PROTOCOLOS DE GERMINACIÓN Y CULTIVO DE *NARCISSUS ASTURIENSIS* (JORD.) PUGSLEY

Agustí Agut & Asier Jáñez
Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olárizu. Dpto. de Medio Ambiente y Salud Pública del Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz. Casa de la Dehesa de Olárizu s/n. 01006. Vitoria-Gasteiz (Álava/Araba). España (ajplanez@gmail.com; aagut@vitoria-gasteiz.org).

Introducción

Narcissus asturiensis (Jord.) Pugsley es una hierba vivaz, con bulbo subterráneo pequeño, endémica del cuadrante noroccidental de la Península Ibérica. Este taxón está catalogado como especie de Interés Comunitario en el Anexo II de la Directiva Hábitat y como especie de Interés Especial en el Catálogo Vasco de Especies Amenazadas. Pese a no sufrir graves amenazas a nivel peninsular, en el municipio de Vitoria-Gasteiz algunas de sus poblaciones se ven afectadas por el abandono del pastoreo y la ganadería, así como por la actividad humana .

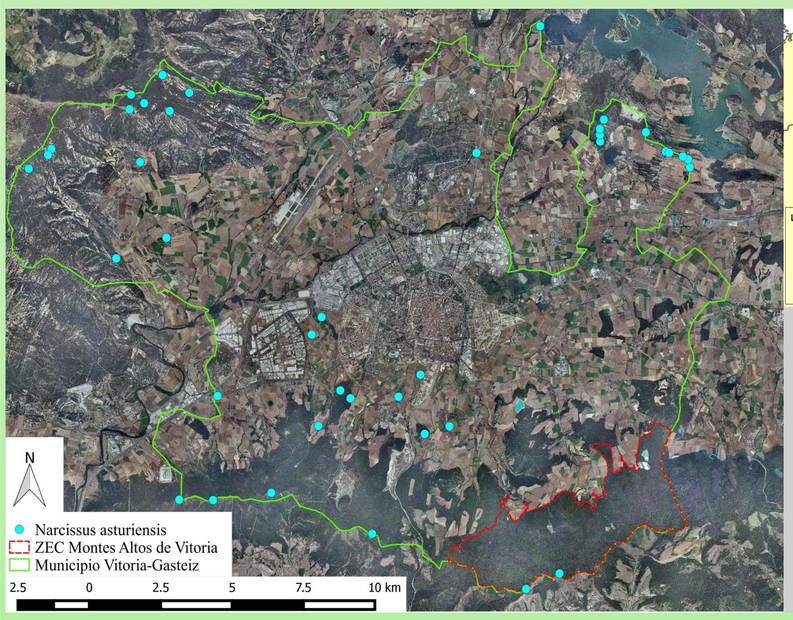

Figura 1. Mapa de distribución de *Narcissus asturiensis* en el Municipio de Vitoria-Gasteiz.

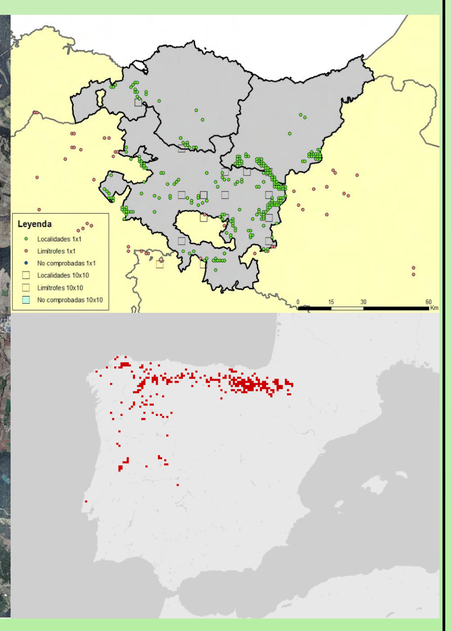

Figura 2. Mapa distribución de *Narcissus asturiensis.* Arriba: distribución en el País Vasco (BOPV, 2011) Abajo: distribución en la Península Ibérica (GBIF).

Objetivos

1. Recolectar germoplasma para su caracterización y conservación *ex situ* a largo plazo.
2. Estudiar la viabilidad de las semillas a conservar *ex situ* mediante el test de Tetrazolio.
3. Establecer los protocolos óptimos de germinación y cultivo con el fin de obtener plántulas para futuros refuerzos poblacionales.

Materiales y Métodos

Peso de 100 semillas deshidratadas (g)	0,32544
Talla (mm)	1,78 x 1,63
Número de cotiledones	Monocotiledónea
Contorno	Ovado-circular
Sección	Circular (1:1)
Color	Negro
Estructuras exteriores	Estrofiolo
Ornamentación	Ruminada
Tipo de semillas	Endospérmica
Tipo de embrión	Linear
Categoría de conservación	Ortodoxa

Tabla 1: Caracterización morfocolorimétrica de las semillas

<u>Ensayos de viabilidad. Test de Tetrazolio</u>: imbibición 25 semillas en solución 1% Tetrazolio (oscuridad, 24 horas). Exposición del embrión y demás estructuras a la solución de Tetrazolio mediante corte transversal de la semilla. Evaluación de cada semilla empleando un equipo de microscopía estereoscópica apocromática Leica S8APO, obteniendo las imágenes digitales mediante el software asociado a dicho equipo, Leica LAS. Los criterios de identificación visual fueron los propuestos por la International Seed Assosiation (ISTA, 2003).

<u>Ensayos de germinación</u>: Con el objetivo de eliminar posibles dormiciones y para comprobar si las semillas de *Narcissus* asturiensis requieren oscuridad para germinar (fotosensibilidad negativa) se establecieron los siguientes tratamientos:

- Tratamiento 1: 160 días a 10ºC (fotoperiodo 16/8 h luz/oscuridad).
- Tratamiento 2: 160 días a 10ºC (oscuridad).
- Tratamiento 3: 100 días a 15ºC (oscuridad) y 60 días a 10ºC (fotoperiodo 16/8 h luz/oscuridad)
- Tratamiento 4: 100 días a 15ºC (oscuridad) y 60 días a 10ºC (oscuridad).
- Tratamiento 5: 100 días a 20ºC (oscuridad) y 60 días a 10ºC (fotoperiodo 16/8 h luz/oscuridad).
- Tratamiento 6: 100 días a 20ºC (oscuridad) y 60 días a 10ºC (oscuridad).
- Tratamiento 7: 100 días a 25ºC (oscuridad) y 60 días a 10ºC (fotoperiodo 16/8 h luz/oscuridad).
- Tratamiento 8: 100 días a 25ºC (oscuridad) y 60 días a 10ºC (oscuridad).

La siembra se realizó en placas petri con medio de cultivo agar 1% (25 semillas por placa, 4 placas por tratamiento).
Para establecer un primer protocolo de cultivo, las semillas germinadas se fueron sembrando en bandejas de alveolo forestal con sustrato universal. Tras un período de crecimiento en cámara, las plántulas se trasladaron a vivero (condiciones ambientales).

Resultados

<u>Ensayos de viabilidad: Test de Tetrazolio</u>

96% viabilidad (24 semillas viables, 1 semilla no viable).

Figura 3. Semillas de *Narcissus asturiensis* una vez finalizada la prueba del Tetrazolio. Izquierda: semilla no viable. Derecha: semilla viable.

<u>Ensayos de germinación</u>:

Protocolo óptimo: Obteniendo un 97.86% germinación realizando un pretratamiento de estratificación cálida (20ºC o 25ºC, 100 días, oscuridad) seguido de condiciones de ensayo (60 días, 10ºC, oscuridad).

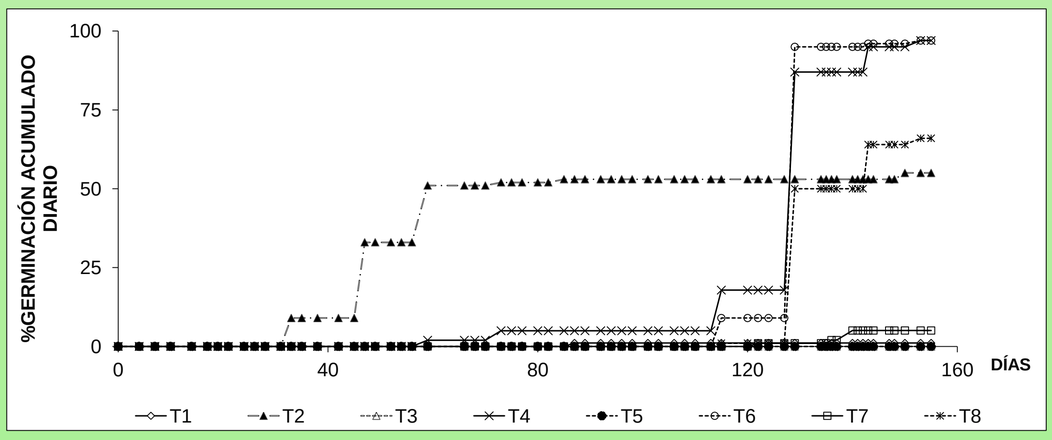

Figura 4. Porcentajes germinativos acumulados diarios

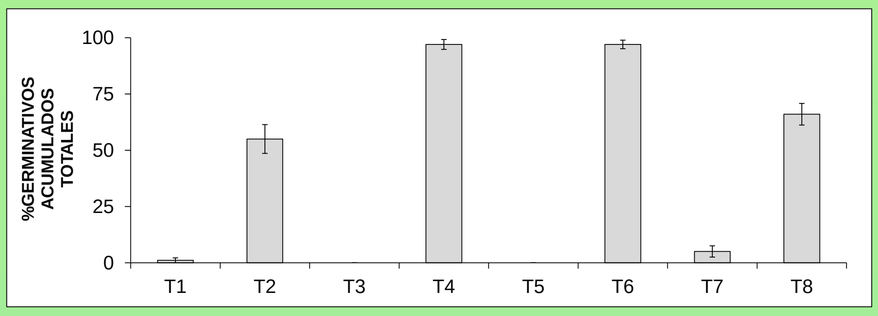

Figura 5. Porcentajes germinativos acumulados totales

Tratamiento	Porcentaje de germinación ± E.S.	Duración ensayo (días)	T 0 (días)	T50 (días)	Última germinación (días)
T1	1.09± 1,1	160	87	*	87
T2	0,00	160	0	0,00	0
T3	0,00	160	0	0,00	0
T4	5,04 ± 2,5	160	22	37,17	38
T5	55 ± 6,4	160	33	43,79	153
T6	96,69 ± 2,2	160	15	21,69	53
T7	97 ± 1,9	160	15	21,43	53
T8	66 ± 4,8	160	15	24,14	53

Tabla 2: Parámetros germinativos obtenidos

Nº semillas sembradas	Nº plántulas emergidas	Nº de plántulas muertas	Nº plántulas obtenidas	Supervivencia a repicación (%)	Supervivencia final (%)
342	342	16	335	100	97,95

Tabla 3: Resultados emergencia plántulas en bandejas forestales con sustrato universal a partir de semillas germinadas en los ensayos de germinación

<u>Ensayo cultivo</u>

Actualmente, teniendo en cuenta los datos obtenidos hasta el momento, se está estudiando el protocolo de cultivo a partir de siembra directa de semillas en bandejas forestales y bajo condiciones ambientales del vivero de producción de planta del Jardín Botánico de Olárizu.

Conclusiones

- Se ha establecido la viabilidad de las semillas de *Narcissus asturiensis* a conservar *ex situ*
- Se han establecido los protocolos óptimos de germinación y cultivo, a partir de semillas germinadas.
- Gracias a estos datos, se está estudiando el protocolo de cultivo a partir de siembra directa de semillas en bandejas forestales, con el objetivo de obtener planta para posibles futuros refuerzos poblacionales.

Bibliografía

- Aizpuru I., Aseginolaza, C., Uribe-Echebarría, P.M., Urrutia, P. y Zorrakin, I. (1999). *Claves ilustradas de la flora del País Vasco y territorios limítrofes*. Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco, Vitoria-Gasteiz, 831pp
- Bachetta, G., Bueno, A., Fenu, G., Jimenez, B., Mattana, E., Piotto, B., y Virevaire, M. (2008). *Conservación ex situ de plantas silvestres*. La Caixa, Principado de Asturias, 378pp.
- BOPV/EHAA(2011) *Orden 10 de Enero de 2011, de la Consejera de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca, por la que se modifica el Catálogo Vasco de Especies Amenazadas de la Fauna y Flora Silvestre y Marina y se aprueba el texto único*. Vitoria-Gasteiz (Nº37ZK) Departamento de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco.
- Portal de datos de GBIF [base de datos en Internet].Nodo Nacional de Información en Biodiversidad.
- ISTA (2003). *Working Sheets on Tetrazolium Testing. Agricultural, Vegetable and Horticultural Species*. International Seed Assosiation, 176pp.

VITORIA GASTEIZ

Centro de Estudios Ambientales CEA Ingurugiro Gaietarako Ikastegia

Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz
Vitoria-Gasteizko Udala