

*nus alpinus*, *Prunus padus* subsp. *padus*, *Quercus petraea*...

A partir del conocimiento de la presencia y distribución de los taxones más relevantes de la provincia de Segovia, se han definido un conjunto de espacios de alto interés botánico, en los que la aparición "simultánea" de estas especies determina el interés botánico del lugar. De esta forma, han quedado delimitados 13 enclaves entre los cuales se encuentran algunos de los parajes más significativos de la provincia como el **Hayedo de la Pedrosa**, los **Cañones de los Ríos Duratón y Rianza**, los **Pinares de Valsaín** y las **zonas cacuminales de Peñalara y Siete Picos**. Todos albergan comunidades florísticas de alto interés botánico.

Basándose en la presencia y distribución de las especies también han sido puestos de manifiesto algunos espacios naturales de

Las poblaciones segovianas de *Swertia perennis* L. constituyen el punto conocido más meridional en su distribución ibérica, siendo especialmente sensibles a las alteraciones provocadas por la estación de esquí de La Pinilla



Foto F. Domínguez

gran valor botánico, pero mucho menos valorados y conocidos. Este es el caso de la amplia **Tierra de Pinares**, en la cual se encuentran diseminados numerosos taxones de indudable valor botánico que encuentran refugio en las arenas segovianas. Así, hacen su aparición especies como *Carex arenaria*, *Ludwigia palustris*, *Ruppia maritima* subsp. *drepanensis*, *Salix repens*, *Scirpus supinus* y *Vulpia fontquerana*. Dentro de este mismo hábitat y de forma muy localizada aparecen enclaves como **Cuatro Claros**, en el que habitan especies de máximo interés para el conjunto provincial y nacional como *Lythrum flexuosum*, *Carex lainzii* y *Puccinellia pungens*. La presión sobre estos pastizales es manifiesta. En la actualidad cualquier episodio de contaminación del agua, contaminación por residuos sólidos urbanos, sobrepastoreo, alteraciones en el nivel freático y actuaciones en carreteras y caminos pueden acabar con relativa facilidad con las poblaciones segovianas de estas especies. Merece ser destacada también la **Ribera del Río Cega**, al constituir refugio, en plena meseta castellana, para diversos taxones de elevado interés fitogeográfico. Así, destacan sus comunidades ribereñas con presencia de especies tales como *Betula alba* var. *alba*, *Ludwigia palustris*, *Pinus nigra* subsp. *salzmannii*, *Pinus sylvestris*, *Sorbus torminalis* y *Viburnum opulus*. Otras zonas destacadas, y al mismo tiempo bastante desconocidas, son las **cabeceras de los arroyos Cerezuelo y Buitrera**, en plena estación de esquí de La Pinilla. En ellas aparecen especies tales

como *Huperzia selago* subsp. *selago*, *Scrophularia alpestris*, *Swertia perennis*, *Vaccinium uliginosum*, *Veronica fruticans* subsp. *cantabrica* y *Viola montcaunica*. Este conjunto de especies convierte a la estación de esquí en uno de los enclaves más interesantes en el conjunto botánico provincial. Por ello cualquier actuación en la zona debería de estar estrictamente controlada. Un último enclave en la provincia, también muy poco conocido, lo constituye la **Serrezuela de Pradales**. Sus substratos carbonatados albergan interesantes comunidades en las que es posible destacar algunos taxones de notable interés fitogeográfico, que encuentran en este lugar el límite en sus distribuciones. Entre las especies vegetales de mayor interés podemos destacar: *Carduus nutans* subsp. *nutans*, *Endressia castellana*, *Rhamnus alpinus*, *Saxifraga cuneata* y *Veronica javalambrensis*.

Con esta aproximación y propuesta hemos pretendido realizar un primer acercamiento al conjunto de plantas amenazadas y de interés especial de la provincia de Segovia. Esperamos contribuya, junto con otras aportaciones, al conocimiento de las plantas y lugares segovianos que merecen ser tenidos en cuenta en posteriores catálogos de especies amenazadas en Castilla y León.

S. ARCE CASTILLA\*, J. M. POSTIGO MIJARRA\*\* y HELIOS SAINZ OLLERO\*\*\*

\* CIDE. MEC. C./ General Oraá, 55

\*\* ETSI Montes. UPM. Ciudad Universitaria 28040 Madrid

\*\*\* Unidad de Botánica. UAM.

Ciudad Universitaria de Cantoblanco. 28049 Madrid

## EL CULTIVO IN VITRO COMO HERRAMIENTA PARA LA PROTECCIÓN Y CONSERVACIÓN DE PLANTAS. SU EMPLEO EN ESPECIES ENDÉMICAS, RARAS Y AMENAZADAS DE GALICIA

El término cultivo *in vitro* de plantas es una denominación amplia que incluye un conjunto de procedimientos dentro de los cuales se encuentran las diferentes modalidades del cultivo de tejidos vegetales en condiciones axénicas (libres de contaminaciones) y controladas en laboratorio, lo cual abarca la micropropagación, cultivo de órganos, de células, embriogénesis somática, etc. La citada denominación ha sido utilizada como sinónimo ocasional de "biotécnica aplicada", pero no debe ser confundida con "biotecnología vegetal", ya que esta última, si bien se asienta en cierta medida en los procedimientos que se acaban de citar, sin embargo aborda otros campos en desarrollo como el de la ingeniería genética, etc.

Los recursos de los que tratamos fueron originariamente desarrollados para su utilización en estudios fisiológicos, la selección y mejora vegetal, el saneamiento, la propagación, etc., y precisamente en la plasticidad del cultivo *in vitro* para adaptarse a los estudios anteriormente citados, es donde radica el interés de su

utilización para la conservación de especies vegetales en peligro, y que podemos centrar en tres aspectos:

**A.**—Solucionar o controlar determinadas enfermedades en poblaciones afectadas.

En muchas ocasiones, cuando las especies están en peligro por exposición a patógenos, el cultivo de tejidos a partir de meristemos (zonas de crecimiento activo) es un medio eficaz para obtener plantas "saneadas" para conservar y/o reintroducir.

**B.**—Cuando existen dificultades en la reproducción natural.

En aquellos casos en que los taxones tienen problemas de supervivencia por ver mermada o anulada su capacidad de multiplicación sexual (generativa), la metodología axénica puede ser útil, entre otros, en los siguientes casos:

— para favorecer o forzar la germinación natural de las propias semillas, por ejemplo cuando los embriones abortan o cuando existe un desequilibrio fisiológico inhibitorio de

la germinación.

— para restablecer la variabilidad genética en poblaciones que la han ido perdiendo debido a lo limitado de la reproducción sexual de los individuos y que por ello recurren en mayor o menor grado a la propagación vegetativa, pudiéndose por lo tanto realizar estudios para obtener variabilidad genética *in vitro* a partir de células no sexuales y así intentar paliar este problema.

— cuando las poblaciones naturales son muy restringidas y/o la producción de semillas de sus componentes es casi nula, es posible recurrir a la micropropagación (a partir de material de origen vegetativo o no vegetativo) para obtener un gran número de plantas en poco tiempo, con una estabilidad genética controlable y con la ventaja de causar un daño muy reducido en los distintos ejemplares de partida.

— para obtener el ciclo completo de vida de la planta, y poder llevar a cabo, entre otros, ensayos de polinización controlada y así

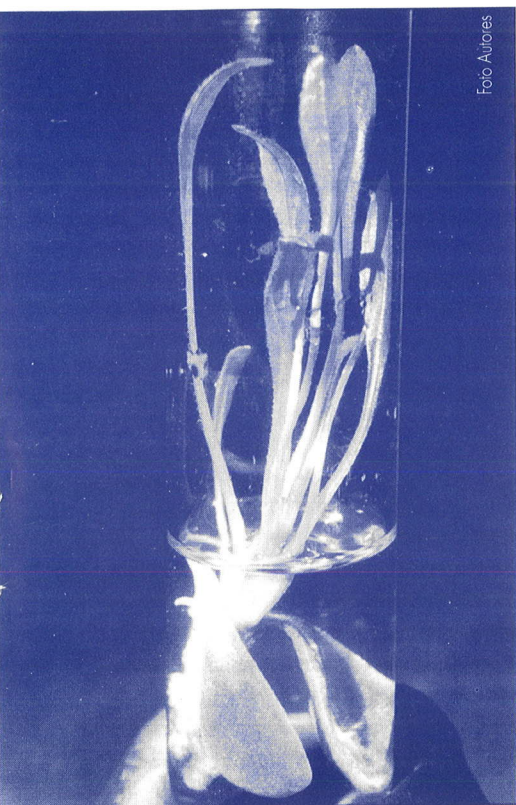


Foto Autores

Propagación axénica de *Centaurea jenerii* Graells

avanzar en el esclarecimiento de las causas que provocan la escasa formación de semillas.

**C.**—Almacenamiento para garantizar la conservación.

Dentro de las distintas técnicas de almacenamiento, los bancos de semillas son una alternativa simple y eficaz siempre que se posea un número suficiente, y además sean capaces de retener de forma duradera su poder germinativo. Sin embargo, una metodología con futuro es la conservación y almacenamiento de vitroprogámulos (material vegetativo) a temperaturas bajas y ultrabajas (entre 0°C - 5°C, a -18°C y a -196°C). A estas temperaturas los procesos metabólicos están ralentizados o bien totalmente paralizados, llegando a mantenerse los mismos, en el mejor de los casos, durante tiempo indefinido. Esta aplicación de la técnica de cultivo de tejidos tiene una ventaja adicional, y es que la conservación mediante bajas temperaturas no sólo se puede utilizar con semillas, sino también con otro tipo de material vegetal como son embriones, meristemos, polen, óvulos, etc.

Distintos investigadores opinan que las aplicaciones que se acaban de citar son de gran utilidad en temas de conservación vegetal *ex situ*, pero deben tomarse precauciones al reintroducir las vitroplantas en su medio natural, siendo necesario llevar a cabo un estudio interdisciplinar sobre la diversidad genética de las poblaciones y la fisiología de la reproducción de las especies para alterar

lo menos posible el ecosistema en el cual se integran. De igual forma las vitroplantas deben estar controladas desde el punto de vista genético para evitar posibles alteraciones no deseadas. Concretando, éstos y otros aspectos a tener en cuenta durante la aplicación práctica de estas técnicas deben llevarse a cabo mediante la colaboración con investigadores interesados en los distintos campos del tema de conservación.

En la actualidad estos procedimientos los estamos empleando dentro de dos proyectos de investigación financiados por la Xunta de Galicia (XUGA 20315B96 y XUGA 20314B98), dirigidos por Santiago Ortiz Núñez y Juan Rodríguez-Oubiña (Departamento de Biología Vexetal, Universidade de Santiago de Compostela), con el fin de llevar a cabo estudios sobre flora endémica estricta y amenazada de Galicia, habiéndose obtenido éxito en el cultivo *in vitro* de las siguientes especies: *Centaurea borjiae* Valdés-Bermejo & Rivas Goday, *Centaurea ultreiae* Silva Pando, *Centaurea jenerii* Graells subsp. *gallaecica* Laínz, *Crepis novoana* S. Ortiz, Soñora & Rodr. Oubiña, *Leucanthemum gallaecicum* Rodr. Oubiña & S. Ortiz, *Santolina melidensis* (Rodr. Oubiña & S. Ortiz) Rodr. Oubiña & S. Ortiz, *Hyacinthoides paivae* S. Ortiz & Rodr. Oubiña, *Armeria humilis* (Link) Schultes, *Silene acutifolia* Link ex Rohrb. e *Iris boissieri* Henriq.

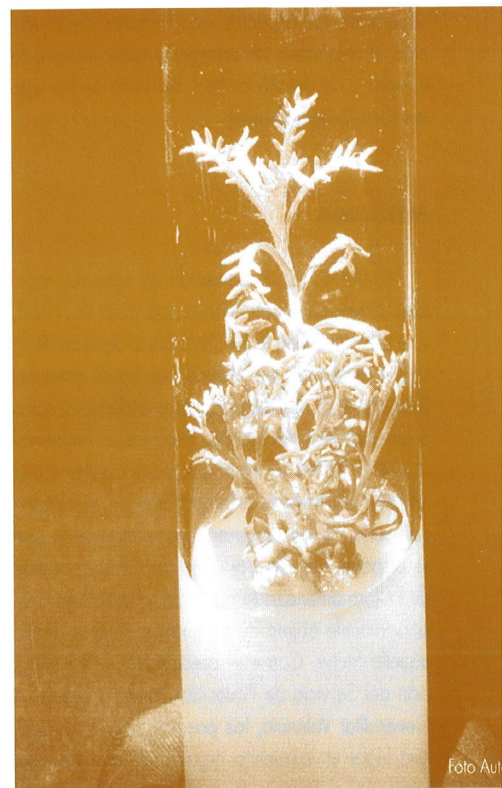
Cabe destacar que las compuestas anteriormente citadas han presentado una baja o muy baja capacidad de germinación en experimentos *ex situ*, en los que se intentó reproducir condiciones germinativas próximas a las naturales. Si bien es cierto que debido a la escasez del material de partida el número de experimentos fue muy limitado, reservándose para los estudios *in vitro*. Se comprobó que la inducción germinativa axénica no solo era viable sino que a menudo alcanzaba gran éxito, con valores que en todos los casos rondaron el 90-100%, dependiendo de las condiciones de preimbibición, foto y termoperíodos ensayados. Finalmente, se individualizó cada vitroplántula generada y se micropropagaron con excelentes resultados, lográndose en la fase de paso a tierra valores entre el 80-100%.

Con microestaquillas regeneradas a partir de las especies procedentes de terrenos básicos y ultrabásicos (*Centaurea borjiae*, *Centaurea jenerii* subsp. *gallaecica*, *Centaurea ultreiae*, *Leucanthemum gallaecicum* y *Santolina melidensis*) se llevaron a cabo diversos estudios, entre los cuales destacan los de capacidad de resistencia fisiológica frente al estrés

inducido por los principales iones presentes en los terrenos de origen.

En las bulbosas estudiadas se partió tanto de material vegetativo (diferentes estructuras de los bulbos y tallos floríferos) como de semillas. Se estableció un protocolo total de propagación sexual y asexual para *Hyacinthoides paivae*, pero se encontraron en cambio grandes dificultades con *Iris boissieri*, que se puede considerar planta "recalcitrante" a efectos de multiplicación *in vivo* e *in vitro*. A pesar de todo, en esta última especie se ha podido comprobar que un proceso de preenfriamiento y oscuridad en combinación con un termoperíodo de 15 / 18°C induce el establecimiento axénico.

Como colofón y de acuerdo con Iriondo y colaboradores (1994, Conservación sobre el terreno y en laboratorio del geranio de El Pualar. *Quercus*, 104: 22-24.), cabe señalar que el desarrollo de este tipo de estudios multidisciplinarios e integrados sobre especies vegetales amenazadas resulta de gran interés con vis-



*Santolina melidensis* (Ortiz & Rodr. Oubiña) Ortiz & Rodr. Oubiña, cultivada *in vitro*

tas a una acertada planificación y gestión de medidas de conservación, que deberán ser adoptadas por las instituciones y los organismos competentes en la materia.

ISABEL IGLESIAS \*, M. CARMEN FEIJÓO \* y SANTIAGO ORTIZ \*\*

\* Laboratorio de Fisiología Vexetal.

\*\* Laboratorio de Botánica.

Facultade de Farmacia. Dpto. Biología Vexetal  
Universidade de Santiago de Compostela (15706)