

¹Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu. Centro de Estudios Ambientales (CEA). Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz. Casa de la Dehesa de Olarizu s/n; 01006; Vitoria-Gasteiz. (aagut@vitoria-gasteiz.org)
²Dpto. Biología. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. Ciudad Universitaria s/n; 28040; Madrid.

Introducción

El Banco de Germoplasma Vegetal del Jardín Botánico de Olarizu (Vitoria-Gasteiz) tiene como objetivos principales la conservación a largo plazo de la flora silvestre amenazada, rara, endémica y singular de la Comunidad Autónoma del País Vasco (CAPV), así como de las especies estructurales y características de los Hábitat de Interés Comunitario.

La vegetación potencial de la Llanada Alavesa corresponde a un mosaico de bosques de fondo de valle, dominado por los robledales eufrotos pomperogríficos de *Quercus robur* (*Crataegus laevigata-Quercetum roboris*), que ocuparán la mayor parte de los terrenos de la Llanada sometidos a inundación temporal, junto con los quejigares (*Pulmonario longifoliae-Quercetum fagineae*) que ocuparán los cerros y zonas elevadas, libres de encharcamiento, acompañados por alisedas-fresnedas que pueblan las orillas de los principales cursos de agua superficiales. (Loidi *et al.*, 1997).

Hace tan sólo 50 años la Llanada Alavesa contaba con grandes extensiones de bosques de fondo de valle autóctonos, pero debido a la mecanización agrícola y el crecimiento urbano, su superficie fue reducida y fragmentada drásticamente, produciéndose una gran pérdida de biodiversidad. Sin embargo, estos bosques destacan por mantener una elevada riqueza de especies, albergando especies amenazadas y únicas en el País Vasco (Urbe-Echebarria 2010) y bajo el amparo de la Directiva Hábitats (92/43/CEE), fueron declarados Lugares de Importancia Comunitaria, entrando a formar parte de la Red Natura 2000. Este LIC incluye tres hábitats de interés comunitario, dos de interés prioritario y siete especies incluidas en el Catálogo Vasco de Especies Amenazadas (BOPV/EHAA nº 37 ZK 2011). Además, existen otras tres especies amenazadas propias de las etapas de sustitución de estos bosques, no incluidas en el LIC, que también han sido incluidas en el proyecto (Tabla 1).

El Programa de conservación y reintroducción de la flora amenazada y característica de los Robledales isla de la Llanada Alavesa (LIC ES2110013), ha sido subvencionado por el Departamento de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco.



Objetivos

1. Establecer cuales son las especies de flora vascular prioritarias para la conservación de la diversidad vegetal de los Robledales isla de la Llanada Alavesa.
2. Conseguir la conservación *ex situ* a largo plazo de la flora vascular prioritaria de los Robledales isla de la Llanada Alavesa en el Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu.
3. Establecer los protocolos de germinación de la flora vascular prioritaria de los Robledales isla de la Llanada Alavesa para poder llevar a cabo las labores de cultivo y producción de planta.
4. Reintroducir las especies prioritarias de los Robledales isla de la Llanada Alavesa en las parcelas experimentales de cultivo del Robledal, el Prado-Juncal y el Lago del Jardín Botánico de Olarizu.
5. Divulgar y sensibilizar a la comunidad científica y a la ciudadanía sobre los objetivos y resultados de este proyecto.

Material y métodos

El establecimiento de prioridades para la conservación de la flora amenazada y característica de los Robledales isla de la Llanada Alavesa se llevó a cabo mediante un método de evaluación multicriterio que permite priorizar las especies según su grado de amenaza y su función en el hábitat de estudio. Previamente se evaluaron 11 masas forestales del municipio de Vitoria-Gasteiz (Álava), 7 de ellas incluidas en el LIC Robledales isla de la Llanada Alavesa, catalogándose un total de 412 taxones de flora vascular, 137 de ellas nemorales y características de estos bosques (excluyendo plantas ruderales y arvenses) (Urbe-Echebarria, 2010). Los taxones se evaluaron utilizando 5 criterios (tabla 1): (1) Amenaza (AME) de acuerdo con la Lista Roja Española (Moreno, 2008); (2) Protección (PRO) legal en la CAPV (BOPV/EHAA nº 37 ZK 2011); (3) Endemidad (END) según su representación en la Península Ibérica (Aizpuru *et al.*, 1999); (4) Frecuencia (FRE) de la planta en la Llanada Alavesa (Aizpuru *et al.*, 1999); y Ecología (ECO) priorizando especies con ecología restringida al hábitat forestal: nemorales y estructurales (Loidi *et al.*, 1997; Urbe-Echebarria 2010).

Todos los criterios se clasificaron según importancia en cinco clases. A las clases de cada criterio se les asignó un valor numérico en sentido ascendente según importancia, bien aplicando valores ordinales (de 0 a 4), bien transformándolas en función de su percentil asignándose el valor de la frecuencia acumulada (de 0 a 1). De este modo, obtuvimos dos transformaciones numéricas de los criterios y se calculó el índice de priorización de la conservación (IPC) a partir de la suma normalizada, de valores ordinales y de percentiles:

$$IPC \text{ ordinal} = (AME + PRO + END + FRE + ECO) / 20$$

$$IPC \text{ percentil} = (AME + PRO + END + FRE + ECO) / 5$$

Con estos dos índices se generaron dos listas de priorización de especies que se compararon mediante una regresión lineal (Tabla 2, Figura 1).

Para la conservación de los taxones considerados de interés se efectuaron prospecciones de campo, recolectando las muestras de semillas en poblaciones naturales conocidas y nuevas poblaciones descubiertas gracias a este proyecto. Las muestras recolectadas se depositaron en la sala de recepción y limpieza del Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu. Tras el período de post-maduración y el proceso de limpieza, fueron trasladadas a la cámara de desecado (10 °C y 15% HR) hasta equilibrarse con las condiciones ambientales de la sala. A continuación, fueron introducidas en las cámaras de ultradesecado con gel de sílice (7-12% HR). Una vez ultrasecadas, las semillas fueron envasadas en ampollas de vidrio termosealadas, debidamente etiquetadas e ingresaron en la sala de conservación (19 °C) donde se conservarán a largo plazo. Paralelamente, las muestras fueron caracterizadas morfológicamente mediante la toma de imágenes 2D y 3D, la cuantificación numérica de los lotes de semillas, ensayos de viabilidad (capacidad germinativa, test de la conductividad) y la monitorización de la pérdida de peso y contenido de humedad durante el proceso de secado y ultradesecado.

En los ensayos de germinación realizados, necesarios para caracterizar la viabilidad de los lotes de semillas recolectados y poder establecer los protocolos de germinación de las especies objetivo, se usaron 4 réplicas de 25 semillas para las distintas condiciones de germinación definidas, excepto en el caso de *Pentaglottis sempervirens* puesto que el número de semillas disponibles tan sólo permitió el uso de 4 réplicas de 10 semillas. Se establecieron baterías de ensayos en distintas condiciones que combinaban 4 temperaturas constantes (10, 15, 20 y 25 °C), con un fotoperíodo de 8/16 h de luz/oscuridad, así como oscuridad total y en algunos casos de realizarlos tratamientos de estratificación cálida, escarificación y aplicación de ácido giberélico. Los ensayos se llevaron a cabo en las cámaras de germinación y crecimiento que permiten el control de la temperatura y el fotoperíodo. El medio de germinación utilizado fueron placas petri con agar 0,6 %.

Los ensayos de cultivo y producción de planta se llevaron a cabo utilizando todas las semillas germinadas durante los ensayos de germinación, excepto aquellas cuyo tratamiento incluía la aplicación de ácido giberélico, que fueron sembradas en bandejas forestales con sustrato profesional orgánico de turba herbácea con enmienda orgánica, manteniéndolas en las cámaras bajo las mismas condiciones experimentales de temperatura y con un fotoperíodo constante de 8/16 h de luz/oscuridad hasta comprobar la emergencia y el establecimiento de plántula. Tras una primera fase de crecimiento en las cámaras, las plántulas fueron trasladadas al invernadero para una segunda fase de crecimiento.

Tras la segunda fase de crecimiento en el invernadero, parte de las plantas obtenidas fueron introducidas en las parcelas experimentales de cultivo del Jardín Botánico de Olarizu.

Tabla 1. Lista de especies amenazadas incluidas en el proyecto

TAXON	CATÁLOGO VASCO 2011	DIRECTIVA HÁBITAT
PRESENTES EN EL LIC		
<i>Berula erecta</i> (Huds.) Coville.	En Peligro de Extinción	
<i>Pentaglottis sempervirens</i> (L.) L.H. Bailey.	Vulnerable	
<i>Ranunculus auricomus</i> L.	Vulnerable	
<i>Litorea uniflora</i> (L.) Asch.	Rara	
<i>Narcissus pseudonarcissus</i> L. <i>gr. nobiliss-vardulensis</i>	Rara	Anexo II
<i>Ilex aquifolium</i> L.	Interés Especial	
<i>Narcissus asturiensis</i> (Jord.) Pugsley.	Interés Especial	Anexo II
NO INCLUIDAS EN EL LIC (asociadas a etapas de sustitución del robledal)		
<i>Galium boreale</i> L.	Vulnerable	
<i>Narcissus bulbocodium</i> L. subsp. <i>citrinus</i> (Baker) Fern. Casas	Interés Especial	Anexo V
<i>Senecio carpetanus</i> L. Boiss. & Reut.	En Peligro de Extinción	



Resultados y discusión

Entre las 412 especies incluidas en el proyecto se encontraron 7 especies pertenecientes al LIC y 3 especies pertenecientes a las etapas de sustitución de los robledales que contaban con algún tipo de amenaza y protección (Tabla 1). 14 especies endémicas, 4 especies cuya abundancia es muy rara y 2 especies diferenciales del hábitat (*Crataegus laevigata* y *Quercus robur*).

Los dos criterios de transformación utilizados para establecer las prioridades de conservación, percentiles y ordinales, produjeron dos listas de priorización que se correlacionan (R²= 0,81, Fig 1), pero con diferencias marcables incluso cuando sólo las especies más prioritarias se seleccionan (Tabla 2). Por ejemplo, observando los 10 primeros taxones de la lista para cada índice vemos que estos varían en 2 especies. Mediante percentiles se obtuvo un rango de 21 valores absolutos de IPC, mientras que se obtuvieron tan sólo 9 al utilizar números ordinales ya que las combinaciones de valores ordinales son limitadas. Así pues, el método de transformación tiene un gran efecto en el índice obtenido y por lo tanto en las especies que serán priorizadas para su conservación.

En conclusión, el IPC utilizado es aquel obtenido mediante una transformación basada en las frecuencias relativas, ya que permite un mayor umbral de priorización, como también se ha observado en trabajos con flora cantábrica (Alfaro *et al.*, 2011). En la priorización obtenida observamos que entre los 10 taxones de máximo interés para la conservación encontramos 6 de las especies amenazadas, exceptuando *Litorea uniflora* que no es una especie estrictamente nemoral y las tres especies amenazadas asociadas a las etapas de sustitución de los robledales.

En función de las prioridades para la conservación establecidas 90 especies fueron incluidas en las acciones de conservación del Banco de Germoplasma asociadas a este proyecto: recolección, estudios de conservación y estudios germinativos.

Las prospecciones de campo llevadas a cabo posibilitaron el redescubrimiento y recuperación de la tercera población conocida de *Galium boreale* en el País Vasco, dada por desaparición desde hace 30 años y la constatación del aumento de la población de *Berula erecta* del río Zalla, una especie en peligro de extinción y con tan sólo otra población conocida en el País Vasco.

Tabla 3. Protocolos de germinación

Taxón	T(°C)	Fotoperíodo	Pretatamiento	Duración ensayo (días)	Porcentaje germinación (%)
<i>Narcissus bulbocodium</i> subsp. <i>citrinus</i>	10	Oscuridad	-	135	94
<i>Narcissus gr. pseudonarcissus</i> subsp. <i>pallidiflorus</i>	10	Oscuridad	Estratificación cálida (100 días 20°C)	35	82
<i>Merendera montana</i>	10	Oscuridad	Estratificación cálida (100 días 20°C)	88	95
<i>Berula erecta</i>	20	8/16	-	64	89
<i>Galium boreale</i>	20	8/16	-	64	32,5
<i>Senecio carpetanus</i>	25	8/16	-	64	72



Se han realizado ensayos de germinación, estableciendo el protocolo de germinación óptimo para *Merendera montana* y 5 especies amenazadas: *Galium boreale*, *Berula erecta*, *Senecio carpetanus*, *Narcissus gr. pseudonarcissus* y *Narcissus bulbocodium* subsp. *citrinus*.

Los ensayos de cultivo y producción de planta han permitido la introducción de estas especies en las parcelas de campo experimental del Jardín Botánico de Olarizu.

Se ha ensayado con éxito el cultivo mediante propagación vegetativa de la especie amenazada *Litorea uniflora*.

Los objetivos y resultados de este proyecto han sido divulgados mediante la edición de un folleto que está al alcance de todos los ciudadanos de Vitoria-Gasteiz en los Centros Cívicos de cada barrio, en todas las oficinas municipales y en las facultades y bibliotecas de la Universidad del País Vasco existentes en la ciudad. El folleto también ha sido enviado a todas las asociaciones de vecinos, asociaciones culturales y fundaciones existentes en el municipio. Su edición digital ha sido enviada vía *mailing* a todos los contactos que reciben periódicamente el Boletín Digital del CEA.

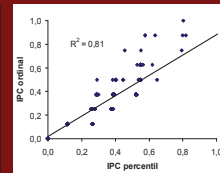
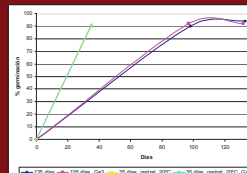


Figura 2. Curva de germinación de *Narcissus bulbocodium* en condiciones de 10°C y oscuridad.

Figura 1. Correlación entre el índice de prioridad para la conservación (IPC) calculado mediante la transformación con percentiles y valores ordinales.

Tabla 2. Lista de priorización de la flora vascular a conservar en los Robledales isla de la Llanada Alavesa. Se muestra a modo de ejemplo los 20 taxones prioritarios de los 412 evaluados, de acuerdo a los dos índices de priorización de la conservación (IPC) calculados, mediante transformación con percentiles y con valores ordinales.

Género	especie	IPC percentil	IPC ordinal
<i>Narcissus</i>	<i>pallidiflorus</i>	1	1
<i>Valeriana</i>	<i>pyrenaica</i>	2	2
<i>Pentaglottis</i>	<i>sempervirens</i>	3	1
<i>Ranunculus</i>	<i>auricomus</i>	3	2
<i>Conopodium</i>	<i>pyrenaicum</i>	3	3
<i>Epipactis</i>	<i>hispanica</i>	4	5
<i>Narcissus</i>	<i>asturiensis</i>	5	2
<i>Ilex</i>	<i>aquifolium</i>	6	4
<i>Crataegus</i>	<i>laevigata</i>	7	2
<i>Berula</i>	<i>erecta</i>	7	2
<i>Brachypodium</i>	<i>sylvaticum</i>	8	4
<i>Viola</i>	<i>odorata</i>	9	4
<i>Quercus</i>	<i>robur</i>	9	3
<i>Malus</i>	<i>sylvestris</i>	9	5
<i>Stachys</i>	<i>sylvatica</i>	9	5
<i>Hypericum</i>	<i>tomentosum</i>	9	5
<i>Bromus</i>	<i>benekenii</i>	9	5
<i>Euphorbia</i>	<i>villosa</i>	9	5
<i>Laserpitium</i>	<i>latifolium</i>	9	5
<i>Prunus</i>	<i>avium</i>	9	5

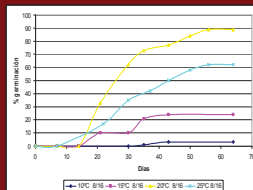


Figura 3. Curvas de germinación de *Berula erecta* en condiciones de luz (8/16).

Bibliografía

- Aizpuru I., Aseginolaza C., Urbe-Echebarria M., Urrutia P., Zorrakin I.(eds.). 1999. Claves ilustradas de la flora del País Vasco y territorios limítrofes. Ed. Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz.
- Jiménez-Alfaro B., Colubi A., González-Rodríguez G. 2011. A comparison of point-scoring procedures for species prioritization and allocation of seed collection resources in a mountain region. *Biodivers Conserv* (2010) 19:3667-3684.
- Loidi J., Biurrun I. & Herrera M. 1997. La vegetación del centro-septentrional de España. *Itiner Geobotánica* 9: 161-618.
- Moreno JC (coord). 2008. Red list of spanish vascular flora. Dirección General de Medio Natural y Política Forestal. Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino, y Sociedad Española de Biología de la Conservación de Plantas, Madrid.
- Urbe-Echebarria P.M. 2010. Estudio de caracterización botánica de los bosques de fondo de valle del municipio de Vitoria-Gasteiz (Álava). Centro de Estudios Ambientales, Ingurugiro Gaietarako Ikastegia. Vitoria-Gasteiz.
- BOPV/EHAA, nº 37 ZK. 2011. Orden de 10 de enero de 2011, de la Consejería de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca, por la que se modifica el Catálogo Vasco de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre y Marra y se aprueba el texto único. Vitoria-Gasteiz.