

SOBRE LA PRESENCIA DE *NARCISSUS MUNNOZII-GARMENDIAE* FERN. CASAS, 1981 (AMARYLLIDACEAE) EN EXTREMADURA, ESPAÑA

Pedro GÓMEZ-MURILLO¹ & Ángel SÁNCHEZ GARCÍA²

¹ Independent Researcher. C/Caridad, 8. planta 2, pta. 8. 29680-Estepona, Málaga. pedrosquamata@gmail.com

² Unidad Ambiental de Energías Renovables. Junta de Extremadura. Avda. Luis Ramallo s/n, 06800-Mérida, Badajoz.

RESUMEN: Se comenta la presencia de *Narcissus munnozii-garmendiae* en Extremadura. Se analizan extractos de bulbos y hojas mediante GC-MS para la identificación de alcaloides y determinación del perfil alcaloídico. El análisis es usado como una herramienta quimiotaxonómica para comparar la población citada cerca de Albuquerque en la provincia de Badajoz y la población clásica de la provincia de Ciudad Real. **Palabras clave:** *Narcissus*; Narcisos; taxonomía; quimiotaxonómica; alcaloides; *Pseudonarcissi*; Extremadura; España.

ABSTRACT: On the occurrence of *Narcissus munnozii-garmendiae* Fern. Casas, 1981 (Amaryllidaceae) in Extremadura, Spain. The presence of *Narcissus munnozii-garmendiae* in Extremadura is commented. Bulb and leaf extracts are analysed by GC-MS for alkaloid identification and alkaloid profile determination. The analysis is used as a chemotaxonomic tool to compare the population cited near Albuquerque in the province of Badajoz and the classical population in the province of Ciudad Real. **Keywords:** *Narcissus*; Daffodils; taxonomy; chemotaxonomy; alkaloids; *Pseudonarcissi*; Extremadura; Spain.

INTRODUCCIÓN

Se ha encontrado en el género *Narcissus* L. la presencia de casi 100 alcaloides, hasta el momento, se han estudiado alrededor de 40 especies silvestres en relación a la presencia de alcaloides lo que significa que más de la mitad de las especies silvestres de narcisos aún deben ser estudiadas en este sentido. El conocimiento de la química de todas especies de *Narcissus* puede ayudar a resolver el puzle taxonómico relacionado con su gran variación morfológica (BASTIDA & al., 2006; BERKOV & al., 2008a).

Narcissus munnozii-garmendiae (Amaryllidaceae) es un narciso de mediano tamaño perteneciente a la sección *Pseudonarcissi* DC., y es endémico de España (AEDO, 2013; GARCÍA, 2018; GÓMEZ-MURILLO, 2021a y 2021b). Esta especie cuenta con escasas localidades conocidas, únicamente en las provincias de Badajoz y Ciudad Real. En coherencia con su extrema rareza, está catalogada “Casi Amenazada” (NT), según las categorías de amenaza de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (GARCÍA, 2018). Su semejanza con *N. confusus* Pugsley hizo que pasara desapercibido en Extremadura hasta fechas relativamente recientes, *N. munnozii-garmendiae* fue citado por primera vez en territorio extremeño por UREÑA (2020) cerca de Albuquerque en la provincia de Badajoz.

En este trabajo analizamos los perfiles de alcaloides para dos poblaciones de *N. munnozii-garmendiae* (tablas 1, 2 y 3), aportando caracteres químicos a la taxonomía del género *Narcissus*, a su vez, se realiza una comparativa de caracteres morfológicos, fenológicos y ecológicos (tabla 4).

MATERIAL Y MÉTODOS

Las mediciones: Las medidas se realizaron con calibre y tablas de medición, y se toman in-situ. Se miden varios especímenes de cada una de las poblaciones estudiadas, eligiendo 10 ejemplares, de los cuales tomamos medidas de las partes principales de la planta. Los resultados se expresan en la tabla 4.

Las fotografías: Las fotografías que aparecen este trabajo se tomaron in situ, sobre ejemplares vivos (fig. 1). Se utilizan equipos fotográficos digitales.

Material estudiado (plantas): *N. munnozii-garmendiae* de Solana del Pino (Ciudad Real), 30SUH85, 15-II-2019 (fig. 1a); *N. munnozii-garmendiae* cerca de Albuquerque (Badajoz), 29SPD85, 12-XII-2020 (fig. 1b).

Prueba molecular: Se realizan pruebas moleculares de *N. munnozii-garmendiae* (Solana del Pino, C. Real) y *N. munnozii-garmendiae* (Albuquerque, Badajoz). Se analizan muestras de bulbos y hojas (tabla 1 y 2).

Material químico: Los solventes utilizados: metanol (MeOH), dietiléter (Et₂O), ácido sulfúrico (H₂SO₄) e hidróxido amónico (NH₄OH), son de SDS (Val de Reuil, Francia). Todos los solventes son de grado analítico, excepto el MeOH que es de grado HPLC. La codeína usada como estándar interno es de Sigma Aldrich (St. Louis, U. S.A.) y la mezcla calibración estándar de alcanos saturados (C7-C40) de Supelco (Bellefonte, U.S.A.).

Extracción de los alcaloides: Las hojas y bulbos se trocearon, secaron y molieron hasta obtener un polvo grosero. La metodología de extracción comporta una serie de pasos. Primero se pesan en balanza de precisión 100 mg de muestra en tubo eppendorf y se le añade 1 mL de MeOH, dejándolo en maceración por espacio de 2 horas. A la mezcla se le adiciona codeína (0,05 mg) como estándar interno. Cada media hora la muestra se somete a ultrasonidos por espacio de 15 minutos para favo-

recer la extracción. Seguidamente se centrifuga durante 5 minutos a 10.000 g y, a continuación, se toman 500 μ L del sobrenadante con pipeta automática y se llevan a sequedad. El extracto seco se acidifica con 500 μ L de H_2SO_4 (2%) para obtener la sal de los alcaloides, y a continuación se eliminan los compuestos apolares mediante la extracción con Et_2O (x 2). La fase acuosa, libre de compuestos apolares, se alcaliniza con NH_4OH , extrayendo a continuación los alcaloides con Et_2O (x 3). El extracto puro de alcaloides se lleva a sequedad y, con posterioridad, se redissuelve con 100 μ L de MeOH para su análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).

Análisis GC-MS de los extractos alcaloídicos: El sistema GC-MS consiste en un Cromatógrafo de Gases Hewlett Packard 6890 acoplado a un Espectrómetro de Masas MSD 5975 (Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA). El volumen de inyección es de 1 μ L. Se trabaja en modo de impacto electrónico a 70 eV. El sistema utiliza una columna Sapiens-X5 MS (30 m \times 0.25 mm y 0,25 μ m) (Teknokroma, Sant Cugat del Vallès, Barcelona, Spain), aplicando el gradiente de temperatura: 100–180°C a 15°C/min, 180–300°C a 5°C/min, 10 min a 300°C, y finalmente 2 min a 100°C. La temperatura del inyector es de 250°C y se utiliza helio como gas conductor a un flujo de 1 mL/min.

Identificación de los alcaloides y determinación del perfil alcaloídico mediante GC-MS: Los datos de GC-MS se procesan mediante el software AMDIS 2.64 (BERKOV & al., 2008b; TORRAS-CLAVERIA & al., 2014). Los alcaloides se identifican comparando su espectro de masas y su Índice de Retención de Kovats (RI) con la biblioteca de alcaloides que el grupo de productos naturales de la UB ha ido construyendo a lo largo de los años con los alcaloides de las Amaryllidaceae que han sido aislados y caracterizados mediante técnicas de RMN, UV, CD, MS, contrastando también los resultados con la base de datos NIST y los datos de la bibliografía. Los valores de RI se obtuvieron mediante una solución de calibración de una mezcla de alcanos saturados (C79-C40).

RESULTADOS

Narcissus munnozii-garmendiae Fern. Casas

BADAJOS: Cerca de Albuquerque, 29SPD85, 12-XII-2020.
CIUDAD REAL: Solana del Pino, 30SUH85, 15-II-2019.

Resumen de la prueba GC-MS: En el presente trabajo, los perfiles de alcaloides de dos poblaciones de ejemplares colectados en Solana del Pino y Albuquerque son analizados por GC-MS. Este método es eficiente y confiable para estudios sobre alcaloides de Amaryllidaceae (BERKOV & al., 2008a; SÁNCHEZ GARCÍA & al., 2019).

Los valores de las tablas 1 y 2 están tabulados como microgramos de galantamina en 100 miligramos de peso seco de planta, siendo galantamina el compuesto que se toma de referencia y codeína el patrón interno que se añade al inicio y permite constatar que el proceso de extracción y purificación se ha realizado correctamente. UK seguido de un número es un compuesto desconocido (unknown) y el número que le sigue es el peso molecular.

DISCUSIÓN

En conclusión, en este caso los datos químicos ayudan a determinar que las plantas de ambas poblaciones pertenecen a la misma especie (JAUME BASTIDA, conv. pers.).

Sería interesante estudiar la química de alcaloides de todas las especies de *Narcissus* para también compararlas quimiotaxonómicamente, estos alcaloides utilizados junto con los caracteres morfológicos, podrían ser de utilidad para resolver el puzle taxonómico del género *Narcissus*. El presente estudio aumenta el conocimiento de alcaloides en Amaryllidaceae, estableciendo bases para diferentes investigaciones futuras sobre quimiotaxonomía en *Narcissus*.

AGRADECIMIENTOS: A Jaume Bastida por la orientación en los análisis y prueba GC-MS.

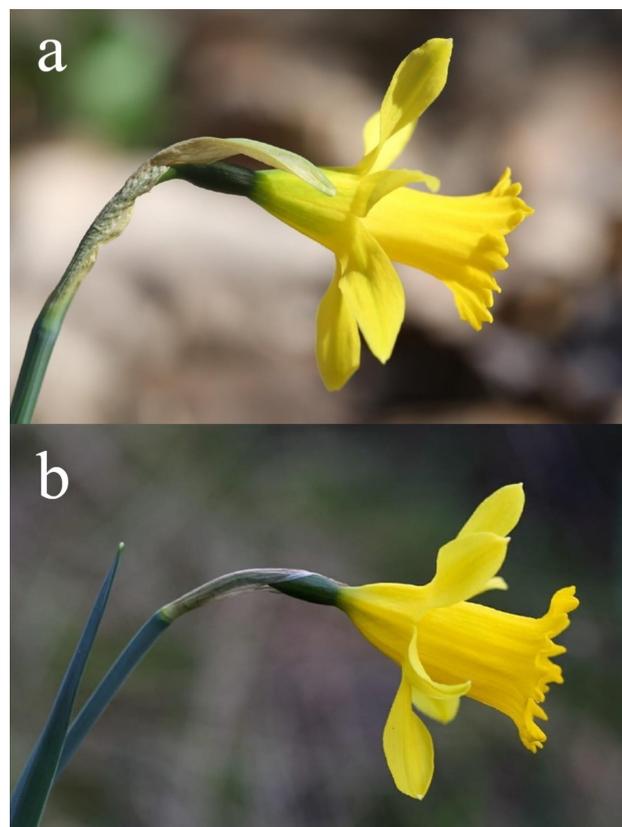


Fig. 1. (a) *N. munnozii-garmendiae*, Solana del Pino (Ciudad Real), 30SUH85, © P. Gómez-Murillo; (b) *N. munnozii-garmendiae*, cerca de Albuquerque (Badajoz), 29SPD85, © A. Sánchez García.

BIBLIOGRAFÍA

- AEDO, C. (2013). *Narcissus* L. In: Rico, E., Crespo, M.B., Quintanar, A., Herrero, A. & Aedo, C. (Eds.) *Narcissus* L., en *Flora iberica*, 20: 340-397. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid.
- BASTIDA, J., LAVILLA, R., & VILADOMAT, F. (2006). Chemical and biological aspects of *Narcissus* alkaloids. The Alkaloids. *Chemistry and Biology* 63: 87-179.
- BERKOV, S., J. BASTIDA, B. SIDJIMOVA, F. VILADOMAT & C. CODINA (2008a). Phytochemical differentiation of *Galanthus nivalis* and *Galanthus elwesii* (Amaryllidaceae): A case study. *Biochem. System. Ecol.* 36: 638-645.

- BERKOV, S., BASTIDA, J., VILADOMAT, F., & CODINA, C. (2008b). Analysis of galanthamine type alkaloids by capillary gas chromatography–mass spectrometry in plants. *Phytochemical Analysis* 19: 285–293.
- FERNÁNDEZ CASAS, F.J. (1981). *Exsiccata quaedam a nobis nuper distributa*, IV (254–500). Madrid.
- GARCÍA MURILLO, P.G. (2018). *Narcissus munnozii-garmendiae*. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T46 880371A46880386. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-1.RLTS.T46880371A46880386.en>. [acceso el 6-XI-2021].
- GÓMEZ-MURILLO, P. (2021a). Narcisos silvestres de la provincia de Ciudad Real, España (*Amaryllidaceae: Narcissus*). *Micobotánica-Jaén* 16(1): 100–112.
- GÓMEZ-MURILLO, P. (2021b). Notas sobre el género *Narcissus* Linnaeus, 1753 (*Asparagales: Amaryllidaceae*): Especies endémicas de España. *Micobotánica-Jaén* 16(2): 47–62.
- SÁNCHEZ GARCÍA, Á., ÁLVAREZ GONZÁLEZ, J.F., CASTRO PRIGENT, P., CRYSTAL, F., GÓMEZ-MURILLO, P. & TORRAS-CLAVERÍA, L. (2019). *Narcissus grandae* y *Narcissus milagrosus* (*Amaryllidaceae*) dos nuevas especies en Extremadura (España). *Folia Bot. Extremad.* 13(2): 5–22.
- TORRAS-CLAVERÍA, L., BERKOV, S., CODINA, C., VILADOMAT, F., BASTIDA, J. (2014). Metabolomic analysis of bioactive alkaloids of ornamental *Narcissus* by GC-MS combined with k-means cluster analysis. *Industrial Crops and Products* 56: 211–222.
- UREÑA, F. (2020). *Narcissus munnozii-garmendiae*. [Base de datos en línea: <https://www.biodiversidadvirtual.org/herbarium/Narcissus-munnozii-garmendiae-Fern.Casas-img604785.html>] [acceso el 6-XI-2021].

(Recibido el 8-XI-2021)
(Aceptado el 30-XI-2021)

<i>Narcissus munnozii-garmendiae</i> (Solana del Pino)				
Bulbos				
Galanthamine	22,4293	2438,0	11236329	16,6334
Nerinine	22,6550	2452,8	2878643	11,5707
O -Methyllycorenine	23,5334	2510,4	38866046	33,3703
UK (Homolycorine type)	23,9383	2537,0	138341955	93,6287
Cherylline	25,3662	2630,6	2689796	11,4563
UK (225/256/299)	25,6509	2649,2	40526249	34,3760
Haemanthamine	26,1598	2682,6	8219063	14,8057
Tazettine	26,3405	2694,4	4908	9,8299
8-O Demethylhomolycorine	27,4932	2770,0	3211064	11,7720
Homolycorine	28,0464	2806,3	116365306	80,3161
UK (256/313)	29,2014	2882,0	70611	9,8697
Hojas				
Galanthamine	22,4248	2437,7	7619885	16,0537
Nerinine	22,6534	2452,7	2116451	11,5564
O -Methyllycorenine	23,5097	2508,9	29336010	33,7995
UK (Homolycorine type)	23,8924	2534,0	77469888	73,1333
Cherylline	25,3078	2626,7	26806633	31,7326
UK (225/256/299)	25,6485	2649,1	74649110	70,8283
Haemanthamine	26,1434	2681,5	10337964	18,2748
Homolycorine	28,0388	2805,8	118133141	106,3623
8-O Demethylhomolycorine	28,6237	2844,1	2809626	12,1229
UK (256/313)	29,2152	2882,9	338717	10,1037

Tabla 1. Alcaloides en *Narcissus munnozii-garmendiae* (Solana del Pino, Ciudad Real, España).

<i>Narcissus munnozii-garmendiae</i> (Albuquerque)				
Bulbos				
Galanthamine	22,4218	2437,5	18563	9,8720
Nerinine	22,7780	2460,9	21374021	61,7881
Lycorenine	23,1777	2487,1	56515273	147,2180
Haemanthamine	26,1242	2680,2	47999878	126,5167
Tazettine	26,2510	2688,6	5045577	22,0929
Homolycorine	27,7010	2783,6	7118761	27,1329
Hojas				
5,6-Dihydro-5-Me[1,3]dioxolo[4,5-j]phenanthridine	20,4740	2314,4	1418756	14,3142
Galanthamine	22,4277	2437,9	555205	11,5829
Nerinine	22,7943	2462,0	29705104	103,7801
Lycorenine	23,2117	2489,3	69031967	228,1655
Anhydrolycorine	24,1432	2550,4	51927	9,9911
O -Methyltazettine	25,5740	2644,2	3345293	20,4076
Haemanthamine	26,1913	2684,7	53753122	179,8406

Tazettine	26,3941	2697,9	61620811	204,7250
Homolycorine	27,7726	2788,3	33170212	114,7397
8-O Demethylhomolycorine	28,5146	2836,9	4745200	24,8353
Epimacronine	28,5795	2841,2	226312	10,5427

Tabla 2. Alcaloides en *Narcissus munnozii-garmendiae* (Albuquerque, Badajoz, España).

	<i>N. munnozii-garmendiae</i> (Solana del Pino, prov. Ciudad Real)		<i>N. munnozii-garmendiae</i> (Alburquerque, prov. Badajoz)	
	Bulbos	Hojas	Bulbos	Hojas
Alcaloides				
Galanthamine	✓	✓	✓	✓
Homolycorine	✓	✓	✓	✓
Haemanthamine	✓	✓	✓	✓
Nerinine	✓	✓	✓	✓

Tabla 3. Presencia de diferentes tipos de alcaloides de *Amaryllidaceae* en dos poblaciones de *Narcissus munnozii-garmendiae* en España.

	<i>N. munnozii-garmendiae</i> – Solana del Pino (n=10)	<i>N. munnozii-garmendiae</i> - Alburquerque (n=10)
Hojas	Más cortas que el escapo. Verde	De longitud variable, más o menos cortas que el escapo. Glauco
Flores	2-2,5 cm longitud (excluyendo ovario). Color amarillo uniforme	2,2-3,2 cm longitud (excluyendo ovario). Color amarillo uniforme
Pedicelo	2-4 cm de longitud.	0,6-2,6 cm de longitud.
Escapo	Con 2 quillas. Glauco	Con 2 quillas. Glauco
Tubo	0,81-0,98 cm, de longitud. Forma de copa.	0,7-1 cm, de longitud. Forma de copa
Hábitat	Alisedas, melojares, bordes de Arroyo y turberas. 520-900 m.	Repisas de roquedo. 350-400 m.
Floración	(I) II-III	XI-XII (I)
Fuente	FERNÁNDEZ CASAS, 1981; AEDO, 2013; este trabajo.	Este Trabajo

Tabla 4. Caracteres comparados de dos poblaciones de *Narcissus munnozii-garmendiae* en España.

NOVEDADES EDITORIALES

Flora Valentina, IV (Lamiaceae - Rhamnaceae)

Gonzalo Mateo Sanz, Manuel B. Crespo Villalba, Emilio Laguna Lumbreras

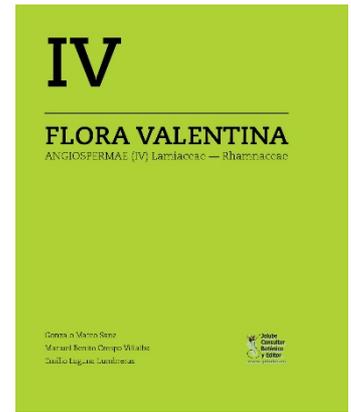
Ed. Jolube, 2021

Encuadernación tapa dura cosida, 22 x 27 cm, 362 páginas en **COLOR**

Fecha lanzamiento: **enero de 2022**

ISBN: 978-84-121656-9-2

PVP: 60€ + envío



Catálogo de la flora vascular del municipio de Zaragoza

Samuel Pyke

Monografías de Botánica Ibérica, nº 23

Encuadernación rústica fresada 17x 24 cm

180 páginas en B/N

Fecha lanzamiento: **diciembre de 2021**

ISBN: 978-84-124463-0-2

PVP: 12,50€ + envío

La cara amable de las malas hierbas, 3ª edición (2021)

Claves ilustradas para la determinación de los géneros y catálogo de especies

Alicia Cirujeda, Carlos Zaragoza, María León & Joaquín Aibar

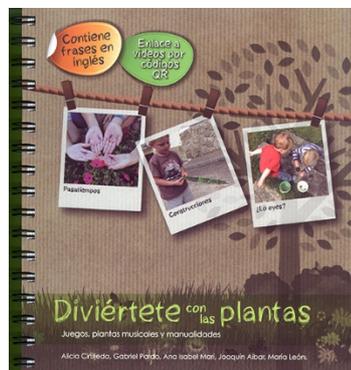
Encuadernación rústica 21 x 25 cm. 256 páginas en **color**

Edita: CITA-Gobierno de Aragón

Fecha lanzamiento: **diciembre de 2021**

ISBN: 978-84-87944-57-4

PVP: 20€ + envío



Diviértete con las plantas. Juegos, plantas musicales y manualidades

Alicia Cirujeda, Gabriel Pardo, Ana Isabel Marí, Joaquín Aibar & María León

Encuadernación anillas 20 x 22 cm, 256 páginas en **color**

Edita: CITA-Gobierno de Aragón

Fecha lanzamiento: 2016

ISBN: 978-84-8380-335-6

PVP: 28€ + envío

Orquídeas de Aragón

Conchita MUÑOZ ORTEGA

Col. *Guías imprescindibles de flora*, nº 2

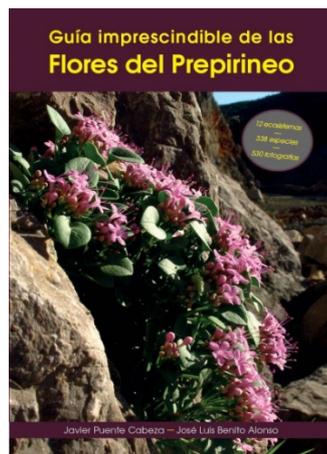
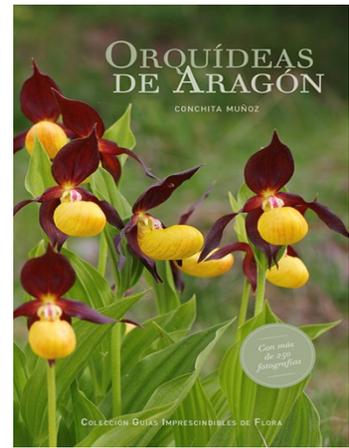
Encuadernación rústica 10 x 21 cm

202 páginas **en color con 250 fotografías**

Primera edición: abril de 2014

ISBN: 978-84-941996-1-5

PVP: 17,50 € + envío



Guía imprescindible de las flores del Prepirineo

Javier PUENTE CABEZA & José Luis BENITO ALONSO

Col. *Guías imprescindibles de flora*, nº 3

Encuadernación rústica 17 x 24 cm

204 páginas **en color con más de 530 fotografías.**

Primera edición: abril de 2013

ISBN: 978-84-941996-4-6

PVP: 17,50 € + envío

Orquídeas de la provincia de Cuenca

Guía de campo  

Agustín Coronado Martínez y Eduardo Soto Pérez

Colección Guías imprescindibles de flora, 4

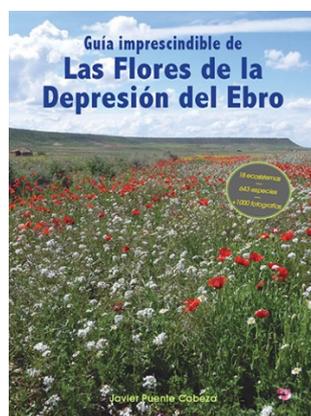
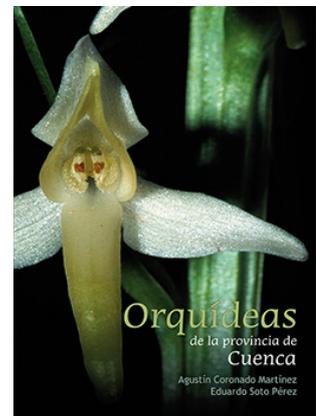
Encuadernación rústica 14,8 x 21 cm

252 páginas en **COLOR**

Fecha lanzamiento: mayo de 2017

ISBN: 978-84-945880-5-1

PVP: 25,95€ + envío



Guía imprescindible de las flores de la Depresión del Ebro

Javier Puente Cabeza

Col. *Guías imprescindibles de flora*, nº 5

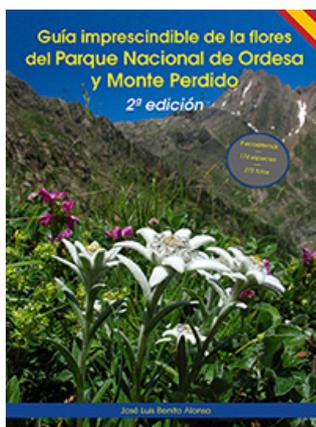
Encuadernación rústica 11 x 21,6 cm

380 páginas en **COLOR**

Fecha lanzamiento: **julio de 2018**

ISBN: 978-84-947985-3-5

PVP: 24,00€ + envío



Guía imprescindible de las flores del Parque Nacional de Ordesa y Monte Perdido, 2ª edición  

José Luis BENITO ALONSO

Col. Guías imprescindibles de flora, nº 1

Encuadernación rústica 17 × 23,5 cm

96 páginas color

Primera edición: mayo de 2009. **También edición en INGLÉS y FRANCÉS**

ISBN: 978-84-613-1776-9

PVP: 15,00 € + envío

Plantas de las cumbres del Pirineo. Flora del piso alpino 

Daniel Gómez, José Vicente Ferrández, Manuel Bernal, Antonio Campo, J. Ramón Retamero y Víctor Ezquerro

Ed. Prames. *Premio Félix de Azara, 2019*

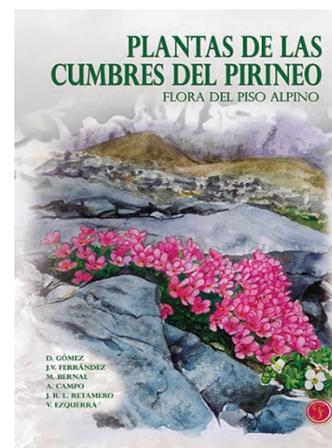
Encuadernación rústica cosida 18 x 24,5 cm

592 páginas en **COLOR**

Fecha lanzamiento: **agosto de 2020**

ISBN: 978-84-8321-920-1

PVP: 50€ + envío



Las plantas en la cultura tradicional de Ávila: Etnobotánica abulense  

Emilio BLANCO CASTRO

Monografías de Botánica Ibérica, nº 16

Encuadernación rústica 17 × 21,5 cm

344 páginas en **color**

Fecha lanzamiento: mayo de 2015

ISBN: 978-84-943561-0-0

PVP: 28€ + envío

Las gramíneas de la Península Ibérica e Islas Baleares  

Claves ilustradas para la determinación de los géneros y catálogo de especies

Carlos ROMERO ZARCO

Monografías de Botánica Ibérica, nº 15

Encuadernación rústica 17 × 24 cm

172 páginas en **color**

Fecha lanzamiento: abril de 2015

ISBN: 978-84-943561-1-7

PVP: 17,95€ + envío

