

Artigo**Rosa Romero · Manuel A. Rodríguez Guitián · M^a Elvira López-Mosquera · R. M^a Barros · Carlos Real · Antonio Rigueiro**

Estudio de la capacidad germinativa de *Arnica montana* L. en Galicia

Recibido: 12 maio 2010 / Aceptado: 30 agosto 2010
© IBADER- Universidade de Santiago de Compostela 2010

Resumen Se realiza un estudio preliminar de la capacidad de germinación y el tiempo de emergencia de las semillas de *Arnica montana* procedentes de 11 poblaciones situadas en las provincias de Lugo y Ourense (Galicia). Además, se han comparado dos métodos para estimular la germinación de las semillas: humectación con nitrato potásico y con agua. Los resultados muestran importantes diferencias entre localidades en cuanto a la proporción de semillas germinadas (variaciones entre el 8% y el 96%) y al tiempo de emergencia. Sin embargo, el tratamiento pregerminativo con nitrato potásico no ofrece mejores resultados que la humectación con agua exclusivamente. Estos resultados no guardan relación con aspectos ambientales (altitud, tipo de hábitat) ni el tamaño muestral o poblacional de la especie estudiada en cada localidad e inducen a pensar que la viabilidad de las poblaciones naturales de árnica estudiadas puede estar condicionada por aspectos locales (clima, disponibilidad de polinizadores) que intervengan en los procesos de reproducción sexual. Los resultados aquí obtenidos deberían tenerse en cuenta de cara a la gestión futura del aprovechamiento sostenible de esta especie.

Palabras clave árnica, semillas viables, emergencia, recolección silvestre, aprovechamiento tradicional, NW Ibérico.

Rosa Romero · Manuel A. Rodríguez-Guitián · M^a Elvira López-Mosquera · R. M^a Barros · Antonio Rigueiro
Dpto. de Producción Vexetal. E.P.S. de Lugo. Universidade de Santiago de Compostela. 27002. Lugo.
e-mail: rosa.romero@usc.es

Carlos Real
Dpto. de Bioloxía Celular e Ecoloxía. Área de Ecoloxía. E.P.S. de Lugo. Universidade de Santiago de Compostela. 27002. Lugo.

Abstract In this study we made a preliminary characterization of the percentage of viable seeds and time to germination in 11 populations of *Arnica montana* from the provinces of Lugo and Ourense (Galicia, NW Spain). We also compared two methods for enhancing the germination of the seeds: watering with a potassium nitrate solution or with distilled water. Our results showed gross differences both in the proportion of viable seeds among populations (from 8% to 96%) and in time to germination. On the other hand, watering with potassium nitrate did not enhance germination compared to distilled water. No relation was founded between viability of seeds and ecological or poblacional characters. This leads us to consider that capability to reproduce sexually in the wild populations of arnica studied could be conditioned by local factors (climate, pollinisor disponibility) that affect sexual reproduction processes. This should be taken into account to make good use of this species in the future.

Key words arnica, viable seeds, wild harvesting, use of natural resources, NW Spain.

Introducción

Arnica montana L. es una planta utilizada desde antigüo por sus propiedades medicinales relacionadas con sus efectos bacteriostáticos, antihiperlipidémicos, antiinflamatorios, antirreumáticos, cardiotónicos y fungistáticos (Willuhn, 1991), por lo que figura en diversas farmacopeas.

Su distribución está restringida a Europa, desde el sudeste de Escandinavia al noreste de Italia y entre los Cárpatos y el extremo occidental de la Península Ibérica (Wagner, 1982)(Figura 1a). Actualmente, es una de las plantas más demandadas por las empresas farmacéuticas europeas, cuyo abastecimiento se cubre a través de un aumento creciente de la recolección en las poblaciones silvestres, lo que incide negativamente en la conservación de esta especie a nivel europeo y ha motivado su inclusión en el Anexo V de la DC 92/43/CEE. Paradójicamente, a pesar de que Galicia es el principal suministrador de árnica al

mercado mundial, no existe normativa específica sobre su aprovechamiento, lo que, unido a cambios de uso del territorio y el deterioro medioambiental, parece estar influyendo significativamente en la reducción de sus poblaciones (Lange, 1998).

Si bien en el pasado el árnica debió de ser una planta muy abundante en gran parte del territorio gallego (cf. Merino, 1906), en la actualidad aparece fundamentalmente en la mitad septentrional y áreas montañosas interiores hacia el S (Figura 1b), asociada a tres tipos de situaciones ecológicas: prados de siega seminaturales, turberas y brezales altos. El freno a la dinámica de desaparición de poblaciones naturales de esta especie pasa por la racionalización de su recolección y el fomento de su cultivo, para lo que es necesario tener conocimientos sobre aspectos básicos del proceso reproductivo de esta planta. En la naturaleza, *Arnica montana* se reproduce sexualmente mediante semillas y vegetativamente mediante cortos rizomas. Los frutos son achenios plumosos y se dispersan por el viento, produciéndose la germinación de las semillas entre finales del verano principios del otoño o bien en la primavera siguiente, cuando se dan condiciones adecuadas para ello, sin registrarse un período de dormancia (Strykstra *et al.*, 1998).

En la literatura existe alguna información acerca de la influencia del tamaño de las poblaciones en la producción y viabilidad de las semillas (Kahmen & Poschlod, 2000) y sobre el efecto del cruzamiento inter e intrapoblacional en la cantidad y calidad de las mismas (Luijten *et al.*, 1996, 2000, 2002); sin embargo, se conoce poco acerca de la efectividad de la propagación mediante semillas así como de las posibles diferencias que pudieran existir en el proceso de reproducción sexual entre poblaciones situadas en distintas condiciones ecológicas. Estos estudios son básicos no sólo desde el punto de vista de la domesticación

de la planta sino también con relación a establecer medidas de gestión que garanticen la viabilidad y supervivencia de esta especie en estado silvestre, especialmente cuando su aprovechamiento ha provocado una reducción importante de sus poblaciones naturales (Romero Franco & Rodríguez Guitián 2007).

Material y métodos

Se utilizaron semillas recolectadas en 11 localidades cuya situación y características ecológicas y poblacionales se detallan en la Tabla 1. La recogida del material se realizó a lo largo del mes de julio de 2006, aprovechando el momento fenológicamente más adecuado de cada lugar en función del desnivel altitudinal cubierto (475-1.215 m)(Spitaler *et al.*, 2005). En cada sitio de muestreo se recogieron achenios totalmente desarrollados en plantas suficientemente distantes entre sí como para considerarse individuos diferentes (Kahmen & Poschlod, 2000). Cada uno de los conjuntos de achenios recolectados fué mezclado en el campo, secados al aire en el laboratorio durante 48 horas y luego almacenados en cámara fría, entre 3-4 °C, hasta iniciar el ensayo. De cada localidad se seleccionaron 120 achenios considerados viables (con la testa de coloración negruzca y resistente a la presión) que fueron colocados en dos placas Petri sobre papel de filtro (60 en cada una). Para estimular la germinación una de las placas se humectó con NO_3K 0,01 M siguiendo el protocolo propuesto por Heijne *et al.* (1996); a la otra se le añadió únicamente agua destilada. Las placas Petri permanecieron en oscuridad y la temperatura ambiente se mantuvo entre 20-24 °C. Las semillas se regaron regularmente con el fin de mantenerlas permanentemente húmedas. La germinación se evaluó efectuando conteos diarios durante 25 días. Se consideró que las semillas habían germinado al emerger la radícula. A

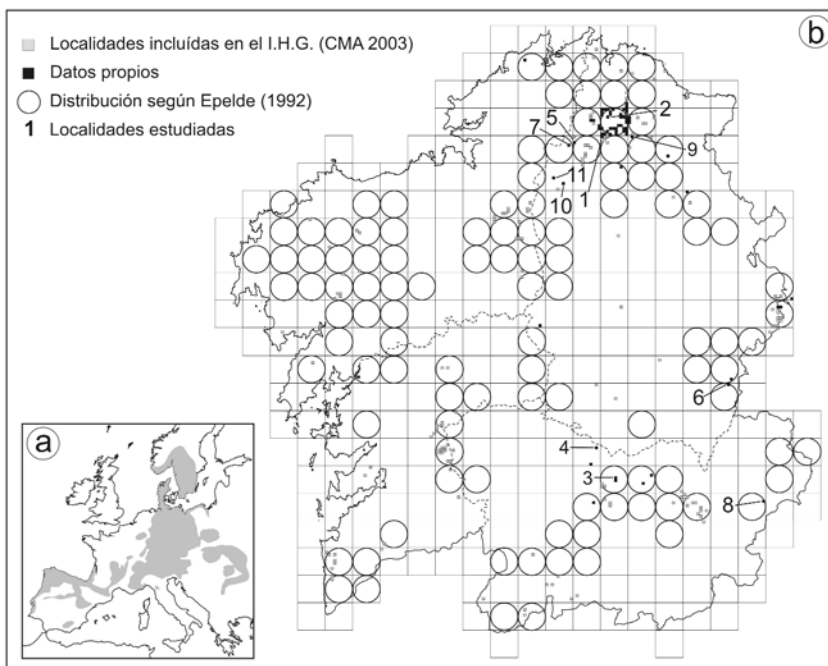


Figura 1.- a: distribución aproximada de *Arnica montana* en Europa; b: distribución conocida de *Arnica montana* en Galicia

partir de los datos de germinación obtenidos se realizó un análisis de regresión lineal y un test de Wilcoxon mediante el paquete R (R Development Core Team 2007). Las

representaciones gráficas de los resultados obtenidos se confeccionaron con el programa Excel 2003.

Localidad	X	Y	Alt.(m)	Hábitat	n	N	S	D
1. A Balsa (Vilalba, LU)	621	4808	617	P	5	75	20	3,8
2. Aborbó (Muras, LU)	610	4812	625	T	5	250	12	20,8
3. A Carballeira (Xunqueira de Espadanedo, OU)	613	4685	726	P	20	75	40	1,9
4. Pombar (Nogueira de Ramuín, OU)	608	4696	547	P	15	250	40	6,3
5. Penachaiña (Xermade, LU)	600	4807	475	P	20	300	16	18,8
6. Alto do Couto (Folgozo do Courel, LU)	656	4719	1215	B	5	50	60	0,8
7. O Chao (Xermade, LU)	598	4806	480	P	20	125	40	3,1
8. Valdín (A Veiga, OU)	669	4676	1070	T	10	100	8	12,5
9. Ponte Xestido (Abadín) (LU)	621	4809	581	T	10	300	20	15,0
10. Reibocho (Vilalba, LU)	596	4792	479	P	20	75	10	7,5
11. Ponte Pedrido (Guitiriz, LU)	592	4793	506	T	20	125	4	31,3

Tabla 1.- Relación de lugares en los que se realizó la recogida de semillas de árnica con indicación de su localización geográfica (cuadrícula UTM, huso 29T), altitud, tipo de hábitat, tamaño muestral (n: número de plantas muestreadas), tamaño poblacional (N, estimación del número total de plantas), superficie de muestreo (S, m²) y densidad estimada de plantas (D, n° pl./m²). Tipo de hábitat: B: brezal, P: prado de siega; T: turbera pastoreada

Resultados

Aunque el seguimiento de la germinación culminó a los 25 días de ensayo, no se observaron variaciones a partir del día 17 (Tabla 2). La mayoría de las poblaciones estudiadas presentaron unos valores finales de germinación elevados (superiores al 60%) y sólo en cuatro (A Balsa, Aborbó, A Carballeira y Pombar) esa tasa quedó por debajo del 50% (Tabla 2, Figura 1). Las localidades en las que se obtuvo un menor porcentaje final de germinación fueron A Balsa y Aborbó, con un 8,3 y 23,3 % respectivamente, mientras que el máximo se alcanzó en Ponte Pedrido (96,8%).

En la mayoría de las muestras estudiadas, la máxima tasa de germinación se registró en la primera semana del ensayo (Tabla 2). Excepto en dos localidades (A Carballeira y Alto do Couto), en el resto las semillas que germinaron lo hicieron en los primeros siete días del ensayo. Además, salvo en A Carballeira y A Balsa, se observaron semillas con radícula visible ya desde el segundo día. Resultaron especialmente llamativas, por su precocidad y vigor, las muestras de Ponte Pedrido, Ponte Xestido, Reibocho y O Chao.

Para evaluar en qué medida los tratamientos pregerminativos (NO₃K frente a H₂O) han influido en los resultados de germinación obtenidos se calculó la recta de regresión a partir de los valores finales de porcentaje de germinación obtenidos en ambos tratamientos (Figura 2). Puesto que los intervalos de confianza al 95% para la pendiente (0,75; 1,28) y para la intercepción en el origen (-19,95%; 15,22%) de dicha recta incluyen los valores 1 y 0%, respectivamente, la ecuación de regresión obtenida no difiere significativamente de la esperada para el caso en el que no hubiese diferencias entre los tratamientos (pendiente igual a 1 e intercepción en el origen igual a 0), por lo que se concluye que el porcentaje final de semillas germinadas no se ha visto afectado por el tipo de tratamiento aplicado a las semillas.

En cuanto a la posible influencia de los tratamientos germinativos en la velocidad de germinación, los resultados muestran comportamientos variados, ya que en algunas muestras la aparición de las radículas fué más rápida en aquellas humectadas exclusivamente con agua (Alto do Couto, Ponte Xestido, Ponte Pedrido, Reibocho), mientras que en otras ésto ocurrió con las submuestras de NO₃K (Aborbó, O Chao, Pombar, A Balsa y A Carballeira); las parcelas de Valdín y Penachaiña presentaron una dinámica temporal de germinación semejante en ambos tratamientos (Tabla 2). Una posible respuesta similar como resultado de la cercanía geográfica (y consecuentemente, mayor proximidad genética) no puede argumentarse en ninguno de los tres casos (ver situación geográfica de las poblaciones en la Figura 1).

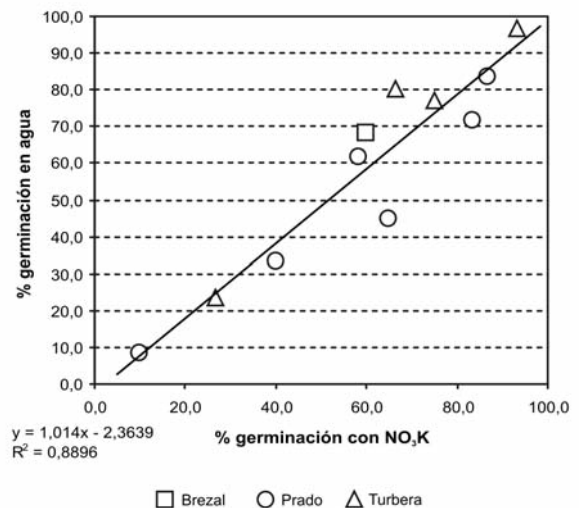


Figura 2.- Resultados del análisis de regresión entre los porcentajes de germinación en agua y en disolución de NO₃K (n = 60 en todos los casos)

Localidad	Tratamiento	Días																
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1. A Balsa	NO ₃ K	0,0	0,0	0,0	3,3	5,0	5,0	8,3	8,3	8,3	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
	H ₂ O	0,0	0,0	0,0	1,6	1,6	3,3	3,3	6,6	6,6	6,6	6,6	8,3	8,3	8,3	8,3	8,3	8,3
2. Aborbó	NO ₃ K	0,0	5,0	8,3	11,6	13,3	13,3	18,3	20,0	20,0	25,0	25,0	26,6	26,6	26,6	26,6	26,6	26,6
	H ₂ O	0,0	5,0	6,6	11,6	11,6	11,6	20,0	20,0	20,0	21,6	23,3	23,3	23,3	23,3	23,3	23,3	23,3
3. A Carballeira	NO ₃ K	0,0	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	11,6	15,0	16,6	21,6	23,0	31,6	33,3	36,6	40,0	40,0	40,0
	H ₂ O	0,0	0,0	0,0	3,3	3,3	3,3	6,6	6,6	11,6	18,3	20,0	21,6	30,0	30,0	33,3	33,3	33,3
4. Pombar	NO ₃ K	0,0	6,6	16,6	21,6	25,0	26,6	41,6	51,6	51,6	55,0	55,0	60,0	61,6	63,3	63,3	65,0	65,0
	H ₂ O	0,0	5,0	8,3	18,4	20,0	20,0	28,3	30,0	33,3	36,6	40,0	43,3	43,3	43,3	43,3	45,0	45,0
5. Penachaiña	NO ₃ K	0,0	8,3	15,0	33,6	36,6	41,6	46,6	50,0	50,0	53,3	53,3	56,6	58,3	58,3	58,3	58,3	58,3
	H ₂ O	0,0	1,6	3,3	16,6	23,3	33,3	43,3	46,6	50,0	56,6	56,6	56,6	61,8	61,8	61,8	61,8	61,8
6. Alto do Couto	NO ₃ K	0,0	3,3	5,0	8,3	16,6	18,3	21,6	31,6	35,0	38,3	38,3	43,3	46,6	51,6	53,3	58,3	60,0
	H ₂ O	0,0	10,0	11,7	15,0	18,3	21,6	35,0	45,0	48,3	51,6	51,6	51,6	61,6	63,3	65,6	65,6	68,3
7. O Chao	NO ₃ K	0,0	23,3	31,6	65,0	71,6	71,6	75,0	83,3	83,3	83,3	83,3	83,3	83,3	83,3	83,3	83,3	83,3
	H ₂ O	0,0	15,5	23,3	30,0	30,0	40,0	61,6	68,3	68,3	70,0	70,0	70,0	70,0	70,0	70,0	71,8	71,8
8. Valdín	NO ₃ K	0,0	10,0	20,0	38,3	40,0	50,0	53,3	60,0	61,6	66,6	68,3	71,7	71,7	71,7	73,3	75,0	75,0
	H ₂ O	0,0	15,0	21,6	26,6	45,0	48,3	51,6	65,0	63,3	66,6	68,6	68,6	68,6	73,3	75,0	76,6	76,6
9. Ponte Xestido	NO ₃ K	0,0	38,3	50,0	55,0	56,6	58,8	65,0	65,0	65,0	65,0	65,0	65,0	66,8	66,8	66,8	66,8	66,8
	H ₂ O	0,0	41,6	58,3	70,0	73,5	75,0	76,6	78,3	78,3	78,3	78,3	78,3	78,3	80,0	80,0	80,0	80,0
10. Reibocha	NO ₃ K	0,0	10,0	21,6	31,6	45,0	50,0	68,3	76,6	80,0	83,3	86,6	86,6	86,6	86,6	86,6	86,6	86,6
	H ₂ O	0,0	13,3	26,6	45,0	61,6	71,6	75,0	78,3	78,3	78,3	78,3	81,6	81,6	81,6	81,6	83,3	83,3
11. Ponte Pedrido	NO ₃ K	0,0	33,3	46,6	65,0	73,3	86,6	88,3	91,6	91,6	91,6	93,3	93,3	93,3	93,3	93,3	93,3	93,3
	H ₂ O	0,0	40,0	51,6	83,0	90,0	91,6	93,3	93,3	93,3	93,3	95,0	96,8	96,8	96,8	96,8	96,8	96,8

Tabla 2.- Evolución diaria del porcentaje de germinación registrado en las muestras estudiadas en función del tratamiento pregerminativo aplicado a las semillas. Con sombreado gris se remarcan las casillas que alcanzan un porcentaje superior al 50% de germinación

Respecto de la posible vinculación que pudiera existir entre la altitud y el porcentaje de germinación, las relaciones lineales obtenidas no superaron el valor de $r^2 = 0,01$, evidenciando la ausencia de correlaciones entre dichos parámetros (Figura 3). Valores de correlación igualmente bajos se han obtenido al confrontar las tasas de germinación en ambos medios con la densidad estimada de plantas en las parcelas (Figura 4) y algo superiores al confrontarlas con el número de plantas muestreadas en cada localidad (Figura 5). No obstante, en este último caso no se ha encontrado una explicación satisfactoria para la

considerablemente mayor correlación obtenida en el caso de las tasas de germinación en NO₃K frente a las de H₂O.

Para comprobar si el hábitat del que proceden las plantas tiene alguna influencia sobre el porcentaje de germinación se aplicó un test de Wilcoxon para dos muestras; de este análisis se excluyó el hábitat brezal al existir una sola localidad. Los resultados no indicaron diferencias significativas entre los valores de germinación obtenidos en los dos tipos de hábitat confrontados (prado de siega y turbera pastoreada) ni en NO₃K ($p = 0,610$) ni en H₂O ($p = 0,352$).

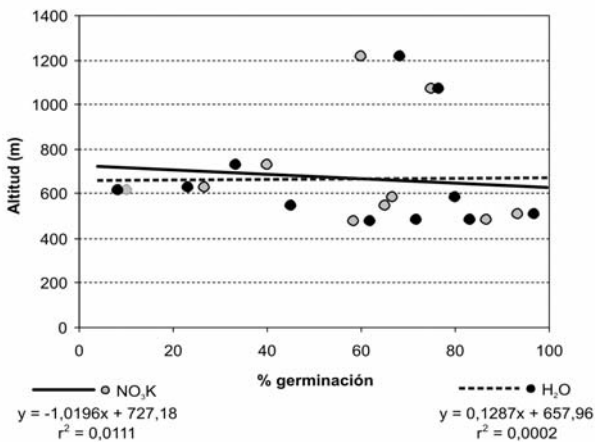


Figura 3.- Representación gráfica de las correlaciones existentes entre la altitud de las poblaciones estudiadas y la tasa de germinación en los dos medios testados

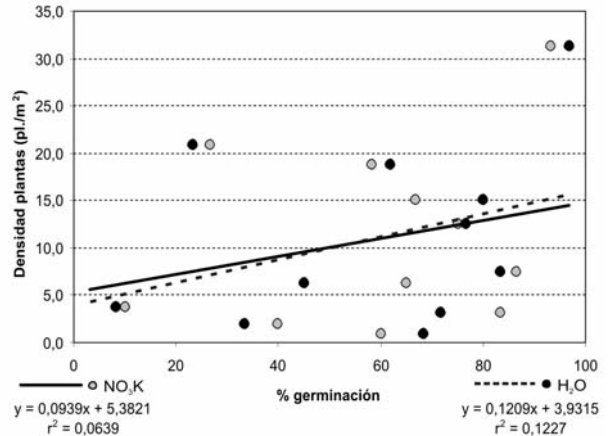


Figura 4.- Representación gráfica de las correlaciones existentes entre la densidad estimada de plantas en las parcelas muestreadas y la tasa de germinación en los dos medios testados

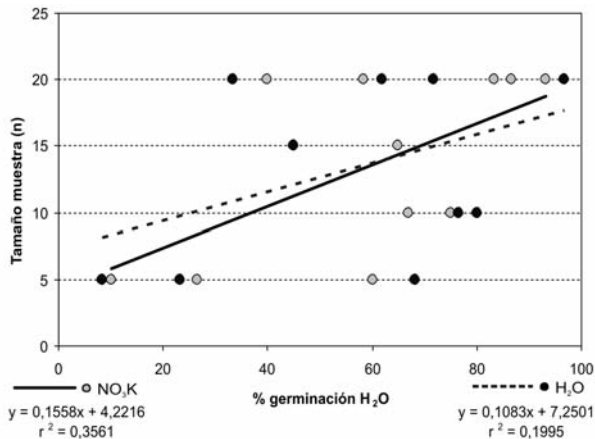


Figura 5.- Representación gráfica de las correlaciones existentes entre el número de plantas recolectadas y la tasa de germinación en los dos medios testados

Discusión

Se han propuesto diversos tratamientos para estimular la germinación de las semillas que generalmente suelen consistir en sumergirlas en soluciones químicas o agua a distintas temperaturas con el fin de ablandar las cubiertas y favorecer la hidratación del embrión. En el caso del árnica se suele utilizar como humectante una solución de NO_3K 0,001 M (Heijne *et al.*, 1996). Sin embargo, según los resultados aquí obtenidos no estaría justificado este tratamiento, pues con menos esfuerzo y presupuesto se obtienen resultados similares utilizando únicamente agua, con la ventaja añadida de ser un método admitido en agricultura ecológica.

Por otra parte, en este estudio hemos encontrado grandes diferencias en cuanto a los porcentajes finales de germinación y al tiempo en que este proceso se produce según la procedencia de las semillas. Dichas variaciones no parecen estar relacionadas ni con la altitud ni con el tipo de hábitat (confrontar datos de las tablas 1 y 2), por lo que será necesario realizar estudios complementarios para determinar qué otros factores (climáticos, disponibilidad y efectividad de polinizadores, etc.) pueden motivar esta variabilidad. En este sentido, algunos autores señalan la capacidad de ciertas especies de producir semillas de distintos tamaños, modos de dispersión y requerimientos para germinar en respuesta a diferentes condiciones ecológicas (Pijl, 1992).

Desde el punto de vista del mantenimiento de las poblaciones naturales de la especie estudiada en Galicia, la mayoría de las muestras analizadas tienen una elevada capacidad germinativa por lo que ésta no sería un factor limitante ni para la supervivencia del árnica ni para su propagación mediante métodos sexuales. Sin embargo, las bajas tasas de germinación registradas en algunas de las localidades (Aborbó, A Balsa y A Carballeira) llevan a pensar que se deba tener en cuenta este factor a la hora de plantear medidas de gestión que regulen el aprovechamiento tradicional de esta especie, pues podría

estar incidiendo activamente, junto a los cambios ambientales y de uso, en el proceso de extinción local que se ha descrito en este y otros territorios de Europa.

Conclusiones

- Se han encontrado diferencias apreciables en cuanto al porcentaje y tiempo de germinación de las semillas de *Arnica montana* procedentes de distintas poblaciones gallegas de esta especie.

- Los porcentajes finales de germinación obtenidos no difieren significativamente en función del tratamiento de pregerminación aplicado (solución 0,001 M de NO_3K frente a agua destilada).

- Las diferencias obtenidas en las tasas de germinación de las poblaciones estudiadas no se correlacionan con la altitud o el ambiente ecológico (tipo de hábitat) en el que se desarrollan las plantas madre.

- Las bajas tasas de germinación obtenidas en algunas de las poblaciones estudiadas apuntan a la necesidad de adoptar medidas que limiten el aprovechamiento tradicional de las mismas con el fin de preservarlas.

Agradecimientos los autores agradecen a Manuel Rodríguez Romero la recolección de las semillas empleadas en la realización de esta investigación y a dos revisores anónimos sus sugerencias para mejorar el manuscrito original. Este trabajo ha contado con financiación del proyecto de investigación PGIDIT05RAG29103PR.

Bibliografía

- Heijne, D., van Dam, D., Heil G.W. & Bobbink, R. (1996): Acidification effects on vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) infection, growth and nutrient uptake of established heathland herb species. *Plant and Soil*. 179: 197-206.
- Kahmen, S. & Poschlod, P. (2000): Population size, plant performance, and genetic variation in the rare plant *Arnica montana* L. in the Rhön, Germany. *Basic and Applied Ecology*. 1(1): 43-51.
- Lange, D. (1998): Europe's medicinal and aromatic plants: their use, trade and conservation. *Traffic Europe*. WWF.
- Luijten, S.H., Oostermeijer, J.G.B., van Leeuwen, N.C. & den Nijs, J.C.M. (1996): Reproductive success and clonal genetic structure of the rare *Arnica montana* (Compositae) in The Netherlands *Plant Systematics and Evolution* 201:15-30.
- Luijten, S.H., Dierick, A., Oostermeijer, J.G.B., Raijmann, L.E.L. & den Nijs, J.C.M. (2000): Population size, genetic variation and reproductive success in the rapidly declining, self-incompatible *Arnica montana* in The Netherlands. *Conservation Biology*, 14, 1776-1787.
- Luijten, S.H., Kéry, M., Oostermeijer, J.G.B. & den Nijs, J.C.M. (2002): Demographic consequences of inbreeding and outbreeding in *Arnica montana*: a field experiment. *Journal of Ecology* 90(4): 593-603.

Merino, B. (1906-1909): Flora descriptiva e ilustrada de Galicia. Tres tomos. Tipografía Galaica. Santiago de Compostela. 698 pp.

Pijl, L. (1982): Principles of dispersal in higher plants. 3^a ed. Pergamon Press. Oxford.

R Development Core Team. (2007): R version 2.5.0. The R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria, URL: <http://www.r-project.org>.

Romero Franco, R. & Rodríguez Guitián, M.A. (2007): Plantas medicinales y aromáticas. Aprovechamiento en la Cordillera Cantábrica. En: Uso sostenible y conservación en la Cordillera Cantábrica ¿es posible un acuerdo?: 117-123. Plataforma para la Defensa de la Cordillera Cantábrica. Oviedo.

Spitaler, R., Schlorhauser, P.D., Ellmerer, E.P., Merfort, I., Bortenschlager, S., Stuppner, H. & Zidorn, Ch. (2005): Altitudinal variation of secondary metabolite profiles in flowering heads of *Arnica montana* cv. ARBO. *Phytochem.* 67: 409-417.

Strykstra, J., Pegtel, D.M. & Bergsma, A. (1998): Dispersal distance and achene quality of the rare anemochorous species *Arnica montana* L.: implication for conservation. *Acta Bot. Neerl.* 47(1): 45-56.

Wagner, H. (1982): Pharmazeutische Biologie. Drogen und ihre Inhaltsstoffe. Fischer, Stuttgart.

Willuhn, G. (1991): *Arnica montana* L.- Portrat einer Aszneipflanze. *Pharm Zgt.* 136: 2453-2478.