

CONSERVACIÓN Y PRODUCCIÓN DE SEMILLAS DE *JUNIPERUS* L. EN EL BANCO DE SEMILLAS FORESTALES DE LA GENERALITAT VALENCIANA

Prada Sáez, M. A.; Campos Fuster, E.; Cerdán Martínez, V.; García Martí, X.; Picher Morelló, M. C. & Ferrer Gallego, P.

Banc de Llavors Forestals de la Generalitat Valenciana. CIEF. Conselleria de Territori i Habitatge. Avda. Comarques del País Valencià, 114. 46930 Quart de Poblet. Valencia. gis_banco@gva.es, flora.cief@gva.es

Resumen Se presentan las metodologías empleadas en el Banco de Semillas Forestales de la Generalitat Valenciana para la producción y conservación de materiales de reproducción de las cinco especies de *Juniperus* con distribución natural en la Comunidad Valenciana. Estas metodologías comprenden tanto aspectos relacionados con la tecnología de semillas como estrategias de muestreo que intentan mantener un compromiso entre las necesidades de material, los recursos disponibles en el Banco de Semillas y principios genéticos básicos para la conservación *ex situ* de recursos genéticos. Se aportan también valores relativos a descriptores básicos empleados comúnmente en la caracterización de lotes de semillas.

Palabras clave: conservación de recursos genéticos forestales, banco de germoplasma, diversidad genética, viabilidad de semillas

CONSERVATION AND PRODUCTION OF *JUNIPERUS* L. SEEDS IN THE FORESTRY SEED BANK FROM THE GENERALITAT VALENCIANA

Abstract Methodologies employed in the Forestry Seed Bank from the Generalitat Valenciana are presented in order to produce and conserve reproduction materials from the 5 *Juniperus* species with natural distribution in Valencia Region. These methodologies covers the aspects related to seed technology but also sampling strategies that try to keep the commitment between the material needs; the resources available at Seed Bank and the Basic genetic principles to conserve *ex situ* the genetic resources. Values relating to basic descriptors commonly used in the description of seed lots are also added.

Key words: forest genetic resource conservation, germ plasm bank, genetic diversity, seed viability

CONSERVATION ET PRODUCTION DE GRAINS DE *JUNIPERUS* L. DANS LA BANQUE DE GRAINS FORESTIERS DE LA GENERALITAT VALENCIANA

Résumé Les méthodologies employées dans la Banque de Grains Forestiers de la Generalitat Valenciana sont présentées pour produire et conserver des matériaux de reproduction des 5 espèces de *Juniperus* qui ont une distribution naturelle dans la Communauté de Valence. Ces méthodologies comprennent des aspects liés avec la technologie des grains mais aussi des stratégies d'échantillonnage qui essayent de maintenir un engagement entre les besoins de matériel, les ressources disponibles dans la Banque de Grains et les principes génétiques essentiels pour la conservation *ex situ* de ressources génétiques. Des valeurs liées aux descripteurs basiques qui sont habituellement utilisées pour décrire les lots de grains ont été ajoutées.

Mots-clés: conservation de ressources génétiques forestières, banque de matériel génétique, diversité génétique, viabilité de grains.

INTRODUCCIÓN

En la Comunidad Valenciana, los enebrales y sabinares se presentan, por lo general, en zonas sometidas a duras condiciones ambientales, apareciendo desde las dunas costeras muy azotadas por el viento, hasta las altas montañas y parameras rocosas. Algunos *Juniperus* son capaces de constituir formaciones arbóreas o arbustivas más o menos puras, como la sabina albar (*J. thurifera* L.), la sabina mora (*J. phoenicea* L. subsp. *phoenicea*), la sabina rastrera (*J. sabina* L.) y algunos enebros (*J. oxycedrus* L. subsp. *badia* (H. Gay) Debeaux y *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* (Sm.) Ball), siendo estos taxones los máximos responsables de la fisionomía del paisaje (LAGUNA *et al.*, 2003). Otros como *J. communis* L. subsp. *communis*, *J. communis* subsp. *hemisphaerica* (K. Presl) Nyman o *J. oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus* se encuentran subordinados en masas mixtas junto a las primeras o en encinares y pinares, si bien en ocasiones pueden formar rodales puros, relegados en la mayoría de los casos a lugares

escarpados sobre suelos esqueléticos, pedregosos o rocosos. Según datos del Plan General de Ordenación Forestal de la Comunidad Valenciana (GENERALITAT VALENCIANA, 2004) la superficie total con presencia de especies del género *Juniperus* asciende a unas 98.000 ha (en 15.000 ha como especie principal), lo que representa el 7 % de la superficie forestal valenciana.

Los bosques de sabinas y enebros son formaciones de gran valor ecológico y con un considerable interés socioeconómico, derivado principalmente de la explotación maderera, la producción de leña y carbón, muy importante en el pasado, y asociado al uso recreativo por su valor paisajístico en la actualidad. Sin embargo, su situación actual no escapa a la realidad de alto deterioro que sufre la biodiversidad, derivado principalmente de factores humanos, que ha dado lugar a la desestructuración, disminución del tamaño o eliminación de poblaciones, la consecuente aceleración irreversible de los procesos de erosión y la modificación del mesoclima y el clima general.

Esta realidad plantea la necesidad de asumir unas directrices de gestión diseñadas para la protección de la biodiversidad presente en la Comunidad Valenciana. Entre las medidas a adoptar se ha considerado imprescindible la elaboración de un plan de conservación de recursos genéticos -ECOGEN-, que tiene como principal objetivo la promoción de la adaptación y evolución de los mismos frente a nuevas situaciones ambientales y el incremento de su productividad cuando existan propósitos de aprovechamiento sostenible. En concreto, el Banco de Semillas Forestales de la Generalitat Valenciana asume las actuaciones directamente relacionadas con la producción de materiales forestales de reproducción de una serie de taxones considerados prioritarios. Esta producción se encamina tanto a su conservación *ex situ* como a la promoción del uso de material de calidad genética y exterior en las actividades de repoblación, restauración y manejo de áreas de conservación *in situ*. Entre las especies incluidas en el plan se encuentran los enebros y sabinas autóctonos, tanto por su importancia desde el punto de vista ecológico como por su amplio uso en repoblaciones.

Asimismo, desde esta institución se ha promovido la promulgación del Decreto 15/2006 relacionado con los materiales forestales de reproducción que, además de incorporar a la normativa autonómica las competencias de las CCAA establecidas por normativas de rango superior, amplía sus objetivos incluyendo otros aspectos relevantes que afectan a la producción y el uso de los materiales de reproducción de *Juniperus*. Entre dichos aspectos se destaca: la inclusión de *J. sabina* en el listado de especies reguladas, la promoción del uso de la procedencia local en las repoblaciones y restauraciones para materiales de las categorías Identificada y Seleccionada, y la garantía de trazabilidad del origen de los materiales incluyendo el control en la fase de utilización final en repoblaciones y restauraciones.

RECOLECCIÓN Y LIMPIEZA DEL MATERIAL DE REPRODUCCIÓN

La etapa de recogida de material es de especial importancia, ya que define en gran medida la calidad de la conservación y la gestión de los recursos genéticos. El Banco de Semillas intenta asegurar una amplia base genética de los lotes, considerando la variación genética intraespecífica que existe actualmente, consecuencia de la historia evolutiva de las poblaciones y de la acción del hombre, teniendo en cuenta las limitaciones de tiempo y recursos disponibles y siguiendo los criterios que se exponen a continuación.

Selección de las poblaciones

La elección de las poblaciones de las que se recolecta el material es sencilla en el caso de conocerse su uso específico: en repoblaciones o restauraciones se emplea material de

fuentes semilleras de la procedencia local. Se trata en lo posible de diversificar el origen de los materiales de reproducción en el espacio y el tiempo mediante recolecciones en diferentes materiales de base y así asegurar una suficiente variabilidad genética. En el caso de efectuarse refuerzos poblacionales de *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa*, taxon clasificado como Vulnerable (BAÑARES *et al.*, 2004), actualmente y ante la falta de estudios genéticos, se utiliza material recolectado en la misma población en la que se va a efectuar dicha actividad, de forma que se minimizan los riesgos de modificar sin criterio su estructura genética.

Cuando la accesión es destinada a la colección base, se trata de obtener la mejor representatividad posible del acervo genético de la población que se desea conservar. Sin embargo, para las poblaciones valencianas del género *Juniperus* no se cuenta aún con estudios específicos sobre variabilidad genética de sus poblaciones y el grado de divergencia entre ellas. Se asume, por lo tanto, que cada población tiene igual valor y que todas las poblaciones tienen el mismo nivel de variación genética. No obstante, para determinar el número y localización de los muestreos se tiene en cuenta el concepto de región de procedencia y el rango de distribución de la especie, particularmente el grado de aislamiento geográfico entre poblaciones, con el fin de identificar poblaciones supuestamente adaptadas a ambientes específicos y que por su aislamiento geográfico pudieran divergir genéticamente. El Banco de Semillas tiene como objetivo a corto plazo la conservación de tres accesiones por procedencia en taxones de amplia distribución y por lo menos una muestra por población para taxones con poblaciones disjuntas.

Muestreo intrapoblacional

Se toma como unidad de muestreo a la población -o el material de base para las especies incluidas en el Real Decreto 289/2003-. Cuando el tamaño de la población lo permite, se recolecta material de un mínimo de 50-60 individuos no emparentados por población, para lo que se efectúa un muestreo aleatorio con una distancia mínima entre pies, tratando de recolectar un número equilibrado de semillas o frutos por planta. Para poblaciones que ocupan superficies importantes se suele tomar una distancia de 75 a 100 m entre individuos. Se evita recoger de árboles aislados y no se seleccionan los pies madres por su fenotipo

Recolección, extracción y limpieza

Las recolecciones se realizan en otoño a partir del mes de octubre. En el caso de *J. phoenicea*, *J. oxycedrus* y *J. thurifera*, éstas se pueden prolongar hasta principios de la primavera ya que los gábulos maduros pueden permanecer en el árbol; no así en el caso de *J. communis* y *J. sabina*, en los que las recolecciones deben efectuarse durante el otoño hasta principios de invierno. La cosecha se lleva a cabo manualmente desde el suelo o con la ayuda de escaleras o banquetas en el caso de *J. thurifera*.

La eliminación de las grandes impurezas -hojas y restos de ramas- se efectúa mediante aventado. Posteriormente el material se sumerge en agua y lejía al 1%, triturándolo ligeramente para facilitar la eliminación de la resina, y se deja macerar durante 2 a 3 días. Una vez macerado, se tritura el material con una batidora y se separan las semillas de la pulpa con ayuda de cribas y agua a presión. La selección de las semillas llenas se efectúa mediante flotación en una solución salina, cuya concentración aproximada para cada especie se muestra en la tabla 1, pero que debe ajustarse a cada lote, ya que la densidad de las semillas puede variar entre poblaciones y entre años. Con este protocolo de limpieza se pueden obtener lotes con porcentajes de semillas llenas entre el 94 y 98 %. En la tabla 2 se muestran los rendimientos fruto-semilla y los valores de rendimiento de semillas para las cinco especies

presentes en la Comunidad Valenciana a partir de datos obtenidos de diferentes lotes recolectados por el Banco de Semillas Forestales.

CONSERVACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE SEMILLAS

Para su conservación, las semillas se secan en ambiente controlado hasta alcanzar un contenido de humedad entre un 4 y un 6%, y se almacena en frasco hermético en cámara oscura a 4-5°C. Todas las accesiones son caracterizadas al ingresar en las colecciones activa o base determinando su contenido de humedad, el peso de 1000 semillas, la pureza del lote y estimando la viabilidad mediante el test de tetrazolio siguiendo las normas ISTA (2003). Posteriormente se efectúan controles periódicos de la calidad de los lotes, estimando la viabilidad y el contenido de humedad de las semillas, de acuerdo con las mismas normas.

Los rangos de viabilidad obtenidos para los diferentes taxones en el momento de ingreso de las accesiones a la colección se muestran en la figura 1. Como tendencia general, se puede decir que *J. thurifera* tiende a presentar porcentajes de viabilidad más bajos que el resto de las especies, mientras que los lotes de *J. communis* tienen una mayor proporción de semillas viables. Aunque el número de accesiones analizadas por taxon difiere según especies, parecería que en *J. phoenicea*, *J. oxycedrus* y *J. thurifera* existe una mayor variabilidad en la calidad de las semillas, debido fundamentalmente a que se observan diferencias de viabilidad tanto entre procedencias como entre años dentro de una misma procedencia.

En el Banco de Semillas Forestales también se llevan a cabo ensayos de germinación aplicando diferentes tratamientos para la ruptura del letargo fisiológico, característica generalizada en este género (CANTOS *et al.*, 1998; YOUNG & YOUNG, 1992), que hace que la germinación sea muy lenta, independientemente de la calidad exterior del lote. En el caso de *J. phoenicea* se han obtenido buenos resultados aplicando el siguiente pretratamiento: escarificación con ácido sulfúrico al 98 % durante 15 minutos, seguido de imbibición durante 2 horas y posterior refrigeración a 4°C durante 30 días. Las condiciones de germinación aplicadas son temperaturas alternas de 10/20°C en oscuridad. Los resultados de germinación obtenidos en el momento de ingreso de las accesiones a la colección oscilan entre un 54 y un 95 %. Este tratamiento también se ha mostrado adecuado para algunos lotes de *J. oxycedrus*. En el caso del resto de las especies, hasta la fecha no se ha logrado fijar protocolos ya que se han obtenido resultados muy heterogéneos en función de los lotes.

En cuanto a la idoneidad de las condiciones de conservación, los porcentajes de viabilidad y germinación obtenidos en los diferentes controles reflejan que dichas condiciones parecen ser adecuadas para las accesiones de este género, por lo menos hasta 8 años -tiempo de conservación de los lotes más antiguos- ya que el patrón general es el mantenimiento de la calidad de los lotes (tabla 3). No obstante, esta afirmación habría de ser confirmada en el caso de *J. thurifera*, efectuando una homogeneización y un nuevo muestreo, ya que la tendencia de los dos lotes más antiguos es de cierto descenso en el porcentaje de semillas viables.

Las variaciones observadas en algunos lotes pueden ser debidas a cierta heterogeneidad de los mismos, como se puede deducir por el aumento con el tiempo del valor estimado para el porcentaje de semillas viables en algunos de ellos.

CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta las metodologías para la producción y conservación de semillas del género *Juniperus* puestas a punto en el Banco de Semillas Forestales de la Generalitat Valenciana y los resultados obtenidos hasta la fecha, es posible poner en relieve diferentes aspectos problemáticos que habrá que abordar en un futuro próximo con vistas a una eficaz conservación *ex situ* de los recursos genéticos y producción de material de reproducción del

género *Juniperus*. Entre ellos podemos destacar la puesta a punto de protocolos de germinación para una ruptura homogénea y rápida del letargo fisiológico de las semillas, el seguimiento de la variabilidad en el comportamiento reproductivo dentro y entre procedencias y el estudio de la variabilidad genética inter e intrapoblacional de enebros y sabinas para un muestreo eficaz del acervo genético de la especie.

Agradecimientos

Queremos agradecer a nuestros compañeros del Banc de Llavors Forestals las aportaciones realizadas a la presente comunicación, que en realidad reúne un trabajo colectivo efectuado a lo largo del tiempo, en el que en mayor o menor medida han colaborado todos.

BIBLIOGRAFÍA

- BAÑARES, Á.; BLANCA, G.; GÜEMES, J.; MORENO, J.C. & ORTIZ, S. (eds); 2004. *Atlas y Libro Rojo de la Flora Vasculare Amenazada de España*. Dirección General para la Biodiversidad, Publicaciones de la O.A.P.N. Madrid.
- CANTOS, M; CUERVA, J; ZÁRATE, R. & TRONCOSO, A.; 1998. Embryo rescue and development of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* and *macrocarpa*. *Seed Science and Technology* 26: 193-198.
- GENERALITAT VALENCIANA, 2004. *Plan General de Ordenación Forestal de la Comunidad Valenciana. Anexos*. Conselleria de Territori i Habitatge. Generalitat Valenciana. Valencia.
- ISTA, 2003. *International Rules for Seed Testing*. Edition 2003. ISTA, Basserdorf.
- LAGUNA, E.; DELTORO, V.; FOS, S.; PÉREZ, P; BALLESTER, G.; OLIVARES, A.; SERRA, L. & PÉREZ, J.; 2003. *Hábitats prioritarios de la Comunidad Valenciana*. Conselleria de Territori i Habitatge. Generalitat Valenciana. Valencia.
- YOUNG, J.A. & YOUNG, C.G.; 1992. *Seeds of woody plants in North America*. Discorides Press. Portland.

FIGURAS Y TABLAS

Tabla 1. Valores o rangos de concentración de solución salina para limpieza de semillas para cada especie

Taxon	NaCl (g/l)
<i>J. communis</i>	100
<i>J. oxycedrus</i>	150 - 200
<i>J. phoenicea</i>	30 - 40
<i>J. sabina</i>	100
<i>J. thurifera</i>	250 - 290

Tabla 2. Rendimiento en peso semilla-fruto y rendimientos en peso de semillas; valores mínimos, medios y máximos por especie

Taxon	Semilla / fruto			Peso 1000 semillas (kg)			N° semillas/kg		
	min	prom	max	min	prom	max	min	prom	max
<i>J.communis</i>	0,01	0,08	0,17	0,80*10 ⁻²	0,97*10 ⁻²	1,16*10 ⁻²	86.071	103.615	124.974
<i>J.oxycedrus</i>	0,03	0,12	0,24	2,28*10 ⁻²	3,12*10 ⁻²	3,91*10 ⁻²	25.528	32.687	43.719
<i>J.phoenicea</i>	0,02	0,10	0,15	0,57*10 ⁻²	0,69*10 ⁻²	0,83*10 ⁻²	119.689	144.703	175.029
<i>J.sabina</i>	0,12	0,14	0,19	1,42*10 ⁻²	1,81*10 ⁻²	2,40*10 ⁻²	41.609	56.377	70.208
<i>J.thurifera</i>	0,01	0,04	0,09	2,76*10 ⁻²	3,41*10 ⁻²	3,98*10 ⁻²	25.121	29.658	36.214

Tabla 3. Porcentaje de semillas viables de accesiones en control inicial y posterior; valores medios y (desviación típica)

	Control inicial		Control posterior		tiempo de control (años)
	semillas viables (%)	(desviación típica)	semillas viables (%)	(desviación típica)	
<i>J. communis</i>	100,0	(0,0)	100,0	(0,0)	6
	100,0	(0,0)	100,0	(0,0)	6
<i>J. oxycedrus</i>	86,0	(1,2)	100,0	(0,0)	8
	92,5	(0,6)	91,0	(0,5)	5
	64,2	(1,3)	73,6	(0,9)	6
	90,5	(0,6)	90,0	(1,0)	5
	55,7	(3,9)	77,3	(0,7)	5
<i>J. phoenicea</i>	84,5	(0,6)	87,6	(1,0)	5
	92,7	(1,0)	100,0	(0,0)	5
<i>J. sabina</i>	85,5	(0,6)	92,2	(1,0)	5
	88,2	(1,0)	93,5	(0,8)	5
	88,0	(1,2)	78,5	(7,3)	7
<i>J. thurifera</i>	55,0	(1,2)	46,1	(1,2)	5
	80,0	(1,0)	75,2	(0,5)	5

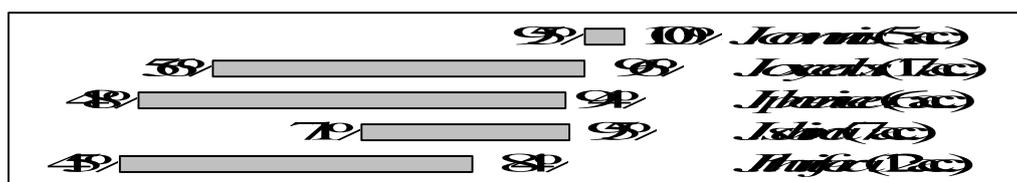


Figura 1. Rango de porcentaje de viabilidad obtenido en accesiones de *Juniperus*