

Studi preliminari sulla germinazione di alcune sottospecie di *Centaurea aplolepa* Moretti (Asteraceae) ai fini della conservazione della biodiversità.

ANGELA SAGGESE¹, ANTONIO BORZATTI VON LOWENSTERN¹, TIZIANA LOMBARDI²

RIASSUNTO: Test di germinazione su *Centaurea aplolepa* subsp. *carueliana* (Micheletti) Dostál, *Centaurea aplolepa* subsp. *cosana* (Fiori) Dostál, *Centaurea aplolepa* subsp. *maremmana* (Fiori) Dostál, *Centaurea aplolepa* subsp. *subciliata* (DC.) Arcang., sono stati realizzati su acheni raccolti alla maturazione, e quindi saggiati in prove sperimentali di germinazione condotte alla Temperatura di 25°C e 18°C, in condizioni di fotoperiodo 12/12 e in completa assenza di luce, distinguendo, ove presenti, acheni chiari e scuri. Per ogni gruppo sono state fatte 3 repliche da 50 individui. I dati ottenuti sono stati elaborati e discussi prendendo in considerazione parametri quali la capacità germinativa e la velocità di germinazione (T50). I risultati permettono di evidenziare differenze sostanziali tra le sottospecie in relazione sia alla temperatura sia al colore degli acheni, e in relazione alle condizioni ecologiche e di maturazione dei frutti.

Parole chiave: *Centaurea aplolepa* Moretti, morfologia semi, comportamento alla germinazione.

SUMMARY: Germination tests of *Centaurea aplolepa* subsp. *carueliana* (Micheletti) Dostál, *Centaurea aplolepa* subsp. *cosana* (Fiori) Dostál, *Centaurea aplolepa* subsp. *maremmana* (Fiori) Dostál, *Centaurea aplolepa* subsp. *subciliata* (DC.) Arcang., were made to the maturation of collected achenes, and then assayed in the experimental tests of germination conducted at temperature 25 ° C and 18 ° C, under a photoperiod of 12/12 and in the complete absence of light, distinguishing, where present, clear and dark achenes. For each group were made 3 replicates from 50 individuals. The obtained data were processed and discussed using parameters such as germination capacity and germination rate (T50). The results make it possible to highlight substantial differences between subspecies in relation to both temperature and color of achenes, and in relation to the ecological conditions and fruit ripening.

Key words: *Centaurea aplolepa* Moretti, seed morphology, behaviour of seed germination.

Introduzione

Centaurea aplolepa Moretti s.l. (1826) (= *Centaurea paniculata* subsp. *aplolepa* (Moretti) Briq. & Cavill.) (Greuter, 2006-2009), comprende gruppi omogenei di popolazioni differenziate morfologicamente su base geografica tanto che tale *taxon* viene descritto come un *commiscuum* senza variazioni continue o clinali

tra popolazioni contigue (Arrigoni, 2003 sub *Centaurea paniculata*). Tali popolazioni sono distribuite in modo frammentario lungo l'areale tirrenico settentrionale che comprende Liguria, Piemonte, Lombardia, Emilia Romagna e Toscana e risultano endemiche (Bertacchi *et al.*, 2010; Pignatti, 1982; Conti *et al.*, 2005 sub *Centaurea paniculata*; Briquet, 1902). Fiori (1923-1925) considerava tali popolazioni come costituite da varietà dovute all'isolamento geografico.

1. Museo di Storia Naturale del Mediterraneo, Via Roma 234, 57127 Livorno.

E-mail: a.borzatti@provincia.livorno.it

2. Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agroambientali. Università di Pisa. E-mail: tlomb@agr.unipi.it

Il gruppo di *Centaurea aplolepa* Moretti è stenocoro ed è costituito da entità stenoecie, per questo le popolazioni distribuite nel territorio della provincia di Livorno e Grosseto sono oggetto di conservazione *ex-situ* da parte della Banca del Germoplasma del Museo di Storia Naturale del Mediterraneo (Borzatti de Loewenstern *et al.*, 2012).

Studi sul comportamento alla germinazione degli acheni di *Centaurea* sono stati condotti su numerosi *taxa*, ma del gruppo *Centaurea aplolepa* Moretti si hanno dati relativamente a *Centaurea aplolepa* Moretti subsp. *ligustica* (Gremli ex Briq.) Dostál e *Centaurea aplolepa* subsp. *subciliata* (DC.) Arrigoni (sub *Centaurea subciliata* (DC.) Arcang.) riscontrabili in: "Seed Information Database" on line sul sito dei Royal Botanic Gardens di Londra (Royal Botanic Gardens Kew, 2008). I dati sulla germinazione relativi a *Centaurea aplolepa* subsp. *ligustica* confermano quanto ottenuto sui *taxa* indagati in questo lavoro: *Centaurea aplolepa* subsp. *carueliana* (Micheletti) Dostál, *Centaurea aplolepa* subsp. *cosana* (Fiori) Dostál, *Centaurea aplolepa* subsp. *maremmana* (Fiori) Dostál, *Centaurea aplolepa* subsp. *subciliata* (DC.) Arcang. Studi preliminari su quest'ultimo *taxon* sono stati eseguiti sempre presso la Banca del Germoplasma del Museo di Livorno su acheni di età differenti conservati a +5 °C (Menini *et al.*, 2009).

Le indagini condotte di seguito hanno lo scopo di stabilire le condizioni ottimali di germinazione degli acheni di quattro sottospecie del gruppo *Centaurea aplolepa* Moretti al fine di migliorarne le pratiche di conservazione e, nell'ambito delle strategie di conservazione della biodiversità a livello locale, individuare i metodi più adeguati per un'eventuale loro reintroduzione in natura (Rossi *et al.*, 2013). Il confronto tra i differenti comportamenti alla germinazione, in relazione con l'ecologia delle entità indagate, conferma l'adattabilità di queste piante agli ambienti xerici dell'Etruria marittima.

Materiali e metodi

Per i test di germinazione sono state utilizzate le seguenti accessioni (Borzatti de Loewenstern *et al.*, 2011-2012):

Centaurea aplolepa subsp. *subciliata* (DC.) Arcang.; acc. n. 2011016001, Antignano (LI) 13/10/2011, Costa rocciosa. Leg. Saggese, Borzatti de Loewenstern.

Centaurea aplolepa subsp. *carueliana* (Micheletti) Dostál; acc. n. 2011010001, Monte Ferrato (Prato) 15/09/2011, Serpentine. Leg. Mannocci.

Centaurea aplolepa subsp. *maremmana* (Fiori) Dostál; acc. n. 2011025001, Monte Corbolone (LI) 28/10/2011, Serpentine. Leg. Mannocci

Centaurea aplolepa subsp. *cosana* (Fiori) Dostál, acc. n. 2011022001, 201123001, 2011024001, Montepescali (GR) incolti all'interno, Monte Filippo (GR) e Porto Ercole (GR) lungo la costa rocciosa, 22/10/2011. Leg. Saggese, Borzatti de Loewenstern e Lazzeri.

Per le metodologie di raccolta sono state seguite le linee guida del "Manuale per la raccolta, studio, conservazione e gestione *ex-situ* del germoplasma" (Bacchetta *et al.*, 2006; Piotta *et al.*, 2010): i prelievi sono stati effettuati a Ottobre 2011, su popolazioni sufficientemente ampie (per non comprometterne le dimensioni naturali) raccogliendo poche infiorescenze da ogni pianta (20-30%) da non più di metà degli individui omogeneamente distribuiti. I dati sono stati riportati nelle Schede di raccolta, elaborate e standardizzate dalla rete R.I.B.e.S (Rete Italiana Banche del germoplasma per la conservazione *Ex-situ* della flora Spontanea) e utilizzate nel corso dell'elaborato per ogni campionamento. Le prove di germinazione sono state condotte con acheni di circa 120 gg. di età, delle diverse sottospecie ed accessioni, posti in termostato su piastre Petri contenenti Agar 1%, alle temperature costanti di 25 e 18°C, al buio e ad un fotoperiodo di 12 / 12 h. In tutti i casi sono state allestite 3 ripetizioni da 50 acheni ognuna. Per *Centaurea aplolepa* subsp. *cosana* (Fiori) Dostál, la scarsa quantità di acheni presenti per capolino ha permesso di effettuare solo alcune prove di saggio; in questa prima fase è stato inoltre possibile valutare l'influenza delle sole temperature e non della presenza o meno di luce. Per gli altri *taxa* è stato osservato un dimorfismo nel colore degli acheni che sono stati quindi suddivisi in chiari (C) e scuri (S) e saggiate alla germinazione anche in base a questo parametro. In ogni caso gli acheni sono stati osservati quotidianamente fino ad un massimo

di 16 giorni. I dati raccolti hanno permesso di determinare la germinazione totale, il ritardo di germinazione, la velocità di germinazione (T50) utilizzando la formula:

$T50 = \left[\frac{(N/2 - N1) \times (T2 - T1)}{N2 - N1} \right] + T1$ (Piotto *et al.*, 2010) e infine di tracciare la curva di germinazione giornaliera.

Risultati

I risultati vengono di seguito presentati confrontando le singole sottospecie non solo in relazione alle condizioni di coltura ma anche in base alla differenza di comportamento tra acheni chiari o scuri. Per *Centaurea aplolepa* subsp. *subciliata* (DC.) Arcang., l'analisi dei dati mostra un ritardo nell'inizio della germinazione tra le due temperature utilizzate con valori in termini di giorni, maggiori per i 18°C in tutti i casi. Per gli acheni scuri la germinazione, in termini di capacità germinativa, risulta sempre maggiore con valori massimi che oscillano tra 66 e 51% contro 44 e 21% dei frutti chiari (Fig.1).

In entrambi i casi comunque né le temperature né il fotoperiodo sembrano influire particolarmente sulle percentuali massime finali; fanno eccezione gli acheni chiari posti in coltura alla luce e a 25°C caratterizzati da valori di germinazione significativamente inferiori rispetto ai 18°C e al buio. Differente è l'effetto di luce e temperatura sul T50. Mentre a 25°C, fatta eccezione per gli acheni scuri alla luce, i valori del T50 risultano molto simili tra loro indipendentemente dal fotoperiodo e dal tipo di frutto (media di 1,86 giorni), a 18°C, oltre a registrare valori medi nettamente superiori (5,61), si osserva una marcata differenza tra luce e buio per entrambi i frutti. Sia gli acheni chiari che quelli scuri presentano infatti una velocità di germinazione maggiore in assenza di luce (T50 al buio 4,71 per gli scuri e 4,17 per i chiari contro rispettivamente 6,64 e 6,92 alla luce). Questa stessa tendenza è rilevabile anche analizzando il tempo necessario a raggiungere la percentuale massima (Fig.2). Interessante risulta l'analisi del tempo necessario a superare il 50% di germinati sul totale posto in coltura, indice del valore di energia germinativa e della presenza di un eventuale stato di dormienza relativa e/o assoluta dei semi. E' evidente come gli acheni chiari non riescano mai a raggiungere il 50% contrariamente a quelli

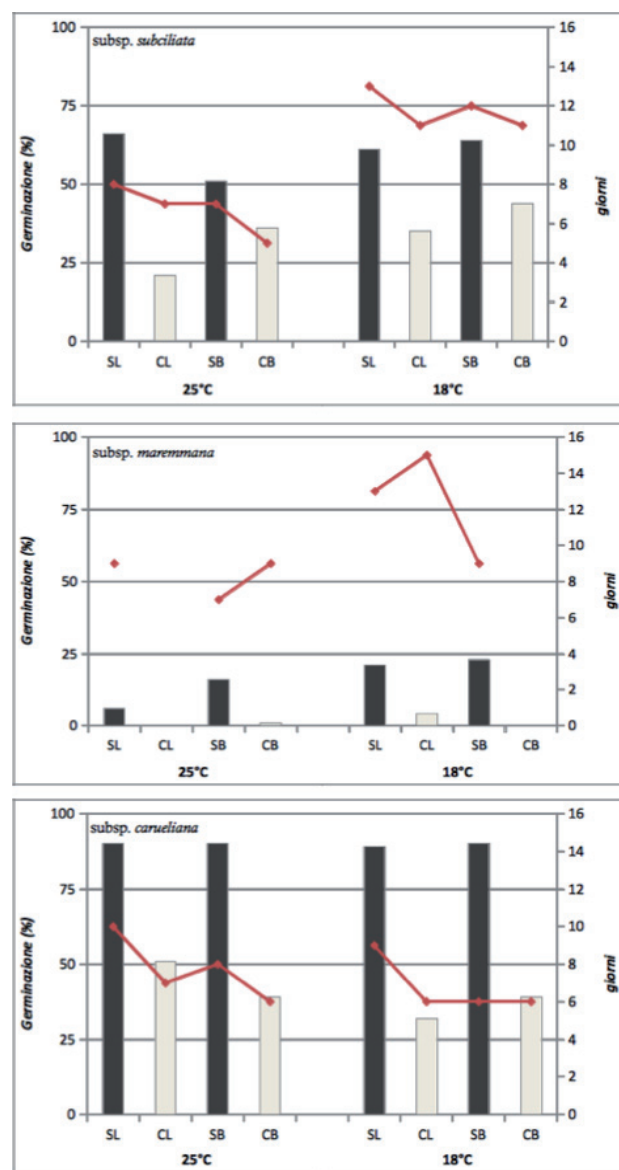


Fig. 1 Percentuali massime di germinazione e giorni necessari a raggiungere questi valori alle diverse condizioni di coltura (i punti nulli indicano assenza di germinazione)
Fig. 1 Maximum percentages of germination and days needed to achieve these values to the different culture conditions (the null points indicate no germination).

scuri che impiegano dai 3 agli 11 giorni per superare questa soglia. Interessanti infine i valori di germinazione riportati in "Seed Information Database" pari all' 84% a 20°C e fotoperiodo di 8/16 difficilmente confrontabili a causa dei differenti parametri (<http://data.kew.org/sid/SidServlet?ID=41739&Num=FHM>).

In *Centaurea aplolepa* subsp. *marenmmana* (Fiori) Dostál, la germinazione totale risulta molto bassa per tutta la durata del test con valori massimi, sebbene sempre superiori per gli acheni scuri,

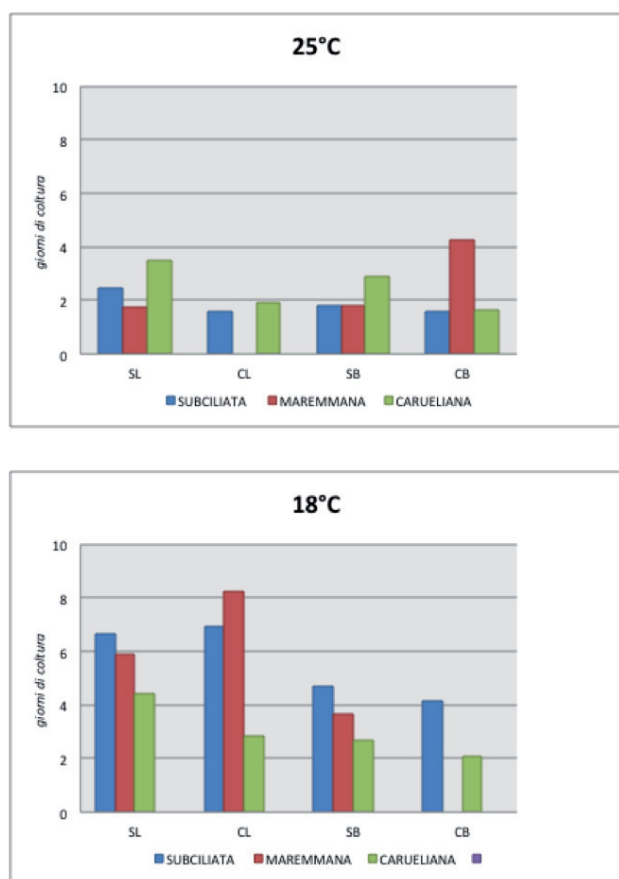


Fig. 2 T50 in giorni al variare di temperatura e luce (S = acheni scuri; C = acheni chiari) (valori nulli indicano assenza di germinazione).

Fig. 2 T50 in days at different temperature and light (S = achenes dark; C = achenes clear) (null values indicate no germination).

pari al 23%. Questa scarsa capacità germinativa appare più marcata negli acheni chiari che non superano il 4%. Evidente l'effetto negativo dell'azione sinergica tra 25°C e la presenza di luce sulla germinazione dei frutti scuri che a queste condizioni germinano con valori pari al 6% e quindi inferiori di circa il 74% rispetto ai valori più elevati. I valori relativi al T50 sono più alti a 18°C sia alla luce che al buio con un valore medio di 4,45 giorni contro circa 2 dei 25°C. Nessuna indicazione sull'energia germinativa in termini di giorni necessari per raggiungere il 50% di germinati in quanto questo valore non è mai stato raggiunto, indice di un marcato stato di dormienza.

Per *Centaurea aplolepa* subsp. *carueliana* (Micheletti) Dostál, i valori di capacità germinativa risultano nettamente superiori per gli acheni scuri ad ogni condizione esaminata con percentuali prossime al 100% non condizionate

dai parametri analizzati. I frutti chiari presentano invece valori finali nettamente inferiori, non superanti il 51%, oltre ad una preferenza per i 25°C e la presenza di luce. Lo stesso trend si rileva analizzando il T50; infatti i valori più elevati sono stati registrati sempre per gli acheni scuri che mostrano una velocità germinativa inferiore a 18°C e in condizioni di fotoperiodo 12/12 (4.45). Valori decisamente più bassi si osservano per gli acheni chiari, con un range compreso tra 1,94 e 2,85 giorni. Interessante anche in questo caso il valore relativo ai giorni necessari per raggiungere il 50% di germinati. Gli acheni scuri mostrano un andamento simile tra le due temperature germinando al 50% nel corso dei primi 5 giorni sia a 18 che a 25°C. I frutti chiari invece raggiungono questo valore solo a 25°C e in presenza di luce.

Infine *Centaurea aplolepa* subsp. *cosana* (Fiori) Dostál ha mostrato una percentuale di germinazione sempre nulla a 18°C e insignificante a 25°C in condizioni di fotoperiodo 12/12 ma, a causa della scarsità dei semi disponibili posti a germinare, si rendono necessarie ulteriori indagini.

Discussione e conclusioni

I risultati al momento a disposizione, permettono di evidenziare differenze sostanziali di germinazione tra le sottospecie di *Centaurea aplolepa* indagate, in relazione sia alla temperatura e al fotoperiodo di coltura, sia al colore degli acheni, e quindi a condizioni sia ecologiche che fisiologiche (interpretabili come differente grado di maturazione dei frutti). Questi risultati sicuramente avvalorano la visione di Arrigoni (2003) che definisce queste emergenze come sottospecie basandosi sulla vicarianza e continuità geografica: possiamo dire che esiste un collegamento tra variazioni morfologiche-ecologiche e differenze sul comportamento alla germinazione.

In tutte le entità esaminate, eccezion fatta per *Centaurea aplolepa* subsp. *cosana*, si evidenzia una maggiore capacità germinativa degli acheni scuri rispetto a quelli chiari, da imputare probabilmente, come detto sopra, a un differente grado di maturazione. Nello specifico *Centaurea aplolepa* subsp. *carueliana* presenta in linea di massima una resa germinativa decisamente più

alta delle altre sottospecie, e sembra, da questo punto di vista, essere indifferente alla temperatura e al fotoperiodo; fanno eccezione gli acheni chiari che sembrano influenzati positivamente dal sinergismo alta temperatura (25°C)/luce. Considerando la velocità germinativa comunque si osserva un sensibile calo a 18°C per tutti i casi esaminati, anche se le percentuali raggiunte sono praticamente identiche. Nel caso di *Centaurea aplolepa* subsp. *carueliana*, quindi, per avere una germinazione ottimale, nel minor tempo possibile per tutti gli acheni, sono preferibili condizioni di 25°C e un fotoperiodo 12/12.

Nel caso di *Centaurea aplolepa* subsp. *subciliata* le percentuali di germinazione finali sono simili in entrambe le condizioni di fotoperiodo e temperatura, eccezion fatta per gli acheni chiari posti alla luce a 25°C che a differenza di *Centaurea aplolepa* subsp. *carueliana*, presentano un valore decisamente più basso rispetto agli acheni nelle altre condizioni, e quindi una risposta negativa all'effetto sinergico della luce e dell'alta temperatura. L'analisi del T50 rivela una netta differenza tra le temperature; a 25°C il numero di giorni necessari a raggiungere le massime percentuali è infatti inferiore a 2, nettamente più basso rispetto ai 18°C ai quali si registra un valore medio pari a circa 6 gg, indicando un'azione decisamente stimolante dell'alta temperatura sulla velocità di germinazione.

Ai fini applicativi quindi, per avere una germinazione ottimale, in termini di percentuali e di tempo sono preferibili condizioni di 25°C al buio.

Per quanto riguarda *Centaurea aplolepa* subsp. *maremmana*, le percentuali di germinazione finali sono in generale molto basse, non raggiungendo in nessun caso il 25%, ma rispecchiano comunque la tendenza delle altre sottospecie in cui gli acheni scuri germinano con percentuali finali superiori rispetto ai chiari ad ogni condizione. La capacità germinativa degli acheni chiari risulta del resto compresa tra 0 e 4% massimo, indicando un livello di dormienza quasi assoluta probabilmente legato ad un grado di maturazione non ottimale dei semi.

Particolarmente evidente in questa entità l'effetto sinergico negativo di alte temperature e luce. La temperatura di 18°C, pur rallentando la germinazione in termini di T50 e giorni necessari per raggiungere i valori massimi,

permette percentuali più alte, in particolare alla luce; è infatti in queste condizioni, che gli acheni sia scuri che chiari raggiungono le loro percentuali massime. Probabilmente nel caso di *Centaurea aplolepa* subsp. *maremmana*, considerati i bassi valori complessivi, potrebbe essere utile ai fini della creazione di una riserva di plantule sufficiente, effettuare raccolte in tempi successivi assicurando così una maggiore maturazione dei semi; dal punto di vista sperimentale è preferibile una coltura a 18°C e alla luce.

Di scarsa importanza dal punto di vista della conoscenza dell'ecofisiologia della specie sono i dati ottenuti per *Centaurea aplolepa* subsp. *cosana* che è apparsa, almeno alle temperature utilizzate, in fase di dormienza assoluta.

La scarsità di acheni disponibili tuttavia non ha permesso di condurre ulteriori test per cui non è possibile al momento, delineare un quadro sufficientemente utile per la determinazione delle condizioni più idonee alla germinazione. Nel complesso le informazioni ottenute a seguito dei test sperimentali condotti in questa prima fase dello studio, pur necessitando di ulteriori approfondimenti, oltre ad essere importanti per le conoscenze sull'autoecologia della specie studiata, raggiungono almeno in parte gli obiettivi del lavoro in quanto possono risultare particolarmente utili in programmi di conservazione e tutela delle emergenze floristiche toscane.

Bibliografia

- ARRIGONI P.V., 2003 - Le centauree italiane del gruppo *Centaurea paniculata* L. *Parlatorea* 6:49-78.
- BACCHETTA G., FENU G., MATTANA E., PIOTTO B., VIREVAIRE M. 2006 - Manuale per la raccolta, studio, conservazione e gestione ex situ del germoplasma. APAT (Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i servizi Tecnici), Manuali e Linee Guida 37, 244 pp.
- BERTACCHI A., LOMBARDI T., MANNOCCI M., SPINELLI P., SPINI D., 2010 - Atlante del paesaggio vegetale del litorale livornese. pp. 17-29.
- BORZATTI VON LOWENSTERN A., BUCCHIONI M., DI MARCO F., PETTINELLI G., SAGGESE A., 2011-2012. Orto Botanico del Museo di Storia Naturale del Mediterraneo: Index seminum 2008-2012. *Quad. Mus. St. Nat. Livorno*, 24: 33-40.

- BORZATTI VON LOEWENSTERN A., SILVI E., MENINI S., ROSELLI A., 2012 - Banca del germoplasma del Museo di Storia Naturale del Mediterraneo. Studi Trent. Sci. Nat., 90: 109-111.
- BRIQUET J., 1902 - Monographie des centaurees des Alpes Maritimes. Georg & Company, 195 pp.
- CONI F., ABBATE G., ALESSANDRINI A., BLASI C. (Eds.), 2005. An annotated checklist of the Italian vascular flora. Palombi Editori, Roma.
- FIORI A., 1923-1925. Nuova Flora analitica d'Italia. M. Ricci, Firenze
- MENINI S., BORZATTI DE LOEWENSTERN A., SILVI E., 2011 - Test di germinazione su specie rare e localmente estinte conservate nella Banca del Germoplasma del Museo di Storia Naturale del Mediterraneo: taxa indagati *Centaurea* spp. e *Halimium halimifolium* (L.) Willk. In: La ricerca nei musei scientifici, XXI congresso ANMS Padova. pp. 93.
- MORETTI G., 1826. Giorn. Fis., ser. 2 9: 154.
- PIGNATTI S., 1982. Flora d'Italia. Edagricole Bologna.
- PIOTTO B., GIACANELLI V., ERCOLE S., 2010 - Introduzione: La conservazione ex situ. In: La conservazione ex situ della biodiversità delle specie vegetali spontanee e coltivate in Italia. ISPRA Roma P.3-7. Università di Roma La Sapienza Erbario Museo di Botanica.
- ROSSI G., AMOSSO C., ORSENIGO S., ABELI T., 2013. Linee Guida per la traslocazione di specie vegetali spontanee. Quad. Cons. Natura, 38, MATTM - Ist. Sup. Protezione e Ricerca Ambientale (ISPRA), Roma.
- GREUTER W. 2006-2009. Compositae (pro parte majore). In: Greuter W. & Raab-Straube E von (eds.) Compositae. Euro+Med Plantbase - the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity. <http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/> (accessed on 31.08.2010).
- ROYAL BOTANIC GARDENS KEW. (2008) Seed Information Database (SID). Version 7.1. Available from: <http://data.kew.org/sid/> (May 2008)

Extended abstract

Germination tests of *Centaurea aplolepa* subsp. *carueliana* (Micheletti) Dostál, *Centaurea aplolepa* subsp. *cosana* (Fiori) Dostál, *Centaurea aplolepa* subsp. *maremmana* (Fiori) Dostál, *Centaurea aplolepa* subsp. *subciliata* (DC.) Arcang. consist of the

maturation of collected achenes, and then assayed in the experimental tests of germination conducted at temperature 25 °C and 18 °C, under a photoperiod of 12/12 and in complete absence of light, distinguishing, where present, between clear and dark achenes. For each group were made 3 repetitions from 50 individuals. The obtained data were processed and discussed using parameters such as germination capacity and germination rate (T50). Results make it possible to reveal differences in germination between the subspecies of *Centaurea aplolepa* here investigated, related to both temperature and photoperiod of culture and the color of achenes, and then to both ecological and physiological conditions (interpreted as different levels of fruit ripening).

All entities examined, except for *Centaurea aplolepa* subsp. *cosana*, show a greater germinative capacity of the dark achenes compared to the light ones, probably due to a different maturation degree.

Specifically *Centaurea aplolepa* subsp. *carueliana* presents a yield of germination significantly higher than the other subspecies, and it seems, from this point of view, to be indifferent to temperature and photoperiod; except clear achenes that seem positively influenced by the synergism between high temperature (25 °C) and light. Considering the germination speed, however, it is observed a significant decrease at 18 °C for all the cases examined, although the proportions achieved are virtually identical. In the case of *Centaurea aplolepa* subsp. *carueliana*, then, conditions of 25 °C and a photoperiod of 12/12 are preferable to have an optimal germination in the shortest possible time for all the achenes.

In the case of *Centaurea aplolepa* subsp. *subciliata* the final germination percentages are similar in both conditions of photoperiod and temperature, except for the clear achenes placed in the light at 25 °C that, unlike *Centaurea aplolepa* subsp. *carueliana*, present a much lower value, and subsequently a negative behaviour to the effect of light and high temperature. The analysis of T50 shows a marked difference between temperatures; at 25 °C the number of days required to reach the maximum percentage is in fact lower than 2, significantly lower than the 6 days recorded at 18 °C indicating an important stimulating action of the high temperature on the speed of germination. To have an optimal germination, in terms of percentage and time, conditions of 25 °C in the dark are preferable.

As for *Centaurea aplolepa* subsp. *maremmana*, the final germination percentages are generally very low, not reaching 25%, but still reflect the trend of

other subspecies in which the dark achenes germinate with higher percentages than the clear to every condition. The germination capacity of the clear achenes result between 0 and 4% maximum, indicating a level of dormancy almost absolute, likely due to a not optimal degree of seed maturity. The temperature of 18 ° C, while slowing the germination in terms of T50 and days required to reach the maximum values, allows higher germination percentages, particularly in the light; in these conditions the achenes, both dark and clear, reach their maximum germination rates. So, from the experimental point of view, culture at 18 ° C and in the light is recommended.

Data obtained for *Centaurea aplolepa* subsp. *cosana*, are of little value since it has appeared to be in absolute dormancy at the temperature used during the experiments.