PROTOCOLOS DE GERMINACIÓN Y CULTIVO DE *NARCISSUS PSEUDONARCISSUSS* L. SUBSP. *PSEUDONARCISSUS*

Asier Jáñez & Agustí Agut
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 pseudonarcissus subsp. *pseudonarcissus* es una hierba vivaz de 25-50cm que habita en repisas humíferas de roquedos y grietas de karst, en suelos de aluvión junto a cursos de agua, o en el fresco suelo de hayedos y robledales. Crece entre 550 y 1200 m. de altitud y se distribuye por Europa Occidental

En la Comunidad Autónoma del País Vasco, se distribuye por la mitad oriental, abarcando desde las sierras de Aralar (Guipuzcoa y Navarra) y Entzia-Urbasa (Álava y Navarra) por el Este, y teniendo en Izki sus localidades más meridionales. En el municipio de Vitoria-Gasteiz, cuenta con una sola población, localizada dentro del límite de la ZEC Montes Altos de Vitoria, y observada por primera vez en 2009, con alrededor de 2.000 individuos.

Figuras de protección: CATALOGO VASCO DE ESPECIES AMENAZADAS (2011): INTERÉS ESPECIAL

DIRECTIVA HÁBITATS (ANEXO II)

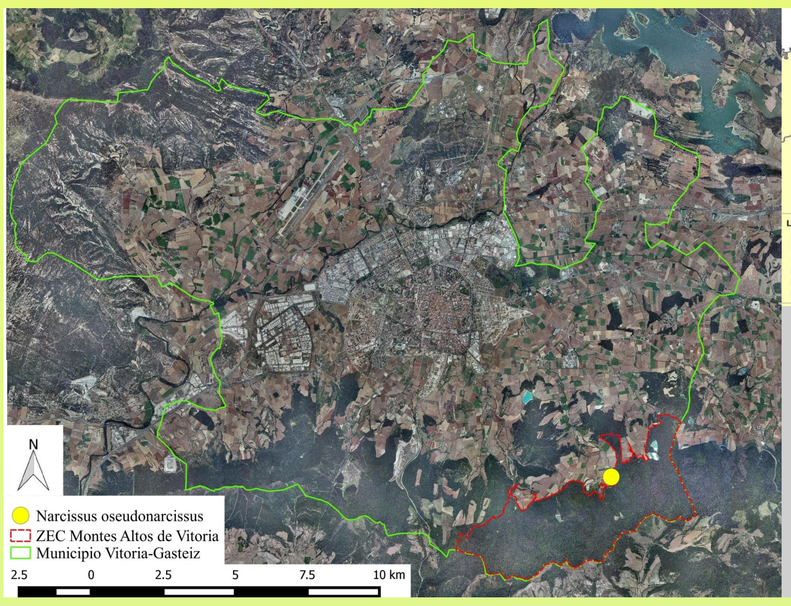

Figura 1. Mapa de distribución de *Narcissus pseudonarcissus* en la ZEC Montes Altos de Vitoria (Municipio de Vitoria-Gasteiz)

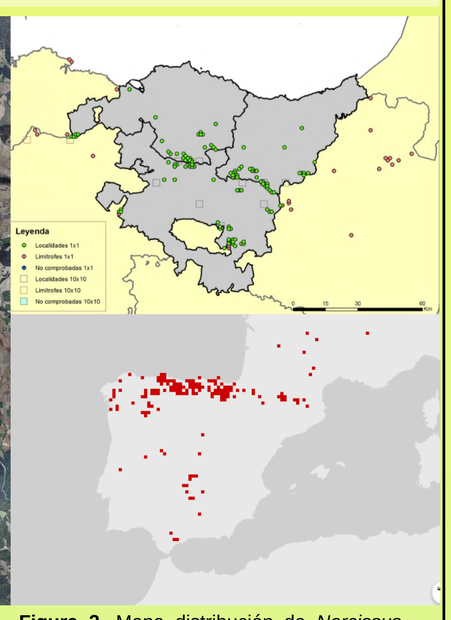

Figura 2. Mapa distribución de *Narcissus pseudonarcissus.* Arriba: distribución en el País Vasco (BOPV, 2011). Abajo: distribución en la Península Ibérica (GBIF).

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)	0,852815
Talla (mm)	2,06 x 3,725
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

Ensayos de viabilidad. Test de Tetrazolio: 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).

Ensayos de germinación: Con el objetivo de eliminar posibles dormiciones y para comprobar si las semillas de *Narcissus* requieren oscuridad para germinar (fotosensibilidad negativa) se establecieron los siguientes tratamientos:
•Tratamiento 1: 135 días a 10ºC (fotoperiodo 16/8 h luz/oscuridad).
•Tratamiento 2: 135 días a 10ºC (oscuridad).
•Tratamiento 3: 100 días a 20ºC (oscuridad) y 35 días a 10ºC (fotoperiodo 16/8 h luz/oscuridad).
•Tratamiento 4: 100 días a 20ºC (oscuridad) y 35 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.

Protocolo de cultivo: teniendo en cuenta los resultados anteriores, se sembraron las semillas frescas recién recolectadas , en bandejas forestales con sustrato universal en el mes de julio, manteniéndolas en condiciones ambientales en el vivero del Jardín Botánico de Olarizu.

Resultados

Ensayos de viabilidad: Test de Tetrazolio

92% de viabilidad (23 semillas viables, 2 semillas no viables),

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

Ensayos de germinación:

•Protocolo óptimo: Obteniendo un 82% germinación realizando un pretratamiento de estratificación cálida (20ºC, 100 días, oscuridad) seguido de condiciones de ensayo (35 días, 10ºC, oscuridad).

•Fotosensibilidad negativa: las semillas únicamente germinaron en condiciones de oscuridad.

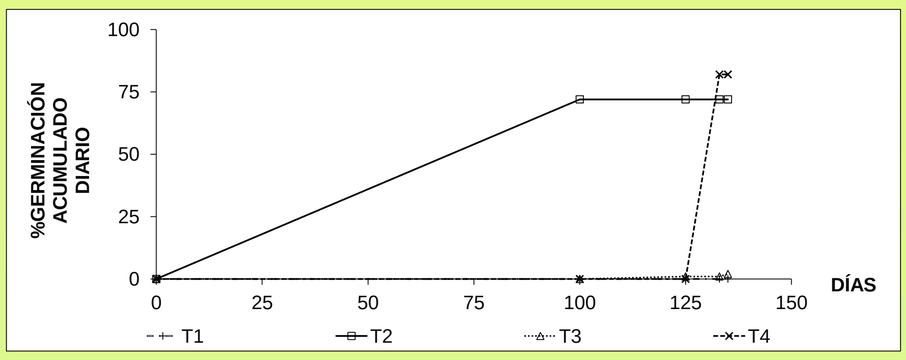

Figura 4. Curva de porcentajes germinativos acumulados

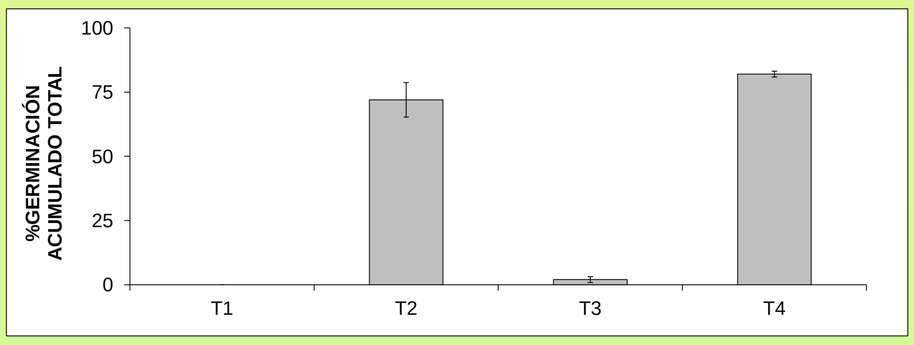

Figura 5. Porcentajes germinativos acumulados totales

Tratamiento	Porcentaje de germinación ± E.S.	Duración ensayo (días)	T 0 (Días)	T50 (Días)	Última germinación (días)
T1	0	135	0	0	0
T2	72± 6,7	135	*	*	*
T3	2± 1,2	35	9,5	19	19
T4	82± 1,2	135	26,8	25	32

(*) Este parámetro no ha podido calcularse debido a las germinaciones en oscuridad

Tabla 2: Parámetros germinativos obtenidos

Nº semillas sembradas	Nº plántulas emergidas	Nº de plántulas muertas	Nº plántulas obtenidas	Supervivencia a repicación (%)	Supervivencia final (%)
226	131	3	128	57,96	56,64

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

Ensayo cultivo
Las plántulas comenzaron a emerger a finales de febrero, ocho meses después, obteniéndose un total de 110 plántulas emergidas a principios de marzo, cuya emergencia sigue en marcha. Se espera obtener un total de 1.000 plántulas para reforzar la población de la ZEC Montes Altos de Vitoria, incrementando el número de núcleos poblacionales.

Conclusiones

•Se ha establecido la viabilidad de las semilllas de *Narcissus pseudonarcissus* subsp. *pseudonarcissus* para su conservarción *ex situ.*
•Se han establecido los protcolos óptimos de germinación y cultivo, a partir de los cuales se está obteniendo planta que se destinará a reforzrar la única población existente en la ZEC Montes Altos de Vitoria, mediante la creación de tres nuevo núcleos 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