CONSERVACIÓN *EX SITU* DE *Pentaglottis sempervirens* (L.) L.H. Bailey: UNA PLANTA VULNERABLE EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DEL PAÍS VASCO

Asier Jáñez & Agustí Agut

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

Introducción

Pentaglottis sempervirens (L.) L.H. Bailey es un hemicriptófito perteneciente a la familia *Boraginaceae*. Se distribuye desde el Suroeste de Europa y es frecuente en la Cordillera Cantábrica, enrareciéndose en la CAPV donde cuenta con tan sólo dos poblaciones. La población alavesa se conoce desde los años 80, y cuenta con alrededor de 200 individuos. Se localiza en la localidad de Amárita (30TWN2950, municipio de Vitoria-Gasteiz) y está incluida en la Zona de Especial Conservación ES2110010 "Zadorra Ibaia/Río Zadorra".

Figura 1: Floración de *P. sempervirens* en la localidad de Amárita (Álava) durante el mes de Abril.

Figura 2.: Mapa distribución de *P. sempervirens* en la Península Ibérica (OpenRedBag).

Objetivos

El objetivo del estudio fue evaluar, mediante una prueba de germinación, la viabilidad de las semillas recolectadas en 2011,2013 y 2016, conservadas *ex situ* siguiendo los estándares internacionales para la conservación de semillas a largo plazo en Bancos de Germoplasma.

Materiales y Métodos

Semillas empleadas: Al igual que otras especies de la familia *Boraginaceae*, cada una de las semillas de *P.sempervirens* se encuentra contenida en el interior de una núcula, de color negruzco en la madurez.

Peso de 100 núculas deshidratadas (g)	0,6-0,85
Talla (mm)	3,5-4 x 2-2,7
Número de cotiledones	Dicotiledónea
Contorno	Ovoide
Sección	Circular (1:1)
Color	Marrón
Ornamentación	Reticulada-rugosa
Tipo de semillas	Ortodoxas
Categoría de conservación	Banco activo / Banco base

Tabla 1: Caracterización morfocolorimétrica de las núculas

Recolecciones: se llevaron a cabo durante los años 2011, 2013 y 2016. La maduración de las núculas es escalonada, por lo que para su recolección se emplearon pequeñas redes colocadas en la cara de los frutos. Una vez que las núculas maduras habían caído en las redes, se procedió a su recolección.

Conservación: por un lado, las núculas recolectadas en los años 2011 y 2013, se conservaron *ex situ* en la cámara de conservación a -18ºC y 5-10% de Humedad Relativa (HR), tras un proceso de secado (12,5ºC y 15% HR) y ultradesecado (5-10% HR). Por otro lado, las semillas recolectadas en 2016 se conservaron a condiciones de secado, 12,5ºC y 15% HR.

Año	Fecha recolección	Nº individuos sobre los que se recolectó	Tiempo almacenamiento (meses)	Condiciones almacenamiento
2016	22/6/2016	10	6	Secado (12.5ºC, 10-15% HR)
2013	19/7/2013	11-50	34	Congelado (-18ºC, 3-7% HR)
2011	7/7/2011	50	61	Congelado (-18ºC, 3-7% HR)

Tabla 2: Datos de recolección y almacenamiento

Extracción de semillas de la cámara de conservación: las muestras se seleccionaron aleatoriamente. Antes de proceder a realizar las siembras, se realizó un proceso de paulatina rehidratación y atemperamiento de las mismas. Las núculas conservadas en la sala de conservación se extrajeron y se depositaron en la cámara de secado durante 24 horas. Posteriormente, junto con las núculas ultradesecadas, todas las muestras se extrajeron de la cámara de secado al laboratorio, manteniéndolas expuestas a las condiciones ambientales de labortatorio de temperatura y humedad (con valores medios de 20ºC y 40% HR) durante otras 24 horas. Seguidamente, las núculas fueron introducidas en un envase hermético en ambiente saturado de humedad y temperatura ambiental durante otras 24 horas, antes de proceder a la siembra.

Ensayo de germinación: el medio de germinación empleado fue Agar al 1% esterilizado (autoclavado durante 20 minutos a 121ºC) en placa Petri de 90mm. Se llevó a cabo un pretratamiento de escarificación manual de cada una de las núculas empleando un bisturí y una lupa microscópica binocular Leica. Posteriormente, las núculas escarificadas se introdujeron en la cámara de germinación a 15ºC constantes con fotoperíodo 12 horas luz / 12 horas oscuridad, puesto que especies del género *Anchusa* germinan en un rango de temperaturas de entre 10 y 20ºC.

Análisis de datos: se calcularon los siguientes parámetros germinativos con el fin de obtener información adicional sobre la germinación de cada muestra: Velocidad de germinación o T50 (Come 1970), Retardo germinativo (Bachetta et al. 2008), Tiempo medio de germinación (GMT), Valor Pico, Germinación Media Diaria (GMD) y Tiempo última germinación (TUG).

Por otro lado, se realizó un análisis de varianza de un factor (ANOVA) empleando el software estadístico R, con el objetivo de comparar si había diferencias significativas entre los resultados de germinación obtenidos para las tres muestras

Resultados

•Se obtuvo un porcentaje máximo de germinación de 73 ± 2.516 % con las semillas recolectadas en 2013 y conservadas a -18ºC y 5-10% HR. Por otro lado, las semillas recolectadas en 2011 germinaron en un 67 ± 1 %.

•Los porcentajes germinativos más bajos se obtuvieron con las semillas recolectadas en 2016 , las cuales germinaron en un 64 ± 8.614 %.

• Sin embargo, los análisis estadísticos afirmaron que las diferencias obtenidas en los porcentajes germinativos de las tres muestras no fueron significativas (*P > 0.05*)

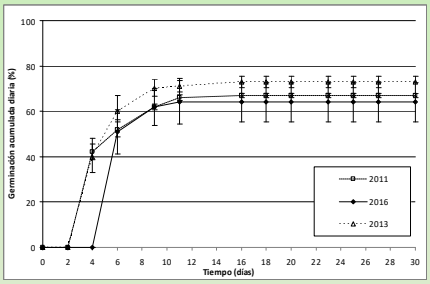

Figura 3: Porcentajes germinativos acumulados diarios

AÑO	GERM ± E.S. (%)	T50 (días)	RG (días)	GMD (días)	GMT (días)	VP	TUG (días)
2016	64 ± 8.641	5.882	7	2.133	14.196	2.133	18
2013	73 ± 2.516	3.825	2	2.433	5.690	4.562	16
2011	67 ± 1	4.595	3	2.161	6.635	3.941	16

*Pr (>F)=0.492
*F value=0.7683

Tabla 3: Resultados obtenidos para los parámetros germinativos obtenidos

Conclusiones

•Según los datos obtenidos, es posible la conservación *ex situ* de esta especie a largo plazo mediante la metodología propuesta la cual realiza un proceso de cuarentena, secado, ultradesecado y congelado siguiendo los estándares internacionales para la conservación de semillas.
•Además de evaluar la calidad del material almacenado, la prueba de germinación permitió el repicado de semillas germinadas a bandejas de alveolo forestal con sustrato universal para cultivar la planta *ex situ* y llevar a cabo futuras acciones de conservación *in situ.*

Figura 4: Embolsamiento de frutos para recolección de núculas

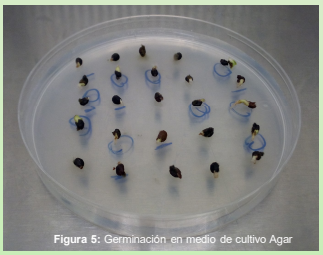

Figura 5: Germinación en medio de cultivo Agar

Figura 6: Seguimiento de emergencia de plántulas

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
- Anderson, S. 1998. Size-dependent pollination efficiency in Anchusa officinalis (Boraginaceae): causes and consequences. *Oecología:* 76:125-130.
- 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.
- ENSCONET. 2009. *ENSCONET Seed Collecting Manual for Wild Species.* European Native Seed Conservation Network.
- Quilichini, A., Debussche, Max. 2000. Seed dispersal and germination patterns in a rare Mediterranean islan dendemic (*Anchusa crispa* Viv., *Boraginaceae*). Acta Oecologica 21 (6): 303-313.
- Royal Botanic Gardens Kew. 2017. Seed Information Database (SID). Version 7.1. [usado Enero 2017]. Disponible en: http://data.kew.org/sid/ .

VITORIA GASTEIZ

Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz
Vitoria-Gasteizko Udala