fissato un tassello ad espansione inamovibile con vite terminante ad anello, in modo da rendere possibile una delimitazione con spago del poligono stesso. Per quanto riguarda la popolazione dello Spigolo Est del M. Sagro la situazione particolare della stazione, caratterizzata da grande acclività comportante difficoltà sia nell'accesso che negli spostamenti in transito, hanno condizionato la scelta del poligono di monitoraggio, che ha compreso inizialmente un numero di individui di poco superiore ai 300. Anche in questo caso ai vertici del poligono è stato fissato un tassello ad espansione inamovibile con vite terminante ad anello, così da rendere possibile una delimitazione con spago del poligono stesso. Ambedue le aree di monitoraggio sono state perimetrate con GPS e riportate, sotto forma di shape files, su cartografia georeferenziata analogamente alle aree occupate.

5.5 Marcatura e misurazione individui

Tra i due metodi alternativi: mappatura o marcatura (Eltzinga *et al.*, 1998; Iriondo *et al.*, 2009) per identificare in modo univoco gli individui, è stata scelta la marcatura essenzialmente per 2 motivi:

1. le asperità del terreno rendono praticamente impossibile mappare precisamente gli individui;
2. poiché la pianta cresce frequentemente nelle fessure della roccia, si ha a disposizione una matrice solida adiacente agli individui che permette di scriverne agevolmente l'identificativo

Per marcare gli individui è stato scelto inizialmente lo Staedtler “Permanent Lumocolor”, un pennarello adatto a qualsiasi superficie, indelebile e parzialmente resistente alla luce. Le marcature sono state effettuate sulla roccia, scrivendo numeri progressivi il più vicino possibile ai corrispondenti individui e sono state protette successivamente con uno strato sottile di resina epossidica per renderle completamente resistenti alla luce diretta del sole. La scelta si è rivelata efficace, ma troppo dispendiosa in termini di tempo. A partire dal secondo anno si è deciso di sostituire la tecnica in 2 fasi (scrittura e protezione), con una tecnica che permettesse di ottenere gli stessi obiettivi in una sola fase. Ciò è stato possibile utilizzando il Papermate “Liquid Paper”, un correttore liquido a penna (bianchetto), il liquido dissecando si consolida in una patina gommosa resistente negli anni agli agenti atmosferici, soprattutto alla luce solare diretta. La misurazione degli individui è stata effettuata per 3 anni consecutivi, in entrambe le popolazioni, dal 2009 al 2011 ad intervalli regolari di un anno. Purtroppo, nell'intervallo tra il censimento del 2009 e quello del 2010 il poligono di rilevamento impiantato sul Sagro è stato pesantemente danneggiato da un gruppo di 14 capre inselvatichite, le quali hanno anche cancellato quasi tutti gli identificativi degli individui scritti sulla roccia, vanificando un anno di rilevamenti. Il periodo migliore per il censimento è quello in cui c'è la fruttificazione nella maggioranza dei riproduttivi (Morris & Doak, 2002; Iriundo *et al.*, 2009). Questo periodo deve essere individuato il primo anno ed i rilevamenti degli anni successivi vanno effettuati negli stessi giorni per incorporare la stocasticità ambientale (Iriundo *et al.*, 2009). Nel corso dei sopralluoghi preliminari, svolti per

individuare i periodi più adatti ed effettuati a partire dal giugno 2009, è stato rilevato un importante dato inedito: *Centaurea montis-borlae* Soldano è una specie clonale, in cui è presente una forte riproduzione vegetativa: un singolo *genet* emette, infatti, molti *ramets* per via rizomatoso. Questo dato ha condizionato completamente la scelta dell'unità campionaria essendo infatti impossibile distinguere un *genet* dall'altro senza agire in maniera distruttiva sulla popolazione, vanificando in questo modo il fine ultimo della PVA che è la conservazione. I singoli *ramets* invece sono ben distinguibili perché caratterizzati da un'unica rosetta basale; di conseguenza si è deciso di usare come unità campionaria il ***ramet*** (Dickerman & Wetzel, 1985; Nault & Gagnon, 1993; Nantel *et al.*, 1996; Sampaio *et al.*, 2005) ed è a quest'ultimo termine che ci si riferirà sempre in seguito nella accezione di individuo.

I periodi individuati nel 2009 differiscono molto tra le due popolazioni, trovandosi i due poligoni di monitoraggio a quote differenti. A Foce di Pianza (1300 m s.l.m.) il periodo era compreso tra il 21 e il 24 luglio inclusi, invece sullo Spigolo Est del Sagro (1530 m s.l.m.) tra il 18 e il 21 agosto. Per determinare le misure degli individui è stato usato un righello millimetrato flessibile di carta plastificata, per non arrecare danni alle piante durante le operazioni.

Per ogni individuo è stato rilevato:

1. il diametro massimo della rosetta basale (per gli individui riproduttivi è stato misurato anche il getto florale più lungo) con approssimazione al millimetro;
2. lo stadio di sviluppo (plantula, vegetativo, riproduttivo);
3. lo stato fenologico dei riproduttivi: la presenza di fiori e/o di frutti;
4. il numero di fiori;
5. il numero di frutti;
6. eventuali osservazioni: patologie, brucamento, etc.

Tutti i dati sono stati annotati e riportati su un foglio di lavoro Microsoft Excel (Fig.10)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	Individuo	Misure		Area	Stato di sviluppo			Stato fenologico			Fior i	Frut ti	Osservazioni eventuali
2	N°	h	Ø	cm2	P	V	R	Fi	Fr	Fi•Fr	N°	N°	
3	1	0.10	8.20	0.41		x							danneggiato
4	2	0.10	9.80	0.49		x							
5	3	2.00	9.00	9.00			x		x			1	brucato
6	4	4.50	5.00	11.25			x		x			1	brucato
7	5	0.10	4.50	0.23		x							
8	6	0.10	4.00	0.20		x							
9	7	0.10	3.00	0.15		x							fiore abortito
10	8	0.10	5.50	0.28		x							
11	9	0.10	5.00	0.25		x							
12	10	0.10	4.50	0.23		x							
13	11	0.10	7.20	0.36		x							
14	12	0.10	3.80	0.19		x							
15	13	0.10	11.60	0.58		x							
16	14	0.10	5.50	0.28		x							
17	15	11.00	8.70	47.85			x		x			1	2° fiore abortito

Fig. 10 – Foglio di lavoro Excel con i dati riguardanti gli individui

Le differenze morfologiche tra individui non riproduttivi (plantule, vegetativi) e riproduttivi hanno prodotto dei dati non omogenei e quindi non confrontabili tra loro. Per omogeneizzare i dati si è deciso di procedere, secondo le indicazioni di Frost (1990), Morris & Doak (2002) e Vicens *et al.* (2004), riconducendo la forma della pianta ad un triangolo e quindi calcolando l'area di questo triangolo che ha per base il segmento $\overline{AB}$ (diametro massimo della rosetta basale) e per altezza h (lunghezza del getto florale più lungo)(Fig. 11); nei non riproduttivi quest'altezza è stata fissata per convenzione a 0,1 cm. Nel foglio di lavoro Excel è stata inserita una formula per calcolare le aree direttamente dai dati di diametro e altezza.

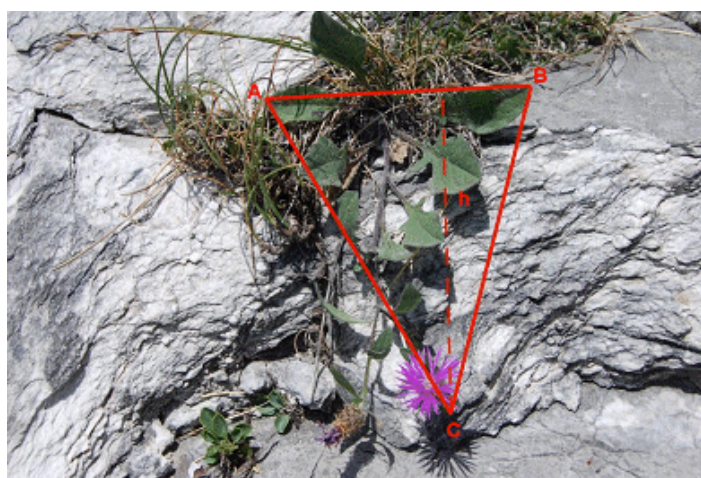


Fig. 11 – Misurazioni di *Centaurea montis-borlae*

5.6 Monitoraggio e misurazione plantule *in situ* ed *ex situ*

Per ottenere la taglia massima che una plantula può avere al momento della rilevazione dei dati sulla struttura di popolazione e quantificare numericamente il limite del primo stadio di accrescimento, sono state individuate, marcate e monitorate, al di fuori del poligono di monitoraggio per la PVA, 16¹¹ plantule dal 28 aprile 2010 al 21 luglio 2010 in località Foce di Pianza. A partire dal 01 giugno e fino al 21 luglio ne è stata anche misurata la rosetta basale utilizzando un righello di carta plastificata flessibile; quest'ultima operazione è stata volutamente ritardata perché una misurazione effettuata nelle prime fasi di sviluppo delle plantule le avrebbe sicuramente danneggiate, compromettendone il futuro accrescimento.

Come già anticipato (cfr. par. 5.3) è stato monitorato anche lo sviluppo delle plantule germinate *ex situ* all'Orto Botanico di Pisa per confrontare i rispettivi accrescimenti.

Le plantule, piantate originariamente in vasetti di plastica in numero di 5-6 per vasetto e tenute in serra, sono state trapiantate in vasetti di coccio di 10 cm di diametro (1 per vasetto) e portate all'aperto dopo averle inserite al centro di vasi più grandi riempiti di agriperlite, questo per far sì che le radici a contatto con le pareti del vasetto non venissero danneggiate dall'eccessivo riscaldamento da parte del sole. In data 14 maggio 2010, per testare il successo di un eventuale reintroduzione, 14 plantule sono state trapiantate assieme al substrato dei loro vasetti, in fessure della roccia all'Orto Botanico di Pian della Fioba (MS), sulle Alpi Apuane.

5.7 Fattori di rischio e danni

I fattori di rischio che possono accrescere le probabilità di estinzione della *Centaurea montisborlae* Soldano sono stati valutati a livello locale, relativamente al contesto ambientale delle Alpi Apuane secondo il “Threats Classification Scheme (Version 3.0)” IUCN del 2008 (Salafsky *et al.*, 2008). La valutazione è stata effettuata sia con osservazione diretta che con consultazione delle banche dati della Provincia di Massa-Carrara e del Corpo Forestale dello

¹¹ il numero non elevato di plantule è giustificato dalla loro rarità e dall'estrema difficoltà nel loro reperimento

Stato. I danni subiti dalle popolazioni (pascolo, predazione, parassitismo etc.) sono stati quantificati in percentuale.

5.8 Rilevamento densità di popolazione

Per avere una stima del numero totale degli individui delle popolazioni di Foce di Pianza e Spigolo Est del M. Sagro le aree occupate sono state prima suddivise in subaree omogenee di uguale esposizione ed inclinazione, utilizzando uno script di ArcView GIS 3.2a.

Questa suddivisione preliminare è stata fatta anche per verificare l'ipotesi che la distribuzione, e quindi la densità, della pianta nelle due stazioni fosse legata a questi due fattori: esposizione ed inclinazione.

Sono stati usati 3 intervalli di inclinazione, identificati da un valore numerico:

1. $> 0^\circ \leq 33^\circ \rightarrow 10$

2. $> 33^\circ \leq 66^\circ \rightarrow 20$

3. $> 66^\circ \leq 90^\circ \rightarrow 30$

4 sono state invece le suddivisioni usate per l'esposizione, identificate da un valore numerico:

1 N $>315^\circ \leq 45^\circ \rightarrow 1$

2 E $>45^\circ \leq 135^\circ \rightarrow 2$

3 S $>135^\circ \leq 225^\circ \rightarrow 3$

4 O $>225^\circ \leq 315^\circ \rightarrow 4$

Dalle diverse combinazioni di esposizione ed inclinazione è stata costruita la seguente griglia:

	0-33	33-66	66-90
N 315-45	11	21	31
E 45-135	12	22	32
S 135-225	13	23	33
O 225-315	14	24	34

Associando un colore differente ad ogni numero, si è ottenuta una mappatura nella quale le subaree omogenee sono facilmente individuabili (Fig.12).

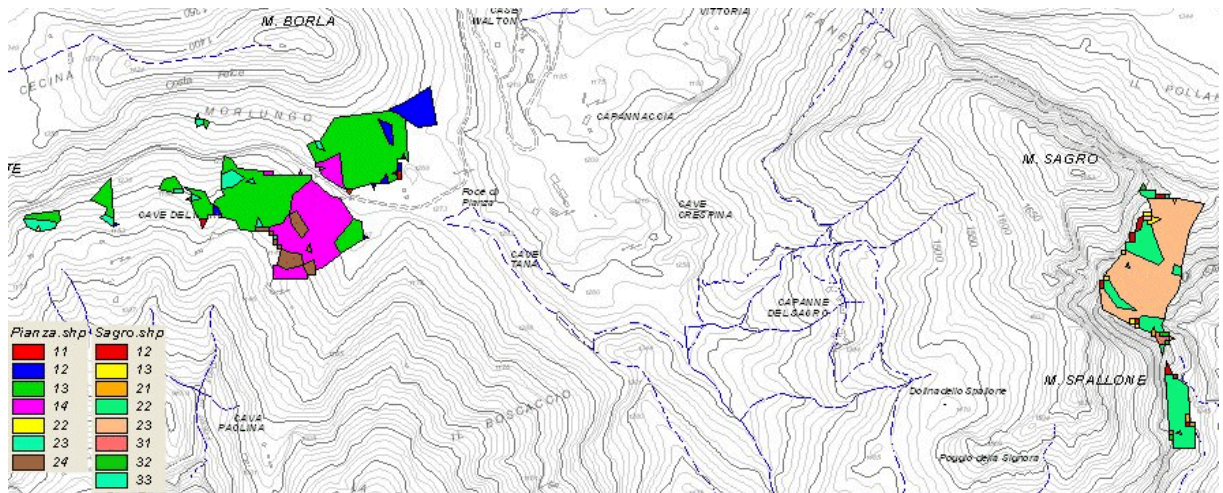


Fig. 12 – Subaree omogenee di Pianza e Sagro e relativa legenda

Dalla mappatura sono state escluse le aree contenenti frammenti di prateria e le aree dove l'inclinazione superava i 90° (pareti aggettanti) perché è stato osservato che in queste due tipologie di habitat la pianta non vegeta; il risultato di questa operazione è che la superficie utilizzata per il rilevamento della densità di popolazione è minore dell'Area Occupata.

È stata calcolata, tramite ArcView, la superficie di ogni subarea e la sua percentuale rispetto all'area totale della rispettiva popolazione. I rilevamenti sono stati condotti in modo proporzionale alle percentuali, abbastanza agevolmente a Foce di Pianza e nei limiti del possibile sullo Spigolo Est del M. Sagro.

Dopo aver effettuato alcune prove con unità di campionamento differenti e cioè quadrati da 1 m², 4 m², 16 m² e 100 m² si è deciso di utilizzare il quadrato da 16 m² perché rappresenta il compromesso migliore tra praticità e variabilità.

Utilizzando il plugin "GridMaker" di ArcView è stata costruita una griglia virtuale, per ogni popolazione, con quadrati di 4 metri di lato in modo da coprire interamente le due popolazioni; i quadrati sono stati numerati progressivamente da sinistra verso destra e dall'alto verso il basso; per mezzo della funzione "Random" di Excel sono stati selezionati dei numeri casuali ed i rilevamenti sono stati effettuati nei quadrati corrispondenti, trasferendo la mappa georeferenziata con la griglia e i quadrati scelti su un GPS portatile.

Da giugno ad ottobre 2011 sono stati effettuati 41 rilevamenti a Foce di Pianza e 16 rilevamenti sullo Spigolo Est del M. Sagro, sono stati costruiti quadrati precisi utilizzando una cordella metrica e misurando sia i lati che le diagonali, è stato poi contato il numero totale degli individui il cui centro della rosetta basale ricadesse all'interno di ogni quadrato di rilevamento.

Durante il conteggio gli individui sono anche stati suddivisi per stadi di accrescimento (plantule, vegetativi e riproduttivi) per confrontare la struttura di popolazione ricavata con quella ottenuta nelle rispettive aree di monitoraggio.

Per ogni subarea è stata calcolata la densità media (espressa come $\frac{\text{individui}}{\text{m}^2}$) e l'intervallo di confidenza del 95%, quindi la densità media di ogni subarea è stata moltiplicata per la rispettiva superficie ottenendo il numero di individui per ogni subarea; infine tutti i dati relativi alle subaree sono stati sommati per ottenere il numero totale di individui e l'intervallo di confidenza del 95%.

5.9 Analisi chimiche

Sono state eseguite analisi chimiche su 52 campioni complessivi tra rocce, terreni, piante e campioni di prova, presso i laboratori del Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Geoscienze e Georisorse di Pisa. Queste analisi sono state condotte per individuare gli elementi chimici che *Centaurea montis-borlae* assorbe dal terreno ed eventualmente capire se la distribuzione estremamente ristretta e puntuale di questa specie sia dovuta anche a fattori edafici, dato che essa vegeta quasi esclusivamente su un substrato di marmo.

Le analisi si sono articolate in 3 fasi:

1. Preparazione dei campioni
2. Digestione acida dei campioni
3. Analisi con Spettrofotometro ICP

Preparazione dei campioni

I campioni di suolo raccolti sono stati divisi dalla frazione organica più grossolana (erba, radici, insetti, etc.) mediante riconoscimento a vista e con l'uso di pinzette. Successivamente sono stati vagliati con un vaglio di teflon con maglie di 1mm^2 per separare la frazione più fine dalle particelle di terreno. La frazione organica finissima è stata separata mediante scuotimento meccanico del campione vagliato e successiva asportazione dello strato superficiale, quindi i campioni di suolo sono stati essiccati in stufa per due giorni a $+50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Dopo l'essiccazione sono stati macinati e ridotti a polvere impalpabile mediante un mortaio con pestello di agata. I campioni di roccia sono stati lavati con H_2O deionizzata e spazzolati per ripulirli dal terreno, messi a essiccare in stufa a $+50\text{ }^{\circ}\text{C}$, macinati e ridotti a polvere impalpabile mediante un mortaio con pestello di agata. I campioni di piante sono stati divisi in fusto, fiore (dove era presente), foglie, radici e rizomi, collocati in becker in vetro riempiti di H_2O deionizzata, quindi sottoposti a cicli di lavaggi in vasca ad ultrasuoni della durata di 10 minuti per ciascun ciclo. Questo trattamento si è reso necessario per ripulire completamente le diverse parti delle piante da eventuali residui di suolo che ne avrebbero falsato l'analisi. Una volta ripulite le diverse parti delle piante sono state essiccate in stufa per 1 giorno a $+50\text{ }^{\circ}\text{C}$, immerse in Azoto liquido ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) e macinate fino a dimensioni impalpabili con mortaio e pestello di agata. Dopo la macinazione, tutti i campioni di roccia, suolo e piante, sono stati raccolti in contenitori sterili di plastica ed etichettati con numeri progressivi.

Digestione acida dei campioni

Per le reazioni di digestione acida dei campioni di roccia e suolo è stata usata una frazione di ogni campione ($\sim 1\text{ g}$), accuratamente pesata con bilancia analitica con approssimazione al decimillesimo di grammo, ed inserita in appositi tubi di teflon unitamente a 5 ml di Acqua Regia (3 ml HNO_3 superpuro + 2 ml HCl 37%) seguendo le indicazioni di Hoenig (2001).

La reazione di digestione è stata accelerata utilizzando il forno a microonde Mars Xpress con il seguente programma:

1. 2 minuti a 100 °C (in rampa)
2. 2 minuti a 140 °C (in rampa)
3. 4 minuti a 140 °C (in mantenimento)
4. 2 minuti a 180 °C (in rampa)
5. 16 minuti a 180 °C (in mantenimento)
6. 10 minuti raffreddamento

Il tamburo del forno a microonde è costituito da 8 tubi di teflon, quindi per ogni serie ne sono stati preparati 7 contenenti Acqua Regia + campioni ed uno di prova contenente solo Acqua Regia (bianco). Una volta completato il raffreddamento i campioni sono stati filtrati in matracci utilizzando filtri GF92 (Schleicher & Schuell) Ø 50 mm, il livello totale del liquido nei matracci è stato portato a 20 ml aggiungendo H₂O Milli-Q ed infine il contenuto dei matracci è stato versato in bottigliette di plastica da 50 ml etichettate con numero progressivo, preventivamente lavate con HNO₃ e H₂O Milli-Q, per evitare inquinamenti.

Per le reazioni di digestione acida delle piante è stata usata una frazione di ogni campione (~ 0,2 g), accuratamente pesata con bilancia analitica con approssimazione al decimillesimo di grammo, ed inserita in appositi tubi di teflon unitamente a 5 ml HNO₃ superpuro + 3 ml H₂O₂ 30% seguendo le indicazioni di Rodushkin *et al.* (1999). La reazione di digestione è stata accelerata utilizzando il forno a microonde Mars Xpress con il seguente programma:

1. 2 minuti a 100 °C (in rampa)
2. 2 minuti a 140 °C (in rampa)
3. 4 minuti a 140 °C (in mantenimento)
4. 2 minuti a 180 °C (in rampa)
5. 16 minuti a 180 °C (in mantenimento)

6. 10 minuti raffreddamento

Il tamburo del forno a microonde è costituito da 8 tubi di teflon, quindi per ogni serie ne sono stati preparati 7 contenenti $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2 +$ campioni ed uno di prova contenente solo $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ (bianco). Una volta completato il raffreddamento i campioni sono stati filtrati in matracci utilizzando filtri GF92 (Schleicher & Schuell) Ø 50 mm, il livello totale del liquido nei matracci è stato portato a 20ml aggiungendo H_2O Milli-Q ed infine il contenuto dei matracci è stato versato in bottigliette di plastica da 50 ml etichettate con numero progressivo, preventivamente lavate con HNO_3 e H_2O Milli-Q, per evitare inquinamenti.

Analisi con Spettrofotometro ICP

Tutti i campioni così preparati sono stati analizzati utilizzando uno Spettrofotometro ad emissione ottica con sorgente al plasma accoppiato induttivamente (ICP-OES), modello Optima 2000DV (Dual View) della Perkin Elmer, in grado di rilevare concentrazioni inferiori a 10^{-9} . (Fig. 13)



Fig.13 – Spettrofotometro ICP-OES Perkin Elmer mod.Optima 2000 DV

Le analisi sono state effettuate per conoscere le concentrazioni dei seguenti elementi: Alluminio, Antimonio, Argento, Arsenico, Bario, Berillio, Boro, Cadmio, Calcio, Cobalto, Cromo, Ferro, Magnesio, Manganese, Mercurio, Nichel, Piombo, Rame, Selenio, Stagno, Stronzio, Tallio, Uranio, Vanadio e Zinco.

I risultati, espressi in mg/l sono stati normalizzati, moltiplicandoli per il volume totale del matraccio, sottraendo il contenuto del rispettivo campione bianco e dividendo il tutto per il peso del campione; le concentrazioni finali quindi sono espresse in µg/g.

5.10 Indagini sui meccanismi di impollinazione

La bassa percentuale di acheni fertili in ogni singolo capolino e l'elevato tasso di riproduzione vegetativa ci hanno portato a studiarne le possibili cause, ipotizzando tra queste la bassa fertilità del polline e la biologia riproduttiva. Per questo sono stati osservati giornalmente 18 individui riproduttivi nel periodo 2-13 agosto 2010. Ogni capolino è stato osservato dallo sbocciamiento fino al disseccamento ad intervalli di 24 h, annotando ogni variazione riguardante la situazione degli stimmi. Alcuni capolini sono stati isolati con panno-carta per evitare l'impollinazione eterologa.

Una volta completato il ciclo di fioritura i capolini sono stati tutti prelevati e i loro stili e stigmi analizzati in laboratorio per verificare la presenza del tubetto pollinico. Le analisi sono state svolte seguendo il protocollo di Dafni & Kevan (2003).

Sono stati usati i seguenti composti:

1. Etanolo (70%) (C_2H_5OH)
2. Floxina-B ($C_{20}H_2Br_4Cl_4Na_2O_5$)
3. Methyl-green ($C_{26}H_{33}N_3Cl_2$)
4. Gel di Glicerina ($C_3H_8O_3$)

Il colorante è stato preparato mescolando 2,5 ml di methyl-green con 2 ml di floxina-B (in soluzione alcolica al 50%) quindi gli stili e stimmi sono stati posti su vetrini da microscopio e ricoperti con una goccia di colorante, i vetrini sono stati passati velocemente su fiamma per velocizzare il disseccamento del colorante, quindi ai preparati è stata aggiunta una goccia di gel di Glicerina e sono stati pressati delicatamente con un vetrino coprioggetti prima dell'osservazione con microscopio ottico. Il colorante ha la proprietà di colorare in rosso il

citoplasma e in verde-blu l'esina, quindi anche la sporopollenina risulta verde-blu e i tubetti pollinici risultano rossi. Tutti i preparati sono stati osservati al microscopio ottico a 125 ingrandimenti e fotografati.

5.11 Indagini sui meccanismi di dispersione

Una delle cause della distribuzione estremamente ristretta di *Centaurea montis-borlae* potrebbe essere la ridotta efficienza dei mezzi di dispersione che, nel caso della specie in esame, sono acheni provvisti di pappo (cipsele). Per questo sono stati studiati i suoi possibili meccanismi di dispersione. In natura esistono diversi meccanismi di dispersione dei semi che possono essere ricondotti, secondo Bakker *et al.* (1996), a tre gruppi principali:

1. dispersione ad opera del vento (anemocoria)
2. dispersione ad opera dell'acqua (idrocoria)
3. dispersione ad opera di animali (zoocoria)

A questi si aggiungono l'autocoria (es. *Ecballium elaterium* (L.) A.Rich.), e l'antropocoria che rientra però tra gli eventi occasionali ed accidentali che possono causare dispersione.

Dispersione ad opera del vento

Sono stati compiuti numerosi studi sui meccanismi di dispersione dei semi muniti di pappo e sulla loro efficienza (Burrows, 1973; Burrows, 1975; Greene & Johnson, 1989; Greene & Johnson, 1993; Jongejans & Schippers, 1999; Meyer & Carlson, 2001; Nathan *et al.*, 2001; Nathan *et al.*, 2002; Soons & Heil, 2002; Nathan *et al.*, 2011); da questi studi si evince che la dispersione dei semi muniti di pappo dipende dai seguenti fattori chiave:

1. la massa della cipsela (M)
2. il diametro del pappo (D)
3. l'altezza di rilascio dal suolo (H)
4. la velocità terminale (V_t)
5. la velocità orizzontale del vento (u) tra l'altezza di rilascio e il suolo

In precedenza (cfr. par. 5.2) sono già state descritte le modalità con cui sono stati ottenuti i dati sulla massa (M), il diametro (D) e l'altezza di rilascio dal suolo (h_r) delle cipsele della specie oggetto di studio.

La velocità terminale (V_t) è stata calcolata usando la seguente equazione (Burrows, 1973; Soons & Heil, 2002):

$$V_t = \frac{\sqrt{M}}{D} \cdot \sqrt{\frac{g}{\frac{1}{8}\pi \cdot \rho_a \cdot C_D}} \quad (5.1)$$

M= massa cipsela

D= diametro pappo

g= accelerazione di gravità

ρ_a = densità dell'aria

C_D = coefficiente di resistenza aerodinamica

Tutte le variabili dell'equazione (5.1) sono note, tranne il coefficiente di resistenza aerodinamica. Questo coefficiente è dipendente dalla forma, quindi per gli acheni provvisti di pappo, ai fini della nostra indagine, si può assumere che la forma sia simile a quella di un paracadute conico¹² e quindi usare lo stesso C_D (Knacke, 1992).

Con questa assunzione il secondo termine dell'equazione (5.1) diviene una costante e la velocità terminale dipende quindi dalla massa della cipsela e dal diametro del pappo.

La distanza di dispersione di un qualsiasi seme rilasciato da una certa altezza viene determinata dalla seguente formulazione balistica (Nathan *et al.*, 2011):

$$D = \frac{h_r \cdot \bar{u}}{V_t} \quad (5.2)$$

h_r = altezza di rilascio

$\bar{u}$ = velocità media orizzontale del vento tra l'altezza di rilascio e il suolo

¹² in realtà il paracadute conico essendo chiuso è molto più efficiente del pappo e quindi ha un C_D più elevato

V_t = velocità terminale del seme

La velocità orizzontale effettiva del vento decresce in maniera logaritmica dall'alto verso il basso fino a raggiungere il valore zero in prossimità del suolo.

Per determinare a quale distanza dalla pianta madre gli acheni vengono trasportati dal vento sono state eseguite 100 simulazioni utilizzando:

1. masse e diametri degli acheni misurati
2. l'altezza massima di rilascio dal suolo misurata durante i rilevamenti
3. velocità orizzontale del vento pari alla raffica più forte misurata nel periodo luglio-agosto, durante la disseminazione (dati 2009-2011 consorzio LAMMA)

Altre 100 simulazioni sono state fatte aumentando di 3,5 volte l'intensità della più forte raffica di vento registrata in quelle zone nel periodo luglio-agosto. Utilizzando i dati di dispersione ottenuti per le due simulazioni e mediante SPSS 17.0 sono stati generati dei grafici di distribuzione normale i quali mostrano la reale efficienza delle cipsele di *Centaurea montis-borlae* in relazione alla dispersione anemocora.

Dispersione ad opera dell'acqua

Sia a Foce di Pianza che nello Spigolo Est del Monte Sagro i pavimenti rocciosi marmorei, su cui cresce la specie, sono più o meno profondamente incisi dall'azione erosiva dell'acqua meteorica, soprattutto in corrispondenza delle fessure nelle quali vegetano gli individui. Vi è quindi la probabilità che gli acheni possano essere veicolati dall'acqua, poiché questa probabilità è anche in funzione del peso degli acheni (Cerdà & García-Fayos, 2002), sono state stimate le probabilità di dispersione in base ai pesi misurati con bilancia analitica. Una dispersione di questo tipo è chiaramente unidirezionale dall'alto verso il basso. Le osservazioni compiute sul campo sono state usate per validare o no questo meccanismo di dispersione.

Dispersione ad opera di animali

La forma delle cipsele è stata confrontata con quelle di altri semi che usano questo meccanismo di dispersione. Il dato è stato integrato da osservazioni compiute in natura sugli animali presenti nello stesso habitat della specie, per validare o no questo meccanismo di dispersione.

5.12 Suddivisione in stadi di accrescimento e ottenimento matrici di transizione

La suddivisione in classi o stadi di accrescimento è uno dei requisiti fondamentali per poter ottenere una matrice di transizione, ed è anche un passaggio chiave nell'ambito della PVA perché una sottostima dei reali stadi di accrescimento fa perdere dati importanti su alcune transizioni di classe, mentre una sovrastima porta allo sviluppo di una matrice in cui, fra alcune classi, non vi sono transizioni; in tutti e due i casi si giunge a risultati errati (Morris & Doak, 2002).

Il criterio usato nel presente lavoro è stato quello di seguire il più fedelmente possibile lo sviluppo naturale della specie in esame, partendo da una suddivisione fondamentale in 3 stadi di accrescimento: **plantule**, **vegetativi** e **riproduttivi** ed eventualmente aggiungendo altri stadi una volta individuati (ad es. la riserva di seme nel suolo o i grandi riproduttivi).

Trattandosi di un'analisi quantitativa sono stati fissati dei limiti dimensionali tra gli stadi di accrescimento: per le plantule è stata seguita la metodologia descritta nel paragrafo 5.6; gli individui vegetativi con l'omogeneizzazione dei dati descritta nel paragrafo 5.5 sono risultati avere valori di aree molto inferiori del più piccolo dei riproduttivi; dato l'esiguo numero di riproduttivi questi ultimi non sono stati ulteriormente suddivisi.

Per meglio capire le dinamiche della specie sono state seguite 2 strade parallele e i risultati ottenuti sono stati poi confrontati tra loro:

1. sono stati mantenuti i 3 stadi fondamentali (P,V,R)

2. è stata invece operata una suddivisione all'interno degli individui vegetativi, trattandosi di una classe con un numero molto elevato di individui e che quindi potrebbe avere al suo interno transizioni altrimenti non osservabili. (P,V₁,V₂,R)

Per suddividere gli individui vegetativi è stata utilizzata la funzione di raggruppamento per K-medie (K-means clustering) del programma SPSS Statistic 17.0 (Iriondo *et al.*, 2009).

Il metodo delle K-medie rappresenta l'algoritmo più diffuso per la definizione di raggruppamenti di tipo non gerarchico. L'algoritmo segue i passi generali di una procedura non gerarchica con alcune varianti che consentono di raggiungere più velocemente la soluzione ottimale.

1. Si scelgono G punti iniziali che fungono da centri provvisori (la scelta può essere causale o guidata da un criterio empirico). Si costruisce la partizione iniziale assegnando ogni punto al gruppo il cui centro risulta più vicino.
2. Si calcolano i baricentri dei gruppi ottenuti attraverso il processo di aggregazione del passo precedente. Si assumono i baricentri appena calcolati come nuovi “*centri provvisori*”.
3. Si ripete il procedimento di allocazione delle unità ai centri sulla base della minima distanza. Ad ogni assegnazione di un nuovo punto a un nuovo gruppo, si procederà alla rideterminazione del baricentro del nuovo e del vecchio gruppo. Si itera la partizione tornando al passo 1.
4. Se tra un passo e il successivo non vi sono riallocazioni dei punti tra un gruppo e un altro, la procedura si arresta in quanto la partizione ottenuta può ritenersi soddisfacente.

Il programma esegue i punti 1-4 automaticamente; una colonna, contenente le aree di tutti gli individui censiti è stata inserita come gruppo da analizzare, escludendo le aree troppo piccole o troppo grandi e inserendo 4, 3 o 2 suddivisioni. Il programma fornisce i centri delle

suddivisioni ed assegna ad ogni area un numero corrispondente alla suddivisione. Per conoscerne i limiti basta ordinare le aree in maniera crescente e verificare dove cambia il numero assegnato nella colonna adiacente. Le suddivisioni da tenere in considerazione sono quelle che portano a gruppi costituiti da molti individui perché, trattandosi di una ripartizione artificiale, se vi sono pochi individui in un gruppo le transizioni osservate per quel gruppo saranno ugualmente poche. Utilizzando il precitato metodo la classe è stata divisa in piccoli (V_1) e grandi (V_2) vegetativi. **Per ottenere le matrici di transizione** i dati relativi alle dimensioni di ciascun individuo, espressi in cm^2 (cfr. par. 5.5), sono stati inseriti incolonnati in un foglio di lavoro Microsoft Excel; una funzione, in base al valore numerico e ai limiti delle classi fissati in precedenza, assegna automaticamente una classe all'individuo e la indica con il numero corrispondente in una colonna adiacente, questo viene ripetuto per ogni individuo e per ogni anno di rilevamento. Le colonne con le classi di ogni individuo al tempo (t) e ($t + 1$) vengono confrontate da una ulteriore funzione che, in base alle varie combinazioni, assegna un valore numerico differente ad un gruppo di $n + 1$ colonne di cambio di classe con $n =$ numero delle classi, la colonna in più serve per i nuovi nati e i morti (ad esempio se un individuo era in classe 2 e l'anno successivo passa in classe 3 allora nella colonna corrispondente alla classe 2, alla riga di quell'individuo, si troverà il n.3; se un individuo in classe 4 retrocede alla classe 2 nella colonna corrispondente alla classe 4, alla riga di quell'individuo si troverà il n.2). Le incongruenze sono state corrette manualmente (ad es: una plantula quindi classe 1, anche se rimane delle stesse dimensioni l'anno successivo non può rimanere in classe 1, perché non è più una plantula quindi deve essere assegnata alla classe 2). In basso al termine di ogni colonna di cambio di classe vi sono tante righe quante sono le classi: nella prima riga della prima colonna viene fatta la somma di tutti i numeri "1" presenti in quella colonna, nella seconda riga viene fatta la somma di tutti i numeri "2" e così via fino ad ottenere una tabella $n \times n$. I numeri presenti nella prima colonna della tabella

rappresentano gli individui che dalla classe 1 sono transitati nelle altre classi, i numeri presenti nella seconda colonna rappresentano gli individui che sono transitati dalla classe 2 nelle altre classi e così di seguito secondo lo schema seguente:

da a	1	2	3	4
1	$a_{1,1}$	$a_{1,2}$	$a_{1,3}$	$a_{1,4}$
2	$a_{2,1}$	$a_{2,2}$	$a_{2,3}$	$a_{2,4}$
3	$a_{3,1}$	$a_{3,2}$	$a_{3,3}$	$a_{3,4}$
4	$a_{4,1}$	$a_{4,2}$	$a_{4,3}$	$a_{4,4}$

Dividendo i numeri presenti in ogni colonna della tabella per il numero totale degli individui censiti in quella classe l'anno precedente si ottengono così i tassi di transizione riferiti ad un singolo individuo per ogni classe, tassi che opportunamente sommati ai valori riproduttivi di ogni classe, vanno a costituire la matrice di transizione. Il valore riproduttivo di una data classe è il numero di nuovi individui a cui quella classe ha dato origine (plantule o cloni) diviso il numero totale di individui presenti in quella classe al censimento precedente.

5.13 Modelli matematici PVA

Con i dati sperimentali, raccolti sul campo e ottenuti in laboratorio, è stato possibile impiegare dei modelli matematici strutturati per poter eseguire la PVA di *C. montis-borlae*.

Lo studio di dinamiche di popolazioni strutturate (per età, o per stadi di accrescimento) può essere condotto utilizzando dei modelli basati sulle **matrici di transizione**, oppure utilizzando i **tassi vitali** che, secondo Morris & Doak (2002), rappresentano le “particelle elementari” della demografia. Nella presente tesi di dottorato, dove è stato possibile¹³, sono stati impiegati tutti e due gli approcci. Le metodologie usate sono state descritte separatamente e i risultati finali sono stati confrontati. Sono stati impiegati modelli indipendenti dalla densità, cioè non si è posto un limite all'eventuale crescita delle popolazioni. Tutte le simulazioni relative alla

¹³ solo per la popolazione di Foce di Pianza

PVA sono state condotte per mezzo di modelli specifici per il programma matematico MATLAB[®], realizzati da Bill Morris e Daniel Doak e descritti nel libro: “Quantitative Conservation Biology, Theory and Practice of Population Viability Analysis” (Morris & Doak, 2002). Questi modelli sono scaricabili gratuitamente dal sito <http://www.sinauer.com/PVA/>. In seguito, ogniqualvolta si farà riferimento ad uno di questi modelli, verrà usato il nome del programma virgolettato e in corsivo. Per le simulazioni è stata usata la versione R2008b di MATLAB[®].

Matrici di transizione

Una volta ottenute le 2 matrici di transizione (2009→2010 e 2010→2011) è stata ricavata la matrice media, semplicemente facendo la media aritmetica degli elementi corrispondenti nelle 2 matrici. Utilizzando la matrice media risultante (per la popolazione del Sagro è stata utilizzata l'unica matrice possibile dopo il danneggiamento del poligono di monitoraggio e cioè 2010→2011), attraverso il plugin di Excel “Poptools” (scaricabile gratuitamente dal sito <http://sunsite.univie.ac.at/spreadsite/poptools/>), sono stati calcolati, per ogni popolazione:

1. il tasso finito di crescita deterministico (λ), corrispondente all'autovalore dominante della matrice
2. il valore riproduttivo di ogni classe (v), corrispondente all'autovettore sinistro dominante della matrice
3. la distribuzione stabile¹⁴ nelle classi (w), corrispondente all'autovettore destro dominante della matrice
4. i grafici di ciclo vitale
5. la proiezione della popolazione, divisa in stadi di accrescimento, per 100 anni
6. la matrice di sensitività (S)
7. la matrice di elasticità (E)

¹⁴ la dizione distribuzione stabile non implica che la popolazione è “stabile” cioè non cresce o declina, ma piuttosto implica che le proporzioni degli individui in ogni classe sono stabili, anche se la densità totale della popolazione aumenta o si riduce (Morris & Doak, 2002)

Il tasso annuale di crescita di una popolazione (λ_t) è definito dalla seguente equazione:

$$N_{t+1} = \lambda_t \cdot N_t \quad (5.3)$$

N_{t+1} = n. individui al tempo t+1

N_t = n. individui al tempo t

dall'equazione (5.3) deriva che se $\lambda_t > 1$ la popolazione cresce da un anno all'altro, invece se $\lambda_t < 1$ la popolazione si riduce. Se si assume che la variabilità ambientale è =0 da un anno all'altro allora lambda diviene costante (Morris & Doak, 2002). Questo tipo di lambda viene detto **deterministico** perché non tiene conto della stocasticità ambientale; viene indicato senza indice (λ) prendendo nomi diversi a seconda degli autori:

1. tasso finito di crescita (Gotelli, 2001)
2. tasso geometrico di crescita (Brigham & Schwartz, 2003)
3. tasso a lungo termine (definitivo) di crescita (Morris & Doak, 2002)

Matematicamente (λ) è l'**autovalore dominante della matrice di transizione media**.

Il valore riproduttivo è definito come il contributo relativo alla crescita della futura popolazione che si prevede dia un individuo attualmente in una determinata classe (Morris & Doak, 2002).

Gli andamenti deterministici delle 2 popolazioni rispetto al tempo sono stati computati in forma grafica con il programma “*RandDraw*” inserendo come impostazioni:

1. il tasso finito di crescita deterministico (λ) ricavato dalle matrici di transizione
2. la stima della consistenza attuale della popolazione ricavata dai rilevamenti di densità
3. tre intervalli temporali: 10, 20 e 100 anni come prescritto dalle linee guida IUCN (IUCN, 2011)

Nei grafici ottenuti vengono visualizzati: in ascisse il tempo (Time) e in ordinate il numero di individui della popolazione (Population size).

Per utilizzare alcune simulazioni è stato creato un file MATLAB “matricipianza.m” contenente le matrici di transizione 2009→2010 e 2010→2011 chiamate rispettivamente A09 e A10.

Secondo quanto già anticipato nel paragrafo 1.3 è stato calcolato anche (solo per la popolazione di Foce di Pianza) il tasso di crescita stocastico (λ_s) utilizzando 2 algoritmi differenti:

1. simulazione stocastica
2. per mezzo dell'approssimazione di Tuljapurkar (Morris & Doak, 2002),

L'approssimazione di Tuljapurkar è basata sull'assunzione che vi sia una piccola variazione tra le matrici annuali. La sua espressione in forma matematica è la seguente:

$$\ln \lambda_s \approx \ln \bar{\lambda} - \frac{1}{2} \left(\frac{\tau^2}{\bar{\lambda}^2} \right) \quad (5.4)$$

$\bar{\lambda}$ = autovalore dominante della matrice media

τ^2 = sommatoria del prodotto tra le covarianze e gli autovalori delle sensitività di ogni elemento della matrice rispetto a tutti gli altri elementi.

In forma matematica τ^2 è definita così:

$$\tau^2 = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n \sum_{k=1}^n \sum_{l=1}^n Cov(a_{ij}, a_{kl}) \cdot \bar{S}_{ij} \cdot \bar{S}_{kl}$$

n= numero delle classi

a_{ij} = un qualsiasi elemento della matrice

a_{kl} = un qualsiasi elemento della matrice differente da a_{ij}

$\bar{S}_{ij}$ = sensitività di λ rispetto all'elemento a_{ij} della matrice, definita come la derivata parziale

di λ rispetto a a_{ij} ($S_{ij} = \frac{\partial \lambda}{\partial a_{ij}}$) misura quanto un cambiamento assoluto in un qualsiasi

elemento della matrice potrà determinare un cambiamento assoluto in λ .

Il programma usato è stato “*Stoc_log_lam*” con le seguenti impostazioni:

1. lettura matrici dal file “matricipianza.m”
2. 50000 intervalli di tempo da simulare (il modello richiede un numero elevato)

Si è ottenuto come risultato 2 diverse formulazioni di λ_s : la prima con la simulazione stocastica e la seconda con l'approssimazione di Tuljapurkar.

Sono state calcolate quindi le probabilità di quasi-estinzione rispetto al tempo con 2 modelli che impiegano i 2 differenti algoritmi.

Il programma che impiega la simulazione stocastica “*Simext*” è stato fatto girare con le seguenti impostazioni:

1. lettura matrici dal file “matricipianza.m”
2. il tempo della simulazione fissato in 200 anni
3. 5000 simulazioni
4. il vettore della popolazione attuale [P; V; R], ricavato dalla struttura di popolazione
5. la soglia di quasi-estinzione, espressa come densità (individui/ha)

Il programma genera un grafico con il tempo in ascisse e le probabilità di quasi-estinzione, visualizzate come funzione di distribuzione cumulativa¹⁵, in ordinate.

Il programma che impiega l'approssimazione di Tuljapurkar “*Box7.6*” è stato fatto girare con le seguenti impostazioni:

1. lettura matrici dal file “matricipianza.m”
2. il vettore della popolazione attuale [P; V; R], ricavato dalla struttura di popolazione
3. il tempo della simulazione fissato in 200 anni
4. la soglia di quasi-estinzione, espressa come densità (individui/ha)

Il programma genera un grafico analogo a quello di “*Simext*”, i risultati sono stati messi a confronto.

¹⁵ la funzione di distribuzione cumulativa per una variabile aleatoria continua X è definita come la probabilità che la variabile X assuma un qualsiasi valore minore di un valore x : $P(X < x) = F(x)$

Tassi vitali

I tassi vitali fondamentali sono 3:

1. tasso di fertilità (f_i) è la proporzione di nuovi individui ai quali un individuo nella classe “ i ” ha dato vita durante l’intervallo tra i due censi, senza tenere conto se questi sopravvivono o no al prossimo censo
2. tasso di sopravvivenza (s_i) è la proporzione di individui nella classe “ i ” al censo precedente che sono ancora vivi al censo successivo
3. tasso di crescita (g_{ij}) è la proporzione di individui che sono transitati dalla classe “ j ” alla classe “ i ” da un censo all’altro

Tutti i tassi vitali sono stati calcolati utilizzando i dati raccolti sul campo durante i rilevamenti annuali e, per la suddivisione in 3 stadi di accrescimento, sono rappresentati da 11 numeri:

- s_1, s_2, s_3 tassi di sopravvivenza
- $g_{21}, g_{22}, g_{23}, g_{31}, g_{32}, g_{33}$ tassi di accrescimento
- f_2, f_3 tassi di fertilità

Seguendo le indicazioni di Morris & Doak (2002) per costruire un modello stocastico con i tassi vitali sono state utilizzate la media, la varianza e la correlazione tra questi ultimi.

La media e la varianza sono state corrette con il metodo di Kendall: un algoritmo che calcola questi due indici riducendo la variazione di campionamento.

Il programma usato è stato “*Kendall*” inserendo in 4 colonne:

1. l’identificativo del tasso vitale (numero da 1 a 11)
2. l’anno (1 o 2)
3. numero di individui iniziale
4. numero di individui finale
5. numero di anni (2)
6. numero di classi (11)

“Kendall” ha restituito: la media, la media con probabilità massima (MLE, Maximum Likelihood Estimate), la varianza, la varianza con probabilità massima, la varianza con probabilità massima corretta.

La correlazione tra i tassi vitali è stata costruita sotto forma di matrice 11x 11 utilizzando la funzione “Pearson” in Microsoft Excel. La matrice di correlazione è stata corretta, per ovviare al piccolo numero di osservazioni, per mezzo del programma “*AnalyzeCorrs*” che ha restituito una nuova matrice di correlazione 11x11, la quale è stata copiata nel file “centcorrin.mat” creato appositamente.

Si è quindi proceduto a creare un file MATLAB: “centmxdef” per definire gli elementi di una matrice costruita con i tassi vitali secondo lo schema seguente:

0	0	f_3
$s_1 \cdot g_{2,1}$	$(s_2 \cdot g_{2,2}) + f_2$	$s_3 \cdot g_{2,3}$
$s_1 \cdot g_{3,1}$	$s_2 \cdot g_{3,2}$	$s_3 \cdot g_{3,3}$

La probabilità di quasi-estinzione e il tasso stocastico di crescita per *Centaurea montis-borlae* sono stati calcolati con il programma “*Vitalsim*” inserendo come parametri iniziali:

1. la media dei tassi vitali
2. la varianza dei tassi vitali
3. lettura dati dal file “centcorrin.mat”
4. lettura dati dal file “centmxdef.m”
5. il vettore della popolazione attuale [P; V; R], ricavato dalla struttura di popolazione
6. soglia di quasi-estinzione espressa come densità (individui/ha)
7. numero di anni da simulare (100)
8. numero di simulazioni (1000)

“*Vitalsim*” ha restituito i valori di λ , λ_s ed ha generato un grafico con il tempo in ascisse e le probabilità di quasi-estinzione, visualizzate come funzione di distribuzione cumulativa, in ordinate.

5.14 Sensitività ed Elasticità stocastiche

Il valore aggiunto, rispetto ad altre indagini demografiche, delle analisi di PVA è che queste ultime consentono di simulare diverse condizioni di gestione, soprattutto nell'ottica di un piano di conservazione, attraverso l'analisi di Sensitività¹⁶ e di Elasticità (Beissinger & McCullough, 2002). La **Sensitività** di un elemento qualsiasi di una matrice (a_{ij}) rispetto a λ è già stata definita nel paragrafo precedente come la misura di quanto un cambiamento assoluto in un qualsiasi elemento della matrice potrà determinare un cambiamento assoluto in λ (Caswell, 2001). L'**Elasticità** di un elemento qualsiasi di una matrice (a_{ij}) rispetto a λ è la misura di quanto un cambiamento proporzionale in un qualsiasi elemento della matrice potrà determinare un cambiamento proporzionale in λ (Caswell, 2001).

Dal punto di vista matematico l'elasticità è definita dalla seguente formula:

$$E_{a_{ij}} = \frac{a_{ij}}{\lambda} \cdot \frac{\partial \lambda}{\partial a_{ij}} = \frac{\partial \lambda / \lambda}{\partial a_{ij} / a_{ij}} \quad (5.5)$$

Dalla (5.5) si evince che più alto è il valore di $E_{a_{ij}}$ e maggiore sarà la proporzione del cambiamento in λ .

I valori deterministici, sia dell'Elasticità che della Sensitività, sono stati calcolati con il metodo descritto a pag. 58. Nelle matrici risultanti i valori più elevati sono stati evidenziati in grassetto. I valori stocastici dell'Elasticità e della Sensitività per Foce di Pianza sono stati calcolati utilizzando il programma “*Stochsens*”. Nelle matrici risultanti i valori più elevati sono stati evidenziati in grassetto.

5.15 Simulazioni di gestione

I diversi scenari sono stati simulati tenendo conto soprattutto della biologia della specie (Mills *et al.*, 1999; Mills *et al.*, 2001) Le azioni di conservazione e di gestione devono essere attuate

¹⁶ nella maggior parte degli studi di PVA quando si parla di “Analisi di sensitività” in realtà ci si riferisce a valori di Elasticità (Morris & Doak, 2002)

in accordo con il “Conservation Actions Classification Scheme (Version 2.0)” IUCN del 2008 (Salafsky *et al.*, 2008)

5.16 Raccolta campioni ed analisi DNA

Per conoscere la variabilità genetica sia intrapopolazionale che tra le due popolazioni si è deciso di procedere all'analisi del DNA. Nello studio della vitalità di una popolazione la ridotta variabilità genetica e la depressione da inbreeding assumono maggiore importanza al decrescere della popolazione diventando fattori fondamentali al di sotto dei 250 individui per le specie con riproduzione sessuata e al di sotto dei 1000 individui per le specie con riproduzione prevalentemente clonale (Beissinger & McCullough, 2002; Brigham & Schwartz, 2003). Le aree occupate dalle due popolazioni sono state divise in quadrati di 100 m² utilizzando il plugin “Gridmaker” di ArcView3.2; ad ogni quadrato è stato assegnato un valore numerico progressivo da sinistra a destra e dall'alto verso il basso. Utilizzando la funzione Random di Excel sono stati scelti 50 quadrati casuali per Foce di Pianza e 50 quadrati casuali per lo Spigolo Est, avendo l'accortezza per quest'ultima stazione di evitare la zona centrale in quanto inaccessibile. Tra il 10-08-10 e il 27-08-10 sono stati raccolti 50 campioni di foglie provenienti da individui della popolazione di Foce di Pianza e 50 campioni provenienti da individui della popolazione del M. Sagro. I campioni (4 foglie per ogni individuo) sono stati avvolti in carta stagnola, contrassegnati con sigle alfanumeriche progressive, per distinguere sia gli individui che le due popolazioni, ed immediatamente inseriti in un contenitore contenente N₂ liquido a -196°C, successivamente sono stati trasferiti in frigo a -80°C nell'Orto Botanico di Pisa in attesa di essere processati per l'estrazione e la purificazione del DNA. Dato l'elevato tasso di riproduzione clonale e le differenze minime tra gli individui della stessa popolazione si è deciso di usare come marcatori i microsatelliti nucleari (SSR markers). La difficoltà in questo tipo di approccio sta nel fatto di individuare primers adatti che amplifichino i microsatelliti nucleari. Per questo sono stati usati dei lavori,

presenti in letteratura, riguardanti l'identificazione e caratterizzazione di primers di specie appartenenti al genere *Centaurea* (Frèville *et al.*, 2000; Marrs *et al.*, 2006; Merle *et al.*, 2010). Sono stati quindi condotti degli studi preliminari per verificare se i primers usati in altre specie funzionassero, sono stati usati i seguenti primers :

1. AF241185 (GenBank ID) specifico per il locus SSR 28A7
2. AF241181 (GenBank ID) specifico per il locus SSR 13D10

L'estrazione ed amplificazione del DNA è stata eseguita con il kit REDEExtract-N-Amp™ Plant PCR della Sigma-Aldrich®, che si è rivelato molto semplice da utilizzare, oltre ad essere l'unico in grado di amplificare il DNA di *Centaurea montis-borlae*.

Una porzione di foglia del diametro di 0,5 cm è stata asportata dal campione S1, inserita in una fiala da 2 ml e sono stati aggiunti 100 µl di "Extraction solution" il contenuto della fiala è stato agitato brevemente e posto a 95°C per 10 minuti avendo cura che la soluzione ricoprisse interamente la porzione di foglia; poi sono stati aggiunti 100 µl di "Dilution solution" e il tutto è stato agitato per mescolare. L'estratto è stato aggiunto, in una fiala da 20 µl, ai reagenti per eseguire l'amplificazione con la PCR (Polimerase Chain Reaction) seguendo le quantità contenute nella seguente tabella:

Acqua per PCR	5,2 µl
REDEExtract-N-Amp PCR ReadyMix	10 µl
Forward primer	0,4 µl
Reverse primer	0,4 µl
Estratto	4 µl
Volume totale	20 µl

La reazione è stata condotta utilizzando un termociclatore VWR® modello DOPPIO in dotazione al laboratorio di biologia vegetale del Dipartimento di Biologia presso l'Orto Botanico di Pisa; impostata secondo i seguenti parametri:

Step	T	Tempo	Cicli
Denaturazione iniziale	94 °C	3 minuti	1
Denaturazione	94 °C	1 minuti	32
Allineamento	54 (57) ¹⁷ °C	1 minuti	32
Estensione	72 °C	2 minuti	32
Estensione finale	72 °C	10 minuti	1
Conservazione	4 °C	Indefinito	

La verifica dell'amplificazione è stata fatta utilizzando l'elettroforesi su gel di agarosio: i prodotti della PCR sono stati inseriti con l'ausilio di micropipette nei pozzetti ricavati nel gel di agarosio all'1% e bromuro di etidio ($C_{21}H_{20}BrN_3$), è stato usato anche un marker di controllo in un altro pozzetto. Dopo la corsa elettroforetica i risultati sono stati analizzati ai raggi UV e fotografati. Non si è potuto proseguire ulteriormente per mancanza di budget.

¹⁷ i due primer differiscono nella T di allineamento : 54°C per 28A7 e 57°C per 13D10

6. RISULTATI

6.1 Area Occupata

Le Aree Occupate, suddivise nelle due popolazioni, sono risultate:

Foce di Pianza: 111741 m²

Spigolo Est M. Sagro: 65754 m²

Totale: 177495 m²

I poligoni di monitoraggio hanno le seguenti superfici

Foce di Pianza: 322 m²

Spigolo Est M. Sagro: 246 m²

Le Aree Occupate dalla popolazione dello Spigolo est del M. Sagro, scoperta nel 2009 (Vaira *et al.*, 2010), e dalla popolazione di Foce di Pianza sono visualizzate in Fig. 14 (in rosa le AOO, in azzurro i poligoni di monitoraggio).

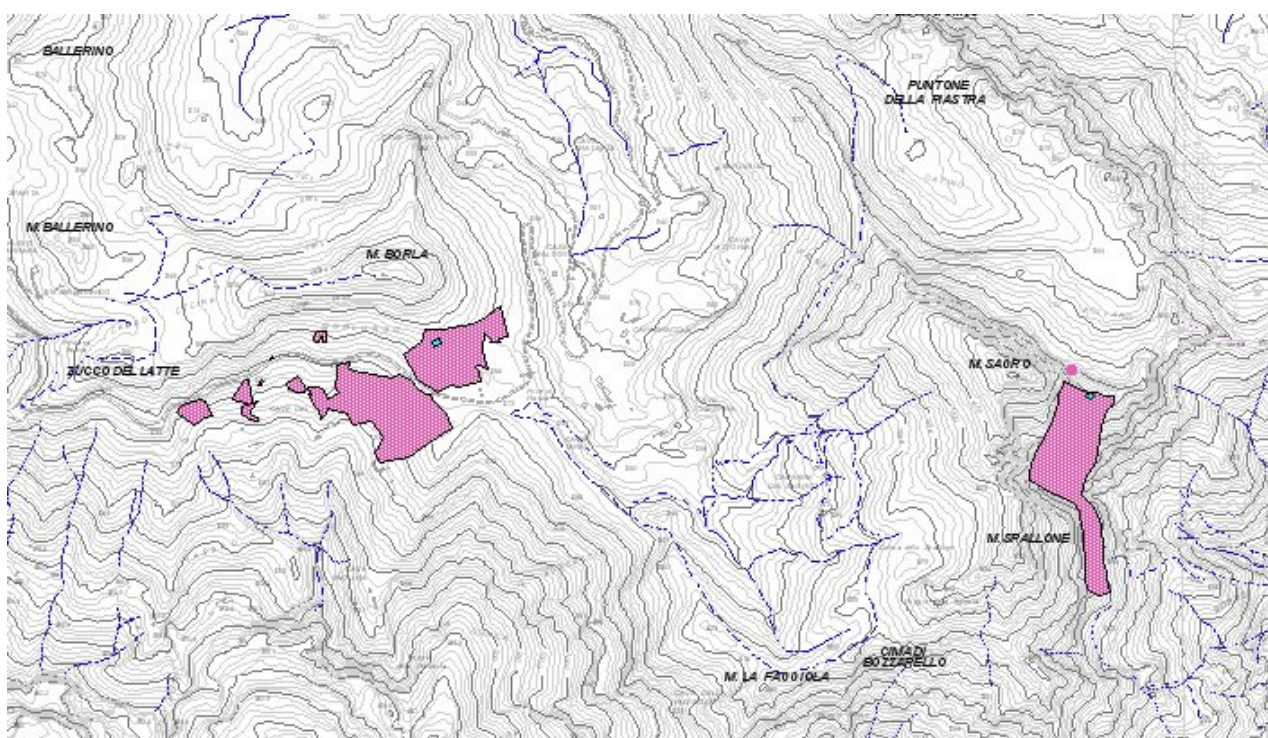


Fig. 14 – Area Occupata da *Centaurea montis-borlae* Soldano

6.2 Dati relativi ai capolini raccolti

I capolini prelevati nel 2009 (Tab. 1) dal n. 1 al n. 14 sono stati raccolti in data 02-07-09; quelli dal n.15 al n.32 sono stati raccolti in data 08-07-09; quelli dal n. 33 al n. 52 sono stati raccolti in data 29-07-09 e non contengono i dati relativi al numero di fiori perché i fiori a quella data non erano più presenti. I capolini prelevati nel 2010 (Tab. 2) sono stati raccolti tutti lo stesso giorno in data 5-07-10.

Capolino n.	altezza dal suolo (mm)	Larghezza massima (mm)	Lunghezza massima (mm)	N. fiori	N. acheni fertili integri	N. acheni non fertili (vuoti)	N. acheni abortiti degenerati	N. acheni fertili bucati da parassiti	N. totale acheni
1	5	10	10	53	7	11	17	0	35
2	8	9	14	55	14	3	25	0	42
3	7	9	16	48	17	3	14	0	34
4	14	7	13	40	6	6	14	0	26
5	10	8	14	37	19	0	11	0	30
6	6	9	14	44	7	4	24	0	35
7	9	7	12	36	0	8	19	0	27
8	6	9	12	53	0	1	40	0	41
9	5	10	13	55	10	10	21	0	41
10	8	10	16	52	2	10	29	0	41
11	5	10	17	51	16	3	18	0	37
12	9	7	12	42	5	5	21	0	31
13	7	10	15	71	23	3	27	0	53
14	6	8	13	53	13	0	26	0	39
15	23	10	15	58	19	0	27	7	53
16	15	9	14	50	0	1	28	3	32
17	8	10	15	51	13	6	12	1	32
18	9	10	16	62	25	9	18	0	52
19	5	10	14	56	12	0	38	0	50
20	13	8	16	37	3	0	15	6	24
21	20	8	12	51	3	1	29	0	33
22	11	12	17	54	9	11	28	0	48
23	9	7	12	35	6	1	9	0	16
24	7	8	13	27	3	4	12	0	19
25	26	12	16	67	14	0	48	0	62
26	8	9	15	49	7	0	28	0	35
27	7	11	15	48	18	2	20	0	40
28	14	9	14	43	6	0	25	0	31
29	12	10	14	41	20	0	9	0	29
30	9	10	16	55	0	0	36	0	36
31	9	11	16	56	17	16	9	0	42
32	11	9	14	46	7	14	11	0	32
TOTALI				1576	321	132	708	17	1178
MEDIA		9.25	14.22	49.25	10.03	4.13	22.13	0.53	36.81
%					27.25	11.21	60.10	5.30	100.00
33	15	8	14		0	9	4	1	14
34	13	8	12		0	4	21	0	25
35	7	10	17		0	0	25	1	26
36	16	8	14		0	0	23	0	23
37	11	8	12		0	0	20	0	20
38	8	9	14		0	0	21	0	21
39	5	10	15		0	21	0	0	21
40	10	9	13		0	1	12	0	13
41	13	8	12		0	0	23	0	23
42	16	8	12		0	21	0	0	21
43	22	8	13		0	0	7	0	7
44	9	6	13		0	0	6	0	6

45	21	9	14		0	0	22	0	22
46	15	8	14		0	0	25	0	25
47	14	7	12		1	1	15	1	18
48	19	7	15		0	0	9	0	9
49	10	9	12		8	5	24	2	39
50	9	8	14		0	0	27	0	27
51	17	10	15		0	0	9	0	9
52	12	9	12		0	0	17	0	17
TOTALI				1576	330	194	1018	22	1564
MEDIA	11.21	8.91	13.93	49.25	6.35	3.73	19.58	0.42	30.08
%					21.10	12.40	65.09	6.25	100.00

Tab. 1 – Dati relativi ai capolini raccolti nel 2009

Gli acheni fertili rappresentano il 21.1% del totale, i vuoti il 12.40% mentre il 65.09% è rappresentato da acheni abortiti. I parassiti hanno colpito il 6.25% degli acheni fertili (1.41% degli acheni totali).

Capolino n.	altezza dal suolo (mm)	N. fiori sterili	N. fiori fertili	N. acheni fertili integri	N. acheni non fertili (vuoti)	N. acheni abortiti degenerati	N. acheni bucati da parassiti	N. totale acheni
1	12	17	44	27	1	16	0	44
2	13	13	28	0	12	9	0	21
3	7			19	1	4	0	24
4	9	17	46	20	5	14	0	39
5	14	15	29	0	11	18	0	29
6	22	13	25	5	6	17	0	28
7	11	13	26	4	0	6	0	10
8	5	13	27	4	9	15	0	28
9	9	21	48	5	0	43	0	48
10	11	17	40	9	2	30	0	41
11	13	11	28	5	0	21	2	28
12	17	15	33	28	0	4	0	32
13	12	15	25	0	0	9	16	25
14	10	16	32	17	5	10	0	32
15	13	16	36	29	0	10	0	39
16	16	12	23	9	1	13	0	23
17	21	14	24	11	0	11	0	22
18	7	14	31	19	0	13	0	32
19	5	11	26	16	0	10	0	26
20	9	8	28	0	4	10	14	28
21	14	16	30	16	0	13	1	30
22	5	17	36	11	2	23	0	36
23	16	18	46	17	4	25	0	46
24	23	13	36	31	0	5	0	36
25	11	15	38	30	0	5	3	38
26	9	19	38	18	0	10	0	28
27	9	13	35	21	0	14	0	35
28	6	17	41	17	0	24	0	41
29	17	16	35	14	0	22	0	36
30	12	15	32	14	1	18	0	33
31	10	7	28	0	0	8	20	28
32	18	15	30	1	0	8	21	30
33	16	20	49	21	0	28	0	49
34	19	16	22	1	0	5	16	22
35	23	8	18	5	0	14	0	19
36	22	16	46	22	0	24	0	46
37	15	13	36	24	0	12	0	36
38	17	14	22	6	2	13	1	22
39	8	14	35	10	0	14	12	36
40	8	15	46	0	4	42	0	46
41	6	24	50	14	2	34	0	50
42	13	15	30	10	0	20	0	30

43	12	14	28	6	0	22	0	28
44	16	12	29	0	0	4	25	29
45	14	14	35	3	0	32	0	35
46	5	11	33	5	0	15	13	33
47	20	10	20	12	0	8	0	20
48	6	14	28	0	0	5	23	28
49	12	11	22	9	0	13	0	22
50	15	10	23	4	0	2	17	23
51	14	14	22	12	0	11	0	23
TOTALI		717	1618	581	72	776	184	1613
MEDIA	12.68	14.34	32.36	11.39	1.41	15.22	3.61	31.63
%				36.02	4.46	48.11	11.41	100

Tab. 2 – Dati relativi ai capolini raccolti nel 2010

Gli acheni fertili rappresentano il 36.02% del totale, i vuoti il 4.46% mentre il 48.11% è rappresentato da acheni abortiti. I parassiti hanno colpito l'11.41% degli acheni totali. Non è stato possibile stabilire la percentuale di acheni fertili colpita perché nella maggior parte dei casi gli acheni erano stati completamente distrutti dal parassita.

6.3 Prove di germinazione *in situ* ed *ex situ*

Prove di germinazione *in situ* iniziate nel novembre 2009.

Prima fase di osservazione sito di germinazione n.1 (calcare selcifero)

28 marzo 2010 = 4% germinati

28 aprile 2010 = 6% germinati

01 giugno 2010 = tutti i germinati sono morti

Seconda fase di osservazione sito di germinazione n.1 (calcare selcifero)

22 marzo 2011 = 0% germinati

28 aprile 2010 = 0% germinati

01 giugno 2010 = 0% germinati

Prove di germinazione *in situ* iniziate nel gennaio 2011

Controlli	Germinati vassoio n.1	Germinati vassoio n.2
24/02/11 (neve)	0	0
09/03/11	0	0
22/03/11	0	0
18/04/11	0	0
26/04/11	0	0
16/05/11	0	0
03/06/11	0	0
Totale	0%	0%

Prove di germinazione *ex situ* 1° ciclo pH 7,78 (Agar gel 1% + H₂O deionizzata)

1. Percentuale totale di germinazione = 70,39 %
2. T_{50} = 5 gg. dopo la fine della vernalizzazione => 65 gg. tot.
3. Deviazione standard delle 5 ripetizioni= 2,86
4. Tempo totale = 92 gg.
5. Ritardo di germinazione = 23 gg.

Prove di germinazione *ex situ* 1° ciclo pH 6,00 (Agar gel 1% + H₂O deionizzata + Tampone)

1. Percentuale totale di germinazione = 24,04 %
2. T_{50} = 41 gg. dopo la fine della vernalizzazione => 101 gg. tot.
3. Deviazione standard delle 5 ripetizioni= 1.34
4. Tempo totale = 142 gg.
5. Ritardo di germinazione = 23 gg.

Prove di germinazione *ex situ* 1° ciclo pH 8,00 (Agar gel 1% + H₂O deionizzata +Tampone)

1. Percentuale totale di germinazione = 0,00 %
2. T_{50} = 0 gg.
3. Deviazione standard delle 5 ripetizioni= 0
4. Tempo totale = 0 gg.
5. Ritardo di germinazione = 0 gg.

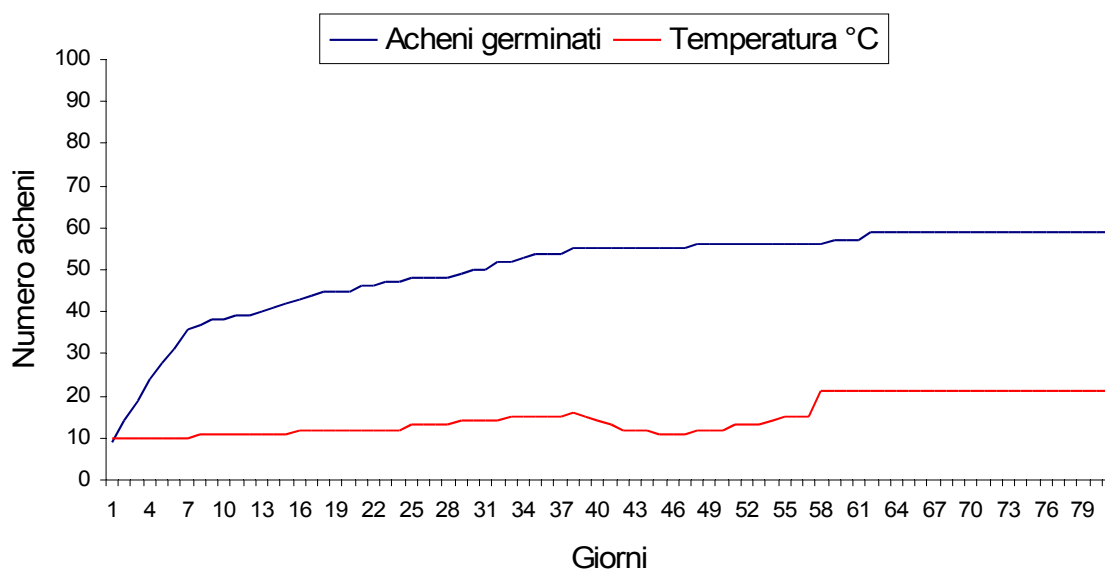


Fig. 15 – Andamento germinazione 1° ciclo pH 7,78.

Prove di germinazione *ex situ* 2° ciclo pH 7,78 (Agar gel 1% + H₂O deionizzata) acheni scarificati meccanicamente

1. Percentuale totale di germinazione = 0.00 %
2. T_{50} = 0 gg.
3. Deviazione standard delle 5 ripetizioni = 0
4. Tempo totale = 0 gg.
5. Ritardo di germinazione = 0 gg.

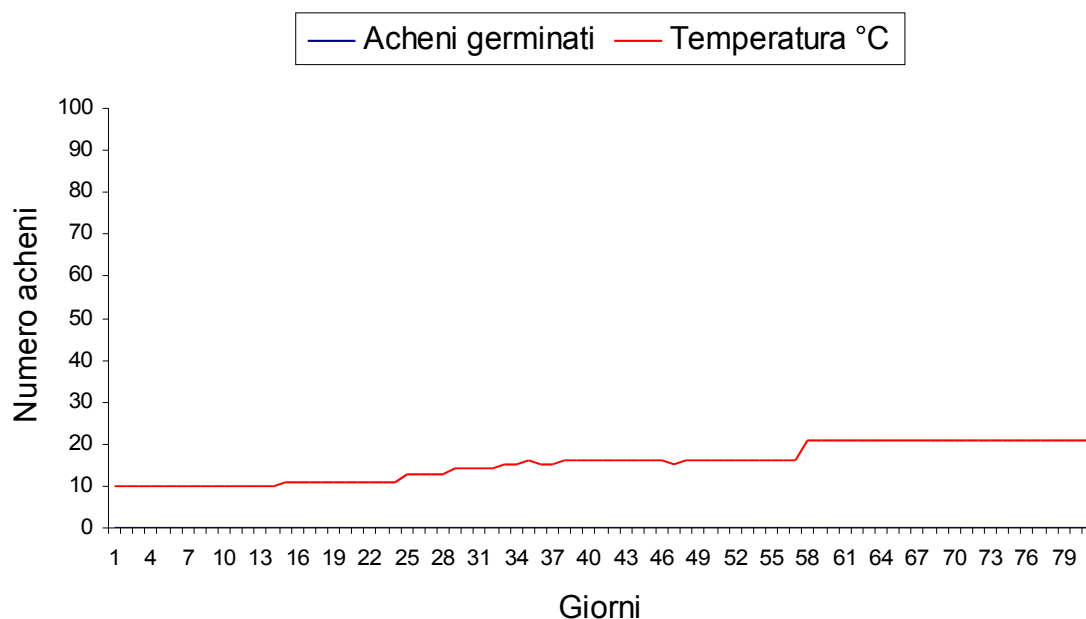


Fig. 16 – Andamento germinazione 2° ciclo pH 7,78.

6.4 Monitoraggio e misurazione plantule *in situ* ed *ex situ*

Nella tabella seguente sono riassunti i rilevamenti relativi alle plantule monitorate a Foce di Pianza dal 28-04-2010 al 21-07-2010 (v = viva; x = morta)

Data	28/04/10	16/05/10	24/05/10	01/06/10	03/07/10	21/07/10
Plantula				cm	cm	cm
1	v	v	v	1.7	x	x
2	v	v	v	1.2	1.5	x
3	v	v	v	1.2	x	x
4	v	v	v	1.8	2	x
5	v	v	v	1.7	1.8	1.8
6	v	v	v	0.7	1.8	2
7	v	v	v	1.5	x	x
8	v	v	v	1	x	x
9	v	v	v	1.5	1.8	2
10	v	v	v	2.4	3	3.1
11	v	v	v	2.7	2.9	3.1
12	v	v	v	2.5	3.3	3.7
13	v	v	v	2	2.8	3
14	v	v	v	2.2	2.4	2.5
15	v	v	v	2	2.4	2.6
16	v	v	v	2.3	2.7	3

La grandezza massima raggiunta dalle plantule monitorate è stata 3.7 cm quindi il limite della classe 1 è stato fissato $<0.19 \text{ cm}^2$; la media è stata di 2.7 cm. Nessuna plantula ha prodotto ramets durante il periodo di monitoraggio. Il tasso di mortalità alla fine del periodo di osservazione è stato del 37,5%.

Nella tabella seguente sono riassunti i monitoraggi effettuati sulle plantule nate da germinazione *ex situ*. Il monitoraggio è iniziato il giorno 29-01-2010, la tabella contiene i rilevamenti dal 19-04-10 al 04-06-10 (v = viva; x = morta)

Data	19/04/10	27/04/10	05/05/10	10/05/10	27/05/10	31/05/10	04/06/10
Plantula							
1	x	x	x	x	x	x	x
2	x	x	x	x	x	x	x
3	x	x	x	x	x	x	x
4	x	x	x	x	x	x	x
5	x	x	x	x	x	x	x
6	3.1	x	x	x	x	x	x
7	5.2	5.4	5.4	5.5	5.5	5.6	5.6
8	5.4	6	6	6	6	6	6.5
9	6.1	6.2	6.6	6.6	6.6	6.6	6.6
10	8.1	9	9.5	9.5	9.7	9.7	10
11	11.3	12	12	12.2	12.6	12.8	12.8
12	3.9	3.9	3.9	3.9	3.9	3.9	x
13	4.7	5	5.1	5.2	5.2	5.3	5.3
14	4	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	x
15	4.1	4.2	4.2	4.2	4.3	4.3	4.3
16	3.5	3.7	3.9	4	4	4.1	4.2
17	3.9	4	4	4	4	4	4
18	x	x	x	x	x	x	x
19	6.5	6.6	6.6	6.8	6.8	7	7
20	5.5	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7
21	4.1	4.3	4.3	4.3	4.3	4.3	4.3
22	5	5	5	5	5	5	5.1
23	6.2	6.6	6.6	6.6	6.6	6.6	6.6
24	4.2	4.9	4.9	4.9	4.9	4.9	4.9
25	3.6	3.8	3.8	4	4	4.1	4.2
26	4	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4
27	5.1	5.3	5.3	5.3	5.3	5.3	5.3
28	5.2	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5
29	4.9	5	5	5	5	5	5
30	4.7	5	5	5	5	5	5
31	x	x	x	x	x	x	x
32	3.8	4.2	4.2	4.2	4.4	4.4	4.4
33	2.5	2.7	2.7	2.7	2.7	2.7	x
34	3.4	3.6					
35	x	x	x	x	x	x	x
36	3.5	4					
37	3.3	3.9					
38	3.4	3.9					
39	3.7	4.1					
40	3.5	3.9					
41	3.6	4					
42	3.2	3.6					
43	x	x	x	x	x	x	x
44	4	4.3					
45	3.8	3.9	x	x	x	x	x
46	5	5.4					
47	5.1	6					
48	3.8	4					
49	x	x	x	x	x	x	x
50	2.1	2.2	x	x	x	x	x
51	2.2	2.4	x	x	x	x	x
52	3.7	4					
53	x	x	x	x	x	x	x
54	x	x	x	x	x	x	x
55	3.1	3.1					
56	v	v	v	x	x	x	x
57	v	v	v	2	2.6	3	3.2

58	v	v	v	1.5	x	x	x
59	v	x	x	x	x	x	x
60	v	v	v	x	x	x	x
61	v	v	v	3.3	3.6	4	4
62	v	v	v	3	x	x	x
63	v	x	x	x	x	x	x
64	v	v	v	1.8	2	x	x
65	v	x	x	x	x	x	x
66	v	v	v	1.5	x	x	x
67	v	v	v	x	x	x	x
68	v	v	v	2.1	3	3.6	3.9
69	v	v	v	2	x	x	x
70	v	x	x	x	x	x	x
71	v	v	x	x	x	x	x
72	v	v	x	x	x	x	x
73	v	v	x	x	x	x	x
74	v	x	x	x	x	x	x
75	v	x	x	x	x	x	x
76	x	x	x	x	x	x	x
77	x	x	x	x	x	x	x
78	x	x	x	x	x	x	x
79	x	x	x	x	x	x	x
80	x	x	x	x	x	x	x
81	x	x	x	x	x	x	x

In data 27 aprile 2010 la plantula n. 9 aveva emesso un ramet.

In data 5 maggio 2010 14 plantule (evidenziate in giallo) sono state portate presso l'orto botanico di Pian della Fioba (MS) per essere piantate nelle fessure della roccia con il contenuto dei vasetti; dopo circa 1 mese queste plantule erano tutte morte o deperienti.

Delle 81 plantule germinate inizialmente ne erano rimaste vive alla data del 04 giugno 2010 soltanto 25 quindi il tasso di mortalità alla fine del periodo di osservazione è stato del 69,14%. La grandezza massima raggiunta è stata di 12,8 cm la media 5,5 cm. L'anno successivo alla data del 24 maggio 2011 le piante rimaste in vita erano 15, il 18,51% dei germinati iniziali, tutte avevano emesso ramets e due erano fiorite (Fig.17).



Fig. 17 – Fioritura di *Centaurea montis-borlae* presso l'Orto Botanico dell'Università di Pisa

6.5 Struttura di popolazione

La struttura di popolazione risultante dai rilevamenti effettuati nelle aree di monitoraggio, divisa per le due popolazioni e per anno è la seguente:

Anno	2009			2010			2011		
Classe	P	V	R	P	V	R	P	V	R
F.D. Pianza %	8.96	84.73	6.31	1.08	78.45	20.47	2.97	81.11	15.92
S.E. M. Sagro %	3.27	94.43	2.3	0.54	97	2.45	0	95.29	4.71

Il numero di individui morti, suddivisi per anno, classe e popolazione è riassunto nella seguente tabella:

Anno	2010			2011		
Classe	P	V	R	P	V	R
Foce di Pianza	16	47	7	0	39	6
S.E. M. Sagro	0	8	0	0	86	1

La struttura di popolazione risultante dai rilevamenti di densità effettuati nel 2011, divisa per le due popolazioni e per anno è la seguente:

Anno	2011		
Classe	P	V	R
Foce di Pianza %	2.21	87.08	10.71
S.E. M. Sagro %	0	88.41	11.59

6.6 Fattori di rischio e danni

Sono stati rilevati i seguenti fattori di rischio

1. 2.3.1 Nomadic grazing (pregresso, presente, futuro)

Si tratta di un gruppo di 14 capre inselvatichite che vagano liberamente, pascolando nelle zone dove sono situate entrambe le popolazioni.

2. 3.2 Mining & quarrying (pregresso, presente, futuro)

L'attività di cava ha in passato ridotto l'area occupata, soprattutto a Foce di Pianza e, in maniera minore, sullo Spigolo Est del M. Sagro dove le cave sono abbandonate dal 1965 (Bradley & Medda, 1995). La zonazione del Parco Regionale delle Alpi Apuane

(cfr. par. 2.5) di fatto esclude qualsiasi apertura di nuove cave o riapertura di cave chiuse nelle zone delle due popolazioni.

3. 7.1 Fire (pregresso, presente, futuro)

La frequenza degli incendi è scesa con il passare degli anni per il progressivo abbandono della pastorizia; gli incendi che hanno interessato le zone dove sono situate le due popolazioni negli ultimi 15 anni sono stati:

17-03-1997 Monte Sagro;

-08-2002 Monte Borla;

05-02-2003 Monte Sagro;

22-07-2003 Campocecina.

Sono stati quantificati i seguenti danni:

2.3.1 Nomadic grazing

Anno	2009		2010		2011	
Classe	V	R	V	R	V	R
Foce di Pianza %	8,42	13,88	3,84	0,00	0,00	0,13
S.E. M. Sagro %	2,08	22,22	3,09	35,70	6,71	28,57

A questi vanno aggiunti anche i danni provocati dal calpestio delle capre.

Sono stati rilevati anche danni prodotti da parassiti sugli acheni e misurati in percentuale:

2009 = 6,25 % degli acheni fertili è risultato parassitato

2010= 11,41% degli acheni totali è risultato parassitato

6.7 Analisi chimiche

Nelle tabelle seguenti sono visualizzati i risultati delle analisi chimiche condotte nel 2010 su 26 campioni.

"ETICHETTA"	Pianta α foglie	Pianta α radici e fusto	Campione α - terreno (Marmi)	Campione β - terreno (Marmi)	Pianta β foglie	Pianta β fusto fiore rizoma
Calcio $\mu\text{g/g}$	14490.8	8474.0	388535.0	415069.5	12852.2	9252.0
Magnesio $\mu\text{g/g}$	1248.0	1254.5	12087.1	8059.5	889.6	471.2
Manganese $\mu\text{g/g}$	6.706114398	14.4	3.498053309	3.698083067	11.91658391	37.82976605
Ferro $\mu\text{g/g}$	34.51676529	18.9	61.29579714	65.29552716	3.972194638	27.87456446
Piombo $\mu\text{g/g}$	0.325443787	3.6	3.038833982	6.034345048	0.427010924	2.817322051
Cromo $\mu\text{g/g}$	0	0.3	0	0	0.099304866	0.099552016
Nichel $\mu\text{g/g}$	0.177514793	0.8	0	0	1.37040715	0.87605774
Alluminio $\mu\text{g/g}$	0	302.2	0	0	198.6097319	199.1040319
Antimonio $\mu\text{g/g}$	0	0.0	0.027952481	0.051916933	0	0
Argento $\mu\text{g/g}$	0	0.0	0	0.005990415	0	0
Arsenico $\mu\text{g/g}$	0	0.7	0	0	0.397219464	0.398208064
Bario $\mu\text{g/g}$	9.861932939	60.4	0.199660577	8.186900958	69.51340616	59.73120956
Berillio $\mu\text{g/g}$	0	0.0	0	0	0	0
Boro $\mu\text{g/g}$	19.72386588	40.2	0	0	59.58291956	39.82080637
Cadmio $\mu\text{g/g}$	0.256410256	0.7	0.087850654	0.09384984	0.427010924	0.6271777
Cobalto $\mu\text{g/g}$	0	0.0	0.041928721	0.027955272	0	0
Rame $\mu\text{g/g}$	8.08678501	15.6	0	0	6.256206554	7.565953211
Selenio $\mu\text{g/g}$	0	0.0	0	0	0.119165839	0
Stagno $\mu\text{g/g}$	0	0.0	0.045921933	0.125798722	49.65243297	39.82080637
Stronzio $\mu\text{g/g}$	9.171597633	7.7	47.61904762	47.62380192	11.22144985	8.262817322
Uranio $\mu\text{g/g}$	0	0.0	21.96266347	23.96166134	0	0
Vanadio $\mu\text{g/g}$	0.019723866	0.6	0	0.00798722	0.099304866	0.219014435
Zinco $\mu\text{g/g}$	19.72386588	79.7	0	0	69.51340616	79.64161274

"ETICHETTA"	Pianta β radici	Campione β - roccia (Marmi)	Campione 1 - terreno (Marmi)	Campione 2 - terreno (Marmi)	Campione 3 - terreno (Marmi)	Campione 1C - terreno (Marmi)
Calcio $\mu\text{g/g}$	9180.1	430843.4	397226.5	404796.4	414723.2	281500.6
Magnesio $\mu\text{g/g}$	591.3	4875.2	5500.7	5704.6	5951.7	22875.9
Manganese $\mu\text{g/g}$	42.6	0.918989112	3.576569372	4.772749975	3.575854487	3.1
Ferro $\mu\text{g/g}$	33.7	8.790330636	56.57736905	98.49165917	56.56606036	67.5
Piombo $\mu\text{g/g}$	4.6	0.051942863	0.219912035	13.10558386	2.318608835	10.7
Cromo $\mu\text{g/g}$	0.4	0	0.039984006	0.159824193	0.079952029	0.0
Nichel $\mu\text{g/g}$	1.4	0.399560483	0.029988005	0.143841774	0.053967619	0.2
Alluminio $\mu\text{g/g}$	247.1	0	399.840064	419.5385076	0	0.0
Antimonio $\mu\text{g/g}$	0.0	0	0	0	0.009994004	0.1
Argento $\mu\text{g/g}$	0.0	0	0	0	0	0.0
Arsenico $\mu\text{g/g}$	0.4	0	0	0	0	0.0
Bario $\mu\text{g/g}$	54.4	1.598241934	0	11.9868145	1.99880072	2.1
Berillio $\mu\text{g/g}$	0.0	0	0	0	0	0.0
Boro $\mu\text{g/g}$	39.6	0	49.980008	51.94286285	0	0.0
Cadmio $\mu\text{g/g}$	1.4	0	0	0	0.059964022	0.1
Cobalto $\mu\text{g/g}$	0.0	0.037958246	0.025989604	0.045949456	0.029982011	0.0
Rame $\mu\text{g/g}$	8.0	0	0	0	0	0.1
Selenio $\mu\text{g/g}$	0.1	0	0	0	0	0.0
Stagno $\mu\text{g/g}$	29.7	0	0	0	0	0.2
Stronzio $\mu\text{g/g}$	9.2	12.56617721	11.79528189	9.18989112	61.96282231	22.2
Uranio $\mu\text{g/g}$	0.0	0	0	0	31.98081151	57.0
Vanadio $\mu\text{g/g}$	0.7	0	0.035985606	0.111876935	0.051968819	0.1
Zinco $\mu\text{g/g}$	69.3	0	0	15.98241934	0	0.0

"ETICHETTA "	Campione 4 - terreno (Metabrecce)	Campione 5 - roccia (Calcare selcifero)	Campione 6 - roccia (Marmi)	Campione 7 - terreno (Calcare selcifero)	Campione 1A - terreno (Grezzoni)	Campione 1B - terreno (Marmi a megadolonti)	Campione 1 - roccia (Marmi)
Calcio µg/g	198121.9	62167.5	87222.9	26881.0	368007.1	326073.0	398664.4
Magnesio µg/g	48680.1	16768.4	7676.3	13864.0	10313.5	10690.4	9852.0
Manganese µg/g	4.572512984	11.0	20.5	18.9552537	3.099041534	3.3	2.498254016
Ferro µg/g	214.3427887	247.6	170.8	294.2469037	115.215655	95.4	35.31876684
Piombo µg/g	3.515781063	2.0	4.2	16.50019976	10.22763578	15.6	0.822109149
Cromo µg/g	0	0.1	0.1	0.139832201	0	0.0	0
Nichel µg/g	0.26368358	0.9	0.5	1.202556932	0	0.2	0
Alluminio µg/g	0	0.0	0.0	0	0	9.0	0
Antimonio µg/g	0	0.0	0.0	0	0.111821086	0.0	0
Argento µg/g	0	0.0	0.0	0.047942469	0.009984026	0.0	0
Arsenico µg/g	0	0.0	0.0	0	0	0.0	0
Bario µg/g	11.98561726	0.0	8.5	33.9592489	16.17412141	12.1	4.190362167
Berillio µg/g	0	0.0	0.0	0	0	0.0	0
Boro µg/g	0	0.0	0.0	0	0	0.0	0
Cadmio µg/g	0.065920895	0.0	0.0	0.203755493	0.219648562	0.2	0.115733812
Cobalto µg/g	0.113863364	0.3	0.2	0.31961646	0.043929712	0.0	0
Rame µg/g	0	0.1	0.0	0	0	0.2	0
Selenio µg/g	0	0.0	0.0	0	0	0.0	0
Stagno µg/g	0	0.0	0.0	0	0.26557508	0.3	0
Stronzio µg/g	25.9688374	9.6	6.3	8.789452657	47.62380192	28.2	49.58595231
Uranio µg/g	199.7602877	59.9	68.9	129.844187	67.8913738	66.9	27.93574778
Vanadio µg/g	0	0.0	0.1	0.271673991	0.127795527	0.1	0
Zinco µg/g	0	0.0	0.0	0	0	0.0	0

"ETICHETTA "	Campione 2 - roccia (Marmi)	Campione 3 - roccia (Marmi)	Campione 4 - roccia (Metabrecce)	Campione 7 - roccia (Calcare selcifero)	Campione 1A - roccia (Grezzoni)	Campione 1B - roccia (Marmi a megadolonti)	Campione 1C - roccia (Marmi)
Calcio µg/g	393597.7	406638.1	166633.1	242780.0	375035.2	339505.0	385479.9
Magnesio µg/g	6401.1	4388.5	92049.1	12912.6	4523.8	8095.2	22881.9
Manganese µg/g	3.699560527	3.415900919	2.81493312	17.61295482	1.816548558	2.017982018	3.194888179
Ferro µg/g	13.38393927	7.391130643	69.27530445	201.3194722	11.37838108	1.398601399	25.35942492
Piombo µg/g	0.42349181	0.693168198	0.572968656	2.433026789	0.193632099	0.333666334	0.447284345
Cromo µg/g	0	0	0	0	0	0	0
Nichel µg/g	0	0.021973632	0.027949691	0.457816873	0.095817946	0.137862138	0.239616613
Alluminio µg/g	0	0	0	0	0	0	67.8913738
Antimonio µg/g	0	0	0	0	0	0	0.019968051
Argento µg/g	0	0	0	0	0	0	0
Arsenico µg/g	0	0	0	0	0	0	0
Bario µg/g	0	4.994007191	2.994609703	26.98920432	0.598862162	0.999000999	1.397763578
Berillio µg/g	0	0	0	0	0	0	0
Boro µg/g	0	0	0	0	0	0	0
Cadmio µg/g	0.045944866	0.079904115	0.03393891	0.019992003	0.057890009	0.081918082	0.031948882
Cobalto µg/g	0	0	0.023956878	0.12195122	0.033935523	0.037962038	0.035942492
Rame µg/g	0	0	0	0	0	0	0.195686901
Selenio µg/g	0	0	0	0	0	0	0
Stagno µg/g	0	0.005992809	0.021960471	0.009996002	0	0	0.055910543
Stronzio µg/g	41.65001998	47.68278066	11.11998403	29.72810876	29.68360116	27.71228771	11.76118211
Uranio µg/g	25.9688374	31.96164602	61.88860052	27.98880448	29.94310809	101.8981019	57.90734824
Vanadio µg/g	0	0	0	0	0	0	0
Zinco µg/g	0	0	0	0	0	0	0

Nelle tabelle seguenti sono visualizzati i risultati delle analisi chimiche condotte nel 2011 su 13 campioni.

"ETICHETTA"	Campione ε1 - roccia (Filladi)	Campione ε2 - roccia (Metadolomie)	Pianta ε foglie	Pianta ε Fusto fiori e rizoma	Pianta δ Rizoma e radici	Pianta δ foglie
Calcio µg/g	30565.0	225036.0	2788.6	2000.6	9941.0	3643.2
Magnesio µg/g	12003.4	107011.2	408.2	120.6	291.8	324.2
Manganese µg/g			1.97	10.13	6140	1.55
Ferro µg/g			12.63	8.01	9640	12.07
Piombo µg/g			0.26	0.12	1720	0.1
Cromo µg/g			0.08	0.08	240	0.06
Nichel µg/g			0.19	0.17	240	0.15

"ETICHETTA"	Campione δ -terreno (Marmi)	Campione δ -rocce (Marmi)	Pianta γ Fusto fiori e rizoma	Pianta γ Foglie	Pianta γ radici	Campione γ -rocce (Marmi)	Campione γ -terreno (Marmi)
Calcio µg/g	328516.2	360560.6	4094.2	4141.6	3358.4	397352.4	30825.0
Magnesio µg/g	13373.4	25466.8	92.2	127.8	133.4	4488.2	804.2
Manganese µg/g			8.71	3.57	13.67		
Ferro µg/g			16.35	12.97	17.39		
Piombo µg/g			0.84	0.26	0.86		
Cromo µg/g			0.1	0.08	0.1		
Nichel µg/g			0.25	0.21	0.29		

6.8 Meccanismi di impollinazione

L'osservazione dei 18 capolini marcati ha evidenziato che il ciclo di fioritura di un singolo capolino può durare dai 7 agli 11 giorni ed è caratterizzato dalle seguenti fasi:

1. Apertura capolino, i fiori ligulati periferici (sterili) si distendono, i fiori tubulosi centrali sono tutti chiusi;
2. I fiori tubulosi cominciano ad aprirsi, a cominciare dai più periferici verso i più centrali (fioritura centripeta), lo stilo si distende e lo stigma bifido emerge ancora chiuso assieme al polline che viene spinto fuori da un ciuffo di peli presente all'apice dello stilo;
3. gli stigmi si aprono e divengono ricettivi, questa fase dura dalle 24 alle 48 ore;
4. gli stigmi posti nella zona periferica si chiudono ed ingialliscono;

5. gli stigmi posti nella zona centrale del capolino cominciano a degenerare senza chiudersi;
6. il capolino si richiude, i fiori sono tutti ingialliti.

In aggiunta ai pronubi osservati da Ansaldi *et al.* (2008), è stato osservato anche *Macroglossum stellatarum* L., mentre immergeva la spiritromba nei fiori di *Centaurea montis-borlae*, soprattutto durante le ore serali.

L'analisi degli stili e stigmi ha rivelato che i tubetti pollinici erano presenti nel 100% degli stili analizzati, anche nel caso dei capolini isolati con panno carta, questo significa che non esistono barriere di autoincompatibilità tra stigma e polline omologo ma, come evidenziato dalle prove di germinazione compiute su capolini isolati (Ansaldi *et al.*, 2008), la pianta non è autogama quindi il tubetto pollinico prodotto dal polline omologo non dovrebbe penetrare nell'ovario e dare luogo alla doppia fecondazione. Per dimostrare questa ipotesi sono necessarie ulteriori e più approfondite analisi; se questa ipotesi trovasse conferma si potrebbe così spiegare la bassa percentuale (21% nel 2009 e 36% nel 2010) di acheni fertili presenti in media all'interno di ogni capolino.

6.9 Meccanismi di dispersione

Dispersione ad opera del vento

Per calcolare la velocità terminale sono stati usati i seguenti parametri:

$$\rho_a = 1.058 \text{ kg/m}^3 \text{ (densità dell'aria a 1500 m s.l.m.)}$$

$$C_D = 1.4 \text{ (coefficiente di resistenza aerodinamica paracadute conico)}$$

Per calcolare la distanza di dispersione è stata usata come altezza di rilascio l'altezza massima rilevata di un capolino dal suolo, ricavata dalle tabelle nelle figure 15 e 16 ($h_r = 2.4 \text{ cm}$). I risultati sono visualizzati nella tabella seguente:

cipsela n.	peso (mg)	Ø pappo (mm)	1° termine Velocità terminale	Velocità terminale con Cd=1.4 (m/s)	altezza rilascio h _r (m)	Distanza di dispersione con u=28m/s (cm)	Distanza di dispersione con u=8m/s (cm)
1	4.9	3.8	0.582524832	3.541750979	0.024	18.97	5.42
2	4.8	3.6	0.608580619	3.700170166	0.024	18.16	5.19
3	4.5	3	0.707106781	4.29920923	0.024	15.63	4.47
4	5.6	3.1	0.763365133	4.64126001	0.024	14.48	4.14
5	5.2	3.8	0.600092329	3.64856136	0.024	18.42	5.26
6	5.5	2.8	0.837574243	5.092451396	0.024	13.20	3.77
7	5.2	3.1	0.735597048	4.472430055	0.024	15.03	4.29
8	4.3	2.7	0.768016346	4.669539386	0.024	14.39	4.11
9	5.1	2.6	0.86858383	5.280989687	0.024	12.72	3.64
10	3.7	3.7	0.519875245	3.160841489	0.024	21.26	6.07
11	5.1	2.9	0.77873033	4.734680409	0.024	14.19	4.06
12	5.8	4.1	0.587394858	3.571360734	0.024	18.82	5.38
13	4.4	2.5	0.839047079	5.101406237	0.024	13.17	3.76
14	5.7	4.5	0.530548284	3.225733566	0.024	20.83	5.95
15	4.1	3.9	0.519191198	3.156682485	0.024	21.29	6.08
16	4.3	2.9	0.715049702	4.347502187	0.024	15.46	4.42
17	4.9	4.2	0.527046277	3.204441362	0.024	20.97	5.99
18	3.9	4	0.493710441	3.001759484	0.024	22.39	6.40
19	3	4.4	0.393647911	2.393379298	0.024	28.08	8.02
20	5.2	4.5	0.506744633	3.081007371	0.024	21.81	6.23
21	5.5	3.5	0.670059394	4.073961117	0.024	16.50	4.71
22	5.7	3	0.795822426	4.838600349	0.024	13.89	3.97
23	3.7	2.2	0.874335639	5.315960686	0.024	12.64	3.61
24	5.1	3	0.752772653	4.576857728	0.024	14.68	4.20
25	4.8	3.7	0.592132495	3.600165567	0.024	18.67	5.33
26	4.2	3.2	0.640434423	3.893841291	0.024	17.26	4.93
27	4.9	3.2	0.691748238	4.205829288	0.024	15.98	4.57
28	5.3	3.7	0.622208888	3.783030041	0.024	17.76	5.08
29	5.2	3.4	0.670691427	4.077803873	0.024	16.48	4.71
30	5.2	2.8	0.814411018	4.951618989	0.024	13.57	3.88
31	4.8	4	0.547722558	3.33015315	0.024	20.18	5.77
32	4.8	3.1	0.706738784	4.296971806	0.024	15.64	4.47
33	5.1	3.2	0.705724362	4.29080412	0.024	15.66	4.47
34	4.8	3.8	0.576550061	3.505424368	0.024	19.17	5.48
35	5.2	3.6	0.633430792	3.851259214	0.024	17.45	4.99
36	5.6	3.6	0.657342198	3.996640565	0.024	16.81	4.80
37	4.8	3.9	0.561766726	3.415541692	0.024	19.67	5.62
38	4.5	3.5	0.606091527	3.685036483	0.024	18.24	5.21
39	4.8	2.9	0.75547939	4.593314689	0.024	14.63	4.18
40	5	4	0.559016994	3.398823326	0.024	19.77	5.65
41	4.9	3.6	0.614887323	3.738514923	0.024	17.98	5.14
42	5.2	3	0.76011695	4.621511056	0.024	14.54	4.15
43	4.8	4.7	0.466146857	2.834172893	0.024	23.71	6.77
44	5.2	3.9	0.584705346	3.555008505	0.024	18.90	5.40
45	4.3	4.2	0.493724794	3.001846748	0.024	22.39	6.40
46	4.8	3.5	0.625968637	3.805889314	0.024	17.66	5.04
47	4.7	3.9	0.555884189	3.379775872	0.024	19.88	5.68
48	4.5	4.2	0.505076272	3.070863735	0.024	21.88	6.25
49	4.9	4.4	0.503089628	3.058784937	0.024	21.97	6.28
50	4.7	4.6	0.471293117	2.865462152	0.024	23.45	6.70
51	3.8	4.6	0.423773667	2.576543896	0.024	26.08	7.45
52	4.3	4.5	0.460809808	2.801723632	0.024	23.99	6.85
53	4.4	3	0.699205899	4.251171865	0.024	15.81	4.52
54	6.8	3.4	0.766964989	4.663147132	0.024	14.41	4.12
55	3.1	3.5	0.50305191	3.058555615	0.024	21.97	6.28
56	3.4	3	0.614636297	3.736988687	0.024	17.98	5.14
57	3.9	3.5	0.564240505	3.430582267	0.024	19.59	5.60
58	4.1	3	0.674948558	4.103687231	0.024	16.38	4.68
59	4.1	3.9	0.519191198	3.156682485	0.024	21.29	6.08
60	3.9	3.8	0.519695202	3.159746825	0.024	21.27	6.08
61	4.2	3.8	0.539313198	3.279024245	0.024	20.49	5.86
62	4.1	3.9	0.519191198	3.156682485	0.024	21.29	6.08
63	4.2	3.3	0.621027319	3.7758461	0.024	17.80	5.08
64	3.7	3	0.641179469	3.89837117	0.024	17.24	4.93
65	3.6	2.6	0.729756383	4.436918809	0.024	15.15	4.33
66	3.8	2.6	0.749753411	4.55850074	0.024	14.74	4.21
67	4.3	3	0.691214712	4.202585448	0.024	15.99	4.57

68	4	2.5	0.8	4.864	0.024	13.82	3.95
69	4.1	2.3	0.880367684	5.352635519	0.024	12.55	3.59
70	4.1	2.6	0.778786797	4.735023728	0.024	14.19	4.05
71	3.7	3	0.641179469	3.89837117	0.024	17.24	4.93
72	3.6	2.9	0.654264343	3.977927208	0.024	16.89	4.83
73	7.3	2.5	1.080740487	6.57090216	0.024	10.23	2.92
74	7.2	3	0.894427191	5.438117321	0.024	12.36	3.53
75	5.8	4	0.602079729	3.660644752	0.024	18.36	5.24
76	6.5	3.9	0.65372045	3.974620339	0.024	16.91	4.83
77	6.6	4.5	0.570899226	3.471067292	0.024	19.36	5.53
78	6.4	4.1	0.617029787	3.751541107	0.024	17.91	5.12
79	7.1	3	0.888194173	5.400220572	0.024	12.44	3.56
80	6.1	3.6	0.686060502	4.171247852	0.024	16.11	4.60
81	6.5	4.2	0.607026133	3.690718886	0.024	18.21	5.20
82	6.7	4.3	0.601961819	3.659927859	0.024	18.36	5.25
83	6.5	3	0.849836586	5.16700644	0.024	13.01	3.72
84	4.8	3.6	0.608580619	3.700170166	0.024	18.16	5.19
85	6.6	3.5	0.73401329	4.462800804	0.024	15.06	4.30
86	6.3	4.4	0.570450018	3.46833611	0.024	19.38	5.54
87	7	3.8	0.696250345	4.233202098	0.024	15.87	4.54
88	6.5	3	0.849836586	5.16700644	0.024	13.01	3.72
89	6	3.2	0.765465545	4.654030511	0.024	14.44	4.13
90	3.2	3.2	0.559016994	3.398823326	0.024	19.77	5.65
91	3.8	2	0.974679434	5.926050962	0.024	11.34	3.24
92	3.5	3.5	0.534522484	3.249896702	0.024	20.68	5.91
93	4.4	3.2	0.65550553	3.985473623	0.024	16.86	4.82
94	2.6	3.5	0.460700443	2.801058692	0.024	23.99	6.85
95	4.9	4.2	0.527046277	3.204441362	0.024	20.97	5.99
96	5.2	3.6	0.633430792	3.851259214	0.024	17.45	4.99
97	3.9	3.3	0.598436899	3.638496344	0.024	18.47	5.28
98	4.5	3.6	0.589255651	3.582674358	0.024	18.76	5.36
99	2.8	4.1	0.408126842	2.481411201	0.024	27.08	7.74
100	2.4	3.9	0.397229061	2.415152692	0.024	27.82	7.95
MEDIA	4.8	3.5	0.6450	3.9219	0.024	17.85	5.10
DEV ST	1.061	0.6094	0.13	0.80	0	3.641577816	1.040450805

Le curve di distribuzione normale delle distanze di dispersione delle cipsele sottoposte alle due simulazioni con velocità del vento di 8 m/s e di 28 m/s sono visualizzate rispettivamente in Fig. 20 e Fig.21.

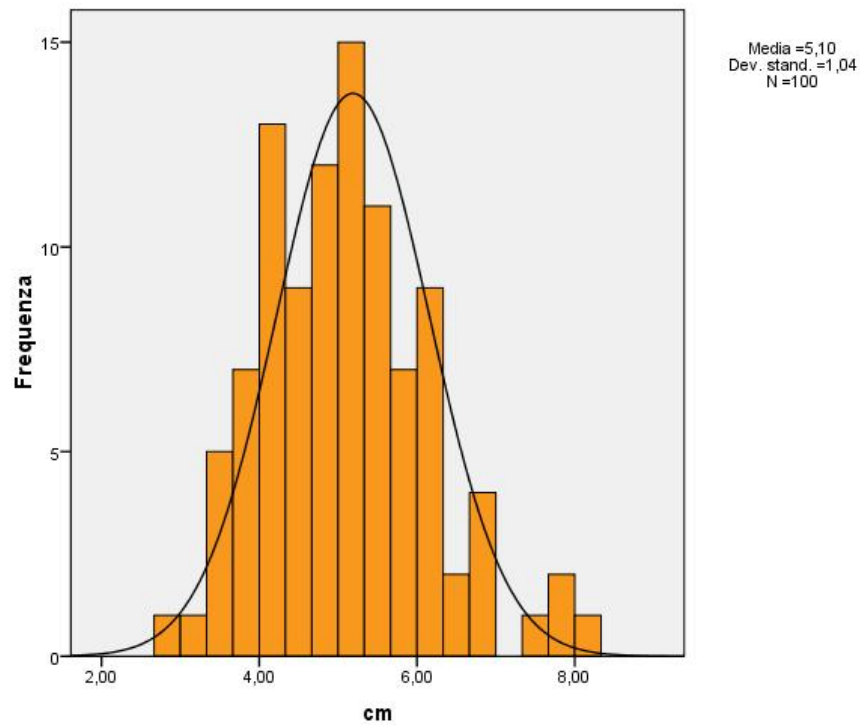


Fig. 20 – Distribuzione distanze di dispersione con vento = 8 m/s

Con $\bar{u} = 8 \text{ m/s}$ la distanza di dispersione media è di 5.1 cm.

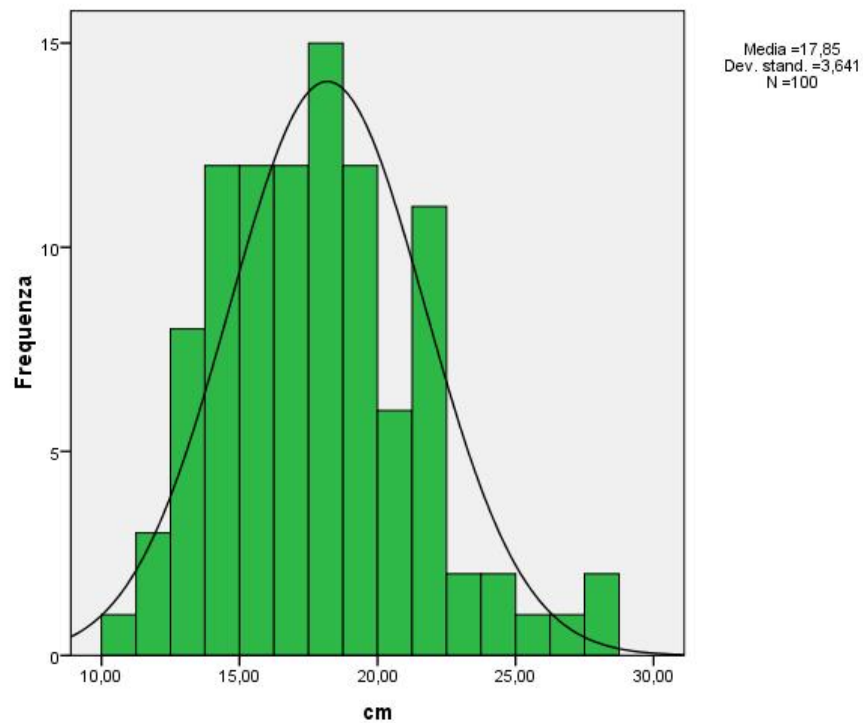


Fig. 21 – Distribuzione distanze di dispersione con vento = 28 m/s

Con $\bar{u} = 28 \text{ m/s}$ la distanza di dispersione media è di 17.85 cm.

Dispersione ad opera dell'acqua

Il 39% delle cipsele fertili ha un peso compreso tra i 50 e i 73 mg il che consentirebbe una probabilità dal 20% al 35% di dispersione in caso di ruscellamento, probabilità che si abbassa per la forma non sferica delle cipsele (Fig. 7) (Cerdà & García-Fayos, 2002).

Le osservazioni compiute sul campo confermano una possibile dispersione idrocora perché gli individui vegetano lungo le fratture delle rocce in zone dove vi è scorrimento d'acqua durante le piogge; sono state trovate delle cipsele incastrate in piccoli buchi e fessure della roccia contenenti terreno. Questo fatto sarebbe favorito dalla conformazione del pappo.

Dispersione ad opera degli animali

La conformazione della cipsela di *Centaurea montis-borlae* non consente a questa di attaccarsi né al pelo degli animali, non essendo provvista di uncini come *Torilis arvensis* (Huds.) Link, né sistematicamente sotto gli zoccoli, non essendo provvista di spine come *Tribulus terrestris* L.; non avendo pericarpo edule, non è appetibile dagli uccelli. La zoocoria da parte dei vertebrati viene quindi esclusa; non si può escludere del tutto la mirmecocoria, essendo la cipsela provvista di elaiosoma, anche se non è mai stata confermata dalle osservazioni effettuate sul campo.

6.10 Densità di popolazione

Nelle due tabelle seguenti vengono riassunte: la suddivisione in subaree, la superficie di ogni subarea in m² e in percentuale, il numero di rilevamenti e i rilevamenti in percentuale.

Foce di Pianza					
Codice griglia	Colori	Area m ²	Area %	Rilevamenti effettuati	Rilevamenti in %
11	rosso	574.353	0.563	0	0.000
12	blu	7457.716	7.312	3	7.317
13	verde	57752.949	56.626	23	56.098
14	viola	26442.325	25.926	11	26.829
22	giallo	64.038	0.063	0	0.000
23	azzurro	4853.888	4.759	2	4.878
24	marrone	4845.356	4.751	2	4.878
Totale		101990.625	100.000	41	100.000

Spigolo Est M. Sagro					
Codice griglia	Colori	Area m ²	Area %	Rilevamenti effettuati	Rilevamenti in %
12	rosso	1628.003	3.011	1	6.250
13	giallo	998.877	1.847	0	0.000
21	ocra	596.545	1.103	0	0.000
22	smeraldo	17249.184	31.897	6	37.500
23	rosa	32396.401	59.908	9	56.250
31	carne	600.000	1.110	0	0.000
32	verdone	539.526	0.998	0	0.000
33	azzurro	68.469	0.127	0	0.000
Totale		54077.005	100.000	16	100.000

La stima della densità media di ogni popolazione è stata effettuata dividendo il n. di individui rilevati in ogni quadrato per i m² del quadrato e facendo la media dei risultati ottenuti; di ogni stima si è anche calcolato l'intervallo di confidenza del 95%.

Tutti i valori sono riassunti nella tabella seguente:

	Indiv/m ²	m ² tot	Indiv tot	LCL	UCL
Foce di Pianza	1.722561	101991	175686	110555	240816
Spigolo Est M. Sagro	0.925781	54077	50063	21845	78282

L'intervallo di confidenza elevato è dovuto alla grande variabilità nella distribuzione degli individui sul territorio e alla superficie dei campionamenti relativamente piccola rispetto alla superficie totale.

Per quanto riguarda le differenze tra le subaree, soltanto la subarea blu di Foce di Pianza (inclinazione $>0^{\circ} \leq 33^{\circ}$, esposizione E $>45^{\circ} \leq 135^{\circ}$) risulta avere una densità sensibilmente differente dalla densità media (0.3125 indiv/m²).

In data 5 ottobre 2011, durante i rilevamenti per la stima della densità sullo Spigolo Est del Sagro sono stati localizzati alcuni individui di *Centaurea montis-borlae* vegetanti su un substrato differente dai Marmi (Lias); nella fattispecie si tratta di metadolomie intercalate da filladi e situate, dal punto di vista stratigrafico, sul tetto dei Grezzoni (Norico) ed ascrivibili *in toto* alla formazione dei Marmi a megalodonti (Retico) (Carmignani *et al.*, 2001).

6.11 Modelli matematici PVA

Matrici di transizione

La suddivisione in 3 stadi di accrescimento è stata effettuata tenendo conto dei seguenti limiti dimensionali:

Plantule (P) $< 0.19 \text{ cm}^2$ derivata dal monitoraggio delle plantule *in situ*

Vegetativi (V) $\geq 0.19 < 2 \text{ cm}^2$ nessun vegetativo ha un'area superiore a 1.5 cm^2

Riproduttivi (R) $\geq 2 \text{ cm}^2$ nessun riproduttivo ha un'area inferiore a 2.5 cm^2

Le matrici di transizione ottenute con 3 stadi di accrescimento sono le seguenti:

Foce di Pianza

2009/2010	Plantule	Vegetativi	Riproduttivi
Plantule	0.0000	0.0000	0.1613
Vegetativi	0.6136	0.7861	0.4194
Riproduttivi	0.0227	0.1923	0.3548

2010/2011	Plantule	Vegetativi	Riproduttivi
Plantule	0.0000	0.0000	0.1474
Vegetativi	0.8000	0.8929	0.5895
Riproduttivi	0.2000	0.0989	0.3474

Da cui la matrice media risultante:

MEDIA	Plantule	Vegetativi	Riproduttivi
Plantule	0.0000	0.0000	0.1543
Vegetativi	0.7068	0.8395	0.5044
Riproduttivi	0.1114	0.1456	0.3511

Per questa matrice sono stati calcolati:

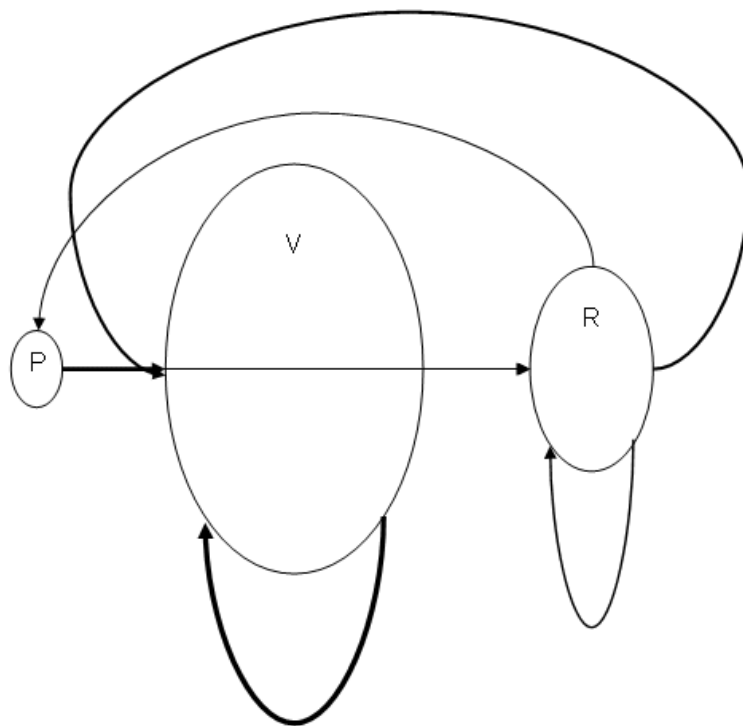
1. il tasso finito di crescita deterministico $\lambda = \mathbf{0.98480827}$
2. il valore riproduttivo di ogni classe (v)

P	0.29361821
V	0.35349868
R	0.35288311

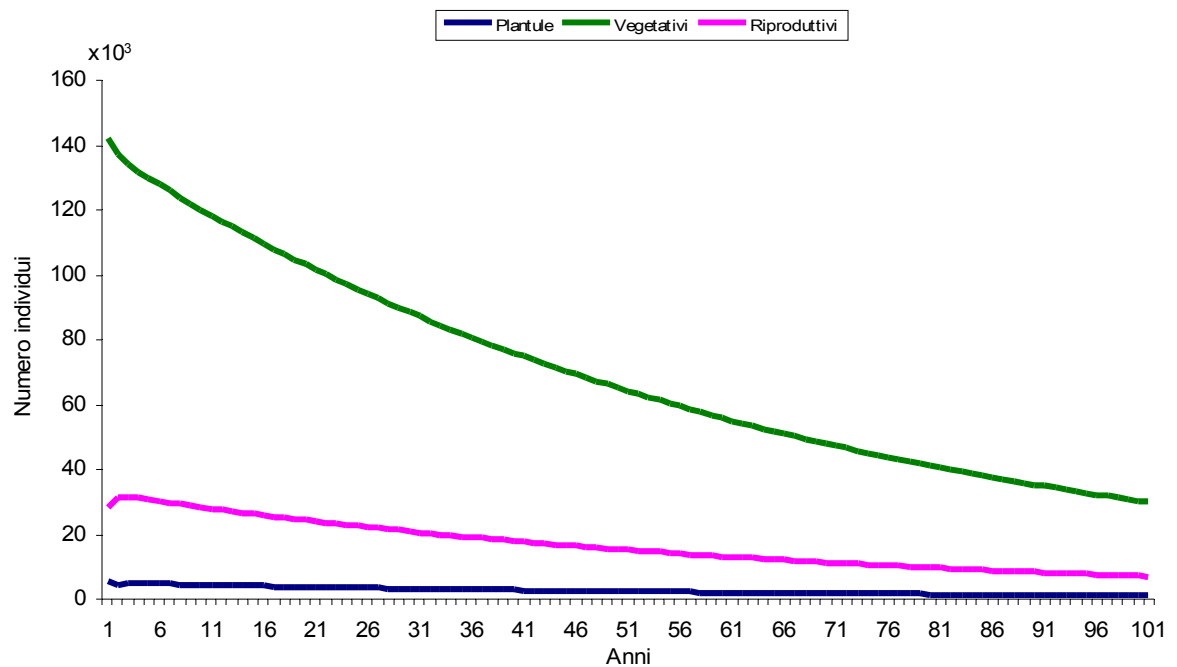
3. la distribuzione stabile nelle classi (w)

P	0.02907914
V	0.78536072
R	0.18556014

4. il grafico di ciclo vitale



5. la proiezione della popolazione, divisa in stadi di accrescimento, per 100 anni



6. la matrice di sensitività (S)

0.02428077	0.65576761	0.15494069
0.02923258	0.78950479	0.18653927
0.02918168	0.78812999	0.18621444

7. la matrice di elasticità (E)

0	0	0.02428077
0.02098086	0.67297938	0.09554456
0.00329991	0.11652541	0.06638912

Spigolo Est del Monte Sagro (è possibile solo una matrice di transizione)

2010/2011	Plantule	Vegetativi	Riproduttivi
Plantule	0.0000	0.0000	0.0000
Vegetativi	1.0000	0.7662	0.9000
Riproduttivi	0.0000	0.0394	0.0000

Per questa matrice sono stati calcolati:

1. il tasso finito di crescita deterministico $\lambda = \mathbf{0.81001485}$

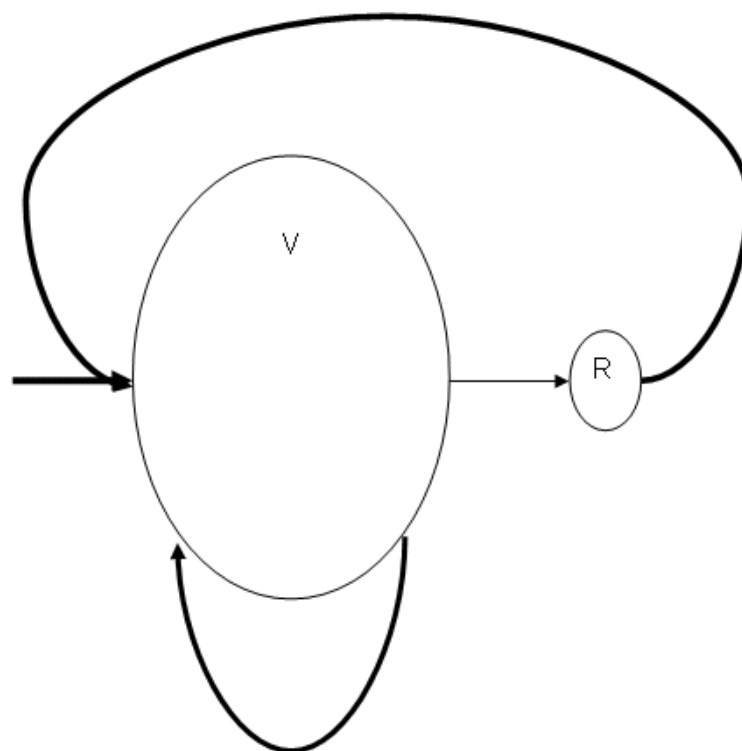
2. il valore riproduttivo di ogni classe (v)

P	0.36900167
V	0.29889683
R	0.3321015

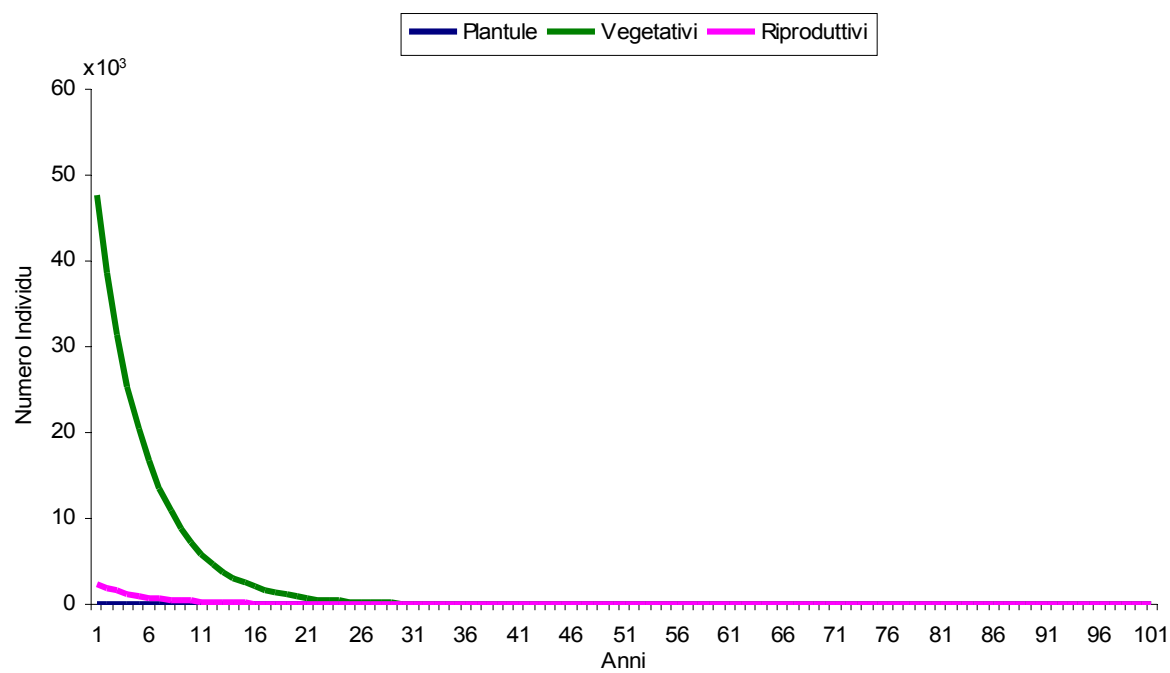
3. la distribuzione stabile nelle classi (w)

P	0
V	0.95357402
R	0.04642598

4. il grafico di ciclo vitale



5. la proiezione della popolazione, divisa in stadi di accrescimento, per 100 anni



6. la matrice di sensitività (S)

-0	1.17118989	0.05702089
-0	0.9486812	0.04618777
-0	1.0540709	0.0513188

7. la matrice di elasticità (E)

0	0	0
-0	0.89736239	0.0513188
0	0.0513188	0

La suddivisione in 4 stadi di accrescimento è stata effettuata tenendo conto dei seguenti limiti dimensionali:

Plantule (P) < 0.19 cm²

Vegetativi 1 (V₁) ≥ 0.19 < 0.34 cm²

Vegetativi 2 (V₂) ≥ 0.34 < 2 cm²

Riproduttivi (R) ≥ 2 cm²

Il limite delle Plantule e dei Riproduttivi è identico alla suddivisione in 3 stadi. Il limite tra V₁ e V₂ è stato fissato usando il metodo del raggruppamento per K-medie

Le matrici di transizione ottenute con 4 stadi di accrescimento sono le seguenti:

Foce di Pianza

2009/2010	Plantule	Veg 1	Veg 2	Riproduttivi
Plantule	0.0000	0.0000	0.0000	0.1613
Veg 1	0.5682	0.7183	0.1773	0.1613
Veg 2	0.0455	0.2019	0.4532	0.2581
Riproduttivi	0.0227	0.0892	0.3153	0.3548

2010/2011	Plantule	Veg 1	Veg 2	Riproduttivi
Plantule	0.0000	0.0000	0.0000	0.1474
Veg 1	0.8000	0.7489	0.2138	0.2000
Veg 2	0.0000	0.1735	0.6000	0.3895
Riproduttivi	0.2000	0.0457	0.2138	0.3474

Da cui la matrice media risultante:

MEDIA	Plantule	Veg 1	Veg 2	Riproduttivi
Plantule	0.0000	0.0000	0.0000	0.1543
Veg 1	0.6841	0.7336	0.1956	0.1806
Veg 2	0.0227	0.1877	0.5266	0.3238
Riproduttivi	0.1114	0.0674	0.2645	0.3511

Per questa matrice sono stati calcolati:

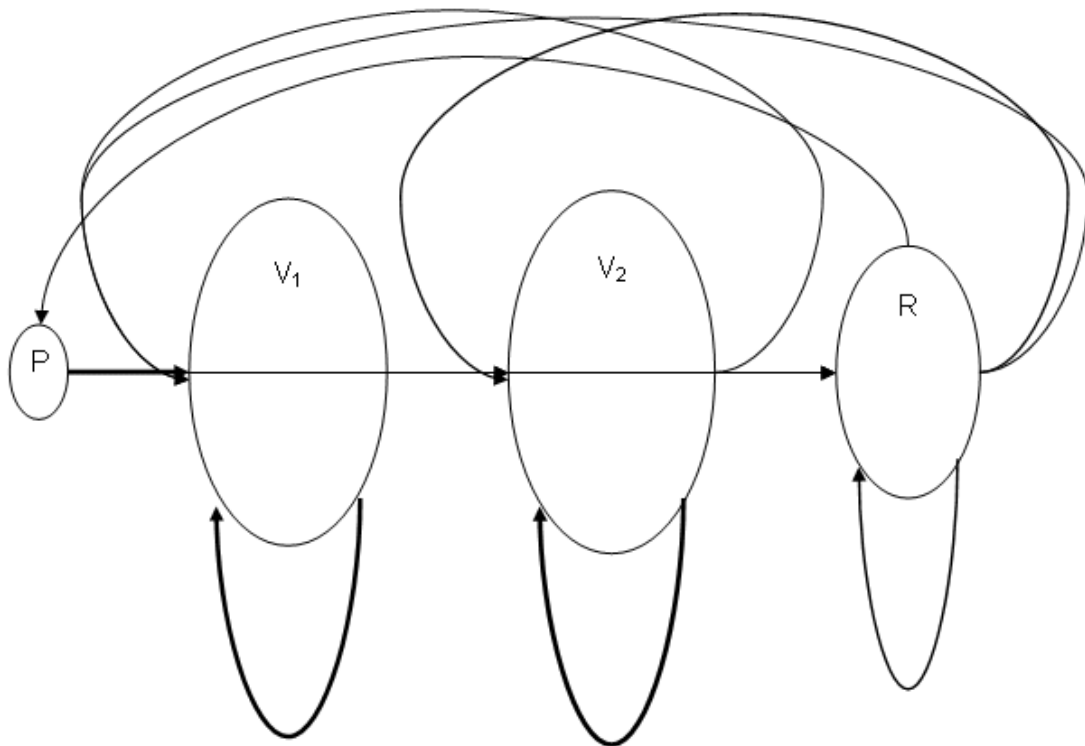
1. il tasso finito di crescita deterministico $\lambda = \mathbf{0.98702703}$
2. il valore riproduttivo di ogni classe (v)

P	0.21709188
V ₁	0.26225078
V ₂	0.26072957
R	0.25992777

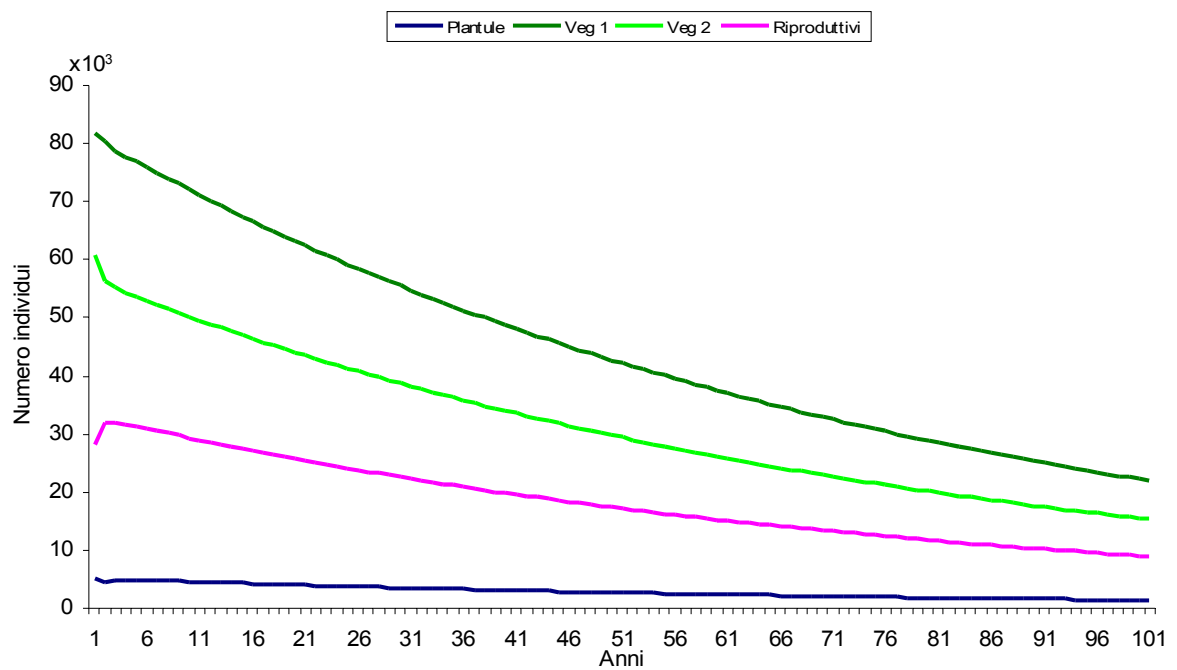
3. la distribuzione stabile nelle classi (w)

P	0.02936643
V ₁	0.46126043
V ₂	0.32155756
R	0.18781558

4. il grafico di ciclo vitale



5. la proiezione della popolazione, divisa in stadi di accrescimento, per 100 anni



6. la matrice di sensitività (S)

0	0	0	0.15682064
0.02962075	0.46525498	0.32434228	0.18944207
0.02944893	0.46255622	0.3224609	0.1883432
0.02935836	0.46113375	0.32146925	0.187764

7. la matrice di elasticità (E)

0	0	0	0.02452013
0.02052961	0.3457896	0.06426418	0.03467159
0.00067809	0.08796152	0.1720401	0.06178119
0.00331243	0.03150386	0.08615662	0.06679109

Spigolo Est del Monte Sagro (è possibile solo una matrice di transizione)

2010/2011	Plantule	Veg 1	Veg 2	Riproduttivi
Plantule	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Veg 1	1.0000	0.7095	0.3379	0.1000
Veg 2	0.0000	0.0571	0.4276	0.8000
Riproduttivi	0.0000	0.0048	0.0897	0.0000

Per questa matrice sono stati calcolati:

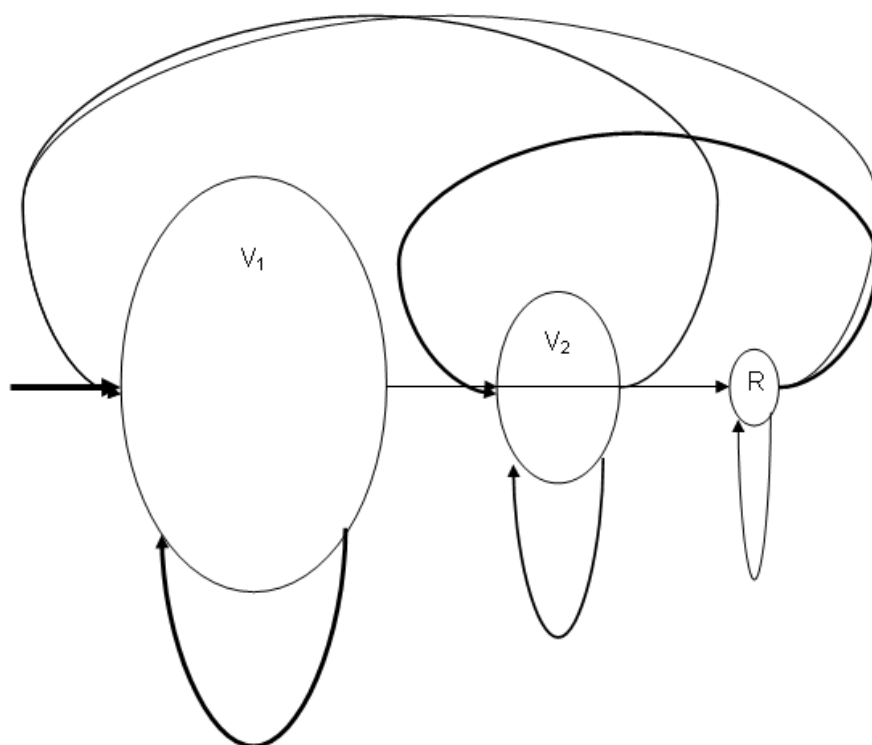
1. il tasso finito di crescita deterministico $\lambda = \mathbf{0.789856}$
2. il valore riproduttivo di ogni classe (v)

P	0.2540995
V ₁	0.20070202
V ₂	0.25823602
R	0.28696246

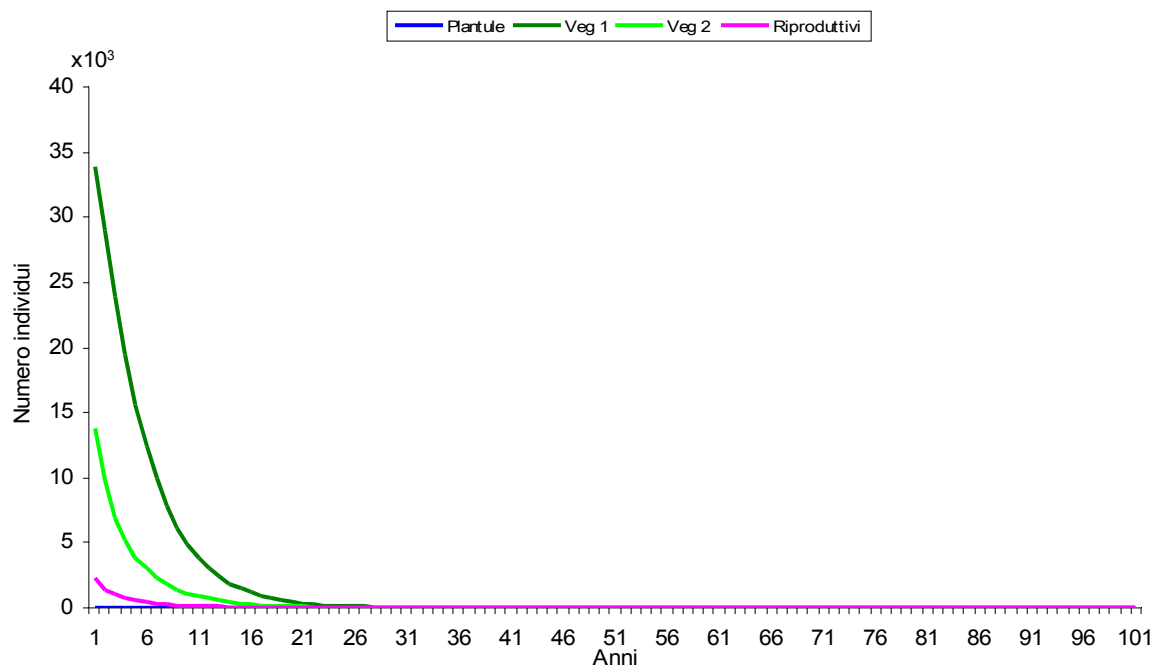
3. la distribuzione stabile nelle classi (w)

P	0
V ₁	0.79352149
V ₂	0.18113427
R	0.02534424

4. il grafico di ciclo vitale



5. la proiezione della popolazione, divisa in stadi di accrescimento, per 100 anni



6. la matrice di sensitività (S)

-0	0.94526179	0.21577148	0.03019066
-0	0.74662069	0.1704284	0.02384628
-0	0.96064982	0.21928405	0.03068214
-0	1.06751348	0.24367743	0.03409525

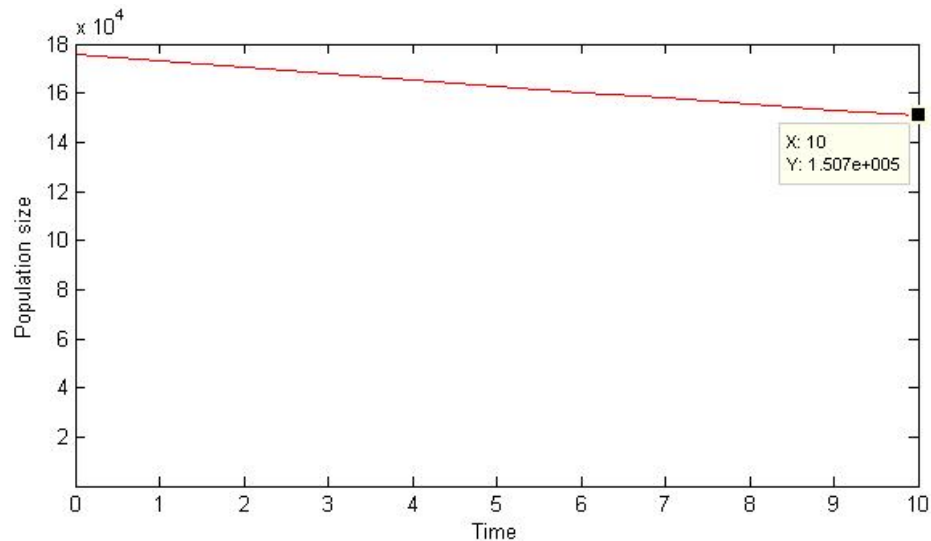
7. la matrice di elasticità (E)

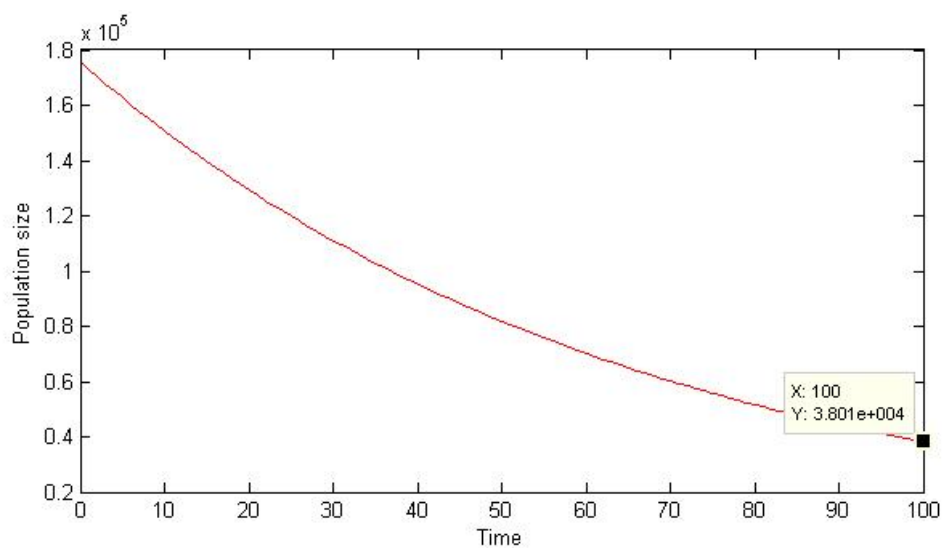
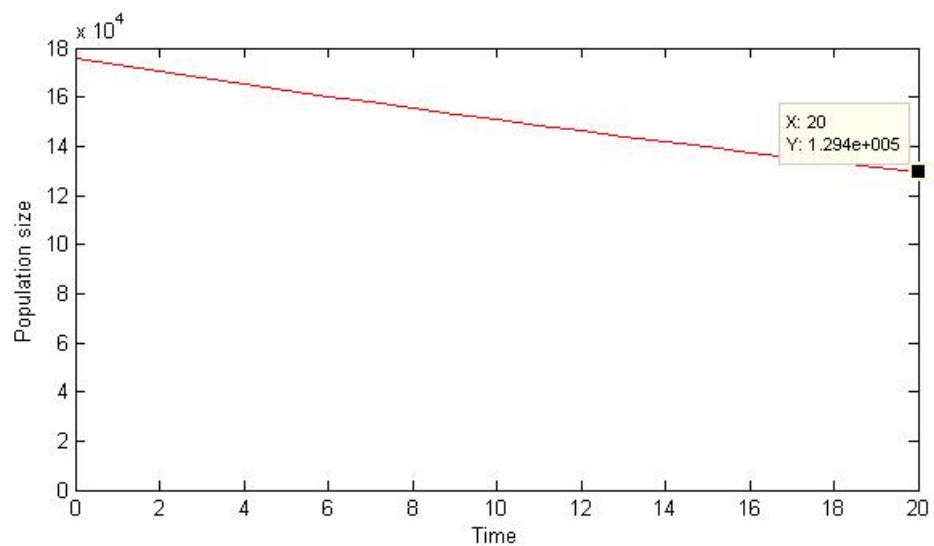
0	0	0	0
-0	0.67068575	0.07291588	0.00301907
0	0.06949909	0.11870877	0.03107619
0	0.00643585	0.0276594	0

Tutte le simulazioni con MATLAB[®] sono state effettuate usando solamente la suddivisione in 3 stadi di accrescimento.

Il programma “*RandDraw*” ha generato grafici sulle dinamiche deterministiche delle due popolazioni rispetto al tempo a 10, 20 e 100 anni:

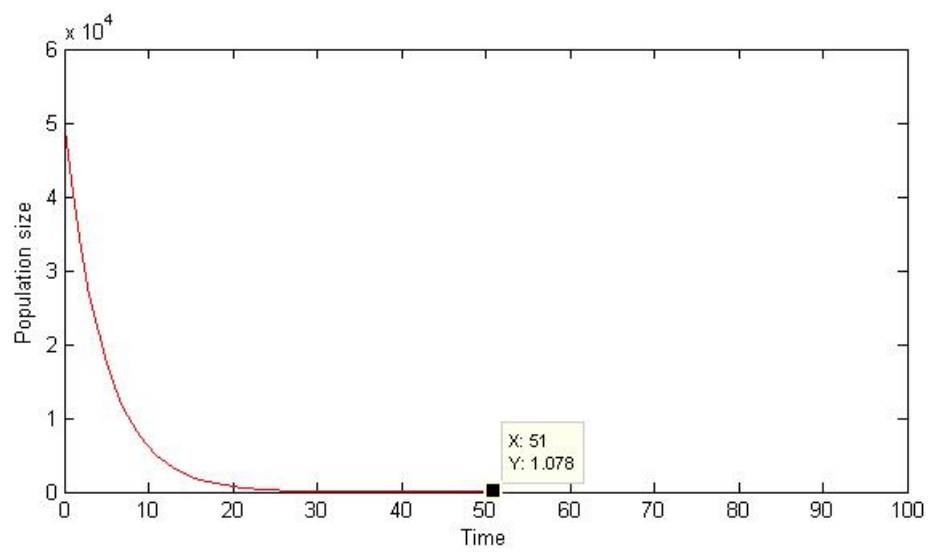
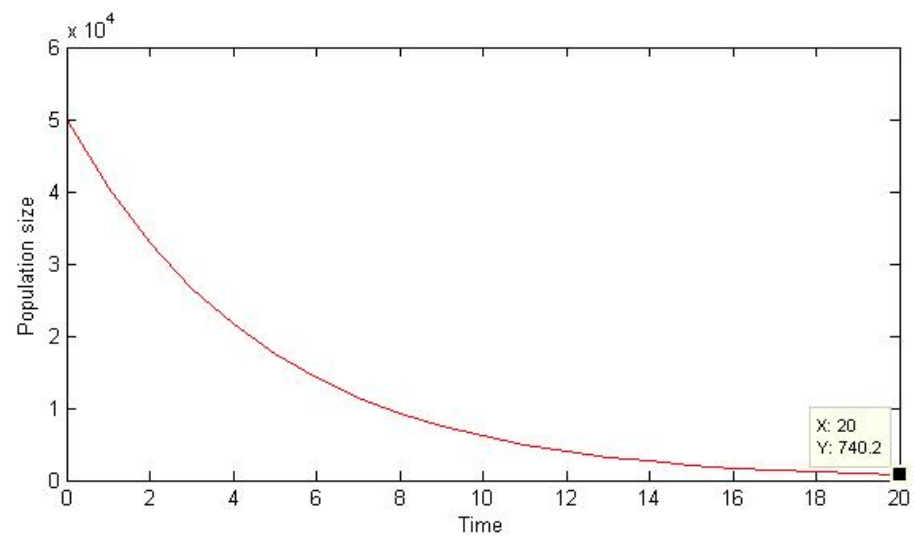
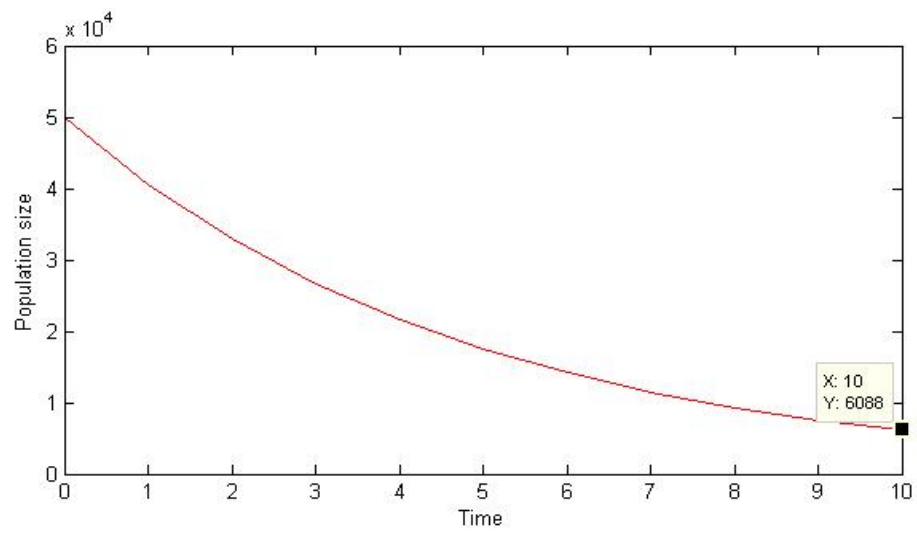
Foce di Pianza





La popolazione di Foce di Pianza subirà un decremento del 15.50% in 10 anni, del 27.50% in 20 anni e del 78.37% in 100 anni.

Spigolo Est M. Sagro



La popolazione dello Spigolo Est del M. Sagro subirà un decremento del 87.84% in 10 anni, del 98.52% in 20 anni e si estinguerà completamente in 54 anni.

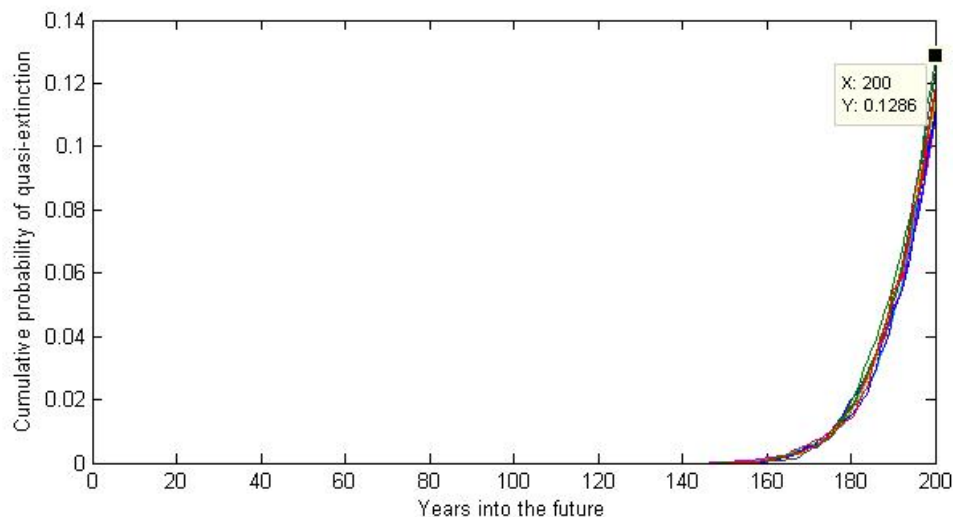
Il programma “*Stoc_log_lam*” fatto girare con le matrici della Popolazione di Foce di Pianza ha restituito due stime di λ_s :

1. $\lambda_s = \mathbf{0.9845}$ (simulazione stocastica)
2. $\lambda_s = \mathbf{0.9842}$ (approssimazione di Tuljapurkar)

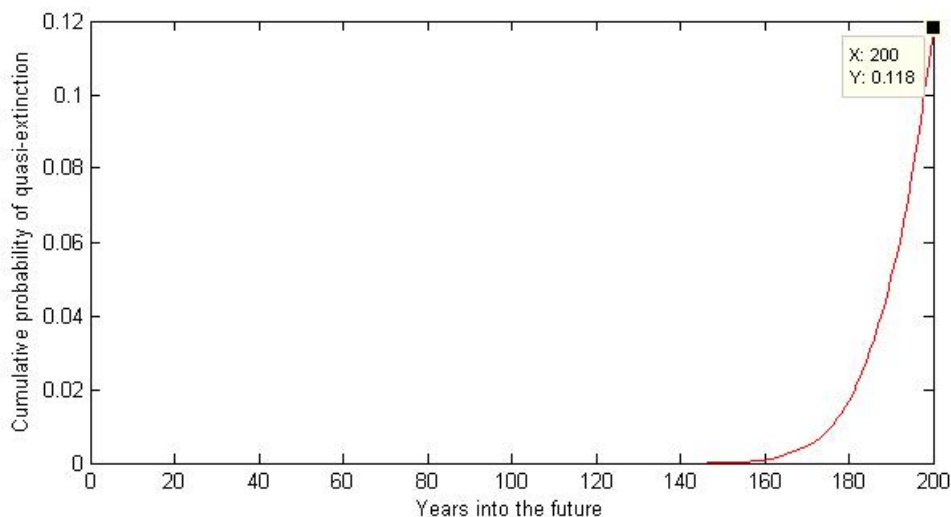
Il programma “*Simext*” ha calcolato le probabilità di quasi-estinzione rispetto al tempo utilizzando la simulazione stocastica; i parametri iniziali inseriti sono stati:

1. il vettore della densità della popolazione iniziale [514; 13955; 2754] che è uguale alla densità media(individui/ha) dei 3 stadi di accrescimento della popolazione;
2. la soglia di quasi-estinzione di 5000 individui, ricavata da Traill *et al.* (2007), è stata espressa come densità quindi 490 individui/ha.

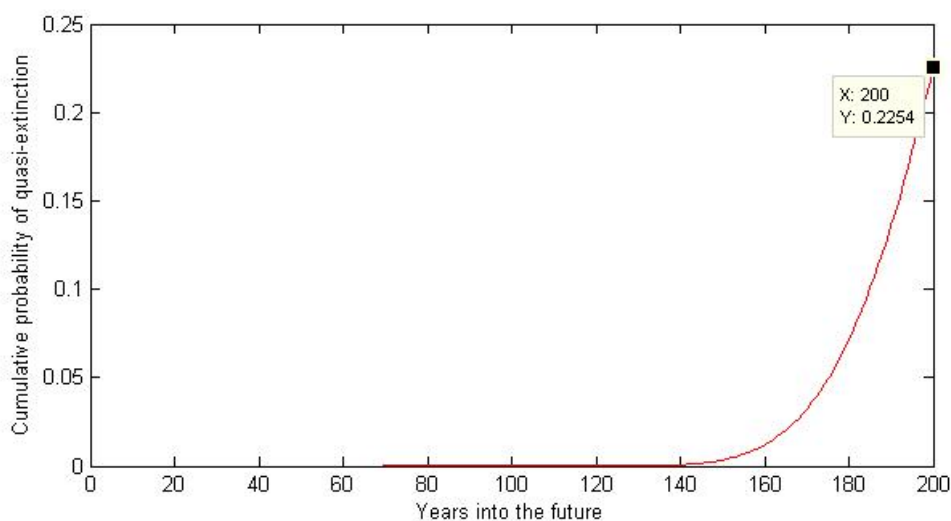
Il programma ha generato due grafici, nel primo sono visualizzate tutte le traiettorie seguite dalle simulazioni



Nel secondo grafico è visualizzata la traiettoria media da cui risulta una probabilità di quasi-estinzione dell' 11,8% in 200 anni



Il programma “Box7.6” ha calcolato le probabilità di quasi-estinzione rispetto al tempo utilizzando l’approssimazione di Tuljapurkar; i parametri iniziali inseriti sono stati identici a quelli usati per la simulazione stocastica.



Dal grafico generato si evince che le probabilità di quasi-estinzione saranno del 22,54% in 200 anni.

Tassi vitali

La tabella seguente riassume i tassi di sopravvivenza, accrescimento e fertilità generati dal programma “Kendall” relativi alla popolazione di Foce di Pianza le medie e le varianze usate nei modelli di PVA sono quelle in grassetto

Tasso vitale	media	MLE media	varianza	MLE var.	MLE var. corretta
s_1	0.8182	0.675	0.0661	0.0002	0.0004
s_2	0.8899	0.888	0	0.0002	0.0004
s_3	0.8555	0.8712	0.0132	0.004	0.008
g_{21}	0.8821	0.9366	0.0135	0.0002	0.0004
g_{22}	0.8362	0.8355	0.0056	0.0024	0.0048
g_{23}	0.5854	0.6086	0.0038	0.0004	0.0008
g_{31}	0.1179	0.0635	0.0135	0.0002	0.0004
g_{32}	0.1638	0.1636	0.0056	0.0024	0.0048
g_{33}	0.4146	0.3915	0.0038	0.0004	0.0008
f_2	0.0846	0.0863	0	0.0002	0.0004
f_3	0.229	0.2161	0.0017	0.0002	0.0004

La matrice di correlazione 11x11 tra i tassi vitali corretta dal programma “*AnalyzeCorrs*” è la seguente:

1.0000	-1.3646	-1.3632	-1.3641	1.4260	1.4252	-1.4367	-1.6395	-1.4666	-1.3725	1.3755
-1.3646	1.0000	1.3502	1.3497	-1.4355	-1.4345	1.4478	1.6722	1.4819	1.3527	-1.3734
-1.3632	1.3502	1.0000	1.3575	-1.4303	-1.4295	1.4417	1.6544	1.4736	1.3634	-1.3745
-1.3641	1.3497	1.3575	1.0000	-1.4339	-1.4330	1.4460	1.6669	1.4795	1.3559	-1.3738
1.4260	-1.4355	-1.4303	-1.4339	1.0000	1.3688	-1.3692	-1.4411	-1.3737	-1.4926	1.3880
1.4252	-1.4345	-1.4295	-1.4330	1.3688	1.0000	-1.3696	-1.4423	-1.3743	-1.4918	1.3879
-1.4367	1.4478	1.4417	1.4460	-1.3692	-1.3696	1.0000	1.4254	1.3663	1.5020	-1.3890
-1.6395	1.6722	1.6544	1.6669	-1.4411	-1.4423	1.4254	1.0000	1.2828	1.6100	-1.4002
-1.4666	1.4819	1.4736	1.4795	-1.3737	-1.3743	1.3663	1.2828	1.0000	1.5252	-1.3914
-1.3725	1.3527	1.3634	1.3559	-1.4926	-1.4918	1.5020	1.6100	1.5252	1.0000	-1.3708
1.3755	-1.3734	-1.3745	-1.3738	1.3880	1.3879	-1.3890	-1.4002	-1.3914	-1.3708	1.0000

Il programma “*Vitalsim*”, impostato con medie, varianze e matrice di correlazione tra i tassi vitali (trattandosi di 3 anni di dati è stato possibile inserire solo una matrice di correlazione), ha restituito i seguenti risultati:

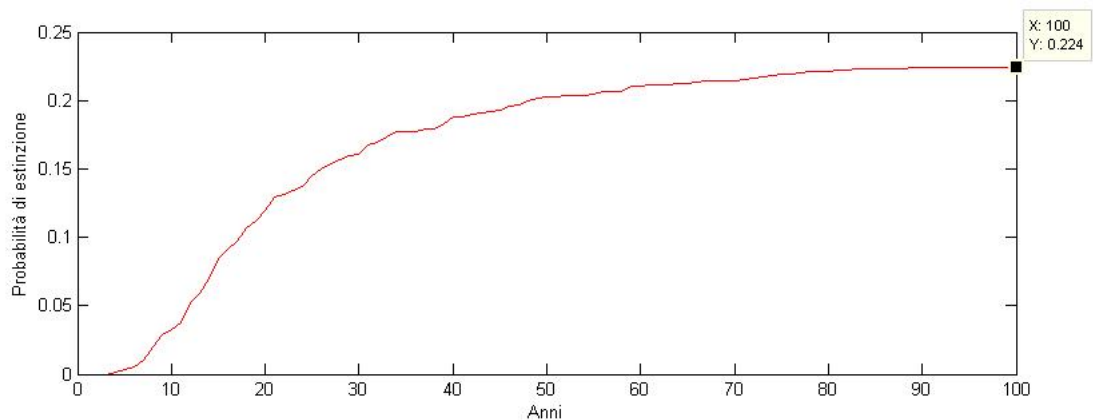
Il tasso finito di crescita deterministico

$$\lambda = \mathbf{0.9821}$$

Il tasso stocastico di crescita

$$\lambda_s = \mathbf{0.9814}$$

Il grafico delle probabilità di quasi-estinzione rispetto al tempo



Da quest'ultimo grafico risulta che le probabilità di quasi-estinzione saranno del 22,4% in 100 anni.

6.12 Sensitività ed Elasticità stocastiche

Il programma “*StochSens*” impostato con la matrice media e la matrice di covarianza ha restituito i seguenti risultati per la popolazione di Foce di Pianza:

1. La matrice di Sensitività stocastica

0.01	0.6751	0.1452
0.0115	0.7998	0.1718
0.0121	0.813	0.1749

2. La matrice di Elasticità stocastica

0	0	0.0229
0.0083	0.6867	0.0886
0.0014	0.1211	0.0628

6.13 Simulazioni di gestione

In accordo con il “Conservation Actions Classification Scheme (Version 2.0)” IUCN del 2008 (Salafsky *et al.*, 2008), le misure di conservazione e gestione simulate sono state le seguenti:

3.1 Species management

3.2 Species recovery

3.3 Species re-introduction

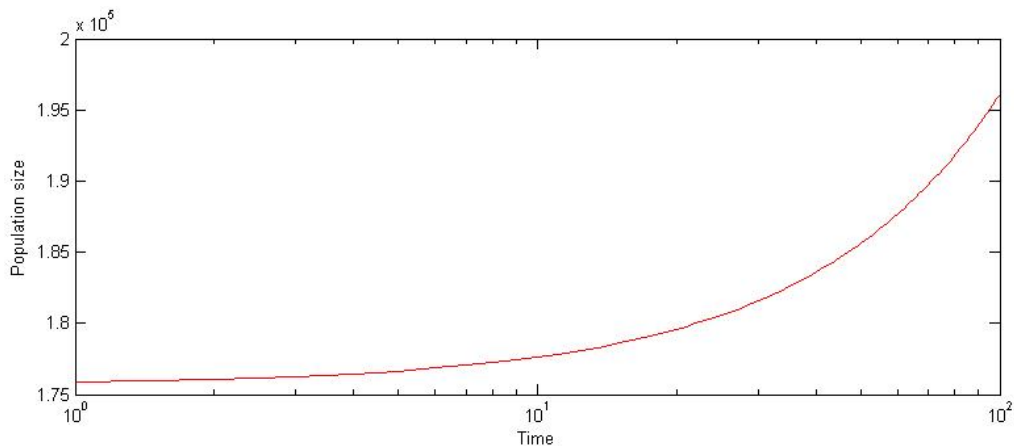
3.3.2 Benign introduction

3.4 Ex-situ conservation

3.4.1 Artificial propagation

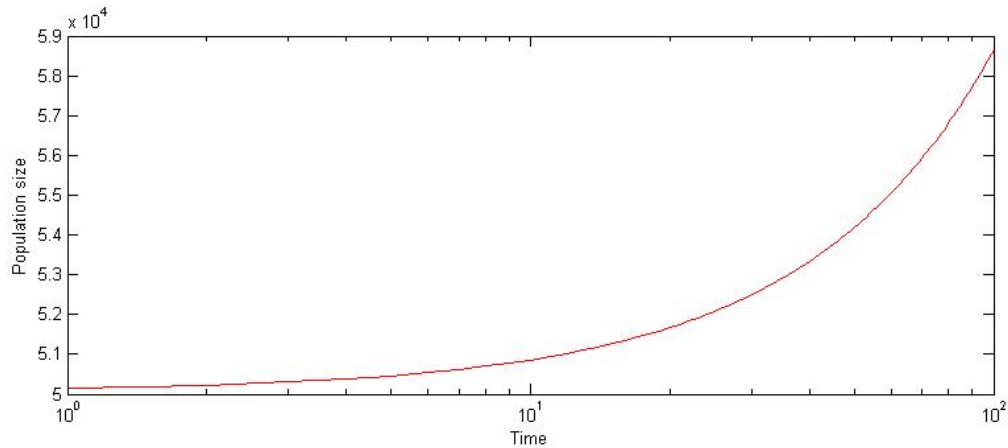
3.4.2 Genome resource bank

L'analisi di sensitività condotta per la popolazione di **Foce di Pianza** indica che lo stadio di accrescimento più sensibile è $a_{2,2}$, perché è lo stadio con il valore di elasticità più elevato. Dal punto di vista della biologia della pianta è anche lo stadio di accrescimento che meglio si adatta ad una introduzione. La simulazione di gestione è stata condotta cambiando il valore di questo stadio nella matrice da 0.8395 (valore attuale) a 0.8601. Il risultato della simulazione è stato che il tasso finito di crescita è diventato $\lambda=1.0011$ cioè popolazione stabile e successivamente in crescita. L'andamento deterministico della popolazione sottoposta a gestione è visualizzato dal grafico seguente, prodotto dal programma “*RandDraw*” inserendo nelle impostazioni iniziali il nuovo valore di λ (nel grafico la scala del tempo è logaritmica).



L'analisi di sensitività condotta per la popolazione dello **Spigolo Est M. Sagro** indica che lo stadio di accrescimento più sensibile è $a_{2,2}$, perché è lo stadio con il valore di elasticità più elevato. Per riportare la popolazione su livelli di stabilità ($\lambda = 1.00158496$) è necessario cambiare il valore dello stadio di accrescimento $a_{2,2}$ da 0.7662 a 0.9408. L'andamento deterministico della popolazione sottoposta a gestione è visualizzato dal grafico seguente,

prodotto dal programma “*RandDraw*” inserendo nelle impostazioni iniziali il nuovo valore di λ (nel grafico la scala del tempo è logaritmica).



6.14 Analisi DNA

I primers usati per le prove erano stati messi a punto per *Centaurea corymbosa* Pourr. (Frèville *et al.*, 2000). Dopo aver effettuato l'elettroforesi in gel di agarosio, dal confronto con il marker contenuto nel pozzetto adiacente, si è potuto stabilire che:

1. AF241185 specifico per il locus SSR 28A7 ha amplificato una regione di 112 bp.
2. AF241181 specifico per il locus SSR 13D10 ha amplificato una regione di 178 bp.

Queste regioni sono identiche a quelle presenti in letteratura (Frèville *et al.*, 2000), quindi i primers sono validi anche per *Centaurea montis-borlae* Soldano. La plasticità dei primers SSR nel genere *Centaurea* è stata confermata di recente (López-Vinyallonga *et al.*, 2011).

7. DISCUSSIONE

7.1 Area Occupata

I rilevamenti compiuti nel 2009 hanno ridefinito completamente l'Area Occupata conosciuta che è passata da 111741 m² del 2002 (Vaira *et al.*, 2004) a 177495 m² (Vaira *et al.*, 2010) con un incremento del 37.05%. Questo incremento non è dovuto all'espansione della specie ma piuttosto alla misurazione della nuova popolazione dello Spigolo Est M. Sagro (65754 m²) che è sicuramente presente da molto tempo (la prima documentazione risale al 1963) ma la cui estensione non era nota. Il confronto con i primi dati di distribuzione altitudinale (Soldano, 1978) sembrerebbe anzi mettere in evidenza una contrazione dell'Area Occupata a Foce di Pianza, dovuta principalmente all'attività di cava.

7.2 Dati relativi ai capolini raccolti

I dati raccolti nel 2009 e 2010 mostrano che all'interno di ogni capolino si presentano 3 tipologie differenti di acheni:

1. sviluppati completamente e fertili;
2. sviluppati ma vuoti;
3. non sviluppati (abortiti);

Alcuni acheni fertili poi mostrano i segni di attacchi parassitari.

Nel 2009 gli acheni fertili erano il 21.1% del totale, i vuoti il 12.40% e gli abortiti il 65.09%.

I parassiti avevano colpito l'1.41% degli acheni totali.

Nel 2010 gli acheni fertili erano il 36.02% del totale, i vuoti il 4.46% gli abortiti il 48.11%.

I parassiti avevano colpito l'11.41% degli acheni totali.

Le differenze nelle percentuali di acheni fertili da un anno all'altro sono dovute alla concorrenza di molti fattori tra cui anche la disponibilità di pronubi. Il dato costante è che gli acheni fertili nel capolino sono sempre pochi in percentuale rispetto alle altre tipologie.

Il numero medio di acheni totali presenti in un capolino non è elevato, si attesta sui 30-31.

L'altezza media dei capolini dal suolo (12 mm) conferma il portamento prostrato della pianta.

7.3 Prove di germinazione *in situ* ed *ex situ*

Le prove condotte sia in laboratorio che sul campo hanno evidenziato tre risultati importanti:

1. non esiste la riserva di seme nel suolo;
2. in natura la percentuale di germinazione è molto bassa, il risultato più alto è stato il 6% nel 2010;
3. in laboratorio, in condizioni ottimali, la percentuale di germinazione sale fino al 71%.

La riserva di seme nel suolo è stata esclusa sia dai risultati del secondo ciclo di germinazione, sia dai controlli effettuati nel 2011 sul sito di germinazione n.1 (acheni seminati nel 2009).

La bassa percentuale di germinazione in natura costituisce un ostacolo alla diffusione naturale della specie per via gamica. Di contro le alte percentuali di germinazione (rispetto a studi precedenti), ottenute con il nuovo protocollo messo a punto, costituiscono un dato importante per la conservazione *ex-situ*.

L'assenza di germinazione nelle capsule a pH 8,00 e la bassa percentuale (24,04%) in quelle a pH 6,00 sembra dovuta principalmente alla composizione delle soluzioni tampone.

7.4 Monitoraggio e misurazione delle plantule *in situ* ed *ex situ*

Il piccolo numero di plantule monitorate sul campo è giustificato dal fatto che una plantula di *Centaurea montis-borlae* in natura è un evento raro. Il tasso di mortalità riscontrato alla fine del periodo di osservazione è stato del 37,5%.

Le plantule allevate *ex-situ* hanno mostrato un tasso di accrescimento molto maggiore di quelle in natura: la media delle lunghezze massime delle rosette basale è risultata 2.03 volte più grande di quella del gruppo naturale. L'emissione di ramets è avvenuta molto precocemente e anche il tasso di passaggio allo stadio di riproduttivo nel giro di un solo anno è stato circa il doppio (13.3% contro il 6.89% riscontrato in natura). L'alto tasso di mortalità riscontrato alla fine del periodo di osservazione (69,14%) è dovuto allo stress da trapianto.

Tutte le plantule, infatti, erano state inizialmente piantate da 4 a 6 per ogni vasetto e sono state trapiantate successivamente quando crescevano di dimensioni. La maggior parte sono morte pochi giorni dopo essere state trapiantate.

7.5 Struttura di popolazione

L'analisi della struttura delle due popolazioni mostra delle fluttuazioni annuali; lo stadio di accrescimento più rappresentato rimane sempre quello dei vegetativi, seguito dai riproduttivi ed infine dalle plantule; la percentuale dei riproduttivi è quella che risente maggiormente della pressione predatoria delle capre. Le differenze tra le strutture delle due popolazioni ricavate nel 2011 dalle aree di monitoraggio e quelle ricavate dai rilevamenti di densità del 2011 sono dovute al fatto che le capre non avevano ancora pascolato le zone dove sono stati effettuati molti rilevamenti di densità. Questo dato è più evidente soprattutto nella popolazione del Sagro.

7.6 Fattori di rischio e danni

2.3.1 Nomadic grazing: le capre inselvatichite che pascolano liberamente nelle zone dove sono situate entrambe le popolazioni rappresentano un fattore di rischio attuale e una fonte di danni per la specie, soprattutto per la popolazione dello Spigolo Est del M. Sagro dove sono stati registrati i danni maggiori; lo stadio di accrescimento più danneggiato direttamente è quello dei riproduttivi perché vengono brucati maggiormente i capolini. Questo fatto però presenta conseguenze evidenti anche nello stadio delle plantule in quanto nel 2011 non è stata osservata alcuna germinazione di nuovi individui nati da seme.

3.2 Mining & quarrying: i vincoli imposti dalla legislazione del Parco attualmente impediscono qualsiasi sfruttamento delle risorse lapidee nelle zone interessate dalle due popolazioni, zone che in passato erano state oggetto di attività di cava. Non si può escludere che il problema si ripresenti in futuro quando, esaurite le cave attive attuali, gli interessi

economici si potrebbero rivolgere verso quelle zone ancora sfruttabili, fare pressione per modificare le attuali norme di tutela e rivedere le zonazioni.

7.1 Fire: il problema degli incendi boschivi caratterizza da sempre la regione apuana; il progressivo abbandono delle pratiche agrosilvopastorali sta riducendo drasticamente gli incendi dolosi dovuti a queste cause; resta però sempre presente un fattore di rischio dovuto agli incendi colposi derivanti da abbruciamenti che possono sfuggire al controllo in zone di coltivi poste più a valle (castagneti) e propagarsi rapidamente, data l'acclività dei versanti, alle fasce di vegetazione poste a quote più elevate; come esempio si può citare l'incendio del luglio 2003, partito da quota 300 m s.l.m. poco sopra l'abitato di Torano (MS), arrivato dopo 3 giorni a bruciare la vetta del monte Uccelliera a quota 1246 m s.l.m.

I parassiti che infestano la *Centaurea montis-borlae* sono ditteri della famiglia *Tephritidae* le cui larve si cibano degli acheni (Ansaldi *et al.*, 2008). Non si hanno dati sufficienti per stabilire se il parassita si trovi fuori equilibrio così da soddisfare il criterio 8.2 dei fattori di rischio "Problematic native species" (Salafsky *et al.*, 2008).

Diversamente da quanto indicato in Ansaldi *et al.* (2008), si è ritenuto di non annoverare tra i fattori di rischio il 6 "Human intrusion & disturbance", 6.1 "Recreational activities" perché, in 3 anni di osservazione quasi giornaliera durante i periodi estivi, non è mai stata rilevata un'azione di danneggiamento da parte dei numerosi turisti ed escursionisti che frequentano i sentieri, ciò è dovuto al fatto che la coscienza ambientale è molto cresciuta negli ultimi anni e si tende di più a fotografare le piante che non a raccoglierle. La *Centaurea montis-borlae* non ha usi etnobotanici quindi è stato escluso anche questo tipo di prelievo.

7.7 Analisi chimiche

Le analisi chimiche condotte nel 2010 e nel 2011, sia su campioni di terreni e rocce che di piante, avevano lo scopo di capire se la distribuzione della *Centaurea montis-borlae* esclusiva di un solo substrato (marmi) fosse dovuta alla presenza o alla concentrazione negli altri

substrati differenti e adiacenti (dove la pianta non vegeta) di uno o più elementi chimici che la specie non tollera. La scoperta, nell'ottobre del 2011, di un gruppo di individui che vegeta su un substrato diverso dai marmi s.s., nella fattispecie metadolomie e filladi appartenenti alla formazione dei "Marmi a megalodonti" (Carmignani *et al.*, 2001) rimette in discussione questi assunti ed apre diversi possibili filoni di ricerca. Analizzando i risultati del 2010 non è stato possibile trovare un elemento che faccia da differenziale tra i vari substrati. Il calcare selcifero, dove la pianta non è mai stata trovata, potrebbe avere un contenuto in silicio troppo elevato per essere tollerato dalla pianta. Non è stato possibile verificare questa ipotesi perché l'apparecchiatura ICP in dotazione al CNR di Pisa, avendo i capillari interni costituiti di quarzo per resistere alle temperature elevate, non consente l'analisi del contenuto in silicio dei campioni.

7.8 Meccanismi di impollinazione

I risultati delle osservazioni compiute sui meccanismi di impollinazione indicano che :

1. nessun stigma è rimasto ricettivo per più di 48 ore;
2. anche il polline omologo, se viene a trovarsi sullo stigma, può germinare e dar luogo al tubetto pollinico;
3. il tubetto pollinico del polline omologo non dà luogo a gamia (per capire se attraversa o no il micropilo sono necessari ulteriori e più approfondite indagini).

Questi fattori concorrono sicuramente a determinare la bassa percentuale di acheni fertili riscontrata dall'analisi degli acheni nei capolini (cfr. par. 7.2).

7.9 Meccanismi di dispersione

Dispersione anemocora

La velocità terminale media delle cipsele di *Centaurea montis-borlae* è risultata essere di 3.9 m/s, molto vicina a quella degli acheni di *Centaurea jacea* L. (4.33 m/s) che però sono sprovvisti di pappo e molto superiore a quella degli acheni di *Cirsium dissectum* (L.) Hill

(0.38 m/s) o di *Hypochaeris radicata* L. (0.33 m/s) che però hanno un pappo molto sviluppato (Soons & Heil, 2002). Il valore di V_t calcolato, colloca la *Centaurea montis-borlae* tra le specie chiamate “wind ballists” (Soons, 2006), cioè specie che si disperdono poco o nulla per azione del vento. Questi dati indicano, per le cipsele di *Centaurea montis-borlae*, una sostanziale inefficienza del pappo nella funzione di rallentare la cipsela durante il volo, volo che ha durata brevissima in quanto l’altezza media di rilascio è 1,2 cm ma, al momento della disseminazione, la pianta tende generalmente a reclinare verso il basso il capolino, abbassando ulteriormente l’altezza di rilascio. Le simulazioni, condotte con velocità di vento anche molto forti ed estremamente improbabili durante i periodi della disseminazione, hanno dato come risultato distanze di dispersione che, nelle condizioni più favorevoli, non superano i 28.08 cm.

Dispersione idrocora

Le evidenze riscontrate sul campo tendono ad avvalorare questa tesi. Una dispersione di questo tipo, negli ambienti scoscesi delle due popolazioni, può avvenire solamente dall’alto verso il basso, seguendo le linee di ruscellamento delle piogge e fa sì che un eventuale espansione della specie possa essere impedita anche da piccoli ostacoli. Nelle Bore del Sagro, infatti, il limite all’espansione dell’Area Occupata in direzione Sud sembra essere costituito da un piccolo saggio di cava abbandonato che crea una discontinuità di circa 20m.

Distribuzione zoocora

L’analisi della forma della cipsela e le evidenze riscontrate sul campo tendono ad escludere in linea di massima questa forma di dispersione. Non si può escludere la mirmecocoria anche se non è mai stata osservata e comunque si tratta di una forma di dispersione che non copre lunghe distanze e tende ad accumulare i frutti in pochi luoghi (formicai). Sono stati osservati altresì alcuni casi dispersione zoocora, o antropocora accidentale come la pianta segnalata nel 1983 al Poggio della Signora (cfr. *Specimina visa*), un unico individuo vegetativo trovato nel

2007 sulla cresta del monte Maggiore (Ansaldi *et al.*, 2008) ed un unico individuo vegetativo trovato da me nel 2011 in località Case Walton, sul sentiero CAI n.39, tra il M. Borla e il M. Sagro. Tutte queste segnalazioni si riferiscono ad individui abbastanza lontani dalle due popolazioni ma trovati in zone sia di usuale transito di escursionisti che di pascolo.

7.10 Densità di popolazione

I rilevamenti per stimare la densità di popolazione sono stati quelli che hanno richiesto il maggiore impegno dal punto di vista fisico e temporale. Alcuni dei 57 quadrati rilevati erano situati in posizioni difficili da raggiungere e costruire un quadrato su pareti scoscese si è rivelato altresì abbastanza impegnativo. Naturalmente la stima di densità si riferisce al numero di ramets/m², data l'estrema variabilità nel numero di ramets che possono costituire un genet è quasi impossibile stimare il numero di genets di una popolazione. Gli individui non sono uniformemente distribuiti su tutta l'Area Occupata ma questa distribuzione è estremamente variabile, anche a livello di due quadrati adiacenti. Questo ha determinato un intervallo di confidenza piuttosto ampio, i valori inseriti nelle simulazioni dei modelli sono stati quelli medi, ma volendo si possono utilizzare gli intervalli di confidenza per previsioni più ottimistiche o più pessimistiche.

La subarea blu di Foce di Pianza (inclinazione $>0^{\circ} \geq 33^{\circ}$, esposizione E $>45^{\circ} \leq 135^{\circ}$) che risulta avere una densità sensibilmente differente dalla densità media è situata al limite Est dell'Area occupata dalla popolazione di Foce di Pianza. La densità va via via rarefacendosi fino a scomparire superato il limite dell'Area Occupata dove, a parità di substrato, il versante del M. Borla è esposto a Nord. Analogamente sullo Spigolo Est del M. Sagro le piante che vegetano sulla cresta hanno colonizzato solo il versante Sud ed Est di quest'ultima, pur avendo a disposizione anche il versante Nord. Lungo quest'ultimo versante, per uno sviluppo di circa 100 m, è stato rinvenuto un solo individuo. Questi dati indicano che la specie in linea di massima rifugge l'esposizione a Nord.

7.11 Modelli matematici PVA

Matrici di transizione

Il modello impostato in maniera deterministica e indipendente dalla densità ha fornito per la popolazione di **Foce di Pianza** delle indicazioni univoche sia con la suddivisione in 3 che con quella in 4 stadi di accrescimento:

1. $\lambda < 1$ quindi popolazione in leggero declino perché i valori di λ sono abbastanza vicini ad 1 (0.9848 con 3 stadi di accrescimento e 0.9870 con 4).
2. Il valore riproduttivo indica che la classe che contribuisce maggiormente alla crescita della popolazione è quella dei vegetativi la suddivisione in 4 stadi evidenzia che all'interno dei vegetativi è lo stadio V_1 , cioè quello con diametri della rosetta basale da 3,7 cm a 6,7 cm che ha il maggior valore riproduttivo.
3. La distribuzione stabile, cioè quella distribuzione percentuale degli individui nelle classi che si raggiunge se la popolazione si stabilizza su un certo tasso finito di crescita, non si discosta molto dalla struttura di popolazione rilevata nel 2011.
4. Il grafico di ciclo vitale mette in evidenza le transizioni tra le varie classi, lo spessore del tratto che unisce due classi è proporzionato all'entità della transizione, così come la dimensione dell'ovale che rappresenta ogni classe è proporzionata all'entità di quella classe. Tutti e due i grafici prodotti per Foce di Pianza mettono in rilievo l'importanza della classe dei vegetativi.
5. La proiezione della popolazione, ottenuta moltiplicando il vettore della popolazione attuale $[P; V; R]$ per la matrice di transizione, mostra un'oscillazione nelle varie classi finché non si raggiunge la distribuzione stabile e il decremento prosegue in maniera costante.

6. Le matrici di Sensitività (S) indicano che lo stadio di accrescimento che è più sensibile ad un cambiamento assoluto è a_{22} in entrambe le suddivisioni corrispondente ai vegetativi oppure ai ai piccoli vegetativi (V_1) nel caso di 4 stadi.
7. Le matrici di Elasticità (E) indicano che lo stadio di accrescimento che è più sensibile ad un cambiamento proporzionale è a_{22} in entrambe le suddivisioni corrispondente ai vegetativi oppure ai piccoli vegetativi (V_1) nel caso di 4 stadi.

Lo stesso modello impostato in maniera deterministica e indipendente dalla densità ha fornito per la popolazione dello **Spigolo Est del M. Sagro** delle indicazioni discordanti tra la suddivisione in 3 e quella in 4 stadi di accrescimento:

1. $\lambda < 1$ quindi popolazione in forte declino perché i valori di lambda sono decisamente minori di 1 (0.81 con 3 stadi di accrescimento e 0.7898 con 4).
2. Il valore riproduttivo indica che la classe che contribuisce maggiormente alla crescita della popolazione è quella delle plantule; la suddivisione in 4 stadi evidenzia invece che la classe dei riproduttivi ha il maggior valore. I vegetativi non sono la classe con il maggior valore perché hanno un tasso di mortalità molto elevato (cfr. par. 6.5) dovuto principalmente al brucamento e al calpestio delle capre.
3. La distribuzione stabile, cioè quella distribuzione percentuale degli individui nelle classi che si raggiunge se la popolazione si stabilizza su un certo tasso finito di crescita, non si discosta molto dalla struttura di popolazione rilevata nel 2011 nel caso della suddivisione in 3 stadi, cosa che invece accade nella suddivisione in 4 stadi.
4. Il grafico di ciclo vitale mette in evidenza le transizioni tra le varie classi, lo spessore del tratto che unisce due classi è proporzionato all'entità della transizione, così come la dimensione dell'ovale che rappresenta ogni classe è proporzionata all'entità di quella classe. Tutti e due i grafici prodotti per lo Spigolo Est del M. Sagro mettono in rilievo l'importanza della classe dei vegetativi e l'assenza delle plantule.

5. La proiezione della popolazione, ottenuta moltiplicando il vettore della popolazione attuale [P; V; R] per la matrice di transizione, mostra un decremento deciso e costante.
6. Le matrici di Sensitività (S) indicano che lo stadio di accrescimento che è più sensibile ad un cambiamento assoluto è a_{21} nella suddivisione in 3 stadi e a_{41} nel caso di 4 stadi. Questi due dati sono un chiaro esempio che le indicazioni delle matrici di Sensitività non vanno prese alla lettera ma vanno sapute interpretare alla luce della biologia della specie in esame: a_{21} è una transizione impossibile da realizzarsi perché indica una regressione dei vegetativi che diventano plantule; a_{41} indica una transizione da piccoli vegetativi (V_1) a riproduttivi che in natura avviene con una frequenza estremamente piccola (0.0048 per ogni individuo) e che non può essere prevista nel caso di una introduzione.
7. Le matrici di Elasticità (E) indicano che lo stadio di accrescimento che è molto più sensibile ad un cambiamento proporzionale è a_{22} in entrambe le suddivisioni corrispondente ai vegetativi oppure ai piccoli vegetativi (V_1) nel caso di 4 stadi.

Le simulazioni con MATLAB® sono state effettuate utilizzando solo la suddivisione in 3 stadi di accrescimento e quindi le matrici 3 x 3 perché, dal punto di vista prettamente matematico, sono più precise ed affidabili in quanto le matrici 4 x 4 in questo caso incorporano un piccolo errore dovuto all'incertezza sull'origine dei nuovi ramets, cioè se si originino dai piccoli (V_1) o grandi vegetativi (V_2).

I grafici prodotti dal programma “RandDraw” mostrano che, se le condizioni ambientali rimangono costanti, la popolazione di Foce di Pianza subirà un lento decremento dimezzandosi in 46 anni; diversamente la popolazione del Sagro, affetta da un decremento molto più marcato raggiungerà la soglia di quasi-estinzione in 12 anni e l'estinzione in 54 anni. Queste proiezioni non tengono conto della stocasticità ambientale, della stocasticità demografica che aumenta di importanza al decrescere della popolazione e della ridotta

variabilità genetica che ugualmente fa sentire i propri effetti (Allee, inbreeding) mano a mano che il numero di individui decresce.

I due metodi per incorporare nei modelli la stocasticità ambientale, simulazione stocastica e approssimazione di Tuljapurkar hanno prodotto due valori di λ_s molto simili tra loro e simili al valore deterministico di λ . I grafici generati dai programmi “*Simext*” e “*Box 7.6*” sono sostanzialmente identici nella fino a 140 anni con lo 0% di probabilità di quasi-estinzione, poi a 200 anni le probabilità di quasi-estinzione differiscono molto e sono rispettivamente l’11.8% e il 22.54% questa differenza è dovuta alla piccola divergenza nei valori di λ_s proiettata per un tempo molto lungo (200 anni).

Tassi vitali

La PVA effettuata utilizzando i tassi vitali sembra fornire dati sostanzialmente differenti da quelli forniti utilizzando le matrici di transizione, infatti le probabilità di quasi-estinzione risultano del 22.4% in 100 anni. L’affidabilità di questi dati è condizionata però dalla mancanza della matrice di cross-correlazione, ottenibile con 4 anni di dati. Resta comunque valido il tasso finito di crescita deterministico ricavato dai tassi vitali ($\lambda=0.9821$).

7.12 Simulazioni di gestione

Il cambiamento dello stadio $a_{2,2}$ nella matrice di transizione per la la popolazione di **Foce di Pianza** si traduce, dal punto di vista pratico, nella:

1. raccolta di almeno 3000-3500 acheni fertili;
2. germinazione *ex situ* degli acheni;
3. allevamento delle plantule;
4. introduzione mediante piantumazione di almeno 2354 individui vegetativi all’interno della popolazione.

L’opzione gestionale proposta risulta molto onerosa sia per chi la deve condurre, sia per la specie che verrebbe sottoposta ad un depauperamento eccessivo e concentrato in un periodo

breve con conseguente ulteriore riduzione della già bassa percentuale di germinazione. Va invece impostato un differente sistema di intervento, più dilazionato nel tempo e testato per ottimizzare i risultati. Questo si compone di una prima fase in cui:

1. viene raccolto un minore numero di acheni fertili (500-600);
2. si migliorano i protocolli di germinazione e allevamento *ex-situ* riducendo i trapianti in modo da garantire una percentuale di sopravvivenza delle plantule più elevata;
3. l'anno successivo vengono introdotti *in-situ* gruppi di 100 individui in periodi diversi. Questi individui vanno marcati e monitorati per ricavare la percentuale di sopravvivenza a distanza di 3 mesi, 6 mesi, 1 anno.

Una volta ottimizzati i vari passaggi si passa alla seconda fase in cui:

1. vengono raccolti acheni fertili in numero tale da garantire almeno 300 plantule da introdurre l'anno successivo;
2. vengono introdotte le plantule nel periodo che è risultato più idoneo;
3. si ripetono queste operazioni per un ciclo di 10 anni, monitorando i risultati.

Il cambiamento dello stadio $a_{2,2}$ nella matrice di transizione per la popolazione dello **Spigolo Est M. Sagro** si traduce, dal punto di vista pratico, nella:

1. raccolta di almeno 10000-11000 acheni fertili;
2. germinazione *ex situ* degli acheni;
3. allevamento delle plantule;
4. introduzione mediante piantumazione di almeno 8353 individui vegetativi all'interno della popolazione.

È chiaro che un'opzione gestionale di questo tipo è impossibile da attuare, per l'elevatissimo numero di acheni fertili da prelevare all'interno di questa popolazione che di fatto ridurrebbe a zero le possibilità di germinazione. La situazione di questa popolazione è complicata dall'eccessivo brucamento da parte delle capre che altera pesantemente l'equilibrio naturale.

La prima concreta azione di gestione, da attuare quanto prima, consiste nell'eradicazione delle capre, che va effettuata dall'Ente Parco delle Alpi Apuane secondo i protocolli dell'Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA) che dal 2010 ha incorporato l'Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica. Una volta terminata questa prima azione occorrerà un nuovo monitoraggio per comprendere le dinamiche della popolazione senza la pressione predatoria delle capre. Interpretando i risultati si potranno poi intraprendere le altre azioni di conservazione analogamente a quanto fatto per la popolazione di Foce di Pianza.

7.13 Analisi DNA

Le analisi preliminari confermano che primers sviluppati per altre specie del genere *Centaurea* amplificano regioni SSR di *C. montis-borlae*; quindi una buona base di partenza per studi futuri sulla genetica di queste popolazioni.

8. CONCLUSIONI

L'Area Occupata dalla specie è complessivamente molto ridotta perché supera di poco i 17 ettari, ci sono evidenze di una sua riduzione pregressa.

Le prove di germinazione *in situ* dimostrano che la specie in esame può germinare anche su substrati diversi dal marmo ma non sopravvive, la percentuale di germinazione in natura è comunque molto bassa.

Le prove di germinazione *in situ* ed *ex situ* dimostrano che non esiste una riserva di seme nel suolo (seed soil bank).

Le analisi chimiche non hanno chiarito se la diffusione ridotta della specie sia dovuta anche a fattori edafici; comunque mostrano che la pianta accumula alcuni elementi (Al, Ba, B, Cr, Mn, Cu, Zn); mantiene la concentrazione di altri elementi più bassa che nel terreno (Fe, Sr) e non accumula An, Ag, Co ed U.

La ridotta capacità di germinazione che si traduce in un basso numero di plantule, l'elevato numero di individui clonali, congiuntamente alla bassa fertilità dei capolini e alla ridotta capacità di dispersione determinano una diffusione puntuale e circoscritta.

Le matrici di transizione mostrano che entrambe le popolazioni sono in declino ma con due tassi differenti: molto elevato per la popolazione del Sagro che avrà il 95% di probabilità di estinguersi nei prossimi 50 anni, più lieve per la popolazione di Foce di Pianza che avrà il 22,4% di probabilità di estinguersi nei prossimi 200 anni.

L'analisi delle matrici di elasticità delle due popolazioni indica che lo stadio di sviluppo che è più sensibile ad interventi di gestione è quello degli individui vegetativi.

Gli interventi di gestione dovranno seguire le linee guida IUCN (Salafsky *et al.*, 2008) e dovranno essere prima ottimizzati. Si consiglia l'eradicazione totale delle capre inselvatichite come misura di conservazione primaria per salvaguardare le due popolazioni.

9. RINGRAZIAMENTI

Desidero ringraziare:

- Innanzitutto il Prof. **Marcello Tomaselli** che ha riposto molta fiducia in me
- Il Dott. **Gianni Bedini** dell'Università di Pisa, che mi ha aiutato e supportato durante questi 3 anni
- La Dottoressa **Maria Ansaldi** e il Dott. **Angelino Carta** dell'Università di Pisa, per l'aiuto fornito con i programmi GIS
- Il Dott. **Stefano Leonardi** dell'Università degli studi di Parma, per i preziosi suggerimenti e gli articoli che mi ha messo a disposizione
- Il **Comando Regionale Liguria** del Corpo Forestale dello Stato, per avermi concesso in prestito l'apparecchiatura GPS
- Il Dott. **Andrea Andreucci** dell'Università di Pisa, per le analisi del DNA
- Il Dott. **Lorenzo Peruzzi** dell'Università di Pisa, per i preziosi consigli e per l'aiuto
- Il Dott. **Josè Maria Iriondo** e la Dott.ssa **Maria Josè Albert** dell'Universidad R.J. Carlos di Madrid per avermi introdotto nel mondo della PVA
- Il Prof. **Bill Morris** della Duke University, per il tempestivo aiuto con i modelli matematici da lui sviluppati
- Il Prof. **Marco Meccheri** dell'Università di Siena, per le indicazioni molto precise e dettagliate su alcuni affioramenti geologici delle Alpi Apuane
- Il Dott. **Massimo Guidi** e la Dottoressa **Ilaria Baneschi** del CNR di Pisa, per la collaborazione e la disponibilità nelle analisi chimiche
- Il Dott. **Francesco Petacchi** di Carrara, per avermi accompagnato durante alcuni rilevamenti
- Il Dott. **Massimo Giorgi** dell'Università di Pisa, per le elaborazioni statistiche
- **Gianfranco Ricci** di Carrara, perché ha “costruito” nel 2011 una piccola ferrata sulla cresta dello Spigolo Est del Sagro per darmi la possibilità di compiere i rilevamenti in autonomia
- Infine, ma non ultimo, un doveroso ringraziamento al Dott. **Giuseppe Trombetti** di Carrara, per la disponibilità dimostrata nell'avermi accompagnato innumerevoli volte sullo Spigolo Est del Sagro ed aver pazientemente atteso che io completassi i rilevamenti.

10. BIBLIOGRAFIA

- Adams V. M., Marsh D. M., Knox J. S. (2005) *Importance of the seed bank for population viability and population monitoring in a threatened wetland herb*. Biological Conservation 124: 425–436
- Akçakaya H. R. (2000) *Population viability analyses with demographically and spatially structured models*. Ecological Bulletins, 48, 23–38.
- Akçakaya H.R. & Sjögren-Gulve P. (2000) *Population viability analysis in conservation planning: an overview*. Ecological Bulletins 48:9-21.
- Akçakaya H.R., Burgman M.A., Kindwall O., Wood C.C., Sjögren-Gulve P., Hatfield J.S., McCarthy M.A. (Eds.), (2004) *Species Conservation and Management: Case Studies*. Oxford University Press, New York. 531 pp.
- Ansaldi M., Medda E., Plastino S. (1994) *I Fiori delle Apuane*. Mauro Baroni & C.-Viareggio 347 pp.
- Ansaldi M., Bedini G., Boracchia M., Garbari F., Vangelisti R., Viegi L. (2008) *Centaurea montis-borlae Soldano (Asteraceae) Biosistemica ed Ecologia della Conservazione*. Atti Soc. tosc. Sci. nat., Mem., Serie B, 115:21-23
- Bakker J.P., Poschlod P., Strykstra R.J., Bekker R.M. & Thompson K. (1996) *Seed banks and seed dispersal: important topics in restoration ecology*. Acta Bot. Neerl., 45(4): 1461-1490
- Bakker V.J. & Doak D.F. (2009) *Population viability management: ecological standards to guide adaptive management for rare species*. Ecol Environ 7(3): 158–165
- Bechi N. (1992) *Aspetti Biosistematici e Fitogeografici della Flora Apuana*. Tesi di dottorato in Sistematica ed Ecologia Vegetale (Biosistemica), Università degli Studi di Firenze, 298 pp.
- Bechi N., Corsi G. & Garbari F. (1996) *Indagini biosistematiche sulla flora apuana. IV contributo*. Webbia 51 (1) : 37-57
- Beissinger S.R. & Westphal M.I. (1998) *On the use of demographic models of population viability in endangered species management*. Journal of Wildlife Management (Allen Press) 62 (3): 821–841
- Beissinger S.R. & McCullough D.R. (2002) *Population Viability Analysis*. Chicago University Press, Chicago, IL. – 577 pp.
- Bertoloni A. (1819) *Flora Alpium Apuanarum*. Amoenitates Italicae: 317-452, Bononiae.
- Bertoloni A. (1833-1854) *Flora italica*. Bononiae, 10 vv.

- Boccaletti M., Ciaranfi N., Cosentino D., Deiana G., Gelati R., Lentini F., Massari F., Moratti G., Pescatore T., Ricci Lucchi F., Tortorici L. (1990) *Painstaking restoration and paleogeographic reconstruction of the peri-Tyrrhenian area during the Neogene*. Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology, 77:41-50
- Bolzon P. (1894-1895) *La flora del territorio di Carrara*. Bull. Soc. Bot. Ital. 1894:104-112;146-152;200-205;239-244;259-263;300-304. 1895:52-57;252-256.
- Boyce M.S. (1992) *Population Viability Analysis*. Annu. Rev. Ecol. Syst. 23:481-506
- Bradley F., Medda E. (1995) *Le strade dimenticate. Vie di lizza e discesa del marmo nelle alte valli massesi*. Poliedizioni, Massa 115 pp.
- Brigham, C.A. & Schwartz M.W. (Eds.) (2003) *Population Viability in Plants: Conservation, Management, and Modeling of Rare Plants*. Ecological studies 165, Springer-Verlag, Berlin, 362 pp.
- Brook B. W., O'Grady J. J., Chapman A. P., Burgman M. A., Akçakaya H. R., & Frankham R. (2000) *Predictive accuracy of population viability analysis in conservation biology*. Nature, 404, 385–387
- Brook B. W., Burgman M. A., Akçakaya H. R., O'Grady J. J., & Frankham R. (2002) *Critiques of PVA as the wrong questions: throwing the heuristic baby out with the numerical bath water*. Conservation Biology, 16(1), 262–263
- Burrows F.M. (1973) *Calculation of the primary trajectories of plumed seeds in steady winds with variable convection*. New Phytologist, 72, 647–664
- Burrows F.M. (1975) *Wind-borne seed and fruit movement*. New Phytologist, 75: 405–418
- Carmignani L., Conti P., Disperati L., Fantozzi P.L., Giglia G., Meccheri M. (2001) *Carta Geologica del Parco delle Alpi Apuane(1:50.000) - Parco Alpi Apuane*, Università degli Studi di Siena, n. 2 tavole.
- Caruel T. (1860) *Prodromo della flora toscana*. Firenze, 767 pp.
- Caswell H. (1978) *A general formula for the sensitivity of population growth rate to changes in life history parameters*. Theoretical Population Biology 14:215–230
- Caswell H. & Trevisan M.C. (1994) *Sensitivity Analysis of Periodic Matrix Models*. Ecology, Vol. 75, No. 5: 1299-1303
- Caswell H. (2001) *Matrix Population Models. Construction, Analysis, and Interpretation*. Sinauer Associates, Sunderland, MA
- Caswell H. (2010) *Reproductive value, the stable stage distribution, and the sensitivity of the population growth rate to changes in vital rates*. Demographic Research, Vol. 23, 19: 531-548
- Cattani P. (2005) *Il Parco delle Apuane. 20 anni di "incontri e scontri"*. Ecoapuano 47: 3

- Cerdà A. & García-Fayos P. (2002) *The influence of seed size and shape on their removal by water erosion*. Catena, 48(4): 293-301
- Conti F., Manzi A., Pedrotti F. (1997) *Liste Rosse Regionali delle Piante d'Italia*. Univ. Camerino 139 pp.
- Crone E.E., Menges E.S., Ellis M.M., Bell T., Bierzychudek P., Ehrlén J., Kaye T.N., Knight T. M., Lesica P., Morris W.F., Oostermeijer G., Quintana-Ascencio P.F., Stanley A., Ticktin T., Valverde T. & Williams J.L. (2011) *How do plant ecologists use matrix population models?*. Ecology Letters, 14: 1–8
- Dafni A. & P.G. Kevan (Editors) (2003) *Field Methods in Pollination Ecology*. Ecoquest, Cambridge, Canada 131 pp.
- Damman H. & Cain M.L. (1998) *Population growth and viability analyses of the clonal woodland herb, Asarum canadense*. Journal of Ecology 86: 13-26.
- De Kroon H., Plaisier A., Van Groenendael J. & Caswell H. (1986) *Elasticity: the relative contribution of demographic parameters to population growth rate*. Ecology 67: 1427-1431.
- De Kroon H., J. Van Groenendael J. & Ehrlén J. (2000) *Elasticities: a review of methods and model limitations*. Ecology 81: 607-618
- Dennis B., P.L. Munholland, & J. M. Scott. (1991) *Estimation of Growth and Extinction Parameters for Endangered Species*. Ecological Monographs 61:115–143.
- Dickerman J.A. & Wetzel R.G. (1985) *Clonal Growth in Typha latifolia: Population dynamics and Demography of the ramets*. Journal of Ecology , 73: 535-552
- Dunning J.B.Jr., Stewart D.J., Danielson, B.J., Noon B.R., Root T.L., Lamberson R.H., Stevens E.E. (1995) *Spatially explicit population models: current forms and future uses*. Ecological Applications 5(1):3-11
- Ellner S. P., Fieberg J., Ludwig D., & Wilcox C. (2002) *Precision of population viability analysis*. Conservation Biology, 16(1), 258–261
- Elzinga C.L., Salzer D.W., Willoughby J.W. (1998) *Measuring and Monitoring Plant Populations*. U.S. Department of the Interior Bureau of Land Management National Applied Resource Sciences Center Denver, CO 477 pp.
- Ferrarini E. (2001) *Prodromo alla Flora della Regione Apuana*. Vol 3. Acc. Lunig. Di Sc. “G. Capellini”
- Ferrarini E., Marchetti D. (1994) *Prodromo alla Flora della Regione Apuana*. Vol. 1 Acc. Lunig. Di Sc. “G. Capellini”
- Ferrarini E., Pichi Sermolli R.E.G., Bizzarri M.P., Ronchieri I. (1997) *Prodromo alla Flora della Regione Apuana*. Vol 2. Acc. Lunig. Di Sc. “G. Capellini”

- Fieberg J. & Ellner S.P. (2001) *Stochastic matrix models for conservation and management: a comparative review of methods*. Ecol. Lett., 4, 244–266.
- Fiori A. (1923-1929) *Nuova Flora Analitica d'Italia*. Firenze 2 vv.
- Flather C.H., Hayward G.D., Beissinger S.R. & Stephens P.A. (2011) *Minimum viable populations: is there a 'magic number' for conservation practitioners?* Trends in Ecology and Evolution, Vol. 26, No. 6:307-316
- Fréville H., Imbert E., Justy F., Vitalis R. & Olivieri I. (2000) *Isolation and characterization of microsatellites in the endemic species Centaurea corymbosa Pourret (Asteraceae) and other related species*. Molecular Ecology, 9: 1671–1672
- Frost C.C. (1990) *Hudsonia montana final report: effects of fire, trampling, and interspecies competition, 1985–1989*. Plant Conservation Program, North Carolina Department of Agriculture, Raleigh, NC.
- Giannini E. (1970) *Lineamenti geologici delle Alpi Apuane*. Lav. Soc. Ital. Biogeogr., nuova serie Vol 1:47-67
- Gibson, D. J. (2002). *Methods in comparative plant population ecology*. Oxford University Press, Oxford, 344 pp.
- Gotelli N.J. (2001) *A Primer of Ecology, Third Edition*. Sinauer Associates, Sunderland, MA. 265 pp.
- Greene D. F. & Johnson E. A. (1989) *A Model of Wind Dispersal of Winged or Plumed Seeds*. Ecology, Vol. 70, No. 2: 339-347
- Greene D.F. & Johnson E.A. (1993) *Seed mass and dispersal capacity in wind-dispersed diaspores*. Oikos, 67: 69–74
- Hanski I. (1999) *Metapopulation Ecology*. Oxford University Press. 313 pp.
- Harrison S. & Ray C. (2002) *Plant population viability and metapopulation-level processes. In Population viability analysis*, eds. S. Beissinger and D. McCulloch, pp. 109–122. University of Chicago Press, Chicago
- Hoenig M. (2001) *Preparation steps in environmental trace element analysis - facts and traps*. Talanta, 54: 1021-1028
- Iriondo J.M., Albert M.J., Giménez Benavides L., Domínguez Lozano F. & Escudero A. (Eds.) (2009) *Poblaciones en Peligro: Viabilidad Demográfica de la Flora Vascular Amenazada de España*. Dirección General de Medio Natural y Política Forestal. Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino. Madrid, 242 pp.
- IUCN (2001) *Red List Categories and Criteria version 3.1*. IUCN, Gland, Switzerland. 35 pp.

- IUCN (2011) *Guidelines for using the IUCN Red List Categories and Criteria version 9.0*. 87 pp.
- Jongejans E. & Schippers P. (1999) *Modeling Seed Dispersal by Wind in Herbaceous Species*. *Oikos*, Vol. 87, No. 2: 362-372
- Kerguélen (1998) *E.r.i.c.a.* Bull. Bot. Armoricaire, Brest, 10 : 11
- Knacke T.W. (1992) *Parachute Recovery Systems Design Manual*. Para Publishing, Santa Barbara CA, 511 pp.
- Lefkovich L.P. (1965) *The study of population growth in organism grouped by stages*. *Biometrics* 21:1-18
- Lesica P. & Steele B.M. (1994) *Prolonged dormancy in vascular plants and implications for monitoring studies*. *Natural Areas Journal* 14: 209-212.
- Leslie P.H. (1945) *On the use of matrices in certain population mathematics*. *Biometrika* 33:183-212
- Lethbridge M., Possingham H. & Tyre A. (2001) *A Spatially Explicit Population Viability Model using GIS*. Proceedings of the 6th International Conference on GeoComputation University of Queensland, Brisbane, Australia
- Lindenmayer, D.B., Burgman M.A, Akcakaya H.R., Lacy R.C., & Possingham H.P. (1995) *A review of the generic computer programs ALEX, RAMAS/space and VORTEX for modelling the viability of wildlife populations*. *Ecological Modelling* 82:161-174
- Lombardi L., Chiti Batelli A., Galeotti L., Sposino P. (1998) *Le praterie montane delle Alpi Apuane e dell'Appennino tosco emiliano. Vegetazione e avifauna nidificante*. WWF delegazione Toscana 160 pp.
- López-Vinyallonga S., López-Alvarado J., Constantinidis TH., Susanna A. & Garcia-Jacas N. (2011) *Microsatellite cross-species amplification in the genus Centaurea (Compositae)* *Collectanea Botanica* vol. 30: 17-27
- Mace G.M., Collar N.J., Gaston K.J., Hilton-Taylor C., Akcakaya H.R., Leader-Williams N., Milner-Gulland E.J., Stuart S.N. (2008) *Quantification of extinction risk: IUCN's system for classifying threatened species*. *Conserv. Biol.* 22, 1424–1442
- Marrs R.A., Hufbauer R.A., Bogdanowicz S.M., & Sforza R. (2006) *Nine polymorphic microsatellite markers in Centaurea stoebe L. [subspecies C.s. stoebe and C.s. micranthos (S. G. Gmelin ex Gugler) Hayek] and C. diffusa Lam. (Asteraceae)*, *Mol. Ecol. Notes*, 6:897 – 899
- Maschinski J., Frye R. & Rutman S. (1997) *Demography and Population Viability of an Endangered Plant Species before and after Protection from Trampling*. *Conservation Biology* 11: 990-999

- Menges E.S. (1990) *Population viability analysis for an endangered plant*. Conservation Biology 4:52-62
- Menges E.S. (1991) *The application of Minimum Viable Population theory to plants*. In: Falk D.A., Holsinger K.E. *Genetics and Conservation of rare plants*, Oxford UK: Oxford University Press pp. 45-61
- Menges E.S. (1998) *Evaluating extinction risks in plant populations*. In: Fiedler P.L., Kareiva P.M. *Conservation Biology for the coming decade*, 2nd edn. Chapman and Hall, New York pp. 49-65
- Menges E.S. (2000) *Population viability analyses in plants: challenges and opportunities*. Trends Ecol. Evol. 15:51-56
- Merle H., Segura I., Garmendia A. & Ferriol M. (2010) *Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers for Centaurea aspera L. and Centaurea seridis L. (Asteraceae)*. Molecular Ecology Resources
- Meyer S.E. & Carlson S.L. (2001) *Achene mass variation in Ericameria nauseosus (Asteraceae) in relation to dispersal ability and seedling fitness*. Functional Ecology, 15: 274–281
- Mondoni A., Probert R., Bonomi C., Rossi G., (2007) *Germination phenology in lowland and mountain populations of wood anemone (Anemone nemorosa L.) from Northern Italy*. Proceedings of the II International Conference on Seed Ecology, Perth, Australia.
- Mondoni A., Probert R., Rossi G., Hay F., Bonomi C., (2008) *Habitat- correlated seed germination behaviour in populations of wood anemone (Anemone nemorosa L.) from Northern Italy*. Seed Science Research, 18 : 213-222
- Mills L.S., Doak D.F., Wisdom M.J., (1999) *Reliability of conservation actions based on elasticity analysis of matrix models*. Conservation Biology 13 (4): 815–829
- Mills L.S., Doak D.F., Wisdom M.J., (2001) *Elasticity analysis for conservation decision making: Reply to Ehrlén et al.* Conservation Biology 15 (1), 281–283.
- Morris W. F., Groom M., Doak D., Kareiva P., Fieberg J., Gerber L., Murphy P. & Thomson D. (1999) *A practical handbook for population viability analysis*. The Nature Conservancy, Washington, D.C., USA. 79 pp.
- Morris W.F., Bloch P.L., Hudgens B.R., Moyle L.C., Stinchcombe J.R. (2002) *Population viability analysis in endangered species recovery plans: past use and future improvements*. Ecol Appl 12: 708–712.
- Morris W.F. & Doak D.F. (2002) *Quantitative Conservation Biology: Theory and Practice of Population Viability Analysis*. Sinauer Associates, Sunderland, MA. 480 pp.
- Nantel P., Gagnon D. & Nault A. (1996) *Population viability analysis of American ginseng and Wild leek harvested in stochastic environments*. Conservation Biology 10: 608-621.

- Nathan R., Safriel U.N., & Noy-Meir I. (2001) *Field validation and sensitivity analysis of a mechanistic model for tree seed dispersal by wind*. *Ecology*, 82(2):374–388
- Nathan R., Horn H.S., Chave J. & Levin S.A. (2002) *Mechanistic models for tree seed dispersal by wind in dense forests and open landscapes*. In *Seed Dispersal and Frugivory: Ecology, Evolution and Conservation* (eds D.J. Levey, W.R. Silva & M. Galetti), pp. 69–82. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Nathan R., Katul G.G., Bohrer G., Kuparinen A., Soons M.B., Thompson S.E., Trakhtenbrot A., Horn H.S. (2011) *Mechanistic models of seed dispersal by wind*. *Theoretical Ecology* Vol. 4(2): 113-132
- Nault A. & Gagnon D. (1993) *Ramet demography of Allium tricoccum, a spring ephemeral, perennial forest herb*. *Journal of Ecology* 81: 101-119
- Parlatore F. (1848-1896) *Flora italiana*. Firenze 11 vv.
- Pellegrini P. (1942) *Flora della provincia di Apuania*. Tip. E. Medici, Apuania-Massa 449 pp.
- Pichi Sermolli R.E.G. (1999) *I precursori dell'esplorazione floristica sulle Alpi Apuane*. Suppl. al N°2, Vol 15-1999 di Museologia Scientifica, 289 pp.
- Pignatti S. (1982) *Flora d'Italia*. Edagricole Bologna 3 vv.
- Possingham H.P., Davies I. (1995) *ALEX: A Model For The Viability Analysis Of Spatially Structured Populations*. *Biological Conservation* 73 (2): 143-150
- Primack R.B., Carotenuto L., (2003) *Conservazione della natura*. Zanichelli Bologna XIV. 514 pp.
- Ramula S. (2006) *Population Viability Analysis for Plants: practical recommendations and applications*. Doctoral dissertation, Stockholm University Department of Botany
- Raunkiær C. (1934) *The Life Forms of Plants and Statistical Plant Geography*. Oxford University Press, Oxford. 632 pp.
- Reed, J.M., Mills L.S., Dunning J.B., Menges E.S., Mckelvey K.S., Frye R., Beissinger S.R., Anstett M., & Miller P. (2002) *Emerging issues in population viability analysis*. *Conservation Biology* 16: 7–19.
- Rodushkin I., Ruth T., Huhtasaari A. (1999) *Comparison of two digestion methods for elemental determinations in plant material by ICP techniques*. *Analytica Chimica Acta*, 378: 191-200
- Salafsky N., Salzer D., Stattersfield A.J., Hilton-Taylor C., Neugarten R., Butchart S.H., Collen B., Cox N., Master L.L., O'Connor S., Wilkie D. (2008) *A standard lexicon for biodiversity conservation: unified classifications of threats and actions*. *Conserv. Biol.* 22(4):897-911

- Sampaio M., Picò F.X. & Scarano F.R. (2005) *Ramet Demography of a nurse Bromeliad in Brazilian Restingas*. American Journal of Botany 92(4): 674–681
- Shaffer M.L. (1981) *Minimum population sizes for species conservation*. Bioscience 31:131-134
- Simi E. (1851) *Flora Alpium versiliensium*. 275 pp., Massae
- Sjögren-Gulve P. & Hanski I. (2000). *Metapopulation viability analysis using occupancy models*. Ecological Bulletins, 48, 53–71.
- Soldano A. (1978) *Centaurea montis-borlae*, specie nuova delle alpi apuane. Giorn. Bot. Ital., 112:399-402
- Soldano A. (1978a) *Una nuova Centaurea sulle Alpi Apuane*. Giorn. Bot. Ital., 112:293
- Soons M.B. (2006) *Wind dispersal in freshwater wetlands: knowledge for conservation and restoration*. Applied Vegetation Science 9: 271–278
- Soons M. B. & Heil G. W. (2002) *Reduced colonization capacity in fragmented populations of wind-dispersed grassland forbs*. Journal of Ecology, 90: 1033–1043
- Stebbins G.L. jr. (1942) *The genetic approach to problems of rare and endemic species*. Madroño, 6:241-272
- Tews J. (2004) *Plant Population Viability Analysis in Conservation Biology: A Review*. Report prepared for ELUTIS Modeling & Consulting Inc.
- Traill L.W., Bradshaw C.J.A., Brook B.W. (2007) *Minimum viable population size: a metaanalysis of 30 years of published estimates*. Biol. Conserv. 139:159–166
- Tutin T.G. et al. (1964-1980) *Flora Europaea*. Cambridge (Cambridge University Press) 5 vv.
- Vaira R., Ansaldi M., Bedini G., Garbari F. (2004) *Demografia, distribuzione e aspetti conservazionistici di specie minacciate della flora apuana*. Atti Soc. tosc. Sci. nat., Mem., Serie B 111 (2004):65-93.
- Vaira R., Carta A., Trombetti G., Bedini G. (2010) *Newly described population of Centaurea montis-borlae Soldano, narrow endemic of Apuan Alps (NW Tuscany, Italy), increases area of occupancy but confirms stenoecy of this species*. Atti Soc. tosc. Sci. nat., Mem., Serie B 117: 45-49
- Vicens M., Gradaille J. & Iriondo J. M. (2004) *Demography, population structure and dynamics of Thymus herba-barona subsp. bivalens (Lamiaceae)*. Paper presented at the 4th European Conference on the Conservation of Wild Plants. Valencia (Spain), 17-20 September 2004

Wells J. V. & Richmond M. E. (1995) *Populations, metapopulations, and species populations: what are they and who should care?* Wildlife Society Bulletin 23:458-462.

Zangheri P. (1976) *Flora italica*. CEDAM, Padova, 1636 pp.