

1.2. Naturaleza de los táxones.

Las características, una o varias, que reunirían los táxones objeto de conservación se concretaron fundamentalmente en:

- Especies amenazadas.
- Especies con importancia local pasada, presente o futura.
- Especies utilizadas para la restauración y rehabilitación del hábitat natural de los ecosistemas locales.
- Especies emblemáticas locales.
- Especies taxonómicamente aisladas. Géneros mono u oligotípicos.
- Especies consideradas como piedra angular en los ecosistemas cercanos, cuya desaparición conllevaría un decrecimiento significativo de la diversidad, del valor del área o de la estabilidad.

1.3. Entorno regional.

En España existían en 1980, dos bancos de semillas dedicados a la conservación de especies silvestres: el del Departamento de Biología Vegetal de la Universidad Politécnica de Madrid y el del Jardín Canario Viera y Clavijo, que se estaba iniciando. Previsiblemente se irían creando algunos más, como de hecho ha ocurrido. Por lo que se consideró mucho más rentable, dedicar prioritariamente los esfuerzos a conservar táxones de nuestro entorno geográfico próximo, es decir: Andalucía y territorios extraandaluces circundantes, fitogeográficamente muy similares.

Desde los inicios, se sintió la necesidad de una coordinación de la actividad del banco de germoplasma con la de instituciones afines, a nivel nacional o internacional. Se debía evitar la duplicación de colecciones y esfuerzos, si se pretendía una máxima eficacia en las funciones de conservación y rentabilidad de la instalación para nuestra Comunidad.

2. El Banco de semillas.

2.1. Instalaciones y equipamiento.

Se cuenta con las siguientes dependencias, ubicadas en el edificio central del Jardín Botánico de Córdoba:

- Laboratorio para la recepción, limpieza y preparación del material vegetal, dotado con equipos de prensado, cribado y aventadores.
- Laboratorio para desecar, dosificar y envasar las semillas, con cámaras herméticas de metacrilato y equipo de envasado, para la inclusión de muestras en sobres de papel de aluminio termosoldable y/o envases de vidrio.
- Dos habitaciones frigoríficas de 23 m³ cada una, a temperaturas de 15 y 5 °C por debajo de cero res-

pectivamente. Poseen una antecámara común, termostatos de control y están conectadas a un grupo electrógeno, que asegura su constante funcionamiento.

- Oficina donde se centraliza la informatización de datos relativos a las semillas. Así mismo, se efectúa el control de entradas y salidas de material; la recepción y archivado de *Índices Seminum* procedentes de otras instituciones; la petición y envío de muestras y la preparación del catálogo anual de oferta de semillas.
- Armarios compactos, donde se conservan pliegos-testigo de las colectas efectuadas.
- Invernadero exclusivamente dedicado a materiales procedentes del banco y tres cámaras de germinación, con control de temperatura e iluminación.

Además se cuenta con dos vehículos todo-terreno, para efectuar las expediciones de colecta y con la infraestructura de equipamiento adicional, bibliográfica, administrativa y de personal, procedente de la Universidad y del propio jardín.

2.2. Forma de trabajo.

2.2.1. Precolecta.

Antes de realizar las expediciones para la recogida de semillas, se efectúa un trabajo previo de gabinete y campo encaminado a definir las áreas, que deben ser prospectadas prioritariamente durante cada temporada.

Se acumulan datos de distribución, muy útiles para planificar un adecuado muestreo y observaciones sobre la fenología de los especímenes, que puede ser variable según las condiciones microclimáticas locales.

Durante las visitas previas de localización, realizadas al comienzo de la primavera, se toman datos de características relativas a la biología reproductiva de los táxones; estado fenológico y sanitario; abundancia del número de individuos que comienzan a florecer, para estimar la posible fructificación y se recogen pliegos-testigo para corroborar las determinaciones taxonómicas.

Cuando se trata de especies con riesgos de amenaza, se concreta también el número, tamaño, extensión y densidad de sus poblaciones.

Toda esta información es determinante para fijar lugar, forma y momento más adecuados de prospección, resultando imprescindible si se quiere lograr una gran eficacia en la colecta.

2.2.2. Colecta.

En ocasiones el colector se enfrenta con inconvenientes inesperados, a pesar de haber realizado cuidadosamente el trabajo previo de preparación de las ex-

pediciones. Ataques repentinos de patógenos, cambios climatológicos súbitos, que adelantan o retrasan la maduración de las semillas e incendios forestales, son desagradables sorpresas que pueden malograr una colecta seriamente planificada. Por esta razón, es recomendable definir de forma ambiciosa las posibles áreas a prospectar, aunque si las condiciones son normales resulte imposible abarcar todas. De esta manera, se evita la suspensión de la colecta a mitad de temporada.

El muestreo se realiza asegurando una buena representación de la variabilidad de la especie. Diversos autores han establecido los principios generales para conseguir esta finalidad y en el siguiente capítulo se exponen las diferentes técnicas de colecta a seguir, de acuerdo con los objetivos que se pretenden.

Por lo general se fijan tres elementos: número de poblaciones, número de individuos por población y número de semillas a colectar de cada individuo. Cuando la especie no está en la categoría de amenazada, se procura maximizar la colecta a los tres niveles o, al menos, seguir las recomendaciones de FALK & HOLSINGER (1991), a pesar de sus limitaciones (1 a 5 poblaciones; 10 a 50 individuos por población; 1 a 20 semillas por individuo). Si la especie está amenazada, se trabaja con unos márgenes mucho más estrechos y nunca se sobrepasa el 15-20% de la capacidad potencial regenerativa de la población, intentando que la colecta proceda del mayor número de individuos -a ser posible de 50-. En ocasiones se han sugerido cantidades más grandes, por ejemplo 500, pero en la práctica esto puede resultar difícil y también irresponsable.

Las muestras colectadas son sometidas a una prelimpieza en campo, para evaluar cantidades y prepararlas para el transporte. Se introducen en bolsas de papel, a las que se grapa una ficha con los datos de colecta y se mantienen en el interior del vehículo protegidas del sol, para evitar las altas temperaturas hasta su llegada al laboratorio.

2.2.3. Limpieza y desecación.

Se realiza un control del estado sanitario de las semillas y si fuera necesario, se aplica algún producto que impida el desarrollo de patógenos. Por lo general no resulta precisa esta actuación, si como es de esperar las poblaciones colectadas eran sanas.

La extracción de las semillas contenidas en frutos carnosos se efectúa por inmersión en agua y presión. Para el resto de semillas y frutos se elige el método más adecuado, acorde con sus características morfológicas (fricción, cribado, aventado, deslizamiento por plano inclinado, etc.).

El proceso de limpieza es delicado y se debe evitar

inferir daños mecánicos a las semillas, que pueden afectar a su futura viabilidad. También se rentabiliza al máximo la muestra colectada, sin desperdiciar cantidades por una limpieza descuidada. Esto resulta de vital importancia para el material procedente de especies amenazadas. Por estas razones el personal encargado de estas labores, conoce las características morfológicas de los materiales manipulados y tiene experiencia en este tipo de trabajo.

La desecación de muestras, se efectúa en cámaras de metacrilato herméticas, a temperatura ambiente, con gel de sílice. El proceso tiene una duración variable, dependiendo del contenido de humedad de las semillas y el tamaño de las muestras.

2.2.4. Envasado y etiquetado.

Las muestras de las colecciones conservadas a largo plazo, se disponen en tubos de vidrio de tres tamaños diferentes, según el de las semillas. El tubo se rellena a una tercera parte de su capacidad con la muestra a conservar, a continuación se coloca una separación de papel de filtro y encima de ella dos terceras partes de gel de sílice, cerrando con una película de plástico. Los tubos así preparados se introducen en tarros de cristal con cierre hermético, que en su parte central contienen un recipiente abierto con gel de sílice.

Las muestras de las colecciones sometidas a extracción periódica, para intercambio o propagación, son envasadas en sobres de aluminio laminado en plástico termosoldable. Se preparan diferentes tamaños según el volumen de las muestras, siempre cuatro veces más largos que su anchura, para evitar que las altas temperaturas del equipo de soldadura, alcancen a las semillas, cuando se cierra el sobre por su extremo.

Tanto los envases de vidrio como los sobres de aluminio, son etiquetados con el número de referencia de la accesión, denominación taxonómica y programa al que pertenece.

2.2.5. Almacenamiento en habitaciones frigoríficas.

Las colecciones a largo plazo se ubican en la cámara a -15°C . Diariamente se vigila el aspecto del gel de sílice de los tubos, para detectar cualquier variación del contenido de humedad en los recipientes.

Las colecciones a corto y medio plazo se almacenan en la cámara a -5°C , dispuestas en una instalación compacta de cajones colgantes. Esto permite una buena rentabilización del espacio y la ordenación alfabética de los táxones. El acceso a éstos es rápido, lo que facilita el mantenimiento constante de las bajas temperaturas de la cámara, al no tener que permanecer el operador un largo periodo en su interior.

Se toman ocho controles diarios de temperatura, cada tres horas, que permiten detectar cualquier posible fallo en la instalación.

2.2.6. Informatización.

Los datos de los materiales conservados, se encuentran recogidos en cincuenta campos de una base de datos. Incluye información relativa a: número de accesión, caracterización taxonómica completa, localidad de recolección, distribución, coordenadas UTM, colectores, grado de amenaza, fecha de entrada en cámara, existencias o cantidades de material a la fecha de ingreso, cantidades actuales, localización en cámaras, programa, etc.

2.2.7. Intercambio.

Desde 1982 se mantiene intercambio de semillas con jardines botánicos e instituciones similares de todo el mundo (figura 1). Se envían anualmente 800 catálogos ofertando material y por este sistema nos han sido solicitadas más de 27.000 muestras, que fueron remitidas a más de 400 instituciones de 48 países diferentes. En el apartado cuarto de este capítulo, se analiza en extensión la problemática de los catálogos de semillas.

2.2.8. Pruebas de viabilidad y germinación.

Las colecciones son periódicamente controladas, para comprobar su viabilidad. Se utiliza el test del

tetrazolio y pruebas de germinación, directa en invernadero y/o en germinador, con diferentes tratamientos y condiciones controladas.

2.3. Colecciones.

2.3.1. Aspectos generales.

El banco de semillas contaba, en Diciembre de 1993, con 3.205 accesiones -colectas procedentes de localidades geográficas distintas- de 1.474 táxones diferentes -especies más subespecies-. En la figura 2 se representa el número de accesiones conservadas por provincias andaluzas, que representa un 68%. Además se mantiene, en depósito, la colección de intercambio del Jardín Alpino de Sierra Nevada (Granada) formada por 120 accesiones de 104 táxones.

En el banco hay un flujo constante de entradas y salidas, por lo que los datos que se presentan corresponden a existencias netas a la fecha de referencia. Las colecciones son movilizadas, para su utilización en diferentes programas: recuperación de especies amenazadas; intercambio con otras instituciones y obtención de plantas para exhibición.

El volumen de las accesiones es variable, depende del tamaño de las semillas y grado de amenaza del taxon. Es preciso coleccionar y mantener cantidades mayores para conservar la misma variabilidad genética, que la conseguida con menores volúmenes de semillas de pequeño tamaño. Si el taxon está en

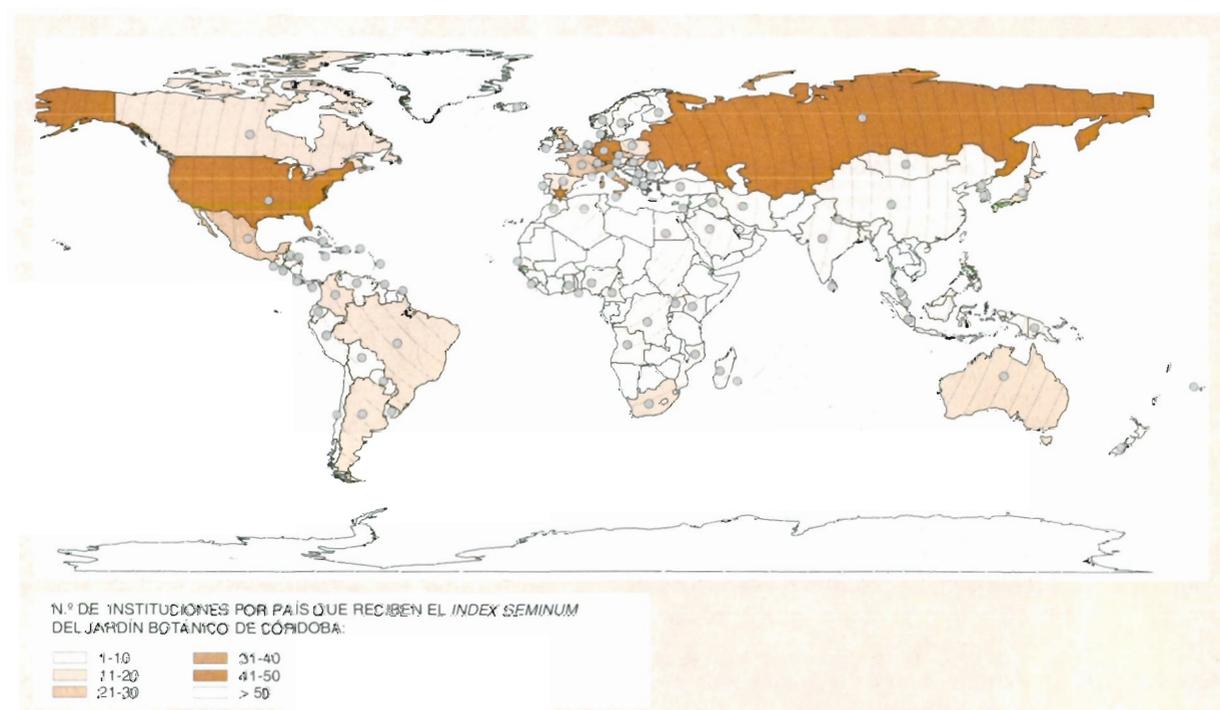


Figura 1 - Relaciones de intercambio con otras instituciones a través de catálogo de semillas.

peligro, como ya se ha señalado, nunca se colecta en la misma temporada más del 15-20% de su producción total de semilla para no perjudicar su potencial reproductor.

Diferentes colecciones se han ido incorporando al banco de semillas desde 1980, en virtud de programas de cooperación desarrollados en el ámbito administrativo de la Universidad de Córdoba o del Jardín Botánico. Así, a través de la actividad del Departamento de Ciencias y Recursos Agrícolas y Forestales de la Universidad, se han incorporado las siguientes colecciones: Táxones de interés potencial agroenergético (Comisión de Investigación Científica y Técnica); Táxones endémicos ibéricos amenazados, duplicados de la colección conservada por el Departamento de Biología Vegetal de la Escuela Técnica

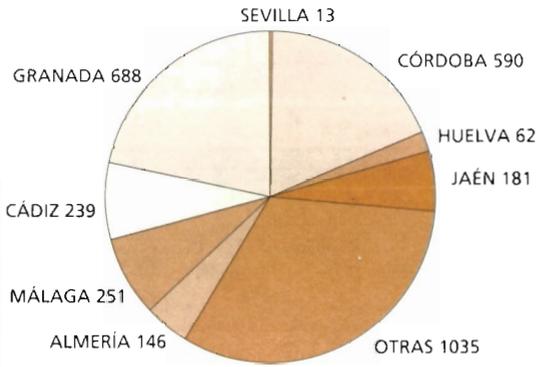


Figura 2 - Accesiones del banco de semillas representadas por procedencia geográfica.

ca Superior de Ingenieros Agrónomos (Universidad Politécnica de Madrid); Táxones de amplia distribución con interés etnobotánico (CICYT). Como fruto de la actividad del Jardín: Táxones del programa general propio de esta institución; Táxones mediterráneos de amplia distribución con interés aromático (Comunidad Europea-MEDSPA); Táxones en depósito, del Jardín Alpino de Sierra Nevada, para su intercambio a través de catálogo (Universidad de Granada); Táxones ibéricos meridionales de territorios extraandaluces (ICONA). En la figura 3 se recogen número de accesiones y táxones conservados, procedentes de cada uno de estos programas.

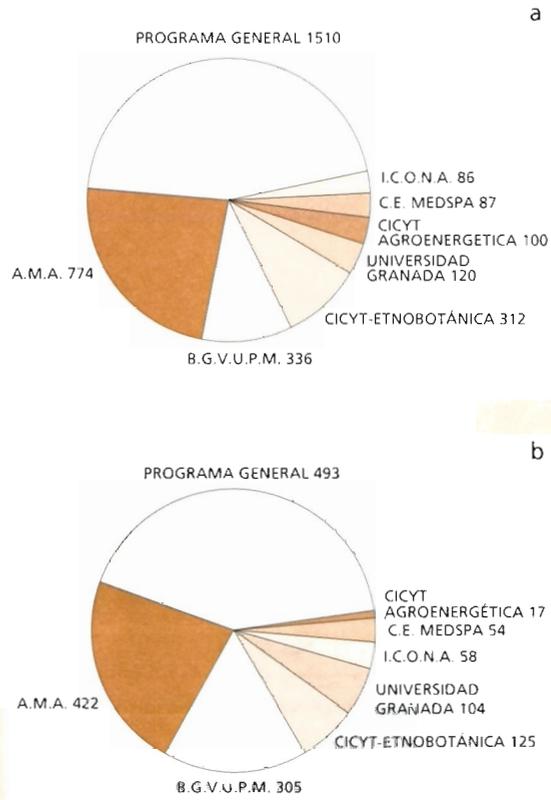


Figura 3 (a-b) - Accesiones y táxones (especies más subespecies) de las colecciones correspondientes a diferentes programas desarrollados por la Universidad de Córdoba (Dpto de Ciencias y Recursos Agrícolas y Forestales) y el Jardín Botánico de Córdoba en cooperación con diferentes instituciones.

Las familias Asteráceas, Lamiáceas, Fabáceas y Brasicáceas son las más ampliamente representadas. En la figura 4, se han destacado aquellas con más de 15 accesiones conservadas en el banco. La figura 5, muestra los géneros con más de dos accesiones correspondientes a las cuatro familias que han sido más profusamente colectadas.

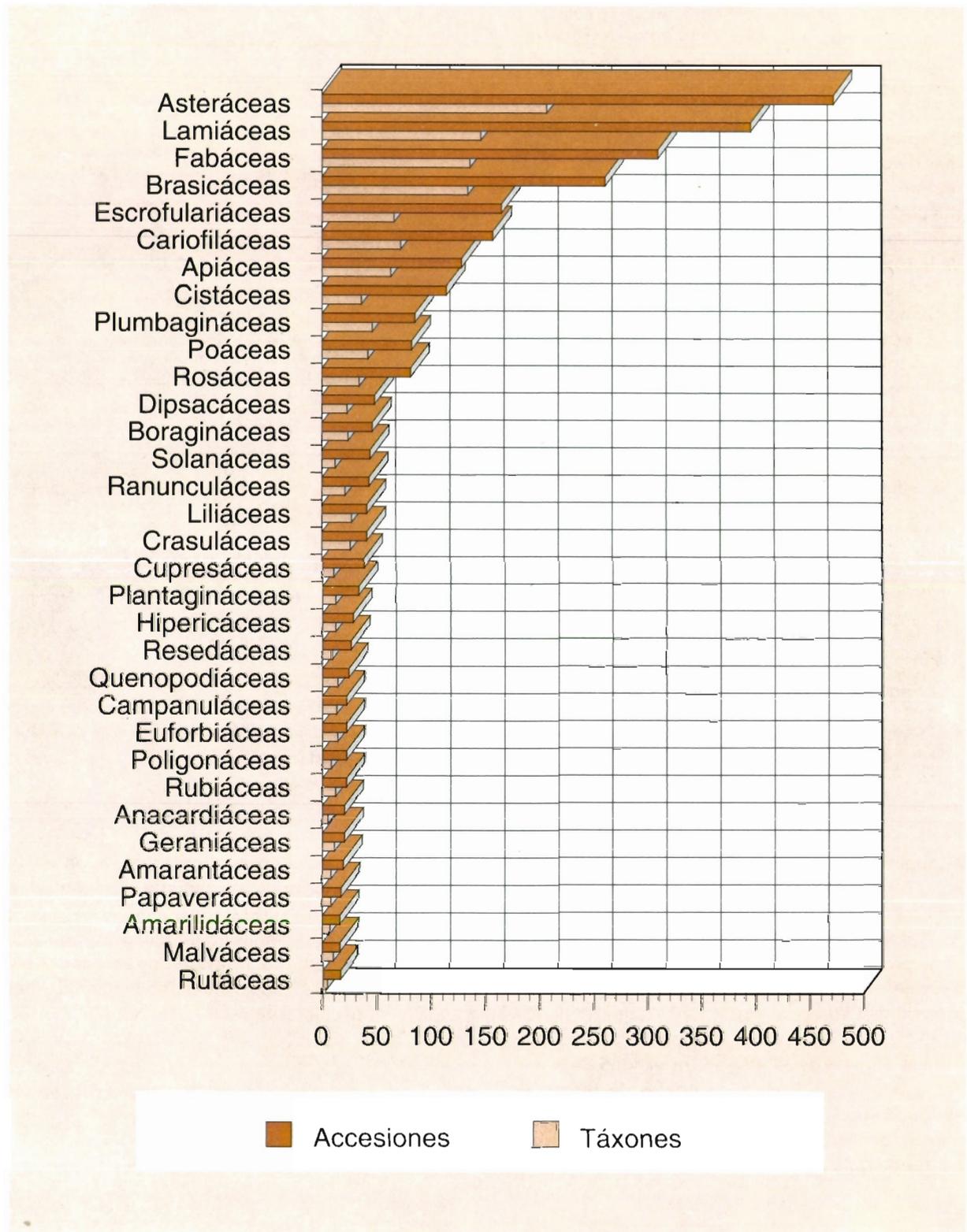
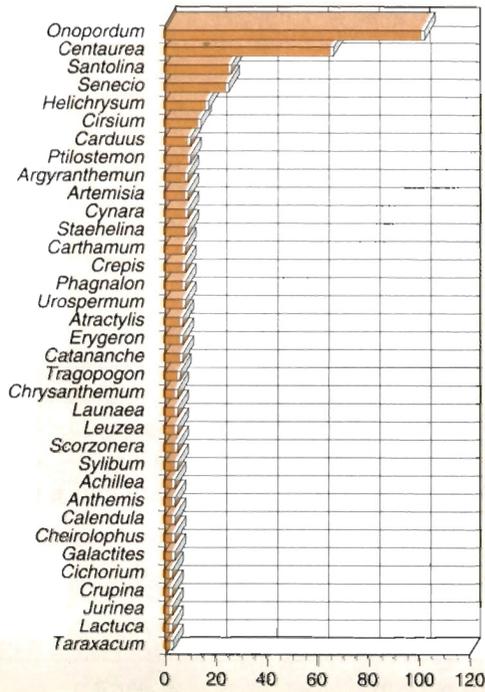
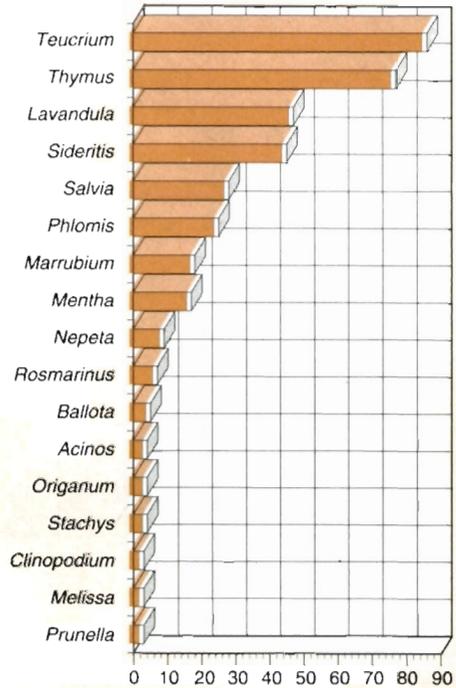


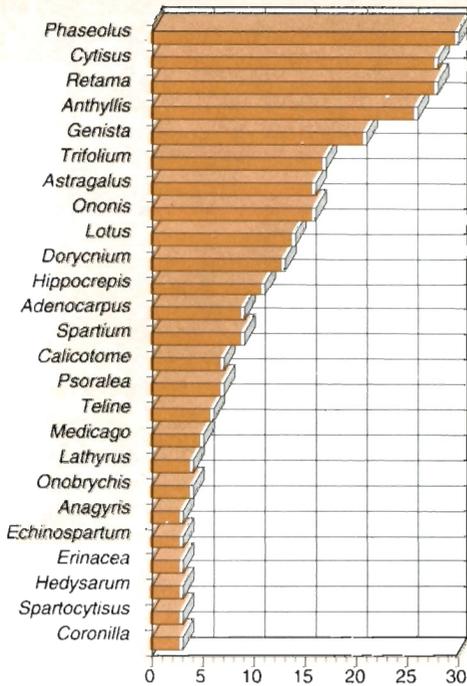
Figura 4 - Familias con más de 15 accesiones incluidas en el banco de semillas. Para ellas se representa número de accesiones y táxones (especies más subespecies).



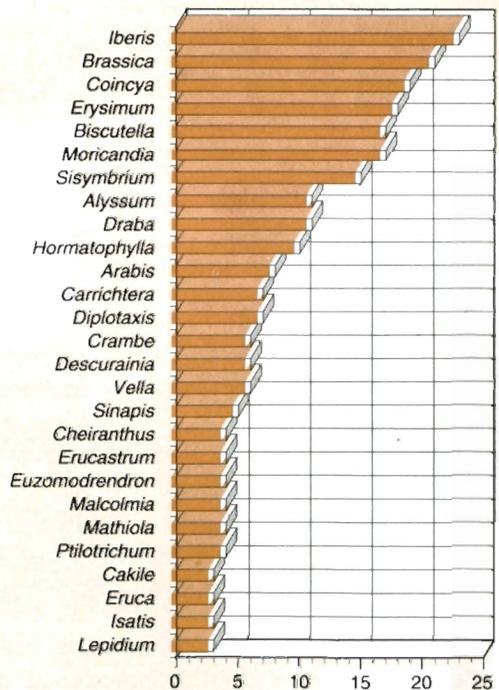
Asteráceas



Lamiáceas



Fabáceas



Brasicáceas

Figura 5 - Géneros, con más de dos accesiones, de las cuatro familias más ampliamente representadas en el banco de semillas.

2.3.2. El Banco de Germoplasma Andaluz. Programa de la Agencia de Medio Ambiente de Andalucía y el Jardín Botánico de Córdoba.

Al principio del capítulo ya se ha mencionado el Convenio Marco de Cooperación suscrito entre estas dos instituciones, para colaborar en programas de estudio e investigación sobre los recursos naturales vegetales de Andalucía. En marzo de 1988, se firmó el primer Acuerdo Específico de un año de duración, en el ámbito de este Convenio, cuyo objetivo era: «Iniciar las tareas de recolección, limpieza, encapsulado y conservación de las semillas de las plantas raras, amenazadas y/o endémicas de Andalucía, al objeto de crear un Banco de Germoplasma Andaluz». Posteriormente se han firmado tres Acuerdos Específicos más, con una duración de doce meses cada uno de ellos, con la misma finalidad, en diciembre de 1989, en mayo de 1991 y en noviembre de 1992.

Las actuaciones fijadas en los Acuerdos han sido:

- Revisión bibliográfica continua para detectar y delimitar zonas de elevado interés para el programa, por la existencia en ellas de especies raras, amenazadas, vulnerables y/o endémicas.
- Elaboración de un listado general de táxones, presentes en Andalucía, susceptibles de ser colectados y perfeccionamiento constante del mismo, incorporando las novedades taxonómicas y nomenclaturales, distribución y categorías UICN.
- Determinación de itinerarios en las zonas a prospectar durante el período de vigencia de cada Acuerdo.
- Realización de campañas de prospección previas a la colecta y expediciones de recolección de material vegetal.
- Limpieza y desecación de las semillas colectadas y conservación de parte de este material a -15°C.
- Informatización de los datos de las colectas.
- Puesta a punto de las técnicas de propagación necesarias para la obtención de plántulas de las especies más interesantes.
- Asesoramiento al personal encargado de los jardines botánicos *in situ*, anexos a la Red de Espacios Naturales de la Agencia de Medio Ambiente. Especial sobre la aclimatación de las plántulas obtenidas por diferentes técnicas, para su implantación en estos jardines botánicos.
- Elaboración, edición y distribución del Catálogo de Semillas, a las ochocientas instituciones con las que el Jardín Botánico de Córdoba tiene intercambio permanente, así como envío de muestras solicitadas por esas entidades.
- Presentación de dos avances y memoria final con el desarrollo y resultados de cada Acuerdo suscrito. Ambas instituciones supervisan el material recolec-

tado y conservado en el Banco de Germoplasma Andaluz y su propiedad es conjunta. La AMA, organismo competente y responsable de establecer programas de protección de flora en Andalucía, ejerce en su manejo la Autoridad Administrativa y el Jardín Botánico de Córdoba la Autoridad Científica.

Esta colaboración ha resultado hasta el momento muy fructífera y paradigmática para otras instituciones similares nacionales e internacionales.

En los cuatro años, se han presentado ocho Avances con el trabajo parcial desarrollado y cuatro Memorias Finales que recogen, a lo largo de más de mil páginas, la labor desarrollada.

Se ha realizado una exhaustiva y continua revisión bibliográfica, que ha permitido acumular abundante información corológica y de grado de amenaza de los táxones presentes en Andalucía, sintetizada en varios de los capítulos de la presente obra.

Las expediciones de colecta se han desarrollado en diferentes puntos de las siguientes localidades:

Cabo de Gata; Tabernas; Mini Hollywood; Sierra Alamilla; Venta de los Castaños; Turre; Mojácar; Albaricoques; San José; Nijar; Aguadulce; Sierra de Gador; Illar; Calar Alto; Puerto de la Ragua; Refugio de Ubeire; Uleila del Campo; Alpujarras; Pico Cabañas; Cumbres de Sacejo; Cerrada del Pintor (Arroyo de los Tornillos de Gualay); Loma de la Mesa; Paso Barbero; Cerrada de Elías; Pontones; Cabo de Roche; Grazalema; Zahara de la Sierra; Espejo; Sierra de Cabra; Sierra de Córdoba; Villaviciosa; Albondón-Albuñol; Játar; Sierra Almijara; Sierra del Chaparral; Sierra de Lújar; Sierra Nevada; Sierra Tejeda; Sierra de Baza; Doñana-Matalascañas; Maro; Periana; Puerto de las Pedrizas; Ronda-Sierra de las Nieves; Sierra de Alcaparaín; Sierra de Carratraca; Torcal de Antequera; Alpandeira; Castell de Ferro; Tharsis; San Bartolomé de la Torre; Isla Canela; Mazagón; Sierra del Pinar; Puerto de las Palomas; Sierra de Zafalgar; Sierra del Endrinal; La Caleta; Peñón del Fraile; Sancti Petri; Cabo de Trafalgar; Caños de Meca; Tarifa; Punta Palomas; La Línea; Sierra de Ojén; Las Juntas- Orjiva; Torrox; Nerja; Sierra Bermeja; Sierra Blanca; Cañete La Real; Yeseras de Sorbas; Sierra Cabrera.

En el trabajo de colecta han participado quince personas y cada accesión contiene el dato concreto de localización geográfica y coordenadas UTM. En la figura 6 se señala el número de accesiones colectadas por provincia.

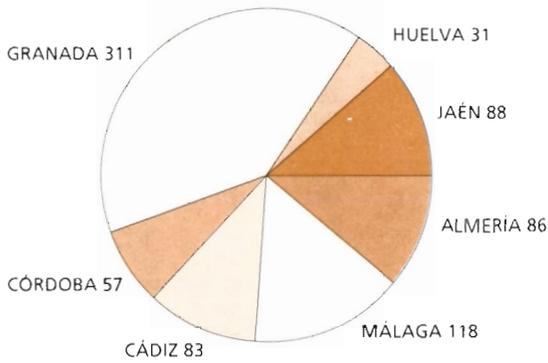


Figura 6. - Número de accesiones colectadas por provincias

Las existencias netas, en diciembre de 1993, eran de 774 accesiones correspondientes a 422 táxones (especies más subespecies). Las familias con mayor número de accesiones y táxones son Lamiáceas, Asteráceas, Brasicáceas y Fabáceas. En la figura 7 se han representado las accesiones y táxones de todas aquellas familias que tienen más de ocho accesiones conservadas. En la figura 8, aparecen los géneros de las cuatro familias más colectadas. Finalmente, en la figura 9 se recogen el número de accesiones y de táxones de acuerdo con su categoría de amenaza y distribución. En este gráfico se puede observar que se ha realizado colecta de táxones de amplia distribución, no amenazados y su finalidad es la de ofrecerlos a otras instituciones en intercambio, a través del Catálogo de Semillas.

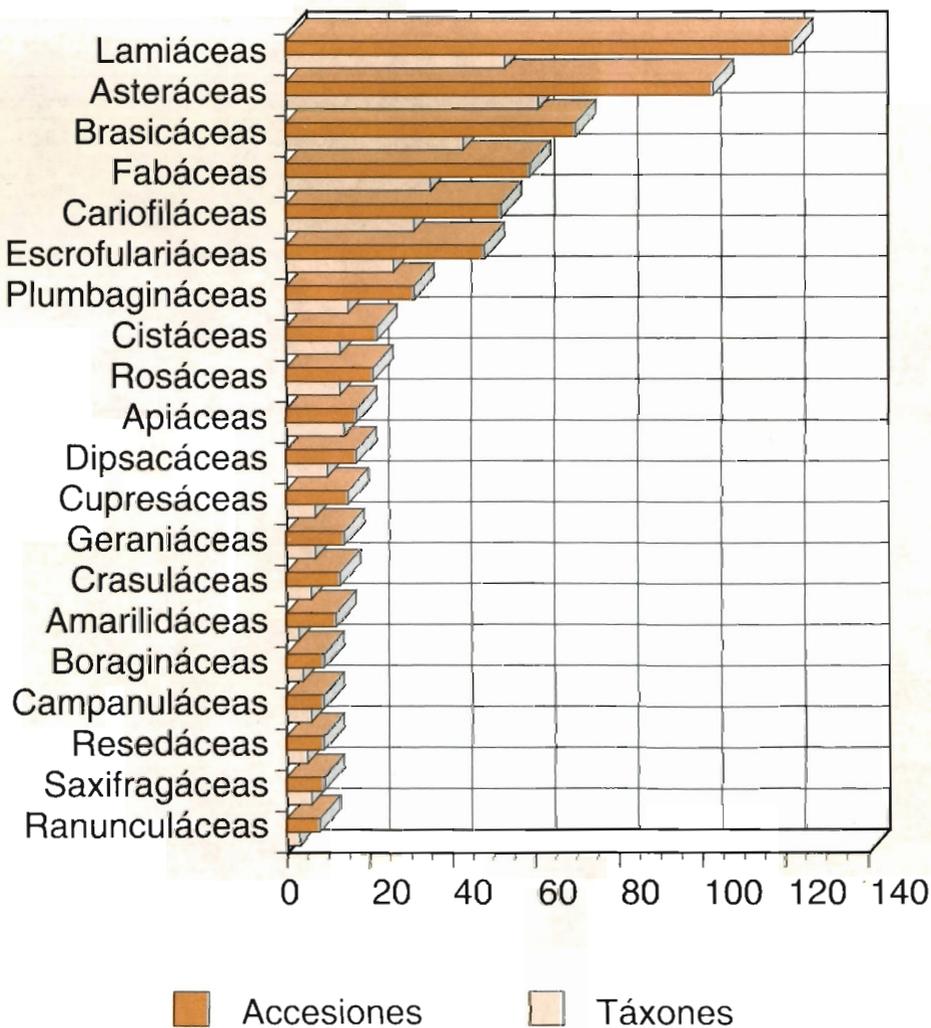


Figura 7 - Accesiones y táxones (especies más subespecies) de las familias que tienen más de ocho accesiones conservadas.

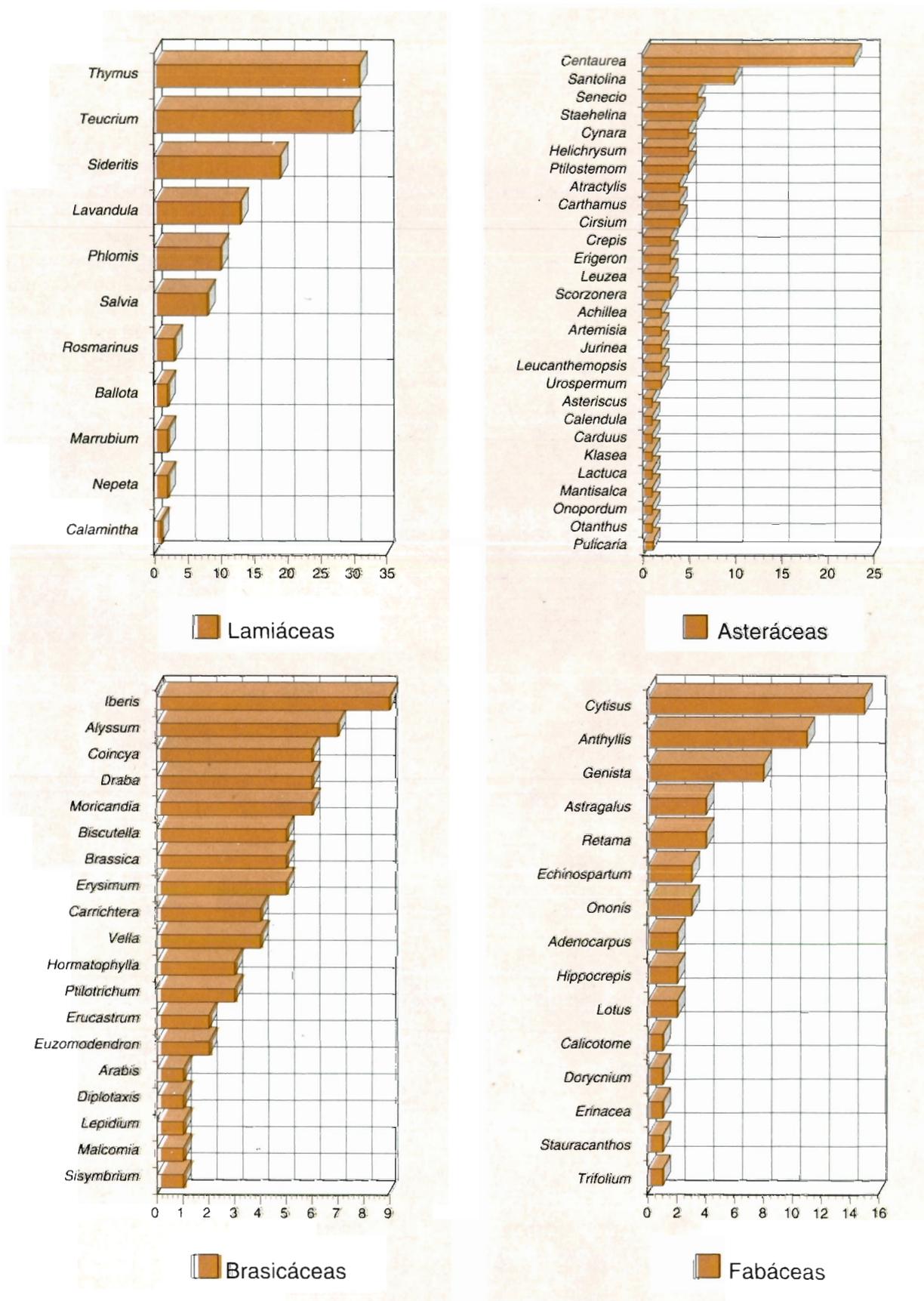


Figura 8 - Acciones de los géneros de las cuatro familias mejor representadas en el Banco de Germoplasma Andaluz.

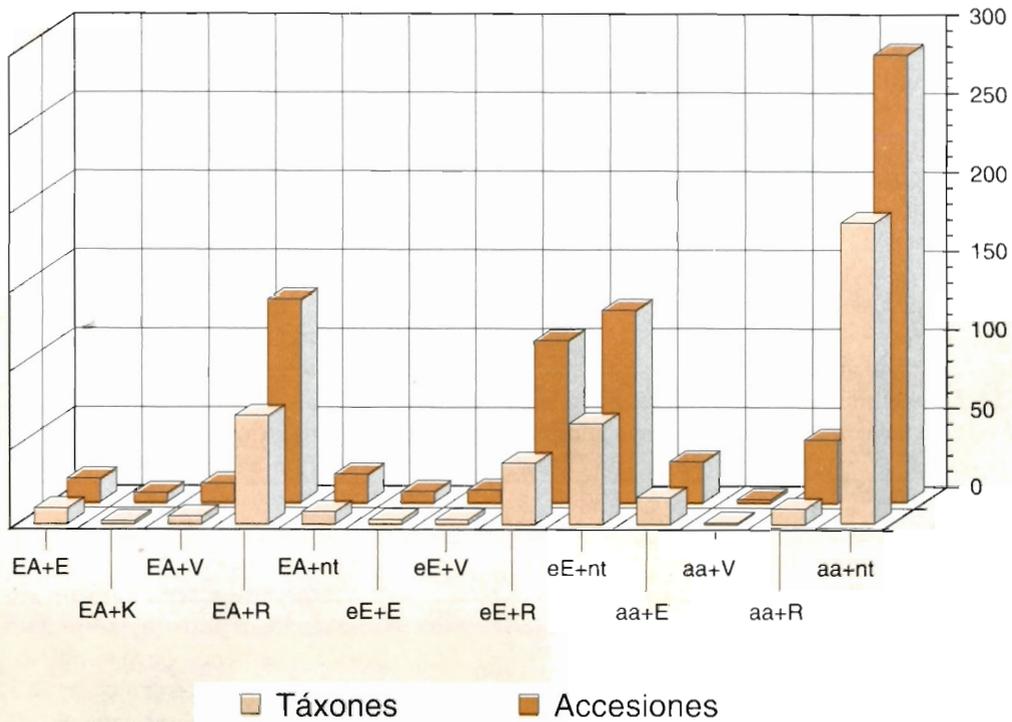


Figura 9 - Accesiones y táxones colectados con indicación de distribución y categorías UICN.

El tamaño de cada accesión es variable, dependiendo del mayor o menor volumen de semilla a conservar. Las semillas han sido sometidas a operaciones de limpieza y desecadas en cámaras herméticas de metacrilato con gel de sílice. Para la colección conservada a largo plazo, las semillas han sido dosificadas en tubos de vidrio con doble volumen de gel de sílice y almacenadas en tarros de vidrio herméticos, en la cámara a -15°C . Las colecciones de medio y corto plazo, sometidas a intercambio o programas de reproducción artificial, han sido dosificadas en sobres de aluminio termosoldable de $10 \times 2,5$ cm, salvo que el tamaño o volumen de las semillas hayan aconsejado dimensiones superiores. Su conservación se realiza en la cámara de -5°C .

Se han realizado Catálogos de Semillas durante los cuatro años, que han sido remitidos anualmente a 800 jardines botánicos e instituciones similares de todo el mundo. Durante este período se ofertaron 1.615 táxones (especies más subespecies). El número de peticiones recibidas y muestras enviadas, de acuerdo con ellas, ha sido de más de 12.000.

Periódicamente, se realizan controles de viabilidad aplicando la técnica del tetrazolio y pruebas de germinación al material conservado, presentando los resultados correspondientes en las memorias finales de

cada Acuerdo.

Se han publicado diversos artículos sobre el trabajo de conservación del material andaluz en revistas internacionales (Botanic Gardens Micropropagation News, HortScience, Ecología Mediterránea) y en congresos nacionales e internacionales (Simposio de la Asociación Iberomacaronésica de Jardines Botánicos, 1990; Coloquio Internacional sobre Conocimiento y Conservación de la Flora de las Islas del Mediterráneo, 1993; Etnobotánica- 92, 1992).

También, se ha trabajado conjuntamente con personal de los jardines *in situ*, especialmente en Cazorra y Sierra Nevada, en la colecta de material y aclimatación en La Cortijuela de *Artemisia granatensis*, obtenida a través de cultivo *in vitro* en el Jardín Botánico de Córdoba.

Un resultado fundamental, derivado de todos estos Acuerdos, ha sido la determinación de los criterios básicos para la protección de la flora silvestre, en peligro de extinción, en Andalucía. A través de ellos, se han elaborado medidas legislativas, que posibilitarán una eficaz conservación y defensa de los recursos vegetales silvestres andaluces.

2.3.3. Carpoespermateca.

Como actividad relacionada con el banco de semillas, se mantiene en condiciones ambientales, una colección de frutos y semillas acumulada durante los trece años de actividad. Parte, procede de las colectas propias y parte, de los materiales enviados por otras instituciones de diferentes países con las que se mantiene intercambio.

Está formada por 7.500 accesiones pertenecientes a 193 familias. Están envasadas en tubos de vidrio para su mejor observación, ordenadas en recipientes por géneros y distribuidas en armarios, en orden alfabético de familias. Los datos de las diferentes accesiones están informatizados.

Su utilidad, es la de servir de apoyo a investigadores de otras áreas como Zoología, Paleobotánica, Arqueología, etc. en estudios comparativos, tanto morfológicos como biométricos. En este momento se utiliza en trabajos de investigación arqueobotánica, relacionados con las épocas hispano-árabe e hispano-romana.

2.4. Catálogos de semillas. El problema de la exportación de genes: coordinación ibérica.

Mención singular merece la problemática del intercambio y de la preparación de catálogos de oferta de semillas.

Los primeros *Indices Seminum* que se imprimen en Europa, aparecen en el siglo XVIII (Oxford, Greifswold, Copenhague). Aunque el origen del sistema de intercambio de estos propágulos es aún anterior, a finales del siglo XVII (Chelsea Physic Garden y Leiden).

Las ventajas de editar un catálogo de semillas parecen evidentes: acceso directo e inmediato a numerosos catálogos de otras instituciones y al material que en ellos se oferta. A través de ellos, se obtienen especies que por su lejanía geográfica, sería difícil o imposible conseguir de otra forma. También sirven de vehículo de comunicación entre instituciones.

Pero por otra parte, hay que mencionar los inconvenientes: origen desconocido del material; falta de datos de identificación; cantidad escasa de material enviado; mal almacenaje de semillas; campañas de recolección no planificadas; errores taxonómicos; hibridaciones frecuentes en el material procedente de cultivo en el jardín; tendencia en muchos catálogos a incluir numerosas plantas cultivadas, carentes de origen y dificultad en su manejo, por su disparidad en el diseño y formato.

WIJNANDS (1989) hace el siguiente comentario, con indudable sentido del humor: «La amplia variación existente en los catálogos de semillas en lo referente a formato, nomenclatura y calidad es sin duda agradable para cualquier biólogo, que vive de/para la diversi-

dad... no obstante sería deseable una mínima estandarización.»

El banco de semillas, como ya se ha mencionado, llevaba editando desde 1982 un catálogo anual y la constante revisión de las peticiones que se recibían, nos hizo reflexionar sobre cuál sería el destino de las muestras enviadas. Se efectuaron diversos estudios sobre la demanda de material (CLEMENTE MUÑOZ y HERNÁNDEZ BERMEJO, 1989; CLEMENTE MUÑOZ y HERNÁNDEZ BERMEJO, 1990), que nos llevaron a plantear, en el seno de la Asociación Iberomacaronésica de Jardines Botánicos (Sesimbra -Portugal- 1989), la realización de un análisis global de esta problemática extendido a otras instituciones, que como la nuestra efectuaban intercambio de semillas.

Los resultados de este análisis pusieron de manifiesto que, en cuanto a los aspectos de forma en la presentación de los catálogos, existía una variabilidad muy grande. Los materiales ofertados, por lo general, procedían de colectas realizadas en el jardín y era mínimo el número de instituciones que ofrecían especies silvestres. Los táxones se repetían anualmente y también existían duplicaciones entre instituciones diferentes.

En cuanto a la demanda de material, se llegó a conclusiones tan sorprendentes como: Las 50 especies que figuraban en las dos primeras páginas - de alguno de los catálogos analizados- eran mucho más solicitadas que el resto; cuando se ofertaba un taxon colectado en dos o más localidades diferentes, siempre se elegía la que figuraba en primer lugar. Un número significativo de peticiones no respetaba las normas básicas establecidas en los catálogos (fecha límite de petición, número límite de muestras...). Instituciones procedentes de ciertos países, sistemáticamente absorbían casi el 50% de las peticiones recibidas. Los costes de remisión de muestras resultaban elevados para nuestras instituciones (CLEMENTE y CONTRERAS, 1990).

El resultado de este análisis, provocó que la Asociación Iberomacaronésica aprobara en 1990, la elaboración de una presentación conjunta del Catálogo de Semillas. Su finalidad era conseguir: uniformidad en la presentación y formato; evitar la redundancia en la colecta, rentabilizando esfuerzos; realizar una oferta coordinada, en la que se incluyeran táxones silvestres de amplia distribución y/o aquellos más estenócoros, pero siempre procedentes de cultivo; distribución de zonas de colecta.

En definitiva, la Asociación apoyó de manera firme la coordinación de catálogos para lograr: menor esfuerzo, mayor calidad y un sacrificio mínimo de la naturaleza. Desde 1991 el catálogo de semillas se ha realizado siguiendo estas pautas.

3. La unidad de cultivo *in vitro*.

3.1. Instalaciones y equipamiento.

Ubicada en un edificio independiente del jardín, junto al invernadero destinado al programa de conservación. Su red eléctrica está conectada a un grupo electrógeno, para evitar accidentes derivados de cortes eventuales en el suministro de energía. Está dotada de:

- Laboratorio para la preparación del material vegetal y de los medios de cultivo. Equipado con autoclaves, balanzas, microscopios estereoscópicos, destilador, desionizador, pHmetros, frigoríficos y el material fungible necesario en este tipo de instalaciones.
- Habitación para la transferencia de los tejidos al medio de cultivo, en condiciones asépticas. Con dos cámaras de flujo laminar horizontal para tres operarios.
- Dependencia con cámaras de germinación.
- Habitación de cultivo, con condiciones controladas de luz (fotoperíodo día/ noche) y temperatura constante de 24°C.
- Invernadero anexo, aislado, para preparación de plantas madres y aclimatación de los materiales obtenidos por cultivo de tejidos.
- Área de cultivo, aneja al edificio, para la instalación y seguimiento del desarrollo al exterior de las plantas obtenidas.

3.2. Objetivos.

La micropropagación de especies amenazadas, raras y vulnerables andaluzas se aborda, con diferentes finalidades:

- Puesta en cultivo de materiales muy escasos y que tienen dificultades para ser reproducidos artificialmente por otros métodos.
- Conservación a medio y largo plazo de la diversidad genética, a través del mantenimiento de líneas clonales.

No basta con clonar unos pocos ejemplares, se debe intentar conservar la integridad de la diversidad infraespecífica. Hay que cuidar aspectos, previos a la propia propagación *in vitro*, realizando estudios taxonómicos que caracterizen la diversidad (mediante técnicas bioquímicas, morfométricas...); corológicos; análisis de la dinámica poblacional; fisiológicos sobre la reproducción y de estimación de número de líneas clonales, necesarias, para que la población quede perfectamente representada. Después del proceso de micropropagación, será conveniente efectuar estudios comparativos de los efectos del cultivo *in vitro* sobre la integridad genética de la especie a conservar. No obstante, es de señalar que cuando la especie está muy amena-

zada y apenas quedan unos individuos, no es posible abordar de forma completa algunos de estos estudios, para los que es necesario sacrificar gran cantidad de material.

- Obtención de un número elevado de plantas, en un corto período de tiempo para ser aclimatadas, bien en el propio jardín o bien en los jardines botánicos *in situ* de la Red de Espacios Naturales.

Cumpliendo estos objetivos se logra, no sólo la salvaguarda de las especies *ex situ*, sino también paliar o eliminar su extracción continuada de la naturaleza y obtener material que pueda ser utilizado en planes de recuperación. Éstos están ya en marcha en la Comunidad Andaluza, a través de Acuerdos que la AMA ha suscrito con el Jardín Botánico de Córdoba y otras instituciones andaluzas, como se menciona en otros capítulos de este libro.

3.3. Forma de trabajo.

El programa de trabajo de la unidad está coordinado con el del banco de semillas y con el programa global de conservación.

Los principios del cultivo *in vitro* han sido ampliamente desarrollados para la micropropagación de plantas cultivadas, en especial en el sector de las ornamentales. No obstante, en términos generales, las técnicas pueden ser aplicadas a especies silvestres con algunas modificaciones.

Se trata de instalar en condiciones asépticas fragmentos de plantas, en medios de cultivo artificialmente preparados y hacerlos evolucionar hasta conseguir plantas completas. Resumiremos las cinco etapas de trabajo:

- 1) Fase 0.- Preparación de las plantas madres. Se trata de conseguir un estado fisiológico y sanitario óptimo antes de la extracción de fragmentos (explantos). De esta forma se disminuye el riesgo de contaminaciones por patógenos en las siguientes fases.
- 2) Fase 1.- Iniciación del cultivo en condiciones asépticas.
- 3) Fase 2.- Multiplicación rápida de material para la obtención de gran número de propágulos.
- 4) Fase 3.- Inducción y elongación de raíces.
- 5) Fase 4.- Transferencia a invernadero y/o zonas exteriores.

3.4. Ventajas e inconvenientes.

Las técnicas de cultivo *in vitro* ofrecen pros y contras al ser aplicadas a especies en vías de extinción:

- Permiten la obtención de un gran número de unidades en un pequeño espacio y un corto período de tiempo.
- Son del todo adecuadas para especies con semillas

- recalitrantes y para las de reproducción vegetativa.
- El intercambio y distribución de material a otras instituciones se facilita notablemente al estar libre de enfermedades.
- El almacenamiento en frío frena el crecimiento de una forma natural, limitando de este modo el número de subcultivos (1-2 por año) y por lo tanto la probabilidad de inducir mutaciones.
- Mínima o nula existencia de experimentación previa para consultar. Ésto obliga, en la mayoría de los casos, a iniciar las pruebas con alguna especie próxima, para tratar de delimitar las condiciones óptimas de cultivo.
- Mínima cantidad de material disponible como fuente de explantos y a veces en lugares bastante inaccesibles.
- Imposibilidad, en la mayoría de los casos, de establecer una fase 0 de plantas madres, que reúnan condiciones fitosanitarias adecuadas. Consecuentemente se produce una elevada proporción de fracasos, por contaminación en la fase de iniciación del cultivo.
- El sistema resulta costoso y origina un gran número de problemas técnicos. Hay que cuidar especialmente el mantenimiento de la estabilidad genética y del potencial regenerativo.

Indudablemente, el uso de estos métodos y el tipo de especie a la que se aplica, deben ser cuidadosamente analizados antes de iniciar el proceso. A pesar de sus inconvenientes, sería un error desecharlos *a priori* ya que son una poderosa herramienta para la conservación de especies en peligro.

3.5. Cooperación y coordinación.

Es evidente, la necesidad de una coordinación a nivel nacional e internacional que se puede concretar a varios niveles:

1. Coordinación de las unidades de cultivo *in vitro* que trabajan con especies amenazadas. Se deben establecer acuerdos, para evitar duplicaciones innecesarias y extracciones repetitivas de material escaso, que podrían repercutir negativamente en las poblaciones.
2. Coordinación de estas unidades de cultivo *in vitro* con los programas de conservación que se desarrollan *in situ*.

Es necesario para micropropagar una planta silvestre, conocer su ecología, corología, dinámica de la población, fisiología, estrategia de multiplicación natural,...

Ésto solamente puede ser conseguido, a través de una estrecha cooperación, con los investigadores que desarrollan los trabajos de campo. El personal de la unidad de cultivo de tejidos, debe de vivir la problemática de la

planta en su hábitat natural, para poder implementar la técnica adecuada de micropropagación. No es, evidentemente, que el personal de laboratorio vaya a realizar el trabajo de campo, pero sí debe visitar periódicamente estos lugares y estudiar las características de los mismos. Esto facilita enormemente el trabajo a desarrollar en laboratorio.

Del mismo modo la aclimatación de las plantas, debe ser seguida atentamente por el personal de la unidad de cultivo, ello va a permitir mejorar las técnicas aplicadas a la preparación de estas plantas para que puedan sobrevivir *ex vitro*. En el Jardín Botánico de Córdoba se está trabajando con especies amenazadas de Sierra Nevada, las parcelas de aclimatación se han instalado *in situ* y se trabaja estrechamente con el personal de la Agencia de Medio Ambiente, que está a cargo de este Parque Natural. Con esta cooperación, se evita en gran medida parte de los desplazamientos, ya que el personal de la Agencia supervisa día a día lo que está ocurriendo en el ensayo.

3. Coordinación de la unidad de cultivo *in vitro* con los bancos de semillas.

Muchas veces la falta de material es un factor limitante, para poder iniciar un trabajo de micropropagación. En este sentido, una buena coordinación con los bancos de semillas, que conservan estos materiales *ex situ*, es también deseable para no diezmar repetidamente las poblaciones.

4. Coordinación de la unidad de cultivo *in vitro* con el resto de las unidades del jardín botánico. La unidad debe estar conectada a los trabajos que se desarrollan en otras unidades del propio centro: banco de semillas, herbario, propagación convencional. De esta forma, se consigue una eficacia extraordinaria a la hora de abordar programas combinados de conservación.

3.6. Breve panorámica mundial y mediterránea.

Un estudio realizado (CLEMENTE, 1990) sobre los equipos, que a nivel mundial estaban aplicando la técnica de cultivo *in vitro* a especies raras o amenazadas, puso de manifiesto que su número era 39. De ellos el 51% son jardines botánicos y el resto departamentos universitarios o relacionados con la horticultura.

Estos grupos en los últimos años han abordado, aunque no de forma concluyente en todos los casos, la propagación de alrededor del 10% del total de especies silvestres que se encuentran en esta situación. Es necesario realizar un gran esfuerzo y continuar en ese camino, si se intenta salvaguardar este patrimonio fitogenético de indudable valor.

A nivel nacional varios equipos están activamente trabajando en este campo: el Jardín Botánico Canario y el Departamento de Biología de la Politécnica de Las Palmas, en las Islas Canarias; el Departamento de Biología Vegetal de la Universidad Politécnica de Madrid; el Departamento de Biología de la Universidad de las Islas Baleares; el Departamento de Genética de la Universidad de León, el Laboratorio del Centro de Investigación y Desarrollo Agrario de Churriana y el Departamento de Biología Vegetal de la Universidad, en Málaga; el Servicio de Protección de los Recursos Naturales, el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias y el Departamento de Biología Vegetal de la Universidad, en Valencia.

3.7. Trabajo de la unidad de cultivo *in vitro* del Jardín Botánico de Córdoba.

Como se ha mencionado al principio del capítulo, en 1988 se instaló esta técnica de conservación. Posteriormente, con la firma de los Acuerdos entre la AMA y el Jardín Botánico de Córdoba, esta útil herramienta de trabajo ha sido aplicada a determinadas especies andaluzas en el desarrollo de los mismos.

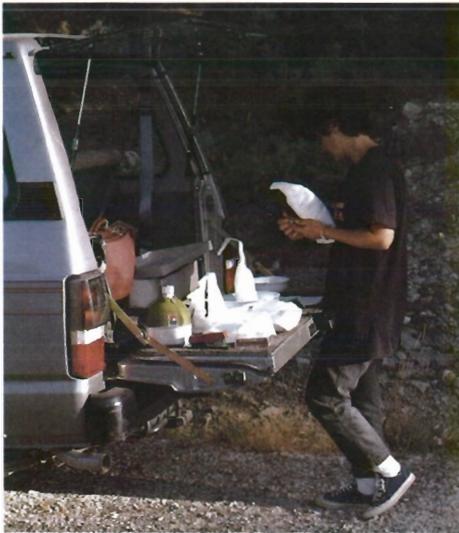
Se ha abordado la micropropagación de: *Artemisia granatensis*; *Iberis nazarita*; *Aquilegia cazorlensis*; *Sempervivum nevadense*; *Centaurea carratracensis*; *Stachelina baetica*; *Astragalus nevadensis*; *Rosmarinus tomentosus*; *Betula pendula* subsp. *fontqueri*; *Taxus baccata* y diversas especies de *Narcissus* tales como *N. tortifolius*, *N. nevadensis*, *N. bugei*, *N. longispathus* y *N. cantabricus*.

El género *Narcissus*, de unas 40 especies, con una distribución primariamente mediterránea, absorbe en estos momentos gran parte de nuestra atención. La mayor densidad en especies, se produce en la Península Ibérica, donde muchos de ellos, están en serio peligro de extinción. Su importancia comercial es grande, existiendo varios cientos de cultivares e híbridos en cultivo.

OLDFIELD (1990) ha señalado, en un artículo sobre comercio internacional de bulbos, que este género está seriamente afectado por el tráfico ilegal. Las poblaciones silvestres son diezmadas fundamentalmente en Portugal, Turquía y Marruecos con destino a Holanda. Se consideran vulnerables al tráfico, en grandes cantidades: *Narcissus calcicola*, *N. cantabricus* y *N. scaberum*.

Las especies andaluzas no son extraídas masivamente, pero su grado de amenaza y la constante colecta furtiva a la que se ven sometidas algunas de ellas, han aconsejado su priorización en la unidad. El programa se completa con ensayos de conservación por crecimiento limitado *in vitro*, al igual que se está realizando con líneas clonales de *Artemisia granatensis*.

Este último taxon, con el que se viene trabajando desde 1987, se encuentra en un estado avanzado de recuperación por esta técnica, habiéndose conseguido su aclimatación *in situ*, como ya se ha mencionado anteriormente, en el Jardín Botánico La Cortijuela (Sierra Nevada) y un buen número de líneas clonales son mantenidas en la unidad.



31.- El material vegetal colectado es preparado para su transporte hasta el laboratorio.
(foto: J. E. Hernández Bermejo)



32.- Indices Seminum y recipientes para el almacenamiento de las semillas.
Jardín Botánico de Córdoba.
(foto: J. E. Hernández Bermejo & M. Clemente Muñoz)



33.- Colección de semillas y frutos mantenida a condiciones ambientales. Carpoespermoteca del Jardín Botánico de Córdoba.
(foto: J. E. Hernández Bermejo & M. Clemente Muñoz)