MEMORIA FINAL DEL PROYECTO

“PROGRAMA DE CONSERVACIÓN Y REINTRODUCCIÓN DE LA FLORA AMENAZADA Y CARACTERÍSTICA DE LOS ROBLEDALES ISLA DE LA LLANADA ALAVESA (LIC ES2110013)”

Dirección:

Agustí Agut i Escrig
Conservador del Banco de Germoplasma

Personal contratado:

Arantza del Canto Romero
Sara Mira Pérez

Jardín Botánico de Olarizu
Centro de Estudios Ambientales
Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz

MEMORIA FINAL DEL PROYECTO

“PROGRAMA DE CONSERVACIÓN Y REINTRODUCCIÓN DE LA FLORA AMENAZADA Y CARACTERÍSTICA DE LOS ROBLEDALES ISLA DE LA LLANADA ALAVESA (LIC ES2110013)”

Dirección:

Agustí Agut i Escrig
Conservador del Banco de Germoplasma

Personal contratado:

Arantza del Canto Romero
Sara Mira Pérez

Jardín Botánico de Olarizu
Centro de Estudios Ambientales
Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz

Memoria final del proyecto “Programa de conservación y reintroducción de la flora amenazada y característica de los Robledales isla de la Llanada Alavesa” subvencionado por el Dpto. Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco.

Vitoria-Gasteiz. Julio 2012.

1. Introducción **1**

2. Objetivos **5**

3. Establecimiento de prioridades para la conservación de la flora vascular de los Robledales isla de la Llanada Alavesa **6**
3.1. Introducción **6**
3.2. Material y métodos **6**
3.3. Resultados y discusión **8**
3.4. Conclusiones **11**

4. Conservación *ex situ* a largo plazo de la flora vascular prioritaria de los Robledales isla de la Llanada Alavesa en el Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu **12**
4.1. Introducción **12**
4.2. Material y métodos **12**
4.2.1. Recolección **12**
4.2.2. Cuarentena y limpieza **14**
4.2.3. Caracterización de semillas y accesiones **15**
4.2.4. Conservación e ingreso de las semillas en el Banco de Germoplasma **16**
4.3. Resultados y discusión **17**
4.4. Conclusiones **18**

5. Protocolos de germinación de la flora vascular prioritaria de los Robledales isla de la Llanada Alavesa **19**
5.1. Introducción **19**
5.2. Material y métodos **22**
5.2.1. Información bibliográfica previa **22**
5.2.2. Recolección, manejo y conservación de semillas **24**
5.2.3. Condiciones de germinación **25**
5.2.4. Análisis de datos **27**
5.3. Resultados y discusión: fichas de las especies **28**
5.3.1. *Narcissus bulbocodium* subsp. *citrinus* ***28***
5.3.2. *Narcissus pseudonarcissus* subsp. *pallidiflorus* **34**
5.3.3. *Merendera montana* **38**
5.3.4. *Berula erecta* **45**
5.3.5. *Galium boreale* **50**
5.3.6. *Senecio carpetanus* **55**
5.4. Conclusiones **60**

6. Cultivo de las especies prioritarias de los Robledales isla de Llanada Alavesa en el Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu **64**
6.1. Introducción **64**
6.2. Material y métodos **65**
6.3. Resultados y discusión **69**
6.4. Conclusiones **70**

7. Introducción de las especies prioritarias de los Robledales isla de la

Llanada Alavesa en las parcelas experimentales del Jardín Botánico de Olarizu **71**

8. Divulgación científica de los objetivos y resultados de este proyecto **72**

9. Divulgación y sensibilización ciudadana sobre los objetivos y resultados de este proyecto **73**

10. Resultados obtenidos y objetivos alcanzados durante el proyecto **76**

11. Agradecimientos **78**

12. Bibliografía **79**

ANEXO I: LISTADO DE PRIORIZACIÓN **85**

ANEXO II: MAPA DE LOCALIZACIÓN DE LA POBLACIÓN DE *Galium boreale* DE LAS CAMPAS DE OLARIZU **93**

ANEXO III: MAPA DE DISTRIBUCIÓN ACTUAL DE *Berula erecta* EN EL MUNICIPIO DE VITORIA-GASTEIZ **95**

ANEXO IV: MAPA DE LOCALIZACIÓN DE LAS PARCELAS DE CULTIVO Y REINTRODUCCIÓN DE FLORA AMENAZADA EN EL JARDÍN BOTÁNICO DE OLARIZU **97**

ANEXO V: PUBLICACIONES CIENTÍFICAS **99**

ANEXO VI: FOLLETO DIVULGATIVO **101**

ANEXO VII: PANELES INSTALADOS EN LAS PARCELAS DE CULTIVO Y REINTRODUCCIÓN **103**

ANEXO VIII: COPIA DIGITAL **105**

1. Introducción

La vegetación potencial natural de la Llanada Alavesa corresponde a un mosaico de bosques de fondo de valle. Este mosaico está dominado por los robledales eutrofos temporihigrófilos de *Quercus robur*, que ocuparían la mayor parte de los terrenos de la Llanada sometidos a inundación temporal, junto con los quejigares (*Quercus faginea*) que ocuparían los cerros y zonas elevadas libres de encharcamiento acompañados por las alisedas-fresnedas riparias que pueblan las orillas de los principales cursos de agua superficiales. (Aseginolaza et al., 1988; Aseginolaza et al., 1991; Catón & Uribe-Echebarria, 1980; Loidi et al., 1997a; Loidi et al., 1997b; Loidi et al., 2006).

Analizando las fotografías aéreas conservadas en el Centro de Estudios Ambientales del Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz (CEA) de los vuelos realizados en 1956 y 1968, se observa como, hace apenas cincuenta años, el municipio de Vitoria-Gasteiz y sus alrededores contaban con extensas y contínuas masas de estos bosques autóctonos. Sin embargo, la mecanización del sector agropecuario que tuvo lugar a mediados del siglo XX, posibilitó la ampliación y extensión de las explotaciones agrícolas y muchos de estos bosques fueron roturados con este fin. Esta situación se agudizó posteriormente con el desarrollo de polígonos industriales, el crecimiento de los cascos urbanos de la ciudad de Vitoria-Gasteiz y los pequeños núcleos de su alrededor y la construcción de las vías de comunicación y otras infraestructuras necesarias para todas estas actividades industriales y residenciales. Las extensas masas de bosque autóctono que existían fueron fragmentadas y reducidas a rodales aislados de mayor o menor extensión. De este modo, los bosques de fondo de valle de la Llanada Alavesa sufrieron una acusada merma de su valor natural, de sus servicios y funciones ecosistémicos y una gran pérdida de biodiversidad. (Neiker, 2001; Uribe-Echebarria, 2010b).

Sin embargo, pese a la drástica reducción de su superficie, la fragmentación de sus masas y las dificultades existentes para su expansión, algunos remanentes de estos bosques destacan por mantener, todavía y pese a todo, un aceptable estado de naturalidad y una elevada complejidad estructural, cumplir importantes funciones ecológicas y contar con una elevada riqueza de especies, constituyendo un destacable reservorio de biodiversidad, albergando especies amenazadas y únicas en la CAPV. Los casos de los robledales de Amarita y Characas son los más destacados (Uribe-Echebarria, 2010a; 2010b).

Frente a esta situación y en un esfuerzo por su conservación, el conjunto de estos bosques de fondo de valle, bajo el amparo de la Directiva Hábitats (92/43/CEE), fueron declarados Lugares de Importancia Comunitaria (LIC ES2110013), con la denominación de Robledales isla de la Llanada Alavesa, entrando a formar parte de la Red Natura 2000. En la actualidad está en proceso su declaración como Zona Especial de Conservación (ZEC). Entre las comunidades vegetales que forman parte de estos bosques se incluyen cinco hábitats de interés comunitario, dos de ellos de interés prioritario (Gobierno Vasco, 2003):

> 91E0* Alisedas y fresnedas o "Bosques aluviales de Alnus *glutinosa* y *Fraxinus excelsior, Alno-Padion, Alnion incanae, Salicion albae*".

9240 Quejigales o "Robledales ibéricos de *Quercus faginea* y *Q. canariensis*".
9160 Robledales mesótrofos subatlánticos de *Quercus robur* o "Robledales pedunculados o albares subatlánticos y medioeuropeos del *Carpinion betuli*".
4090 Matorrales calcícolas y enebrales con junquillo o "Brezales oromediterráneos con aliaga".
6210* Pastos mesófilos con orquídeas o "Prados secos seminaturales y facies de matorral sobre sustratos calcáreos (*Festuco-Brometalia*)(*parajes con notables orquídeas)".

Además, estudios recientes (Uribe-Echebarria, 2010b) advierten de la presencia de importantes extensiones de otros dos hábitats de interés comunitario:

6410 Herbazales húmedos de *Molinia caerulea* o "Prados con molinias sobre sustratos calcáreos, turbosos o arcillo-limónicos (*Molinion caeruleae*)".
6420 Prados-juncales con *Scirpus holoschoenus* o "Prados húmedos mediterráneos de hierbas altas del Molinio-Holoschoenion".

El Área de Estudios y Proyectos del Centro de Estudios Ambientales (CEA) está desarrollando una *Estrategia para el Estudio, Conservación y Mejora de la Biodiversidad de Vitoria-Gasteiz.* Dentro de esta estrategia está en vigencia el Plan de Estudio y Seguimiento de la Biodiversidad, una iniciativa innovadora a escala municipal que pretende contribuir a un mejor conocimiento y preservación del patrimonio y la riqueza natural del municipio. Este Plan consta de una línea de trabajo que desde hace más de diez años ha impulsado la realización de una serie de estudios destinados a inventariar, catalogar, analizar, valorar y evaluar la diversidad vegetal (flora, vegetación y cartografía de la vegetación) y su estado actual en el municipio de Vitoria-Gasteiz (Cirujano, 1998, 2000, 2003; IKT S.A., 2002; Neiker, 2001; Uribe-Echebarria, 1994, 2004, 2005, 2006, 2010a, 2010b).

En relación con el proyecto que nos ocupa en este caso cabe destacar los resultados obtenidos en los dos últimos estudios realizados dentro de esta línea de trabajo (Uribe-Echebarría 2010a, 2010b):

a) La flora amenazada del municipio de Vitoria-Gasteiz.

Se identificaron un total de 28 especies del municipio incluidas en el catálogo vasco de especies amenazadas.
Se constató la presencia actual de tan sólo 16 de ellas.
Se recomiendan como medidas de gestión, conservación *ex situ* e *in situ* y mejora poblacional: la recolección y conservación de semillas procedentes de las poblaciones del municipio o de las más cercanas en un Banco de Germoplasma, así como la realización de ensayos de germinación y desarrollo en situaciones controladas para la producción de planta.

b) Estudio de caracterización botánica de los bosques de fondo de valle del municipio de Vitoria-Gasteiz (Álava).

Se estudiaron 11 masas forestales del municipio, 7 de ellas incluidas en el LIC Robledales isla de la Llanada Alavesa (ES2110013).

Se catalogaron un total de 429 taxones de flora vascular propios de los bosques de fondo de valle (excluyendo plantas ruderales y arvenses).
Se identificaron 148 especies nemorales, características de estos bosques.
Se localizaron 5 especies incluidas en el Catálogo Vasco de Especies Amenazadas vigente en aquel momento: *Pentaglottis sempervirens, Ranunculus auricomus Narcissus asturiensis, Littorella uniflora, Ilex aquifolium* (BOPV/EHAA, nº 141 ZK., 1998; Uribe-Echebarría, 2006). Además de otras dos especies que en aquel momento habían sido propuestas para su inclusión en el catálogo y forman parte del catálogo vigente en la actualidad: *Berula erecta* y *Ruscus aculeatus* (BOPV/EHAA, nº 37 ZK., 2011). *Ruscus aculeatus* ya estaba protegida por el Anexo V de la Directiva Hábitats y no cuenta con problemas de conservación en la actualidad.
Además, se señalaban otros taxones considerados "de interés para la conservación" de la flora del municipio (*Asplenium scolopendrium, Crataegus laevigata, Isopyrum thalictroides, Epipactis hispanica, Ophrys insectifera, Serapias parviflora, Thalictrum flavum, Valeriana pyrenaica*).

En relación con los resultados de estos estudios era necesario desarrollar acciones de conservación y reintroducción dirigidas sobre las siguientes especies amenazadas de los Robledales isla de la Llanada Alavesa, incluidas en diferentes catálogos de protección (BOPV/EHAA, nº 141 ZK., 1998; BOPV/EHAA, nº 37 ZK., 2011; Uribe-Echebarría, 2006; VV.AA., 2010).

TAXON	**CATÁLOGO AMENZADAS CAPV (1998)**	**CATÁLOGO AMENZADAS CAPV (2011)**	**LISTA ROJA CAPV (UICN) (2010)**	**DIRECTIVA HÁBITAT**	**POBLACIONES OBSERVADAS**
Pentaglottis sempervirens	Peligro Extinción	Vulnerable	Amenazada; Vulnerable		1
Berula erecta	(Vulnerable)	Peligro Extinción	Amenazada; En Peligro de Extinción		1
Ranunculus auricomus	Rara	Vulnerable	Amenazada; Vulnerable		1
Littorella uniflora	Rara	Rara	No Amenazada; Casi Amenazada		2
Ilex aquifolium	Interés Especial	Interés Especial	No Amenazada, Con menor riesgo de extinción		17
Ruscus aculeatus		Interés Especial		Anexo V	
Narcissus asturiensis	Interés Especial	Interés Especial	No Amenazada, Con menor riesgo de extinción	Anexo II	40

Además de estas 7 especies, también fueron incluidas en el proyecto *Galium boreale* y *Senecio carpetanus*, dos especies amenazadas y características de los herbazales húmedos, trampales y prado-juncales, etapas de sustitución avanzadas de los robledales y los bosques de fondo de valle de la Llanada Alavesa.

El Centro de Estudios Ambientales (CEA) del Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz puso en en marcha el Banco de Germoplasma Vegetal del Jardín Botánico de Olarizu. El Banco de Germoplasma Vegetal del Jardín Botánico de Olarizu tiene dos objetivos principales. Por una parte, la consecución de las semillas y la producción de planta necesarias para completar las colecciones de planta viva del Jardín Botánico de Olarizu.

Por otra parte, la conservación a largo plazo de la flora silvestre amenazada, endémica y rara, así como de las especies estructurales y características de los Hábitat de interés comunitario de la CAPV. Los Bancos de Germoplasma juegan un papel primordial en la conservación *ex situ* de la flora, permitiendo reforzar planes y medidas de conservación *in situ* (reintroducción de especies, restauración de hábitats, restauraciones o refuerzos poblacionales, etc.) como los planteados en este proyecto (Bacchetta et al., 2008; *Estrategia Europea para la Conservación de la Flora,* 2003; *Estrategia Global para la Conservación Vegetal,* 2002).

Desde el año 2008 el CEA está dirigiendo la gestión y el manejo silvícola del robledal del Parque de Olarizu (en la actualidad integrado en el Jardín Botánico de Olarizu), de una zona de prado húmedo-trampal adyacente y otra zona de prado-juncal existente en las campas de la antigua Dehesa de Olarizu hacia su regeneración natural. Este robledal y el prado-juncal "renaturalizados" cuentan con las condiciones necesarias para albergar parcelas experimentales dedicadas a los ensayos de reintroducción de las especies amenazadas y características de los robledales isla de la Llanada Alavesa.

El Parque de Olarizu, actualmente integrado en el Jardín Botánico de Olarizu, es un espacio público, frecuentado por numerosos usuarios, integrado en el Anillo Verde de la ciudad de Vitoria-Gasteiz, que alberga las colecciones de planta viva del Jardín Botánico de Olarizu exstentes en la actualidad, la parcela que albergará las colecciones del Jardín de las Plantas Útiles y Amenazadas (en fase de proyección) y la Casa de la Dehesa, sede del CEA y centro de recepción de visitantes del Jardín Botánico de Olarizu, donde se encuentran también con las instalaciones del Banco de Germoplasma. Estos elementos constituyen las piezas fundamentales del conjunto que integra el Jardín Botánico de Olarizu, un proyecto que ha adoptado en sus principios fundacionales el cumplimiento de las funciones de conservación, investigación, divulgación y educación ambiental.

2. Objetivos

Los objetivos de este proyecto son cinco:

1. Establecer cuales son las especies de flora vascular prioritarias para la conservación de la diversidad vegetal de los Robledales isla de la Llanada Alavesa.

2. Conseguir la conservación *ex situ* a largo plazo de la flora vascular prioritaria de los Robledales isla de la Llanada Alavesa en el Banco de Germoplasma de Olarizu.

3. Establecer cuales son los protocolos de germinación de la flora vascular prioritaria de los Robledales isla de la Llanada Alavesa para poder llevar a cabo las labores de producción y multiplicación de planta.

4. Reintroducir las especies prioritarias de los Robledales isla de Llanada Alavesa en las parcelas experimentales de reintroducción del robledal del Parque de Olarizu.

5. Divulgar y sensibilizar a la ciudadanía sobre los objetivos y resultados de este proyecto.

3. Establecimiento de prioridades para la conservación de la flora vascular de los Robledales isla de la Llanada Alavesa

3.1. Introducción

Para alcanzar los objetivos descritos, en primer lugar se realizó una clasificación de prioridades de conservación de la flora vascular de los Robledales isla de la Llanada Alavesa. Esta fase del proyecto pretendía establecer las especies de flora vascular prioritarias para la conservación *ex situ* de la diversidad vegetal de los Robledales isla de la Llanada Alavesa (LIC ES2110013), con un doble objetivo: conservar la flora amenazada y característica del hábitat del hábitat de los Robledales isla del municipio de Vitoria-Gasteiz en la colección del Banco de Germoplasma.

Los Robledales isla de la Llanada alavesa (LIC ES2110013) son en la actualidad una pequeña representación de la gran masa forestal autóctona, que tiempo atrás cubría grandes extensiones de este territorio, debido a la enorme presión ejercida por la acción humana. Estos bosques rodeados por campos de cultivo, sin posibilidad alguna de expandirse de forma natural, cumplen importantes funciones ecológicas y albergan un gran valor natural y una considerable riqueza florística. Las 429 especies de plantas vasculares descritas en los bosques de fondo de valle del municipio de Vitoria (Uribe-Echebarría, 2010), suponen más de la séptima parte del total de la flora del País Vasco y más de la quinta parte del total de la flora alavesa. Se detectaron además, la presencia de cinco plantas vasculares incluidas en el Catálogo Vasco de Flora amenazada (B.O.P.V./EHAA, nº 141 ZK., 1998; BOPV/EHAA, nº 37 ZK., 2011; Uribe-Echebarría, 2006): *Ilex aquifolium, Littorella uniflora*, *Narcissus asturiensis*, *Pentaglottis sempervirens, Ranunculus auricomus, Berula erecta y Ruscus aculeatus.*

La clasificación de prioridades se llevó a cabo mediante un sistema de valoración multicriterio de los que suelen utilizarse en Biología de la Conservación, que incluía diferentes criterios de selección: grado de amenaza, grado de protección, abundancia, etc. (Bueno et al., 2007; Dunn et al., 1999; Farnsworth, E.J. et al., 2006; Harris et al., 2005 ; Hartley & Kunin, 2003; Jiménez-Alfaro et al. 2007; Master, 1991; Pärtel, 2005, Shi, 2005; Tenner, 2003). Esta metodología permitió elaborar un listado de especies prioritarias, especies de mayor interés, para la conservación (amenazadas, características y estructurales). En el siguiente apartado se describe con detalle la metodología seguida para establecer las prioridades de conservación de la flora de los Robledales isla de la Llanada Alavesa.

3.2. Material y métodos

El estudio se centró en el establecimiento de prioridades para la conservación de la flora amenazada y característica de los Robledales isla de la Llanada Alavesa. Por ello utilizamos un método de evaluación multicriterio que permitió priorizar las especies según su grado de amenaza y su función en el hábitat de estudio. Previamente se evaluaron 11 masas forestales del municipio de Vitoria-Gasteiz (Álava), 7 de ellas incluidas en el LIC Robledales isla de la Llanada Alavesa catalogándose un total de 412 taxones de flora vascular, 137 de ellas nemorales características de estos bosques (excluyendo plantas ruderales y arvenses) (Uribe-Echebarria 2010):

1-**Estarrona**, confluencia ríos Zaya y Zadorra, bosque de Parecicua. Superficie aproximada 10 Ha.

2-**Zuazo Vitoria**, Sarbikoetxea. Incluido en el LIC de los robledales isla de la Llanada alavesa (ES2110013). Superficie aproximada 4 Ha.

3-**Zuazo Vitoria**, Zabalgana (se han considerado tres zonas, la zona norte, la zona sur y la zona de los arroyos Toroguico e Ibaya). Superficie aproximada 20 Ha (la zona boscosa).

4-**Gobeo**, bosque de Calzazarra. Incluido en el LIC de los robledales isla de la Llanada alavesa (ES2110013). Superficie aproximada 4,5 Ha.

5-**Lopidana**, Los Arbolicos. Superficie aproximada 1 Ha.

6-**Gereña**, Basalandea. Superficie aproximada 1 Ha.

7-**Amarita**, robledal del Molino, o de Illorrondoa (se han estudiado además del robledal eútrofo típico, variantes topográficas con quejigal seco, y la zona encharcada con balsa natural). Incluido en el LIC del río Zadorra (ES2110010). Superficie aproximada 6 Ha.

8-**Ilarraza**, robledal de Maumea. Incluido en el LIC de los robledales isla de la Llanada alavesa (ES2110013). Superficie aproximada 1 Ha.

9-Bosque de Characas, en el que se han distinguido cuatro zonas, la de **Cerio** (robledal), y las de **Ilarraza** y **Argandoña** (quejigal de Mendiluz), más el pinar de repoblación de Cerio. Incluido en el LIC de los robledales isla de la Llanada alavesa (ES2110013). Superficie aproximada 38 Ha.

10-**Ascarza**, quejigal de Durruma, con dos zonas, una al Norte y la otra al Sur, hacia Aberasturi. Incluido en el LIC de los robledales isla de la Llanada alavesa (ES2110013). Superficie aproximada 13 Ha.

11- **Sarrena**, con dos zonas muy diferenciadas, la zona baja (robledal de Cerio) y la zona alta (quejigal de Argandoña, o del cerro de Estibaliz). Incluido en el LIC de los robledales isla de la Llanada alavesa (ES2110013). Superficie aproximada 16,5 Ha.

Los 412 taxones catalogados se evaluaron utilizando 5 criterios (Tabla 1): (1) Amenaza (AME) de acuerdo con la Lista Roja Española (Moreno, 2008); (2) Protección (PRO) legal en la CAPV (BOPV/EHAA nº 37 ZK 2011); (3) Endemicidad (END) según su representación en la Península Ibérica (Aizpuru *et al.*, 1999); (4) Frecuencia (FRE) de la planta en la Llanada Alavesa (Aizpuru *et al.*, 1999); y Ecología (ECO) priorizando especies con ecología restringidas al hábitat nemoral y estructurales en el hábitat de estudio (Loidi *et al.* ,1997; Uribe-Echebarría, 2010).

Tabla 1. Criterios utilizados de cara a establecer una priorización en la flora vascular a conservar en los Robledales isla de la Llanada Alavesa, así como nº de especies asignadas a cada criterio.

Criterio	**Descripción**	**Clases**	**Descripción**	**Nº especies**
Amenaza (AME)	Estatus de amenaza en la Lista Roja Española	AME1	En peligro critico (CR o EN)	0
		AME2	Vulnerable (VU)	0
		AME3	Casi amenazado (NT)	1
		AME4	Menos riesgo extinción (LC)	0
		AME5	No amenazadas	411
Protección (PRO)	Estatus de conservación legal según el catálogo de protección del País Vasco 2011	PRO1	En peligro de extinción	1
		PRO2	Vulnerable	2
		PRO3	Rara	2
		PRO4	Interés especial	2
		PRO5	No protegida	405
Endemicidad (END)	Endemicidad de la planta en los distintos ámbitos biogeográficos	END1	Endemismo del País Vasco	1
		END2	Endemismo pirenaico-cantábrico	4
		END3	Endemismo del norte Península Ibérica	3
		END4	Endemismo de la Península Ibérica	6
		END5	otros	398
Frecuencia (FRE)	Frecuencia o abundancia de la planta en la Llanada Alavesa	FRE1	Muy rara	4
		FRE2	Rara	34
		FRE3	Escasa	189
		FRE4	Común	149
		FRE5	Muy común	38
Ecología (ECO)	Especies características de los Robledales isla de la Llanada Alavesa	ECO1	Especies diferenciales del robledal isla	2
		ECO2	Características de alianza / orden	16
		ECO3	Características de clase	21
		ECO4	Acompañantes	375
		ECO5	Especies no nemorales	265

Todos los criterios se clasificaron según importancia en cinco clases (Tabla 1). A las clases de cada criterio se les asignó un valor numérico en sentido ascendente según importancia, bien aplicando valores ordinales (de 0 a 4), bien transformándolas en función de su percentil asignándoles el valor de la frecuencia acumulada (de 0 a 1). De este modo, obtuvimos dos transformaciones numéricas de los criterios y se calculó el índice de priorización de la conservación (IPC) a partir de la suma normalizada, de valores ordinales y de percentiles:

IPC ordinal= (AME + PRO + END + FRE + ECO) / 20
IPC percentil= (AME + PRO + END + FRE + ECO) / 5

Con estos dos índices se generaron dos listas de priorización de especies que se compararon mediante una regresión lineal.

3.3. Resultados y discusión

De las 412 especies evaluadas se encontraron 8 especies con algún tipo de amenaza y protección (*Berula erecta, Ilex aquifolium, Littorella uniflora, Narcissus asturiensis, Narcissus pallidiflorus, Pentaglottis sempervirens, Ranunculus auricomus* y *Ruscus aculeatus*), 14 especies endémicas, 4 especies cuya abundancia es muy rara y 2 especies diferenciales del hábitat (*Crataegus laevigata* y *Quercus robur*).

En la tabla 2 se presentan, para los primeros 45 de los 412 taxones evaluados, los dos índices de priorización para la conservación (IPC) calculados, utilizando la transformación con percentiles y con valores ordinales. El máximo número de criterios

que una especie puede cumplir es 3 de 5, debido al doble objetivo de conservación planteado: especies amenazadas y características del robledal. Los dos criterios de transformación utilizados, percentiles y ordinales, produjeron dos listas de priorización que se correlacionan (R^2= 0.81; Figura 1), pero con diferencias remarcables incluso cuando sólo las especies más prioritarias se seleccionan (Tabla 2).

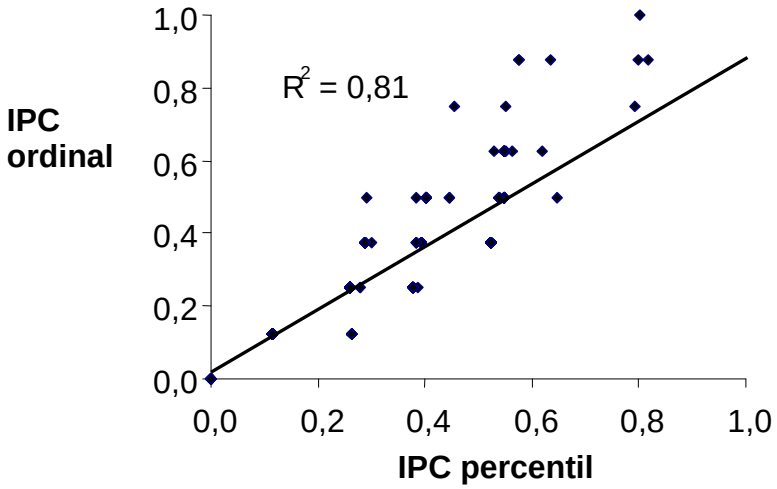


Fig 1. Correlación entre el índice de prioridad para la conservación (IPC) calculado mediante la transformación con percentiles y valores ordinales.

Por ejemplo, observando los 10 primeros taxones de la lista para cada índice vemos que estos varían en 2 especies, la misma variación que observamos cuando nos fijamos en los 30 primeros taxones. Además, mediante percentiles se obtuvo un rango de 21 valores absolutos de IPC, y tan sólo 9 al utilizar números ordinales ya que las combinaciones de valores ordinales son limitadas. Así pues, el método de transformación tiene un gran efecto en el índice obtenido y por lo tanto en las especies que serán priorizadas para su conservación.

Tabla 2. Lista de priorización de la flora vascular a conservar en los Robledales isla de la Llanada Alavesa. Se muestra a modo de ejemplo los primeros 45 de los 412 taxones evaluados, de acuerdo a los dos índices de priorización de la conservación (IPC) calculados, mediante transformación con percentiles y con valores ordinales.

Género	especie	IPC percentil	IPC ordinal
Narcissus	*pallidiflorus*	1	1
Valeriana	*pyrenaica*	2	2
Pentaglottis	*sempervirens*	3	1
Ranunculus	*auricomus*	3	2
Conopodium	*pyrenaeum*	3	3
Epipactis	*hispanica*	4	5
Narcissus	*asturiensis*	5	2
Ilex	*aquifolium*	6	4
Crataegus	*laevigata*	7	2
Berula	*erecta*	7	2
Brachypodium	*sylvaticum*	8	4
Viola	*odorata*	9	4
Quercus	*robur*	9	3
Malus	*sylvestris*	9	5
Stachys	*sylvatica*	9	5
Hypericum	*tomentosum*	9	5
Bromus	*benekenii*	9	5
Euphorbia	*villosa*	9	5
Laserpitium	*latifolium*	9	5
Prunus	*avium*	9	5
Silene	*dioica*	9	5
Smyrnium	*olusatrum*	9	5
Stellaria	*neglecta*	9	5
Carex	*remota*	9	4
Helleborus	*viridis*	9	4
Iris	*foetidissima*	9	4
Lamium	*galeobdolon*	9	4
Rosa	*agrestis*	9	4
Rosa	*arvensis*	9	4
Tamus	*communis*	9	4
Lonicera	*periclymenum*	10	5
Melampyrum	*pratense*	10	5
Populus	*tremula*	10	5
Sambucus	*nigra*	10	5
Viburnum	*lantana*	10	5
Fritillaria	*pyrenaica*	10	4
Geranium	*robertianum*	11	6
Glechoma	*hederacea*	11	6
Hypericum	*hirsutum*	11	6
Lathraea	*clandestina*	11	6
Lonicera	*xylosteum*	11	6
Rhamnus	*cathartica*	11	6
Ruscus	*aculeatus*	11	6
Viburnum	*opulus*	11	6
Viscum	*album*	11	6

3.4. Conclusiones

En conclusión, la conservación de la flora de los Robledales isla de la Llanada Alavesa se evaluó utilizando criterios de amenaza, protección, endemicidad y frecuencia, que son habituales en priorización para la conservación de plantas, e incluyendo además un criterio de función ecológica del taxón en el hábitat. Esto nos permitió alcanzar el doble objetivo de conservar especies amenazadas y especies características del hábitat. El IPC utilizado es aquel obtenido mediante una transformación basada en las frecuencias relativas (percentiles), ya que permite un mayor umbral de priorización, como también se ha observado en trabajos con flora cantábrica (Jiménez-Alfaro *et al.*, 2011). En la priorización obtenida observamos que entre los 10 taxones de máximo interés para la conservación encontramos 6 de las especies amenazadas, exceptuando *Litorella uniflora* que no es una especie estrictamente nemoral y *Ruscus aculeatus* que actualmente no cuenta con problemas de conservación y cuando se realizó la priorización no está incluida en el Catálogo Vasco de Especies Amenazadas vigente en aquel momento. Al establecer el punto de corte en las 100 primeras especies se incluyen todas las amenazadas, 37 especies de las que aparecen en los 100 primeros puestos y un total de 84 especies fueron incluidas en las acciones de conservación del Banco de Germoplasma: recolección, estudios de conservación y estudios germinativos.

4. Conservación *ex situ* a largo plazo de la flora vascular prioritaria de los Robledales isla de la Llanada Alavesa en el Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu

4.1. Introducción

En segundo lugar, siguiendo el orden de prioridad establecido se procedió a la recolección y procesado de las semillas de las especies prioritarias de los Robledales isla para su conservación *ex situ* a largo plazo en el Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu. Esto permitió conservar una muestra representativa de la flora vascular amenazada y característica de estos hábitats tan frágiles y sometidos a tantas presiones.

El Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu cuenta con el personal científico-técnico, las instalaciones y los equipamientos necesarios para el procesado y la conservación de semillas a largo plazo.

En base a las prioridades de conservación definidas se realizó una planificación y se efectuaron prospecciones de campo, recolectando las muestras de semillas en poblaciones naturales. Las muestras recolectadas son depositadas en la sala de recepción y limpieza donde se elaboran los pliegos de herbario testigo de cada recolección y las semillas se separan de los frutos, cubiertas protectoras y resto de impurezas. Una vez limpias, las semillas son depositadas en la sala de desecado (10ºC y 15% HR) hasta que se equilibran con las condiciones de la sala. A continuación, las semillas ingresan en las cámaras de ultradesecado con gel de sílice (7-12% HR), situadas en el interior de la sala de desecado. De este modo, las muestras recolectadas se conservan a largo plazo ultradesecadas, envasadas en cápsulas o ampollas de vidrio termoselladas y almacenadas en la sala de conservación (-18ºC).

Paralelamente, en el laboratorio de investigación las muestras se caracterizan mediante: análisis de imagen (morfocolorimetría, 3D), ensayos de viabilidad (capacidad germinativa) y monitorización del contenido de humedad.

4.2. Material y métodos

4.2.1. Recolección

El objetivo principal de cualquier recolección de germoplasma es maximizar la diversidad genética de las muestras que se pretenden conservar. Por lo tanto, las estrategias de muestreo de poblaciones naturales deben intentar obtener el máximo de variabilidad genética en el mínimo número de muestras posible.

La valoración del impacto que supone la extracción de cierta cantidad de semillas en la dinámica poblacional es de vital importancia, ya que las recolecciones de germoplasma deben asegurar en todo momento la viabilidad de las poblaciones en su hábitat natural. Para ello, es necesario considerar y conocer las características biológicas de las especies, su ciclo vital (las especies anuales pueden ser más sensibles a la recolección) o su biología reproductiva. Aun cuando se trabaja con especies con elevada producción de semillas es necesario ajustar la recolección a las necesidades reales del

banco, ya que salvo condiciones de amenaza inminente, el mejor proveedor de semillas siempre será una población natural viable. De esta forma, el muestreo debe estar adaptado a la disponibilidad de germoplasma producido por la población, debiendo calibrarse la presión ejercida por la recolección cada vez y adaptarse a la evolución o involución de la población, considerando siempre las diversas opciones: desde la posibilidad de no recolectar a, por el contrario, recoger todo el germoplasma disponible (por ejemplo embolsando uno a uno los frutos de todas las plantas).

El método de muestreo fue diseñado bajo el apoyo de trabajos previos realizados por el CEA (Uribe-Echebarría, 2006; Uribe-Echebarría, 2010), registros de herbarios, catálogos florísticos, mapas, etc. Una vez recopilada el máximo de información posible, se elaboró una Tabla de Presencia de las especies de máxima prioridad según el IC, en los 11 Robledales Isla presentes en el municipio de Vitoria-Gasteiz (Estarrona, Zabalgana, Lopidana, Gereña, Sarbikoetxea, Gobeo, Amarita, Ilarraza, Cerio, Ascarza y Argandoña), con el fin de aumentar la eficiencia en todos los aspectos de la recolección (incrementar el número de especies recolectadas, aumentar la cantidad y la calidad de las muestras, conseguir la mayor diversidad genética y reducir el esfuerzo de campo así como el coste económico). Se realizaron además numerosas visitas preliminares a los distintos bosques citados para confirmar la presencia, abundancia y estado biológico de las distintas especies de interés. Comprobando *in situ* el desmarque de el Robledal de Amarita en cuanto a diversidad y número de especies nemorales y/o de la orla forestal respecto al resto visitados.

La gran mayoría de estas especies fueron recolectadas en distintos Robledales isla del municipio de Vitoria-Gasteiz. Siendo Amarita el robledal más frecuentado, al albergar el mayor número de especies priotarias, de forma que la mayor parte de las accesiones pertenecen a éste. La primera recolección se realizó 14 de Abril del 2011 día y la última el 10 de enero del 2012, siendo junio, julio, septiembre y principios de octubre las épocas de más trabajo de campo.

El número absoluto de poblaciones o muestras a recolectar de cada especie se estableció en función del tamaño poblacional total y de factores extrínsecos como la diversidad ecológica y los factores de amenaza, así como de los recursos disponibles. De forma que en nuestro caso hubo que considerar la formación de balsas que diversifican los microambientes y contribuyen a la diversidad ecológica. En el caso de especies catalogadas como raras o amenazadas se procedió a la recolección en todas las poblaciones descritas en la bibliografía.

El número absoluto de individuos muestreados varió en función del tamaño poblacional y los objetivos de la recolección. De forma general se intentó recolectar semillas de entorno el 50% de los individuos de cada población, escogidos de forma aleatoria y uniforme a lo largo de un transecto, esto es, evitando seleccionar aquellos con mayor número de semillas, mejor aspecto o más accesibles al recolector. Pero intentando siempre recolectar semillas de individuos sometidos a distintas condiciones ambientales (tipo de suelo, inclinación, exposición solar...), ya que el objetivo era que las muestras recolectadas representen toda la diversidad genética de la población.

La cantidad de semillas recolectadas por individuo varió enormemente en función de la especie, población y condiciones climáticas, nunca recogiendo más del 20% de las semillas disponibles el día de recolección, asegurando en todo momento, la

viabilidad de las poblaciones en su hábitat natural. Se intentó recolectar la misma cantidad de cada planta, obteniendo una buena representatividad y evitando favorecer un determinado genotipo. En el caso de las poblaciones de especies amenazadas con muy pocos individuos se realizaron recolecciones de semillas en distintas épocas a lo largo de todo el periodo de dispersión, de cara a muestrear más cantidad de germoplasma de cada planta. Además, en algunos casos en que se preveían problemas para recolectar suficiente número de semillas debido a la dispersión natural de las plantas, se optó por embolsar uno a uno los frutos de todas las plantas, como fue por ejemplo el caso de *Pentaglottis sempervirens* y *Ranunculus auricomus.*

La recolección de semillas se caracteriza por su especial dependencia de las condiciones climatológicas que afectan a su estado de maduración, para lo cual fue necesario realizar diversas visitas sobre el terreno antes de proceder a la recolección de frutos y semillas en el momento justo.

En muchos casos las semillas no se pudieron recolectar separadamente, sino junto a los frutos que las contienen. De este modo se evita interrumpir el proceso de maduración fisiológica que se está produciendo, a la vez que se favorece la adquisición de tolerancia a la deshidratación. El material (semillas o frutos) se recolectó en bolsas de papel, teniendo especial cuidado de no dejar las muestras recolectadas en lugares con altas temperaturas ni con irradiación directa del sol. Los frutos carnosos se conservaron en bolsas de plástico bien aireados, evitando que su rápido deterioro afectase de forma negativa a la viabilidad de las semillas.

El proceso de recolección de cada una de las accesiones fue caracterizado *in situ* mediante fichas de campo, recopilando en ellas el máximo de información posible, que posteriormente fue informatizada pasando a formar parte de la base de datos del Banco de Germoplasma: Número de accesión, taxón, fecha, localidad, coordenadas UTM, altitud, recolectores, presencia o no de pliego testigo, condiciones climatológicas, número de semillas por individuo, número de semillas por fruto, número de individuos sobre los que se recolectó, área de población, área muestreada, condiciones fitosanitarias, estado de conservación, estadio fenológico prevalente y observaciones.

4.2.2. Cuarentena y limpieza

Una vez en el Banco de Germoplasma, el material recolectado se depositaba sobre papel de filtro en bandejas de plástico, con el objetivo de pasar un periodo de cuarentena. Este procedimiento, previo a la limpieza (excepto la eliminación de grandes restos como hojas o ramas), permite valorar el estado fitosanitario del material, así como su calidad, identificando semillas vacías, vanas, etc. Además de permitir la post-maduración de las semillas, proceso necesario para que las semillas inmaduras adquieran la capacidad de germinación (maduración fisiológica de las semillas), ya que aunque la recolección se realizase con atención, es muy frecuente recoger semillas en distintos estados de maduración. Para ello, el material sucio se depositó en el interior del armario de postmaduración, en un ambiente seco y fresco (20-22ºC y 40-45% HR), a la espera de ser limpiado, durante un tiempo variable, generalmente entre 2-3 semanas.

Los métodos de limpieza empleados se adecuaron a cada caso en función del tipo de fruto, tipo y cantidad de semillas, de su estado, importancia de la especie, etc.

Aunque es difícil establecer un protocolo de limpieza, se puede generalizar que al menos en el caso de frutos carnosos la limpieza se realizó con la mayor celeridad posible, no más de 48 h tras su recolección, conservándolos siempre en una cámara frigorífica a 5ºC. La eliminación de la pulpa se llevó a cabo de forma manual y/o mecánica (batidora), sometiendo después las semillas a lavados con agua corriente con el fin de eliminar los restos adheridos a éstas y evitar el desarrollo de micosis y fermentaciones que afectasen a la viabilidad de las semillas. En aquellos casos en los que los frutos carnosos se presentaban muy deshidratados en el momento de la recolección, fueron sumergidos en agua durante unas pocas horas, facilitando así su limpieza.

En frutos de cierto tamaño y provistos con vilano, como fue el caso de *Cirsium pyrenaicum* (Jacq.) All., las semillas fueron separadas de dicha estructura de forma manual, una a una, empleando pinzas y tijeras. Mientras que en el caso de *Senecio carpetanus* Boiss. & Reuter, debido al pequeño tamaño de las semillas se conservaron con el vilano. Para el resto de semillas se utilizaron procedimientos manuales o mecánicos (soplador, columna de tamices con vibración, pulidora, gomas de fricción, lijas de diversos grosores, etc.).

Con el fin de facilitar la limpieza de futuras accesiones y/o comparar distintos métodos empleados, se elaboro una ficha de limpieza del material donde se registró toda la información de importancia, que posteriormente se informatizó pasando a formar parte de la Base de Datos del Banco de Germoplasma: accesión, especie, operario, periodo de cuarentena (fecha de inicio, fecha final, temperatura, humedad), tipo de fruto, método de limpieza y observaciones.

4.2.3. Caracterización de semillas y accesiones

Una vez limpias las semillas, se mantuvieron en el armario de postmaduración de la sala de recepción y limpieza durante un tiempo variable, a la espera de ser trasportadas a la sala de desecado. Durante este periodo se llevó a cabo la caracterización de las distintas accesiones. Para ello se calculó el peso medio de 100 semillas en fresco, a partir de la media de dos pesadas y se evaluó el peso total de la muestra. A partir de estos datos se estimó el número de semillas de cada una de las accesiones.

Se realizaron además fotos a 100 semillas de cada accesión mediante un microscopio estereoscópico (Leica S8APO) asociado a una cámara digital y un software de análisis de imagen (LAS 3.7) para poder realizar análisis morfométricos de las semillas si fuese necesario.

Por último, se tomaron imágenes 3D a cada una de las especies recolectadas mediante el microscopio estereoscópico, de cara a tener un registro de imágenes de las accesiones y crear así en un futuro una espermateca digital de la colección del Banco de Germoplasma.

4.2.4. Conservación e ingreso de las semillas en el Banco de Germoplasma

Para la conservación del material se llevan a cabo una serie pasos diferenciados en base al tipo de colección a la que vayan a ser destinadas las semillas. En los Bancos de Germoplasma existen dos tipos de colecciones: la colección base (a largo plazo) y la colección activa (a medio plazo), que tiene como objetivo la disponibilidad de semillas para su uso a corto o medio plazo en actividades como el establecimiento de protocolos de germinación y producción de planta. De esta forma, antes de iniciar el proceso de conservación de las distintas accesiones, se separaron aquellas semillas frescas con las que se pretendían realizar ensayos de germinación. Para la conservación de material las fases de trabajo fueron: desecado, ultradesecado, encapsulado y almacenamiento (congelación).

Puesto que las semillas se clasifican en dos categorías principales en base a su respuesta frente la deshidratación y a su comportamiento durante la conservación, antes de iniciar el proceso de desecado se determinó la categoría de conservación de cada una de las especies recolectadas, consultando bases de datos de bancos de germoplasma (Seed Data Base, 2011). Las ortodoxas o "tolerantes a la deshidratación", son la mayoría de semillas de climas templados y mediterráneos. Las recalcitrantes o "sensibles a la deshidratación", son las semillas de muchas plantas tropicales e importantes especies arbóreas de regiones templadas y mediterráneas (por ejemplo especies del género *Quercus*). De forma que aquellas semillas recolectadas de categoría intermedia (*Ulmus minor* Miller. y *Euonymus europaeus* L.) se desecaron y mantuvieron en ese estado, sin ultradesecarse ni congelarse, así como para aquellas especies de categoría incierta pero con sospechas de no ser tolerantes.

El desecado, es el primer paso para la conservación del material tanto para muestras que vayan a entrar en la colección base como para aquellas de la colección activa. Una vez limpio, el material se depositó en la sala desecado, una sala de condiciones controladas (10 ºC y 10-15 % HR) en recipientes plásticos abiertos para que las semillas se equilibrasen con las condiciones ambientales de la sala.

Tras un periodo variable de unas 2-3 semanas, excepto las especies antes mencionadas y algunas semillas de especies con las que se pretendían realizar ensayos en estado seco (colección activa), se pasaron al interior de las cámaras o vitrinas de ultradesecado con gel de sílice (7-12% HR), monitorizando la disminución de su peso empleando una microbalanza de precisión y su contenido de humedad en equilibrio mediante un psicrómetro. Se tomaron tres medidas de estos parámetros, peso y contenido de humedad, a lo largo del tiempo: antes de introducir las muestras en la vitrina de ultradesecado, tras un periodo de aproximadamente una semana y antes de ser entubadas. Una vez estos valores se estabilizaron y/o aparecían dentro de un rango aceptable, las muestras fueron entubadas y mantenidas en la vitrina de ultradesecado a la espera de ser termoselladas. En este punto también fueron separadas cierta cantidad de semillas con las que se pretendía realizar ensayos de germinación en estado ultraseco. Al finalizar el periodo de ultradesecado, se realizó también una estimación del peso medio de 100 semillas para cuantificar el número de semillas total de cada lote, de la misma forma antes descrita, a fin de comparar en que estado es más adecuado realizar tal estimación. Todos los datos tomados durante la estancia de las semillas en las cámaras de ultradesecado fueron informatizados directamente en el ordenador.

Una vez ultradesecadas, aquellas muestras destinadas a la colección base, a la conservación a largo plazo, fueron encapsuladas en tubos de ensayo de vidrio reforzado termosellados a la llama para garantizar su hermeticidad. Cada accesión se repartió en distintos submuestras, de peso y cantidad de semillas conocidos, separando las semillas de las cápsulas de gel de sílice mediante un tampón algodón hidrofóbico. El gel de sílice que sirve como desecante, envasado en cápsulas farmacéuticas porosas también sirve como indicador de la hermeticidad del recipiente (virando de amarillo a verde en caso de absorber humedad). Los tubos de ensayo termosellados a la llama fueron etiquetados, protegiendo la punta (área más frágil del recipiente) con un pequeño tubo de cartón y su parafinado. Se colocaron en las gradillas definitivas informatizando las coordenadas o código que indica la posición de cada uno de los tubos en la cámara de conservación (posición en la gradilla, gradilla y cajón), el cual lleva asociado toda la información acerca de las semillas que contiene (información de recolección, limpieza...). Se realizó la comprobación del correcto termosellado de los tubos en un ambiente saturado de agua, empleando un tubo abierto con dos capsulas de gel de sílice en su interior como control. Y por último se colocaron las gradillas en su correcta posición dentro de la cámara de conservación donde permanecerán las semillas durante un periodo de tiempo indefinido a -18ºC, anotando la fecha de ingreso en el banco propiamente dicho.

En función de la cantidad de semillas recolectadas, siempre que sea posible y como mínimo en especies raras o amenazadas, se enviará un duplicado a otros bancos de germoplasma siguiendo los convenios y protocolos de colaboración y de seguridad existentes, para asegurarse de la conservación de las especies recolectadas en caso de que ocurriera algún perjuicio en la colección del Banco de Germoplasma de Vitoria-Gasteiz, siendo la institución que lo recibe un mero custodio.

4.3. Resultados y discusión

Se recolectaron un total de 159 accesiones de 105 especies distintas, de las cuales 84 aparecen en la lista de priorización obtenida.

Se recolectaron semillas de las 10 especies prioritarias, si se exceptua el caso de la orquídea *Epipactis hispanica,* cuya recolección no se llevó a cabo porque el protocolo de conservación de las micrométricas semillas de las Orquidáceas todavía no ha sido puesto a punto.

Se recolectaron semillas de las 9 especies incluidas en el proyecto que presentan algún grado de amenaza: *Narcissus pseudonarcissus* subsp. *pallidiflorus*, *Narcissus asturiensis*, *Ranunculus auricomus*, *Pentaglottis sempervirens*, *Galium boreale*, *Littorella uniflora*, *Senecio carpetanus*, *Berula erecta*, *Ilex aquifolium*.

Se recolectaron semillas de otros taxones estructurales y característicos de los Robledales isla de la Llanada Alavesa de interés para la conservación como: *Valeriana pyrenaica, Lilium martagon, Alliaria petiolata, Silene dioica, Filipendula ulmaria, Humulus lupulus, Brachypodium sylvaticum, Ulmus minor, Fraxinus excelsior, Rhamnus cathartica,* etc.

Fruto de los trabajos de prospección se redescubrió la población de *Galium boreale* de las Campas de Olarizu (hoy día integradas en el Jardín Botánico de Olarizu) que se daba por desaparecida desde el año 1983, cuando fue herborizada por última vez

según los pliegos consultados del Herbario VIT del Museo de Ciencias Naturales de Álava. Actualmente el Jardín Botánico de Olarizu por medio del Centro de Estudios Ambientales y en colaboración con el Servicio de Parques y Jardines del Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz ha iniciado el cambio de gestión necesario para la restauración ecológica del prado-juncal en el que habita esta población.

Además, también se ha constatado una mayor extensión de la población de *Berula erecta* del río Zalla (Estarrona, Vitoria-Gasteiz) conocida hasta la actualidad.

4.4. Conclusiones

Las 9 especies de plantas amenazadas (BOPV/EHAA, nº 141 ZK., 1998; Uribe-Echebarría, 2006; BOPV/EHAA, nº 37 ZK., 2011) incluidas en el proyecto, junto con otras 96 especies estructurales y características de interés para la conservación de la flora del LIC Robledales Isla de la Llanada Alavesa y sus hábitats asociados, se conservan actualmente en la colección del Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu.

Los trabajos de prospección, seguimiento y vigilancia previos a la recolección llevados a cabo durante el proyecto han supuesto una importante aportación al conocimiento actual de las poblaciones de flora amenazada del municipio de Vitoria-Gasteiz, la provincia de Álava y el País Vasco.

5. Protocolos de germinación de la flora vascular prioritaria de los Robledales isla de la Llanada Alavesa

5.1. Introducción

En tercer lugar, además de su conservación *ex situ* a largo plazo, el Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu ha estudiado el protocolo de germinación de 6 especies, 5 de ellas incluidas en el Catálogo Vasco de Especies Amenzadas (BOPV/EHAA, nº 37 ZK., 2011). Desentrañar el protocolo de germinación de estas especies ha permitido llevar a cabo ensayos de producción y multiplicación de planta, necesarios para poder llevar a cabo ensayos de cultivo y reintroducción en las parcelas experimentales del Jardín Botánico de Olarizu.

Los ensayos de germinación permiten:

1. Elaborar un protocolo de conservación eficaz para cada taxón, ofreciendo la posibilidad de cultivar la planta en un laboratorio o Jardín Botánico y gestionarla eficazmente en bancos de semillas. Se trata de un aspecto de especial interés para la elaboración de planes de reproducción o reforzamiento poblacional, optimizando el aprovechamiento de las semillas disponibles (Gómez Campo, 1985; Herranz *et al.*, 2002).

2. Conocer la capacidad germinativa máxima de un lote guardado en un banco, que servirá para evaluar la metodología de conservación, esto es, conocer la viabilidad de las semillas a lo largo del proceso de conservación y la eficiencia de los métodos utilizados o su adecuación a cada especie en particular.

3. Conocer si las semillas guardadas presentan dormición, de que tipo y como romperla, para saber como proceder a germinarlas cuando sea necesario. En caso de semillas amenazadas y raras es importante hacer estos estudios cuando existen semillas suficientes en el campo y su recolección no supone una amenaza para la población.

4. Conocer mejor la fenología y ecología de una especie, explicar ciertas características de su ciclo reproductivo y su relación con las condiciones ambientales específicas que provocan la germinación.

Así, a partir de los ensayos de germinación, se puede interpretar cual es el periodo y las condiciones más favorables para la germinación y el establecimiento de las plántulas en la naturaleza. Pero a su vez, para poder determinar las condiciones óptimas del ensayo, es imprescindible conocer el hábitat y ecología de la especie, esto es tener un mínimo conocimiento ecológico de la especie, su origen, época de fructificación y maduración, momento de germinación, etc. A partir de esta información se pueden establecer las condiciones de germinación e intuir el tipo de semilla que presenta, es decir, si el almacenamiento implica algún tipo de modificación en la fisiología de las semillas, ya que existen semillas ortodoxas, que no son sensibles a la deshidratación (mayoría de semillas de climas templados), semillas recalcitrantes, que sensibles a la deshidratación, y semillas intermedias. O bien se puede intuir si las

semillas precisan pretratamientos para eliminar posibles dormiciones, así como fijar la frecuencia con la que se deberían de llevar a cabo los recuentos de germinación.

De esta manera el primer paso para elaborar un protocolo de germinación, según lo establecido por los protocolos de actuación usados por los Bancos de Germoplasma, que poco a poco se van estandarizando gracias a las redes asociativas y de cooperación existentes y la participación en proyectos comunes, consiste en la búsqueda bibliográfica, a fin de recopilar el máximo posible de información sobre la especie de estudio, consultando en publicaciones científicas específicas, páginas web de instituciones reconocidas, fórmulas y protocolos de germinación ya experimentados, etc. En el caso de no disponer de información previa, caso muy común en especies raras o amenazadas, se aconseja ensayar los protocolos de especies filogenéticamente próximas (búsquedas a nivel de género y/o familia) o de especies que posean una ecología similar.

El siguiente aspecto a tener en cuenta es valorar el número de semillas de la especie que se quiere estudiar, permitiendo escoger la accesión más adecuada y ajustar el número de réplicas en función de la disponibilidad de semillas. Generalmente, en el Banco de de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu se emplea el siguiente esquema (N: número de semillas):

N < 500 unidades = No se efectúa el ensayo de germinación.
500 < N < 1000 unidades = No se deben emplear más del 10 %.
1000 < N < 5000 unidades = No se deben emplear más del 15%.
N < 5000 unidades = No se deben emplear más del 20%.

Cuando no existe limitación numérica, suelen utilizarse 100 semillas, realizando para cada tratamiento, 4 réplicas de 25 semillas. Esta situación suele ser poco común en plantas raras y amenazadas, con las que generalmente la selección del número de réplicas y de semillas por réplica debe ser atentamente ponderado considerando parámetros como grado de amenaza, disponibilidad de material proveniente de otras poblaciones del mismo taxón y disponibilidad de material de la misma población de años precedentes.

A la hora de establecer un protocolo de germinación, lo ideal es realizar un preensayo empleando un número bajo de semillas. Esto es, realizar un ensayo en condiciones estándar, aparentemente ideales en base a la ecología de la especie, con unas 20-50 semillas y con una duración estándar (30 días). Tras analizar los resultados obtenidos ya se pueden establecer las condiciones del verdadero ensayo de germinación.

Los principales factores ambientales que afectan al proceso de germinación son la humedad (se recomienda agua destilada o comercial de mineralización débil para germinación, el agua debe ser suficiente para la rehidratación de la semilla y en las especies acuáticas o semiacuáticas se requiere la inmersión total), temperatura, luz (fotoperiodo y tipo de luz) y la disponibilidad de oxígeno (uno de los parámetros más difíciles de controlar en el laboratorio requiriendo instrumentos específicos, generalmente muy costosos, no obstante en condiciones normales de laboratorio no parece que este factor resulte crítico). Entre los cuatro factores citados la combinación de luz y temperatura es uno de los tratamientos más estudiados en ensayos de germinación.

Además de estos factores ambientales, las hormonas (etileno, giberilinas, citoquininas, ácido abscísico…) también influyen en la germinación. En general, el etileno (gas, difícil manejo en laboratorio) y las giberilinas (más usado) estimulan la germinación, pero se desaconseja su uso en semillas destinadas a producción de planta ya que pueden inducir mutaciones. Se desaconseja también el empleo de fitosanitarios para evitar infecciones durante la germinación como fungicidas y pesticidas, ya que pueden inducir defectos o retardos sobre el crecimiento, desarrollo y floración.

Una vez establecidas las condiciones de germinación (medio, temperatura, fotoperiodo y posibles pretratamientos) es conveniente fijar el método y frecuencia de los recuentos de germinación en base a la información bibliográfica recopilada previamente y/o a los resultados observados en el preensayo en caso de haber sido posible realizarlo. Una semilla se considera germinada cuando la emergencia de la radícula es visible, es decir cuando el proceso de germinación ha comenzado. En las semillas sometidas a condiciones de luz, se debe fijar la frecuencia de los recuentos en base a la velocidad de germinación que presenta o se intuye que presente la especie. Mientras que en las semillas sometidas a condiciones de oscuridad, se debe además establecer el método con el se llevaran a cabo dichos recuentos.

El comportamiento de la germinación de las distintas especies es diferente en función de la luz, reaccionan de distinta manera. De esta forma, existen semillas con fotosensibilidad positiva, la luz favorece o promueve su germinación (la mayoría de los taxones), semillas con fotosensibilidad negativa, la luz inhibe su germinación, y semillas a las que les resulta indiferente la exposición o no a la luz. De esta forma, los recuentos de oscuridad se deberían realizar si es posible empleando un dispositivo de luz verde que no influya en dichas condiciones alterando el comportamiento de la germinación, especialmente en especies en las que se intuya que presenten fotosensibilidad negativa. En caso de no ser posible se deben limitar al máximo el número de recuentos, con el inconveniente de no poder calcular ciertos parámetros de germinación ni llevar a cabo análisis estadísticos de los resultados debido a la escasez de datos.

Otro aspecto interesante, es que a la hora de anotar la semillas germinadas en los recuentos, es siempre conveniente anotar también el número de semillas vanas, si es posible, semillas muertas por hongos u otras causas y semillas no germinadas con aspecto aparentemente sano.

Una vez finalizado el ensayo se realiza el análisis de resultados (cálculo de porcentajes de germinación y diversos parámetros, así como los análisis estadísticos pertinentes). Si los valores de germinación obtenidos son altos, se debe elaborar el protocolo de germinación de dicha especie. Mientras que si se obtienen valores de germinación bajos (inferior al 50%), se debe comprobar si la causa es la baja vialidad del lote de semillas estudiado o diversas tipologías de dormición.

Para reconocer si se debe a una baja viabilidad del lote, ya que los procesos de congelación, deshidratado, tiempo transcurrido desde la recolección, etc. pueden influir sobre la viabilidad de las semillas, existen diversos métodos como el de la conductividad, prueba de la catalasa, prueba de corte, etc. En caso de que ésta sea la causa, se debería considerar otra recolección para incrementar el número de semillas

viables. Es importante medir siempre la viabilidad de las semillas, preferiblemente antes del ensayo, si la cantidad de semillas de la accesión lo permite o empleando métodos no destructivos como el de conductividad, para así comparar e interpretar correctamente los porcentajes de germinación obtenidos.

Para ver si la causa es algún tipo de dormición, se puede proceder a examinar la estructura de la semilla (verificar que estén bien formadas y sin agentes patógenos), germinación de los embriones desnudos, verificar presencia de compuestos fenólicos u otras sustancias inhibidoras de la germinación como resinas o aceites en los tegumentos de la semilla, verificar la presencia de permeabilidad del agua, etc. En caso de que ésta sea la causa de la baja germinación, se debe investigar el tipo de letargo para determinar los pretratamientos necesarios para romperla y redefinir las condiciones o tratamientos del ensayo para mejorar los resultados. Si al llevar a cabo este nuevo ensayo se obtienen porcentajes de germinación elevados, se procede a elaborar el protocolo final de germinación.

En caso de que se obtengan resultados bajos por contaminación fúngica, sería necesario repetir la prueba previo tratamiento antimicótico. Sumergir las semillas en una solución de hipoclorito de sodio 1-2% durante 5-10 minutos antes del inicio del ensayo

Para concluir, es aconsejable realizar la validación del ensayo de germinación, siempre que el número de semillas lo permita, para comprobar si los resultados del ensayo de germinación son los previstos, según lo observado con anterioridad.

5.2. Material y métodos

Durante el "Programa de conservación y reintroducción de la flora amenazada y característica de los Robledales isla de la Llanada Alavesa (LIC ES2110013)", llevado a cabo por el Jardín Botánico de Olárizu durante el periodo 2011-2012, se han realizado ensayos de germinación para seis especies características de los Robledales isla de la Llanada Alavesa, cinco de las cuales, a excepción de *Merendera montana*, están incluidas en el Catálogo Vasco de Especies Amenazadas (BOPV/EHAA, nº 37 ZK., 2011): *Narcissus bulbocodium* subsp. *citrinus*, *Narcissus pseudonarcissus* subsp. *pallidiflorus*, *Merendera montana*, *Berula erecta*, *Galium boreale* y *Senecio carpetanus*.

5.2.1. Información bibliográfica previa

Una vez escogidas las especies de estudio, se realizó una búsqueda bibliográfica para cada una de ellas. Recopilando el máximo de información a cerca del proceso germinativo, como se detalla a continuación, así como de sus caracteres taxonómicos, distribución, ecología, fenología, grado de amenaza y riesgos que presentan sus poblaciones (ver fichas de germinación, pág.28).

Existen pocos estudios sobre la ecología y fisiología de germinación de las distintas especies del género *Narcissus*, presentando todas ellas un comportamiento muy similar. Según las distintas fuentes bibliográficas consultadas, presentan una velocidad de germinación muy baja (valores de T_{50} elevados) y requieren oscuridad (fotosensibilidad negativa) y bajas temperaturas (10ºC) para germinar. Obteniendo siempre mejores resultado al someter las semillas a un pretratamiento de temperatura

cálida, 15-20ºC (Copete *et. al.*, 2011; Bachetta *et. al.*, 2008; Vanderlook & Van Assche, 2008; Thompson, 1977).

En un estudio realizado con *Narcissus hispanicus*, perteneciente al *gr. pseudonarcissus,* se demuestra que presenta distintos tipos de dormición, secundaria y morfofisiológica profunda (MPD) del epicotiledón (Copete *et. al.*, 2011). Aunque como ocurre en otros casos, no todas las especies del mismo género presentan los mismos niveles de dormición, ya que en otro estudio realizado para *Narcissus pseudonarcissus* (Vanderlook & Van Assshe, 2008) los resultados apuntan a ausencia de la MPD del epicotiledón. De manera que existe la posibilidad y no la certeza, de que tanto *Narcissus bulbocodium* subsp. *citrinus*, como *Narcissus pseudonarcissus* subsp. *pallidiflorus* presenten algún tipo de dormición.

En el caso de *Merendera montana,* no se encontró información alguna a cerca de su proceso germinativo, de forma que la búsqueda bibliográfica se realizó sobre diversas especies del género *Colchicum* cercano al de *Merendera*. Según los artículos científicos encontrados, se observó que las distintas especies del género *Colchicum* estudiadas presentan, en general, una baja tasa y velocidad de germinación, así como fenómenos de dormición. Obteniendo siempre los mejores resultados en oscuridad (Dafni *et. al*., 1978; Peco *et. al*, 2003; Antonidaki-Giatromanolaki *et. al*, 2008; Morteza *et. al*, 2011). La especie *Colchicum macrophyllum*, por ejemplo, puede incluso tardar hasta más de un año en germinar. Esta especie presenta dormición morfofisiológica y tras probar distintos métodos para su ruptura, los mayores porcentajes de germinación media (70%) se obtuvieron añadiendo unas gotas de GA_3 tras un periodo de estratificación cálida, 8 semanas 25±5ºC (Morteza *et. al*, 2011).

La viabilidad de las semillas de *Berula erecta* no disminuye tras un año de almacenamiento hermético seco a bajas temperaturas, obteniéndose un 100% de germinación al someterlas a un fotoperiodo, horas de luz/oscuridad, de 8/16 y una alternancia de temperatura día/noche de 25/10ºC, empleando como medio de germinación placas de Petri con agar 1% (Seed Data Base, 2011). La especie *Apium graveolens*, que pertenece a la misma familia y cohabita con *B. erecta* en el río donde fue recolectada, presenta en general porcentajes de germinación elevados, tanto a distintos fotoperiodos, como a distintas temperaturas. Obteniéndose los mayores porcentajes, 100 % de germinación media, con un fotoperiodo de 8/16 y una temperatura de 10-15ºC, en agar 1% (Seed Data Base, 2011). Datos que coinciden con la información obtenida en diversos artículos científicos donde se verifica la necesidad de luz para germinar y un retardo germinativo de unos seis días (Thonpsom, 1974; Pérez-García *et. al*, 1973; Jacobsen *et. al*, 1979; Thomas & J. Van Staden, 1995).

Frente a la ausencia de información sobre el proceso germinativo de *Galium boreale* y *Senecio carpetanus,* se realizó una búsqueda de información para especies del mismo género con necesidades ecológicas similares (*Galium debile, G .palustre, G. uliginosum, G. papillosum, .G mollugo,* etc. *Senecio doria, S. nemorensis* y *S. aquaticus,* respectivamente).

Como datos de interés, *G. uliginosum* muestra un 75% de germinación media a 25/10ºC y fotoperiodo de 8/16, previa escarificación. Mientras que en *G. mollugo* obtuvieron un 86 % de germinación media en agar 1%, con nitrato potásico a 16ºC y

fotoperiodo 12/12 y un 95% en agar 1% a 16ºC y fotoperiodo de 12/12 (Seed Data Base, 2011).

La mayoría de especies del género *Senecio* estudiadas germinan a todas las temperaturas (10-25ºC), prácticamente siempre con porcentajes superiores al 80%, obteniendo principalmente los mejores resultados a 15-20ºC. Por ejemplo, con *S. aquaticus* se alcanzó un 98% de germinación media en agar 1% a 26ºC y fotoperiodo de 12/12 (Seed Data Base, 2011). En un estudio realizado con *Senecio pyrenaicus subsp. carpetanus*, se obtuvo un porcentaje de germinación media menor del 60%, pretratando las semillas con una estratificación húmeda fría, proceso que no resultó ser beneficioso ya que prefieren temperaturas cálidas para germinar (Giménez-Benavides *et. al*, 2003).

5.2.2. Recolección, manejo y conservación de semillas

La recolección de las accesiones empleadas para los ensayos de germinación, se realizaron, como es de esperar, en distintas épocas en función de la fenología de cada una de las especies. En el caso de *Narcissus bulbocodium* subsp. *citrinus* (accesión 006/2011), *Narcissus pseudonarcissus* subsp. *pallidiflorus* (accesión 007/2011) *y Merendera montana* (accesiones 014/2011 y 016/2011) se llevaron a cabo a lo largo del mes de mayo. Durante el mes de septiembre se recolectaron las accesiones de *Berula erecta* (accesión 125/2011), *Galium boreale* (accesión 131/2011) y *Senecio carpetanus* (accesión 124/2011). Y finalmente en octubre las de *Berula erecta* (accesión 144/2011) y *Senecio carpetanus* (accesión 143/2011).

Al igual que para el resto de accesiones que forman parte de la colección del Banco de Germoplasma Vegetal del Jardín Botánico de Olarizu, se recolectaron de forma manual únicamente aquellas semillas y/o frutos de aspecto maduro, depositándolos en bolsas de papel. Evitando recolectar más del 20% de las semillas disponibles el mismo día de trabajo, asegurando así que la población no se dañe por una recolección excesiva y permitiendo la diseminación natural de la especie. Y procurando siempre tomar un pliego testigo para verificar posteriormente la identificación realizada *in situ* de las especies recolectadas. En el caso concreto de *Berula erecta*, planta acuática recolectada a lo lago de las orillas y zonas más o menos emergidas del río Zalla, fue necesario el uso de bateadores.

La información generada durante este proceso fue registrada en fichas de recolección (número de accesión, fecha, taxón, recolectores, datos de localidad, número de individuos recolectados, número de individuos presentes, estructura de la población, estadío fenológico prevalente, etc.). Resultando de interés a la hora de realizar y elaborar las conclusiones de los ensayos de germinación (ver fichas de germinación, pág.28).

Una vez en el laboratorio, el material vegetal recolectado se depositó en bandejas de plástico sobre papel de filtro, lo más extendido posible para facilitar su secado y siempre acompañado de su correspondiente etiqueta, indicando el número de accesión. Tras un periodo de cuarentena de 15-30 días en el armario de post-maduración (por debajo de 20ºC y HR inferior a 40%), se procedía a la limpieza de las muestras, empleando distintos métodos y aparatos en función del tipo de semilla, tipo de fruto, cantidad de residuos, etc. Así por ejemplo, en el caso de *Narcissus bulbocodium* subsp. *citrinus, Narcissus pseudonarcissus* subsp. *pallidiflorus y Merendera montana*, se

extrajeron las semillas de las cápsulas de forma manual empleando pinzas y se tamizaron para eliminar los pequeños residuos de la muestra. Mientras que en *Berula erecta, Galium boreale y Senecio carpetanus* las semillas se limpiaron de forma manual, quitando los grandes restos, y de forma mecánica (tamizadota, soplador y lija). En el caso concreto de *Senecio carpetanus* debido al pequeño tamaño de las semillas se dejaron con vilano.

Una vez limpias las semillas, se mantuvieron en las mismas condiciones en el interior del armario de post-maduración (por debajo de 20ºC y HR inferior a 40%) hasta el mismo día del ensayo de germinación. Durante este periodo, antes de iniciar los ensayos de germinación se realizó la descripción de las semillas, analizando caracteres como la talla, número de cotiledones, contorno, sección, color, estructuras exteriores, categoría de conservación, etc. (ver fichas de germinación, pág 28).

5.2.3. Condiciones de germinación

En todos los casos los ensayos de germinación se realizaron con semillas frescas, tras un periodo variable de cuarentena y maduración como se ha descrito anteriormente. Los ensayos con *Narcissus bulbocodium* subsp. *citrinus, Narcissus pseudonarcissus* subsp. *pallidiflorus* y *Merendera montana*, se iniciaron el 12 de julio del 2011 mientras que los ensayos de *Berula erecta, Galium boreale y Senecio carpetanus*, se iniciaron el 21 de noviembre del mismo año.

En primer lugar se valoró el número de semillas de cada accesión que podían ser empleadas en los ensayos de germinación, con el fin de ajustar el número de réplicas y de semillas por réplica. A excepción de la accesión de *Galium boreale* (131/2011), la cantidad de semillas del resto de accesiones no fue un factor limitante.

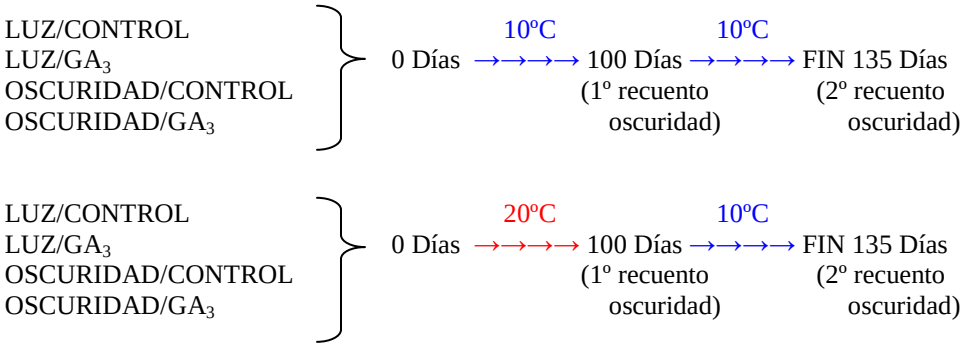
Tras la búsqueda bibliográfica realizada sobre la germinación de *Narcissus bulbocodium* subsp. *citrinus*, *Narcissus pseudonarcissus* subsp. *pallidiflorus* y *Merendera montana*, se definieron 8 tratamientos, siendo éstos una combinación factorial de distintas condiciones: dos temperaturas, 10 y 20 ºC; dos fotoperiodos, luz (8/16) y oscuridad; aplicación y no aplicación de ácido giberélico o GA_3 (control). Se realizaron 4 réplicas de 25 semillas de cada tratamiento (800 semillas en total). Cada réplica consistió en una placa de Petri con agar 0.6 % como medio de germinación sellada con parafilm, donde se colocaron de forma ordenada las semillas. Las placas de oscuridad se taparon con dos capas de papel de aluminio y las semillas con GA_3 se pusieron en una dilución de 1000 ppm durante las 24 horas previas al ensayo. Por último, se estableció realizar un cambio de temperatura transcurridos 100 días, las placas de la cámara de 20ºC se pasaron a la de 10ºC, pudiéndose considerar este primer periodo como un pretratamiento de estratificación cálida, mientras que las de la cámara de 10ºC se mantuvieron en las mismas condiciones experimentales. (Figura 2).

En un primer momento se comenzaron a realizar recuentos diarios de las placas tratadas con luz, anotando el número de semillas germinadas. Al observar la baja velocidad de germinación de las semillas, transcurridos 61 días, se comenzaron a realizar recuentos semanales. El primer recuento de las placas de oscuridad se realizó el día de cambio de temperaturas, transcurridos 100 días, puesto que en ese momento no se disponía de ningún dispositivo de luz verde que permitiese realizar recuentos más frecuentes sin alterar el fotoperiodo. El último recuento se realizo al concluir el ensayo,

tras 135 días. Las semillas germinadas en cada recuento se repicaban el mismo día a bandejas forestales con sustrato profesional orgánico de turba herbácea con enmienda orgánica (Lorelurra 60 l), manteniéndolas bajo las mismas condiciones experimentales.

Teniendo en cuenta la velocidad de germinación observada, la presencia y proliferación de hongos en las placas (sobre todo a 20ºC), se dio por concluido el ensayo transcurridos 135 días. En el caso de *Merendera montana* (014/2011 y 016/2011), considerando la baja velocidad de germinación observada durante todo el ensayo, comparada con las especies de narcisos y teniendo en cuenta el buen estado de las semillas y ausencia de infecciones fúngicas y bacterianas en las placas, se decidió mantenerlas 53 días más en las cámaras de germinación para observar su comportamiento (Figura 2).

Figura 2: Esquema del ensayo:



Tratándose de taxones amenazados, las semillas no germinadas y sin tratar con GA_3, fueron repicadas a bandejas forestales destinadas a los ensayos de producción y cultivo, empleando el mismo sustrato y manteniéndolas en las condiciones aparentemente más adecuadas para la especie, con el fin de obtener mayor cantidad de planta posible y no desecharlas.

En el caso de *Berula erecta* (125/2011 y 144/2011) *y Senecio carpetanus* (124/2011 y 143/2011), se definieron también 8 tratamientos, siendo en este caso una combinación factorial de distintas temperaturas (10, 15, 20 y 25ºC) y dos fotoperiodos (8/16 y oscuridad), presentando cada uno de ellos 4 réplicas de 25 semillas, esto es, un total de 800 semillas de cada accesión. Para *Galium boreale*, tras el estudio de la información bibliográfica recopilada, el método escogido para la ruptura de la posible dormición física de la especie, fue la escarificación mediante una pulidora de semillas durante 30 minutos. Se realizaron en este caso un total de 16 tratamientos, resultantes de la combinación factorial de distintas temperaturas (10, 15, 20 y 25ºC), dos fotoperiodos (8/16 h y oscuridad) y aplicación o no del pretratamiento (escarificación). Considerando que en este caso que el número de semillas si era limitante (no se podían emplear más del 15% para ensayos de germinación), se decidió que cada réplica constaría únicamente de 10 semillas, empleando así un total de 640 semillas, 320 escarificadas y 320 sin escarificar (control).

Al igual que para los ensayo anteriores, el medio de germinación usado para estas tres especies consistió en placas de Petri con agar 0.6 % sellada con parafilm y las placas de oscuridad fueron tapadas con dos capas de papel de aluminio, asegurando una

oscuridad total. En los casos de *Berula erecta* y *Galium boreale*, que presentan pequeños frutos divididos en dos mitades, cada una las semillas fueron previamente separadas en el laboratorio con una lanceta. En el caso de *Senecio carpetanus*, se realizó la extracción del vilano de forma manual.

Los recuentos de las placas tratadas con luz se realizaron de forma semanal, anotando el número de semillas germinadas. Mientras que se realizaron dos recuentos de oscuridad, uno a los 24 días y otro al concluir el ensayo, tras 65 días. Las semillas germinadas en cada recuento fueron repicadas el mismo día a bandejas forestales con sustrato profesional orgánico de turba herbácea con enmienda orgánica (Lorelurra 60 l), manteniéndolas también en las mismas condiciones experimentales.

5.2.4. Análisis de datos

A partir de las observaciones efectuadas durante los ensayos de germinación, recuento de número de semillas germinadas por placa a lo largo del tiempo, se calcularon ciertos parámetros y se elaboraron diversas gráficas, que permiten caracterizar los resultados obtenidos para los distintos tratamientos.

Los parámetros calculados fueron:

-Porcentaje de Germinación (%), media de los porcentajes de germinación finales de todas las réplicas sometidas a las mismas condiciones;

-Retardo Germinativo o T_0 (días), tiempo necesario para observar la primera semilla germinada

-Velocidad de germinación o T_{50} (días), que corresponde al tiempo necesario para obtener el 50% de la capacidad germinativa del lote y calculado a partir de la fórmula de Coolbear & al. (1980), ligeramente modificada según la definición ofrecida por Thanos & Doussi (1995):

$$T_{50}= [((N/2 –N_1)(T_2-T_1))/ (N_2-N_1)] + T_1$$

N= porcentaje final de semillas germinadas.
N_1= porcentaje de semillas germinadas un poco antes de N/2.
N_2= porcentaje de semillas germinadas un después antes de N/2.
T_1= número de días que corresponden N_1.
T_2= número de días que corresponden N_2.
T_{50}= número de días que corresponden N/2.

5.3. Resultados y discusión: fichas de las especies.

5.3.1. *Narcissus bulbocodium* L. subsp. *citrinus* (Baker) Fern. Casas

Familia: *Liliaceae* (incl. *Amaryllidaceae*)
Sinónimos: *Corbularia gallica* Rouy
Nombre vulgar: Narciso de trompetillas, lilipa.

Descripción:

Como todas las especies del género *Narcissus* es una hierba vivaz, con un pequeño bulbo subterráneo. Las hojas suelen ser dos o más rara vez tres, de forma linear y menos de 2 mm de anchura. El escapo es aproximadamente igual de largo que las hojas, y está rematado por una flor solitaria, protegida por una bráctea membranosa. La flor es de color amarillo muy pálido. En su base tiene un tubo en forma de cono invertido que se prolonga en una corona, entera o débilmente ondulada en su borde. Los tépalos son seis, y tienen forma linear. Los seis estambres tienen sus filamentos arqueados y de longitud desigual. El ovario es ínfero y al madurar entre abril y junio da lugar a una cápsula periforme verdosa, con sección transversal casi redondeada. Las semillas, muy numerosas y pequeñas, son negras y regordetas.

Hábitat:

Se desarrolla en pastos montanos, turberitas, repisas, prado-juncales y brezales con manifiesta humedad edáfica, al menos temporal, y rara vez aparece en crestones.

Distribución:

Es una planta de distribución Atlántica, endémica del Golfo de Bizkaia, con un areal mundial muy reducido, que se extiende desde Asturias hasta el País Vasco, con una singular penetración hacia los páramos de Burgos. En la CAPV se distribuye en buena parte de su superficie, alcanzando los 1300 m de altitud, encontrándose desde la costa hasta la Sierra de Cantabria, en contacto ya con el mundo mediterráneo. Por tanto, en el País Vasco establece uno de sus límites meridionales.

En el municipio vitoriano es una especie muy rara, únicamente se conocen dos poblaciones, una en las Campas de la Dehesa de Olárizu (con unos 5.000 individuos) y otra en Mendoza (con menos de 100 individuos). No se descarta la existencia de otros pequeños núcleos en lugares herbosos y húmedos del municipio.

Grado de amenaza:

-Catálogo Vasco de Especies Amenazadas 1998: De interés especial.
-Lista Roja 2010: No amenazada, con menor riesgo de extinción (LC).
-Catálogo Vasco de Especies Amenazadas 2011: De interés especial.

No parecen existir riesgos para el conjunto de la población, si bien algunas de las depresiones inundables de los valles donde habita pueden verse totalmente destruidas por el drenaje y remociones con maquinaria pesada. El cambio de uso del

suelo a cultivos forestales y el abonado de los pastos, influye negativamente en su conservación. Habría que evitar las remociones y obras públicas en los humedales más significativos donde vive la especie. Las recolecciones que los paseantes hacen de sus vistosas flores, no suponen un trastorno grave para las poblaciones, aunque a medio plazo pueden debilitarlas, al impedir los intercambios genéticos. La Directiva Hábitat/00 y el Real Decreto/95 la incluyen en el Anexo V, entre las especies de Interés Comunitario cuya recogida y explotación pueden ser objeto de medidas de gestión.

Fenología:

El bulbo acumula sustancias de reserva que permiten a la planta resistir dormida durante otoño e invierno, y brotar antes del comienzo de la primavera o en las primeras semanas de ésta. Fructifica entre abril y junio. Las semillas comienzan a dispersarse a finales de mayo, el embrión crece durante el otoño y la radícula emerge a principios de noviembre.

Floración	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructificación	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

Descripción de semillas:

Talla (mm x mm)	2,5 x 1,5
Número cotiledones	Monocotiledónea
Contorno	Forma de D
Sección	Circular (1:1)
Color	Negro
Estructuras exteriores	Ninguna
Ornamentación	Ninguna
Tipo semilla	Endospérmica
Tipo embrión	No determinado
Categoría conservación	Desconocida

Datos de la accesión:

-Nº accesión: 006/2011
-Fecha recolección: 10/05/2011
-Lugar de recolección: Campas de Olárizu (Vitoria-Gasteiz).
-UTM: 30TWN2841
-Estado fitosanitario de semillas: Ausencia de vestigios de hongos o patógenos.
-Días transcurridos desde recolección hasta ensayo: 63
-Estado de la semilla previo al ensayo: Fresco.
-Cantidad de semillas de la accesión: 65.214

Resultados y discusión:

Los resultados muestran una clara diferencia en la germinación de las semillas en función del fotoperiodo. Mientras en condiciones de luz el porcentaje de germinación final no supera el 40% en ninguno de los casos, en oscuridad se han obtenido porcentajes muy elevados, entorno al 90% (Gráfica 1). Aunque no es posible comparar el comportamiento de las semillas a lo largo del tiempo en ambos fotoperiodos, debido a

la imposibilidad de calcular los distintos parámetros en condiciones de oscuridad (Tablas 3, 4, 5 y 6), parece que en ausencia de luz los porcentajes de germinación aparecen ya estabilizados entorno a los 100 días, como se aprecia en la gráfica 3.

Otra marcada diferencia se observa en relación a la temperatura. El porcentaje final de germinación para todos los tratamientos sometidos a una temperatura de 20ºC ha sido nulo, tal y como se observa en la tabla 4 y gráfica 1. Mientras no parecen existir grandes diferencias entre las distintas situaciones a 10ºC ensayadas, 100 días, 135 días o 35 días a 10ºC tras un periodo a 20ºC (Tablas 3, 5 y 6). Siendo estas diferencias todavía menores en condiciones de oscuridad, donde los porcentajes alcanzados son prácticamente iguales (Gráfica 1).

De forma que para esta especie el pretratamiento a 20ºC no parece haber aumentado el porcentaje de germinación final (Tabla 6), aunque si disminuye el retardo germinativo y afecta a la velocidad del proceso o T_{50} aumentándola considerablemente (valores T_{50} menores), al menos en condiciones de luz, ya que desconocemos los valores de estos parámetros en oscuridad. Efecto que se observa claramente tanto en luz como en oscuridad (Gráficas 2 y 3), donde la pendiente de ambas es mucho más elevada para los ensayos sometidos a un pretratamiento a 20ºC. En tan sólo 35 días a 10ºC, se han alcanzado porcentajes similares a los obtenidos en 100 días a la misma temperatura.

Por último, el empleo de GA_3 tampoco parece aumentar el porcentaje de germinación y al contrario que ocurre con el pretratamiento a 20ºC, disminuye la velocidad del proceso (aumenta T_{50}), siendo esta una diferencia muy baja, prácticamente despreciable.

Tabla 3: 100 días a 10ºC.

Tratamiento	Germinación (%)	Duración ensayo (días)	T_{50} (días)	Última germinación (días)	T_0 (días)
CONT. LUZ	18±2,6	100	35	97	63
GA3 LUZ	22±2,6	97	33	94	80
CONT.OSC.	90±2,6	98	-	-	-
GA3 OSC.	92±2,8	97	-	-	-

Tabla 4: 100 días a 20ºC.

Tratamiento	Porcentaje germinación	Duración ensayo (días)	T_{50} (días)	Última germinación (días)	T_0 (días)
CONT. LUZ	0	100	0	0	0
GA3 LUZ	0	97	0	0	0
CONT. OSC.	0	98	0	0	0
GA3 OSC.	0	97	0	0	0

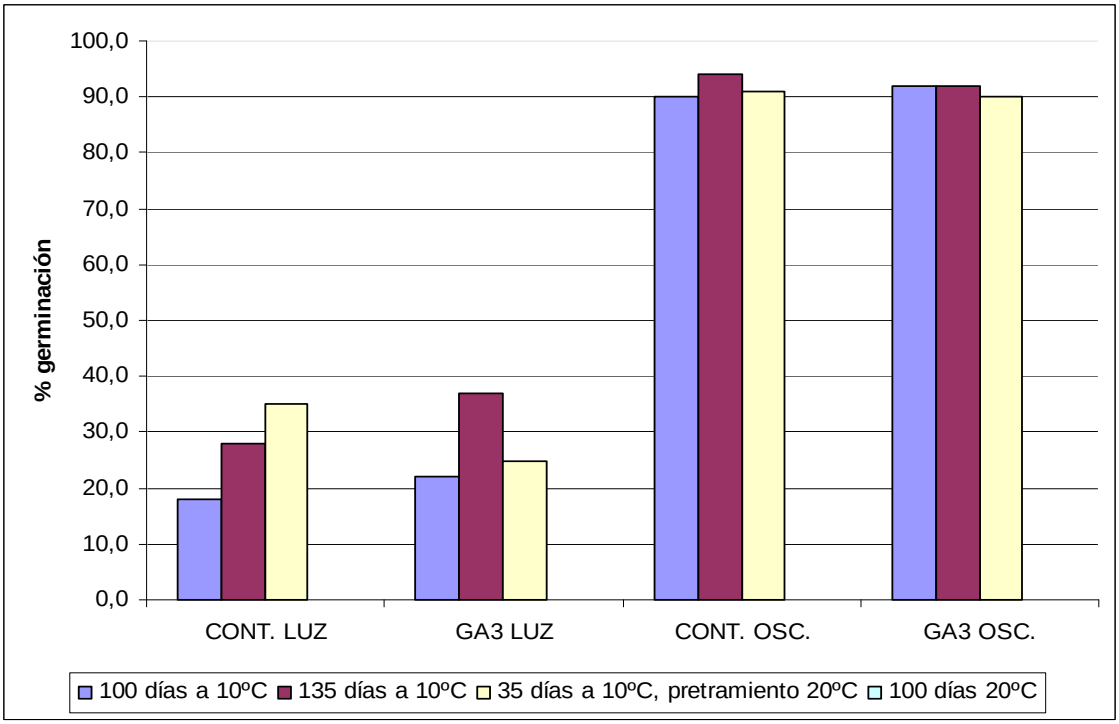
Tabla 5: 135 días a 10ºC.

Tratamiento	Porcentaje germinación	Duración ensayo (días)	T_{50} (días)	Última germinación (días)	T_0 (días)
CONT. LUZ	28±2,3	135	36	125	83
GA3 LUZ	37±5	132	32	132	89,5
CONT. OSC.	94±1,2	133	-	-	-
GA3 OSC.	92±2,8	132	-	-	-

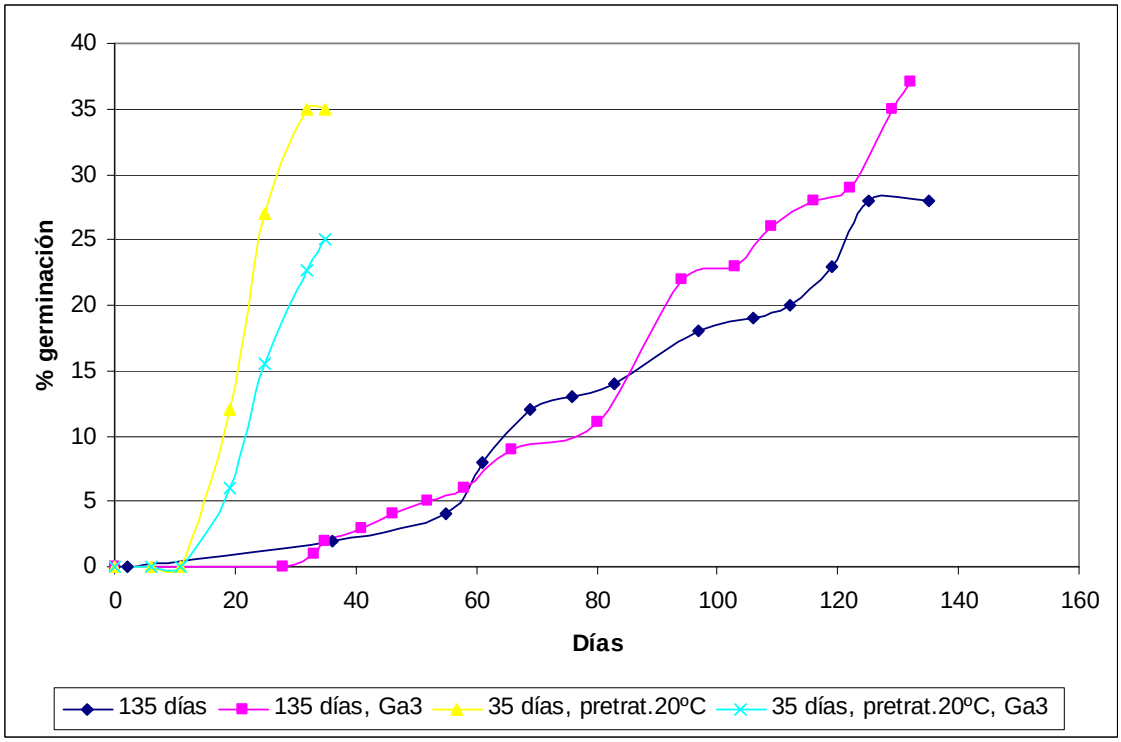
Tabla 6: 35 días 10ºC, pretramiento 20ºC.

Tratamiento	Porcentaje germinación	Duración ensayo (días)	T_{50} (días)	Última germiandión (días)	T_0 (días)
CONT. LUZ	35±3	35	19	32	21,2
GA3 LUZ	25±7,4	35	19	35	23,3
CONT. OSC.	91±3	35	-	-	-
GA3 OSC.	90±2,6	35	-	-	-

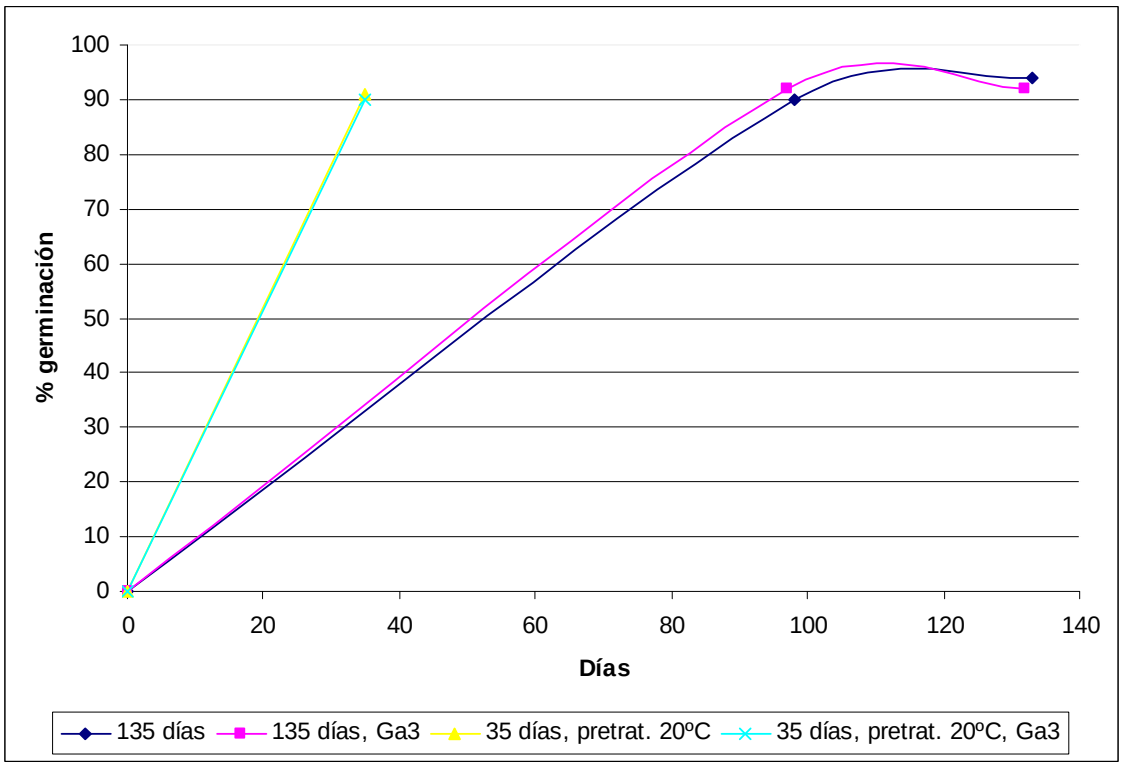
Gráfica 1: Porcentajes de germinación final de *Narcissus bulbocodium.*



Gráfica 2: Curvas de germinación de *Narcissus bulbocodium* a 10ºC y fotoperiodo (8/16).



Gráfica 3: Curva de germinación de *Narcissus bulbocodium* a 10ºC en condiciones de oscuridad.



5.3.2. *Narcissus pseudonarcissus* L. subsp. *pallidiflorus* (Pugsley) A. Fernández

Familia: *Liliaceae* (incl. *Amarylidaceae*)
Sinónimos: *Narcissus pallidiflorus* Pugsley
Nombre vulgar: Narciso trompón, narciso de los prados, lilipa arrunta.

Descripción:

Hierba vivaz con un pequeño bulbo subterráneo. Su estructura es similar a la de *Narcissus asturiensis*, aunque todos sus órganos son del orden de dos a tres veces más grandes que en este. El bulbo subterráneo es casi redondo y mide menos 2 cm de longitud. El escapo mide entre uno y dos palmos, es hueco y aplanado, con dos quillas salientes en sus ángulos. Las flores son muy grandes, de 4,5 hasta unos 7 cm de longitud, con el tubo, corona y tépalos del mismo color, blanco cremoso. Las hojas, tan largas como el escapo, nacen de cada bulbo en número de dos a cuatro, son tiesas, estrechas y con quillas salientes en su cara inferior. El fruto es una cápsula en forma de pera, de sección transversal más o menos circular. Las semillas son muy numerosas, regordetas y negras.

Hábitat:

Aparecen en prados húmedos, humedales turbosos, orillas de cursos de agua y brezales, en zonas de influencia atlántica entre los 0-1300 m.

Distribución:

Narcissus pseudonarcissus subsp. *pallidiflorus* es un endemismo de la zona atlántica europea, que vive desde Asturias hasta Bretaña y alcanza sus localidades más meridionales en la Llanada Alavesa. Tiene algunas pequeñas poblaciones en el municipio de Vitoria-Gasteiz.

Grado de amenaza:

-Catálogo Vasco de Especies Amenazadas 1998: De interés especial.
-Lista Roja 2010: Casi amenazada (NT).
-Catálogo Vasco de Especies Amenazadas 2011: Rara.

Los tres taxones del grupo *pseudonarcissus* al que pertenece esta especie, están presentes en la CAPV. Tanto si se les considera microespecies, subespecies o variedades, les asignaron el mismo grado NT con criterios UICN. Por el número de localidades (poblaciones y subpoblaciones) y de individuos, no cumplen los criterios para entrar en la categoría de VU, pero tampoco cabe considerar a los tres taxones, uno por uno o como grupo, como plantas “abundantes y de amplia distribución”, por lo que fueron catalogados como LC.

Algunas poblaciones de sitios poco frecuentados son nutridas, incluso realmente espectaculares, pero en general las poblaciones de este grupo de narcisos son pequeñas y aisladas unas de otras. Las vistosas y grandes flores suelen ser cortadas por montañeros y paseantes, con fines ornamentales. Aunque no se suelen arrancar los

bulbos, con esta práctica se daña a las poblaciones, al impedir que la planta complete su ciclo con normalidad. En algunas localidades alavesas donde la planta abunda y tiene el nombre popular de "jarras", los lugareños recogen los bulbos para su cultivo como planta ornamental en los jardines.

Fenología:

Las flores se abren en primavera desde marzo hasta mayo. Tras la maduración de los frutos, mayo-junio, se secan todos los órganos aéreos, y a mediados del verano ya no puede verse ni rastro de estas plantas, cuyos bulbos reposan en la tierra durante el otoño e invierno para brotar de nuevo al inicio de la primavera. Las semillas comienzan a dispersarse a finales de mayo tras la apertura capsular, el embrión crece durante el otoño hasta que la radícula emerge a principios de noviembre (germinación).

Floración	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructificación	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

Descripción de semillas:

Talla (mm x mm)	3 x 2,5
Número cotiledones	Monocotiledónea
Contorno	Ovalado-circular
Sección	Circular (1:1)
Color	Negro
Estructuras exteriores	Ninguna
Ornamentación	Ninguna
Tipo semillas	Endospérmica
Tipo embrión	Linear
Categoría conservación	Desconocida

Datos accesión:

-Nº accesión: 007/2011
-Fecha recolección: 11/05/2011
-Lugar de recolección: Robledal de Amarita, Vitoria-Gasteiz.
-UTM: 30TWN3050
-Estado fitosanitario de semillas: Ausencia de vestigios de hongos o patógenos.
-Días transcurridos desde recolección hasta ensayo: 62
-Estado de la semilla previo al ensayo: Fresco.
-Cantidad de semillas de la accesión: 15.019

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos muestran una marcada fotosensibilidad negativa para la germinación de esta especie. Mientras que el porcentaje de germinación en condiciones de luz de los distintos tratamientos es nulo o despreciable (semillas sometidas a pretratamiento de estratificación cálida), en condiciones de oscuridad el porcentaje varía desde 16% hasta 86% en función de los distintos tratamientos aplicados (Gráfica 4).

En relación a la temperatura y duración del ensayo, no se han producido germinaciones en ninguno de los tratamientos sometidos a 20ºC, porcentaje de germinación de 0% en todos los casos (Tabla 8 y Gráfica 4). Los valores obtenidos en el ensayo a 10ºC durante 100 y 135 días en condiciones de oscuridad tanto para las placas con GA_3 como para el control, son idénticos (Tablas 7 y 9).

Los mayores porcentajes de germinación para esta especie se obtienen en las placas sometidas a un pretratamiento de estratificación cálida (20ºC) en condiciones de oscuridad, 82% en placas sin GA_3 y 86% en placas con GA_3 (Tabla 10, Gráficas 4 y 5). En tan sólo 35 días a 10ºC, se han alcanzado porcentajes considerablemente superiores a los obtenidos en 100 días a la misma temperatura, como muestra la pendiente de la gráfica 5.

Por último, el empleo de GA_3 proporciona resultados muy dispares en función de los distintos tratamientos. Mientras provoca un ligero aumento en el porcentaje de germinación en las placas sometidas a estratificación cálida (de 82% a 86%), los valores disminuyen drásticamente (de 72% a 16%) para los ensayos a 10ºC durante 100 y 135 días en oscuridad (Gráfica 4).

Tabla 7: 100 días 10ºC.

Tratamiento	Porcentaje germinación	Duración ensayo (días)	T_{50} (días)	Última germinación (días)	T_0 (días)
CONT. LUZ	0	100	0	0	0
GA3 LUZ	0	97	0	0	0
CONT. OSC.	72±6,7	98	-	-	-
GA3 OSC.	16±4,3	97	-	-	-

Tabla 8: 100 días 20ºC.

Tratamiento	Porcentaje germinación	Duración ensayo (días)	T_{50} (días)	Última germinación (días)	T_0 (días)
CONT. LUZ	0	100	0	0	0
GA3 LUZ	0	97	0	0	0
CONT. OSC.	0	98	0	0	0
GA3 OSC.	0	97	0	0	0

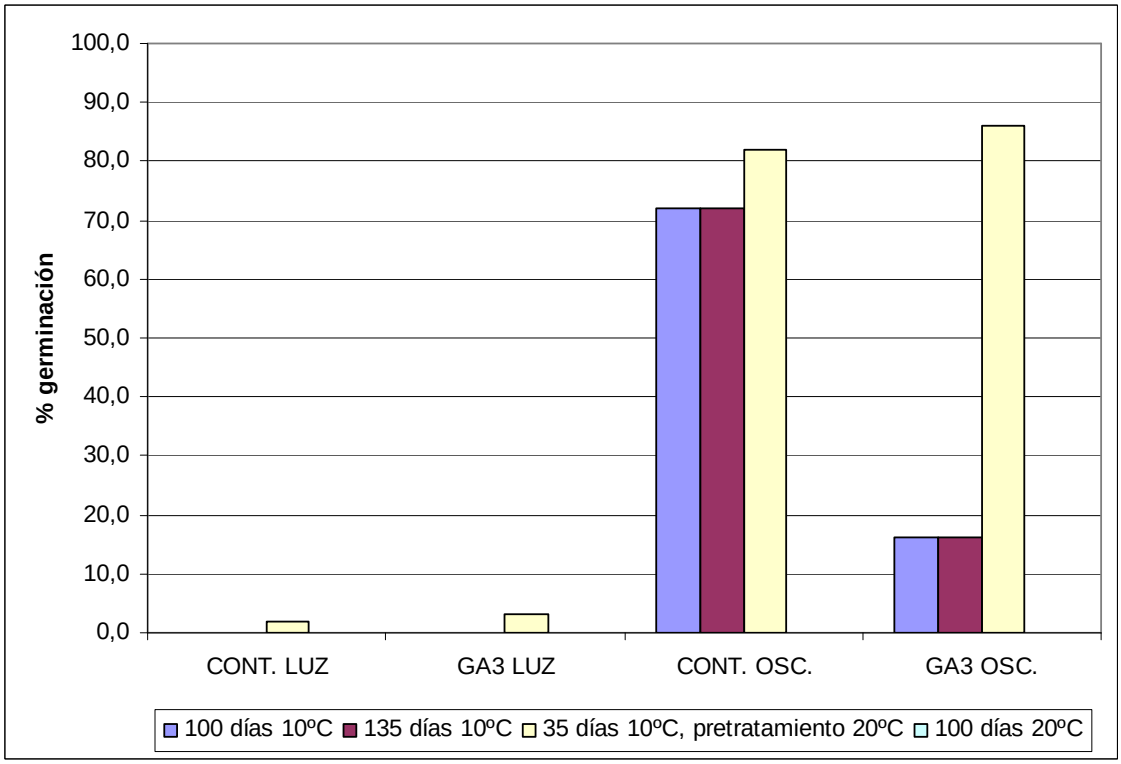
Tabla 9: 135 días 10ºC.

Tratamiento	Porcentaje germinación	Duración ensayo (días)	T_{50} (días)	Última Germinación (días)	T_0 (días)
CONT. LUZ	0	135	0	0	0
GA3 LUZ	0	132	0	0	0
CONT. OSC.	72±6,7	133	-	-	-
GA3 OSC.	16±4,3	132	-	-	-

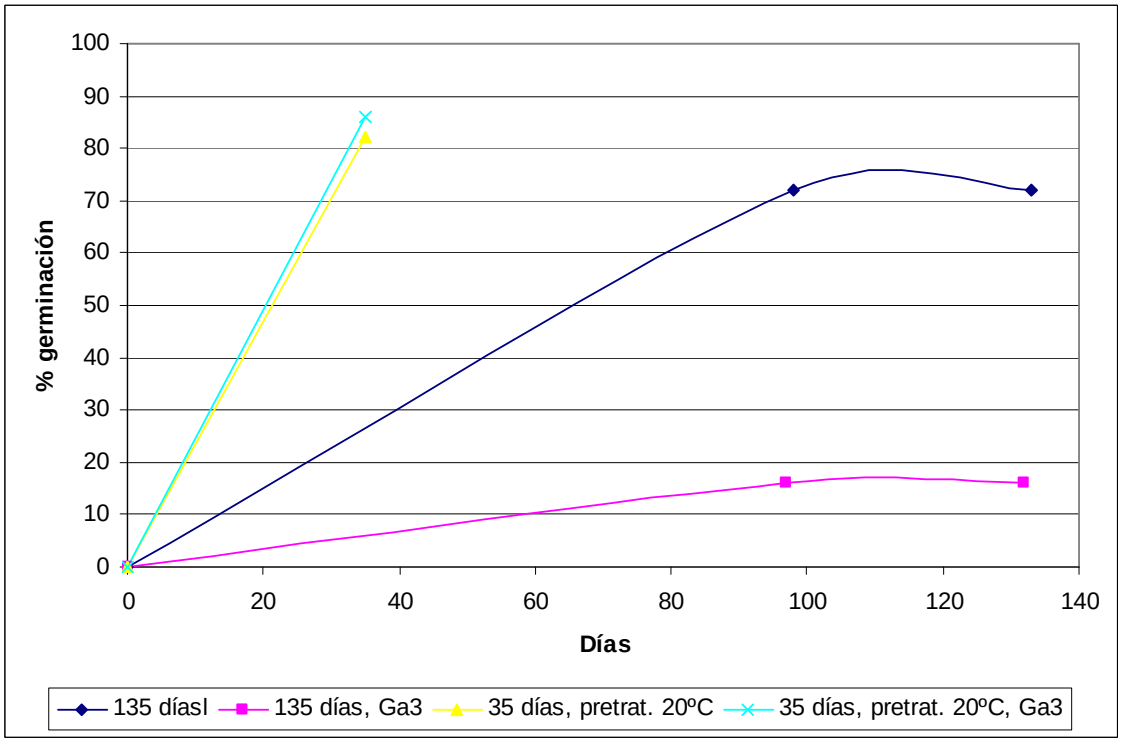
Tabla 10: 35 días 10ºC, pretratamiento 20ºC.

Tratamiento	Porcentaje germinación	Duración ensayo (días)	T_{50} (días)	Última germinación (días)	T_0 (días)
CONT. LUZ	2±1,2	35	19	19	9.5
GA3 LUZ	3±1,9	35	25	32	26.8
CONT. OSC.	82±1,2	35	-	-	-
GA3 OSC.	86±3,5	35	-	-	-

Gráfica 4: Porcentajes de germinación final de *Narcissus pseudonarcissus subsp. pallidiflorus*.



Gráfica 5: Curva de germinación de *Narcissus psedonaricssus* subsp. *pallidiflorus* A 10ºC en condiciones de oscuridad.



5.3.3. *Merendera montana* (L.) Lange

Familia: *Liliaceae*
Sinónimos: *M. pyrenaica* (Pourret) P. Fourn., *M. bulbocodium* Ramona
Nombre vulgar: Quitameriendas, askari lorea.

Descripción:

Hierba vivaz, con un pequeño bulbo subterráneo cubierto por una túnica membranosa. Es una planta de entre 7 y 20 cm de altura. Hojas basales, lineales, glabras, generalmente acanaladas, con el margen en ocasiones ondulado y su parte basal rodeada de una vaina membranosa cilíndrica. Flores solitarias que nacen directamente del bulbo, rara vez dos por bulbo. Perigonio formado por seis tépalos libres, elípticos u oblongo-elípticos, de ápice generalmente obtuso y color lila intenso hacia el ápice y blanquecino hacia la base. Androceo formado por seis estambres insertados en la base de los tépalos, de anteras basifijas de color amarillo, más largas que los filamentos. El gineceo posee tres carpelos soldados y tres estilos libres. El fruto es una cápsula oblonga, largamente pedunculada, dehiscente por tres valvas apiculadas. Toda la planta contiene alcaloides (colchicina), aunque presenta mayores concentraciones en las hojas, por lo que durante el periodo vegetativo puede mantener alejados a los herbívoros superficiales que las rechazan.

Hábitat:

Especie pascícola presente en prados efímeros, pastizales subnitrófilos y lugares pedregosos, así como entre el matorral sobre terrenos pedregosos, bordes de caminos y cultivos abandonados que crece entre 200-2000 m de altitud.

Distribución:

Se trata de un orófito mediterráneo de amplia distribución presente en la Península Ibérica y pirineos franceses. En la CAPV tiene una amplia distribución, siendo una especie común, frecuente y abundante, en los dos tercios meridionales del territorio, aunque escasa en el tercio septentrional.

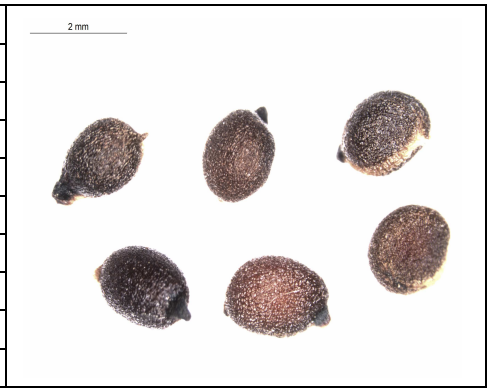
Fenología:

Geófito bulboso de floración otoñal, a mayor altitud el otoño llega antes, e incluso puede observarse a finales de agosto entre las sabinas. Saca las hojas tras la floración, y las mantiene verdes hasta la primavera. En verano, las hojas desaparecen y no están disponibles. Fructifica entre abril y mayo, dispersando las semillas entre mayo y junio.

Floración	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructificación	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

Descripción de semillas:

Talla (mm x mm)	2 x 1,5
Número cotiledones	Monocotiledónea
Contorno	Ovalado-circular
Sección	Circular (1:1)
Color	Marrón
Estructuras exteriores	Ninguna
Ornamentación	Ninguna
Tipo semillas	Endospérmica
Tipo embrión	Linear
Categoría conservación	Desconocida



Datos accesiones:

-Nº accesión: 014/2011
-Fecha recolección: 18/05/2011
-Lugar de recolección: Lastonar-enebral de Uribarri-Arrazua, Cincofuentes (Vitoria-Gasteiz)
-UTM: 30TWN3549
-Estado fitosanitario de semillas: Ausencia de vestigios de hongos o patógenos.
-Días transcurridos desde recolección hasta ensayo: 55
-Estado de la semilla previo al ensayo: Fresco.
-Cantidad de semillas de la accesión: 31.996

-Nº accesión: 016/2011
-Fecha recolección: 23/05/2011
-Lugar de recolección: Campas de Olárizu (Vitoria-Gasteiz).
-UTM: 30TWN2741
-Estado fitosanitario de semillas: Ausencia de vestigios de hongos o patógenos.
-Días transcurridos desde recolección hasta ensayo: 50
-Estado de la semilla previo al ensayo: Fresco.
-Cantidad de semillas de la accesión: 9.151

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos muestran una muy baja tasa y velocidad de germinación, obteniendo mejores resultados en condiciones de oscuridad, tal y como se indicaba en la bibliografía hallada para especies cercanas del género *Colchicum*.

Aunque los porcentajes obtenidos son diferentes, siempre mayores en la accesión 16 recogida en Olárizu, el comportamiento del proceso de germinación en ambas accesiones es muy similar, como se observa en las gráficas 6 y 7. No parece que exista interacción entre el factor población y el porcentaje de germinación ante los distintos tratamientos. Observando únicamente el comportamiento de una de las accesiones, se podría llegar a pensar que el porcentaje obtenido en las semillas sometidas a pretratamiento de temperatura cálida, sin empleo de GA_3 y germinadas en condiciones de oscuridad, se debiera al azar, ya que la diferencia de este porcentaje respecto al de las semillas germinadas en las mismas condiciones pero sin pretratar despunta enormemente, al contrario de lo que sucede en las semillas tratadas con GA_3,

donde la diferencia obtenida entre pretratadas y sin pretratar es mucho menor. Sin embargo, al haber realizado el ensayo con dos accesiones de poblaciones distintas, se observa claramente que los resultados obtenidos no son fruto del azar.

Al observar los resultados dentro del periodo considerado ensayo como tal, podríamos pensar que se trata de una especie con una marcada fotosensibilidad negativa, ya que el porcentaje de germinación en condiciones de luz es prácticamente nulo. Pero si observamos los datos obtenidos tras 100 días de ensayo (marcados en color rojo, solo en los casos en los que el porcentaje registrado varíe respecto al porcentaje final del ensayo), vemos que se llegan a alcanzar porcentajes de germinación bastante altos, de hasta 58%, en semillas sometidas a pretratamiento cálido de la accesión 016/2011 (Tabla 18). Por lo que se obtienen mejores resultados en condiciones de oscuridad, pero sin presentar una fotosensibilidad muy marcada.

En relación a la temperatura y duración del ensayo, no se han producido germinaciones en ninguno de los tratamientos sometidos a 20ºC, porcentaje de germinación nulo en todos los casos (Tablas 12 y 16; Gráficas 6 y 7). Mientras que a 10ºC se observa como al aumentar el tiempo del ensayo aumenta algo el porcentaje, ya que presenta una velocidad de germinación muy baja (valores de T_{50} y retardo germinativo muy altos), alcanzando en todos los casos porcentajes de germinación finales muy bajos. En la accesión 014/2011 el máximo porcentaje a los 100 días es de 15% (Tabla 11), a los 135 días es de 18% y a los 186 días de 22% (Tabla 13). Mientras que en la accesión 016/2011 el valor máximo a los 100 días es de 36% (Tabla 15) y a los 135 es de 38%, valor que se mantiene a los 186 días por lo que no aparece en la tabla (Tabla 17).

Los mayores porcentajes de germinación para ambas accesiones se obtienen en las placas sometidas a un pretratamiento de estratificación cálida (20ºC) en condiciones de oscuridad (Gráficas 6 y 7). Se obtiene así un mayor número de semillas germinadas en un tiempo mucho menor, tan interesante para esta especie, como muestran las pendientes de las gráficas 8 y 9. Por otro lado el empleo de GA_3, aumenta en todos los casos el porcentaje de germinación (Gráficas 6 y 7), excepto para el caso de las semillas pretratadas con estratificación cálida en condiciones de oscuridad, mediante el cual curiosamente se logran claramente los mayores porcentajes de germinación, 34% para la accesión 014/2011 (alcanzado 39% al ampliar el tiempo de ensayo) y 70% para la 016/2011 (alcanzado 95% al ampliar el tiempo de ensayo), como se aprecia en las tablas 14 y 18.

Tabla 11: Ensayo 100 días 10ºC. Accesión 014/2011

Tratamiento	Germinación (%)	Duración ensayo (días)	T_{50} (días)	Última germinación (días)	T_0 (días)
CONT. LUZ	0	100	0	0	0
GA3 LUZ	1±1	97	46	46	42.5
CONT. OSC.	8±2,8	88	-	-	-
GA3 OSC.	15±3,4	97	-	-	-

Tabla 12: Ensayo 100 días 20ºC. Accesión 014/2011

Tratamiento	Germinación (%)	Duración ensayo (días)	T_{50} (días)	Última germinación (días)	T_0 (días)
CONT. LUZ	0	100	0	0	0
GA3 LUZ	0	97	0	0	0
CONT. OSC.	0	88	0	0	0
GA3 OSC.	0	97	0	0	0

Tabla 13: Ensayo 135 días 10ºC. Accesión 014/2011

Tratamiento	Germinación (%)	Duración ensayo (días)	T_{50} (días)	Última germinación (días)	T_0 (días)
CONT. LUZ	1±1	135	111	111	108.5
GA3 LUZ	1±1	132	46	46	39.5
CONT. OSC.	8±2,8	133	-	-	-
CONT. OSC.	9±3,8	186	-	-	-
GA3 OSC.	18±2,6	132	-	-	-
GA3 OSC.	22±2	185	-	-	-

Tabla 14: Ensayo 35 días 10ºC, pretratamiento 20ºC. Accesión 014/2011

Tratamiento	Germinación (%)	Duración ensayo (días)	T_{50} (días)	Última germinación (días)	T_0 (días)
CONT. LUZ	0	35	0	0	0
CONT. LUZ	4±2,3	88	0	0	0
GA3 LUZ	0	35	0	0	0
GA3 LUZ	6±2,6	88	0	0	0
CONT. OSC.	34±9,3	35	-	-	-
CONT. OSC.	39±7,5	88	-	-	-
GA3 OSC.	20±6,7	35	-	-	-
GA3 OSC.	24±7,1	88	-	-	-

Tabla 15: Ensayo 100 días 10ºC. Accesión 016/2011

Tratamiento	Germinación (%)	Duración ensayo (días)	T_{50} (días)	Última germinación (días)	T_0 (días)
CONT. LUZ	1±1	100	55	55	56
GA3 LUZ	0	97	0	0	0
CONT. OSC.	29±4,4	88	-	-	-
GA3 OSC.	36±3,7	97	-	-	-

Tabla 16: Ensayo 100 días 20ºC. Accesión 016/2011

Tratamiento	Germinación (%)	Duración ensayo (días)	T_{50} (días)	Última germinación (días)	T_0 (días)
CONT. LUZ	0	100	0	0	0
GA3 LUZ	0	97	0	0	0
CONT. OSC.	0	88	0	0	0
GA3 OSC.	1±1	97	-	-	-

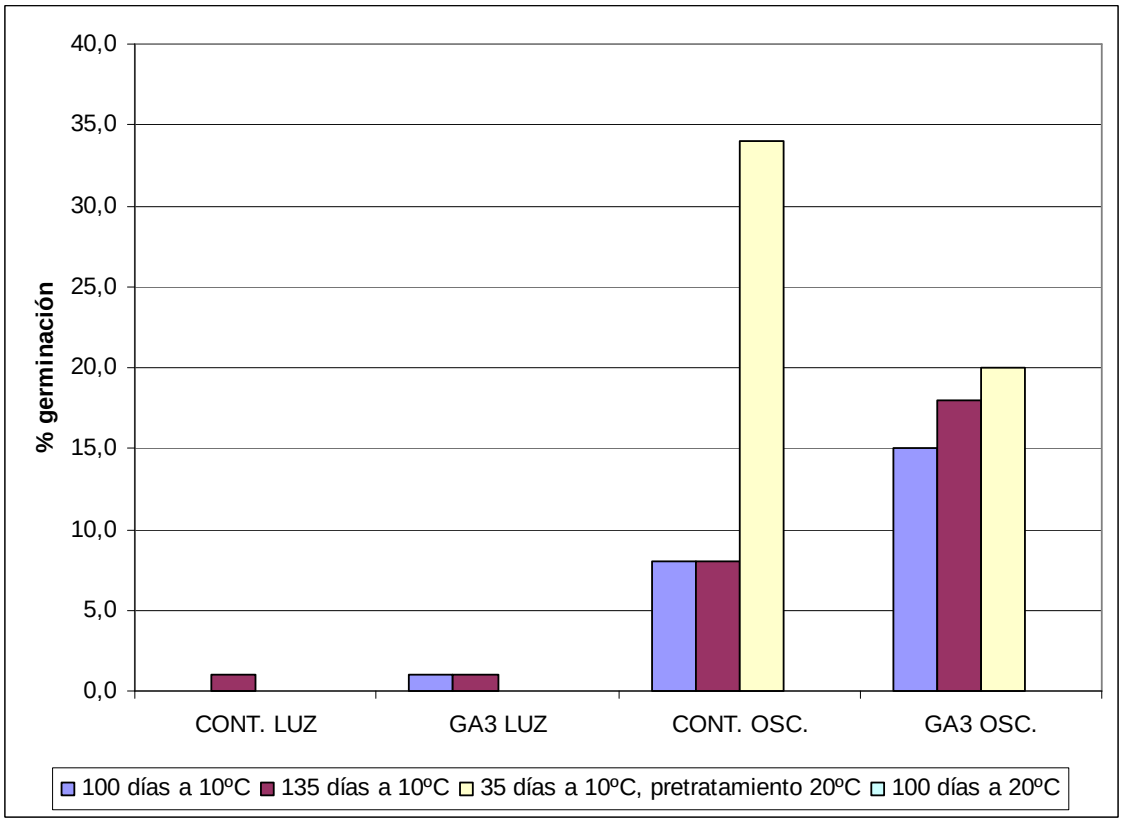
Tabla 17: Ensayo 135 días 10ºC. Accesión 016/2011

Tratamiento	Germinación (%)	Duración ensayo (días)	T_{50} (días)	Última germinación (días)	T_0 (días)
CONT. LUZ	1±1	135	57	57	56
GA3 LUZ	2±1,2	132	108	129	108
CONT. OSC.	30±3,5	133	-	-	-
GA3 OSC.	38±3,5	132	-	-	-

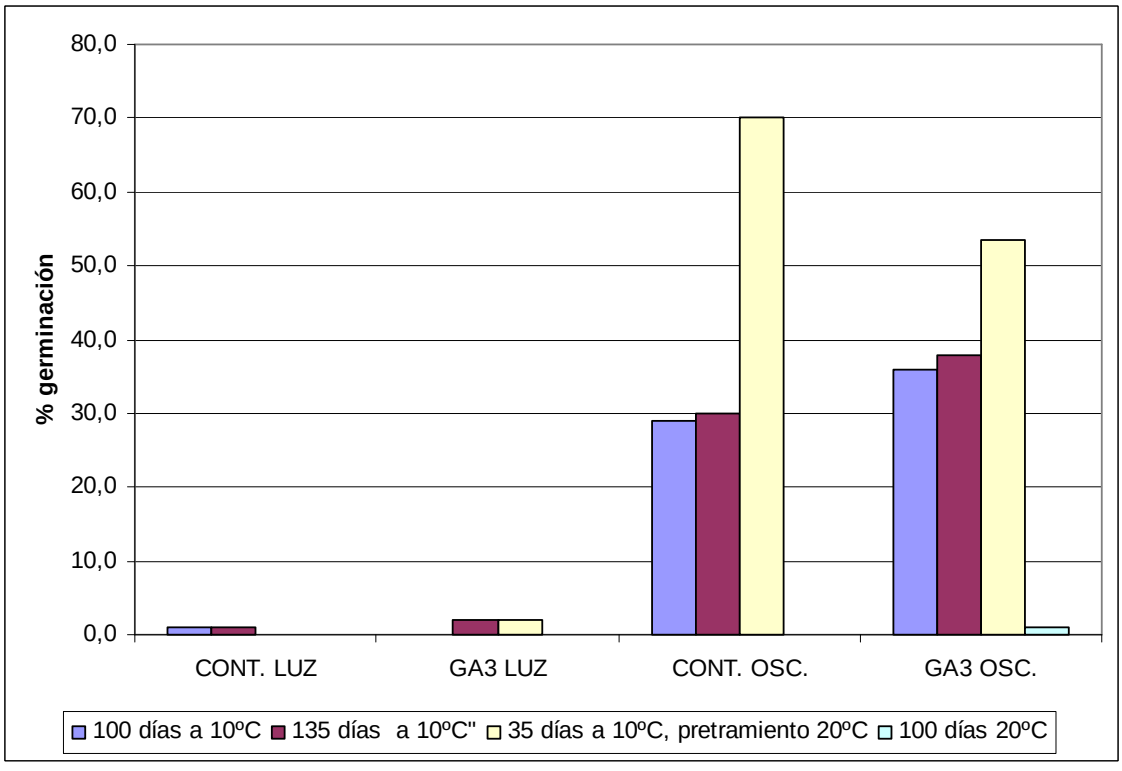
Tabla 18: Ensayo 35 días 10ºC, pretratamiento 20ºC. Accesión 016/2011

Tratamiento	Germinación (%)	Duración ensayo (días)	T_{50} (días)	Última germinación (días)	T_0 (días)
CONT. LUZ	0	35	0	0	0
CONT. LUZ	46±4,8	88	0	0	0
GA3 LUZ	2±2	35	25	32	25
GA3 LUZ	58±10,9	88	25	32	25
CONT. OSC.	70±7,4	35	-	-	-
CONT. OSC.	95±5	88	-	-	-
GA3 OSC.	53,6±3.2	35	-	-	-

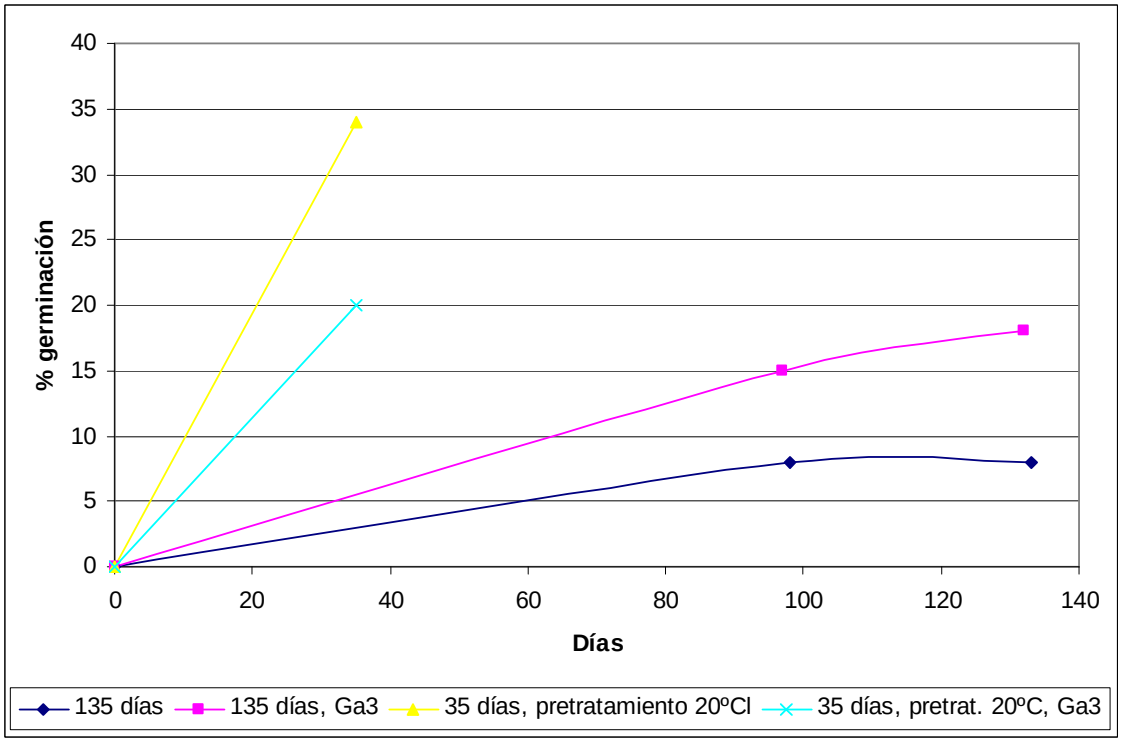
Gráfica 6: Porcentajes de germinación final de la accesión 014/2011 de *Merendera montana.*



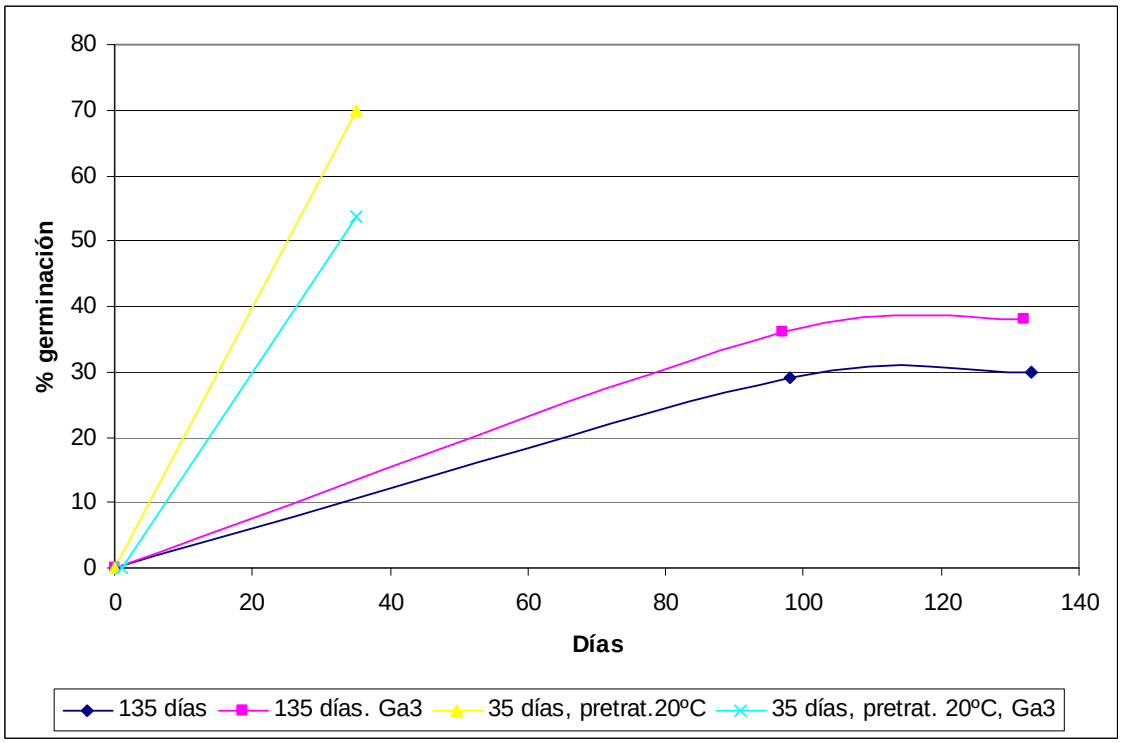
Gráfica 7: Porcentajes de germinación final de la accesión 016/2011 de *Merendera montana.*



Gráfica 8: Curva de germinación de la accesión 014/2011 de *Merendera montana* a 10ºC en condiciones de oscuridad.



Gráfica 9: Curva de germinación de la accesión 016/2011 de *Merendera montana* a 10ºC en condiciones de oscuridad.



5.3.4. *Berula erecta* (Huds.) Coville

Familia: *Apiaceae* (*Umbelliferae*)
Nombres vulgares: Chirivía, berra de agua

Descripción:

Planta herbácea acuática, arraigada y erecta de 20 a 85 cm de alto. Tallo nudoso glabro, hueco y finamente estriado longitudinalmente, que se ramifica y emite estolones. Presenta hojas alternas, pinnaticompuestas con peciolos envainantes. Los foliolos son sésiles, oblongo-lanceolados y generalmente presentan un lóbulo notable cerca de la base y un margen profundamente dentado. Las hojas superiores son más reducidas y los foliolos llegan a ser lineales. Las umbelas están compuestas por 6-15 umbélulas, sobre pedúnculos terminales y axilares. El involucro está formado por 4-8 brácteas foliáceas, desiguales, lineares o lanceoladas, con el margen entero o hendido. Los radios son algo desiguales y el involucelo está formado por 4-8 bractéolas lanceoladas y con el margen entero. Los pedicelos que sostienen a las flores son por lo general menos de 15. Las flores son blancas y pequeñas de simetría radial. El cáliz está unido al ovario, con 5 dientes diminutos. La corola tiene 5 pétalos obovados libres, de ápice largo y curvado hacia el centro de la flor. El androceo tiene 5 estambres alternados con los pétalos y ovario ínfero. El fruto es un esquizocarpo blando y subgloboso, de menos de 3 mm, comprimido lateralmente y formado por 2 mericarpos unidos entre sí por su cara ventral y con 5 costillas filiformes en la parte dorsal de cada uno. Es una planta comestible, con usos medicinales, pero en cantidades grandes puede ser venenosa.

Hábitat:

Habita en herbazales húmedos, a orillas de las masas de agua dulce, turberas y otros humedales entre 10-650 m de altitud.

Distribución

Su área de distribución natural se extiende por Europa, SW de Asia y N de América, por lo que se incluye en el elemento florístico circumboreal. Según el *Sistema de información de las plantas de España* (ANTHOS, 2012), en la Península Ibérica habita desde el nivel del mar hasta los 900 m de altitud, repartida de manera muy laxa por reducidos enclaves húmedos de 23 provincias españolas. La localidad más cercana a la CAPV (incluida geográficamente en ella) sería la del Condado de Treviño, en Los Chorros (Burgos). En la CAPV existen citas antiguas que no han podido ser confirmadas en la actualidad, en Algorta y Abadiño (Bizkaia), en Ilarraza (Araba) y en las orillas del Bidasoa (Gipuzkoa). Las únicas citas comprobadas actualmente son las de Arreo (Aseginolaza *et. al.*, 1984) y Estarrona, río Zalla (*Patino et. al.*, 1992). Así pues, la planta parece ser rarísima en la actualidad en la CAPV, restringida a dos puntos de Álava.

Grado de amenaza

-Catálogo Vasco de Especies Amenazadas 1998: No incluida.
-Lista Roja 2010: En peligro de extinción (EN).
-Catálogo Vasco de Especies Amenazadas 2011: En peligro de extinción.

Vive a orillas de masas permanentes de agua, entre formaciones de grandes helófitos (*Phragmites australis*, *Typha latifolia*, *Cladium mariscus*, *Lythrum salicaria*), algunas de las cuales son incluibles en el hábitat de interés comunitario prioritario 7210 (formaciones de *Cladium mariscus*) y en el contacto de dichas formaciones con el hábitat de interés comunitario 1410 (Juncales mediterráneos), con plantas como *Juncus acutus*, *J. gerardi*, *Plantago coronopus*, *Puccinellia fasciculata*.

En las últimas décadas, en la CAPV sólo se han observado las dos poblaciones alavesas citadas arriba. Las estimaciones aproximadas realizadas hace más de 25 años, indican que en aquella época sus dos poblaciones eran muy reducidas en extensión, y con muy pocos ejemplares. En el 2010 se verificó la persistencia de la pequeña y localizada población del río Zalla, situada muy cerca de la confluencia con el Zadorra. Durante el desarrollo de este proyecto, se ha constatado un notable aumento de la población del río Zalla, tanto en extensión como en número de ejemplares.

Los enclaves en los que habita *Berula erecta* son de los más frágiles ante obras de drenaje de zonas húmedas, lo cual puede explicar su desaparición de las localidades de donde se citó antiguamente. Por ello se estima que esta planta es una de las más amenazadas en la CAPV y corre un previsible riesgo de extinción local a corto o medio plazo (VV.AA., 2010). De forma que en diversos estudios realizados sobre la flora amenazada del municipio de Vitoria-Gasteiz (Uribe-Echebarría, 2010), ya se recomienda entre otras acciones, la recolección de semillas de la población del municipio, su conservación en un banco de germoplasma y utilización de una pequeña proporción de las mismas para ensayos de germinación realizando, en caso de obtener resultados positivos, "introducciones benignas" en los cursos de agua donde la planta fue citada antiguamente, así como en lugares de similares características ecológicas a las de su población actual.

Fenología:

Florece de julio a septiembre, fructificando a finales de verano durante septiembre y octubre.

Floración	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructificación	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

Descripción de semillas:

Talla (mm x mm)	2.5 x 1
Número cotiledones	Dicotiledónea
Contorno	Piriforme
Sección	Comprimido (1:3)
Color	Marrón amarillento
Estructuras exteriores	Cubierta externa con costillas filiformes
Ornamentación	Linear-reticulada
Tipo semillas	Endospérmica
Tipo embrión	Axial
Categoría conservación	Parece ser ortodoxa

Datos accesión:

-Nº accesión: 125/2011
-Fecha recolección: 14/09/2011
-Lugar de recolección: Río Zalla, Estarrona (Vitoria-Gasteiz).
-UTM: 30TWN1944
-Estado fitosanitario de semillas: Ausencia de vestigios de hongos o patógenos.
-Pliego testigo: Si.
-Días transcurridos desde recolección hasta ensayo: 88
-Estado de la semilla previo al ensayo: Fresco.
-Cantidad de semillas de la accesión: 6.355

-Nº accesión: 144/2011
-Fecha recolección: 14/10/2011
-Lugar de recolección: Río Zalla, Estarrona (Vitoria-Gasteiz).
-UTM: 30TWN1944
-Estado fitosanitario de semillas: Ausencia de vestigios de hongos o patógenos.
-Días transcurridos desde recolección hasta ensayo: 38
-Estado de la semilla previo al ensayo: Fresco.
-Cantidad de semillas de la accesión: 29.610

Resultados y discusión:

Como se observa en los resultados, las semillas de *Berula erecta* requieren luz para germinar, siendo nulo el porcentaje de germinación obtenido en condiciones de oscuridad (Tablas 19 y 20).

Respecto a la temperatura, esta especie muestra preferencia por temperaturas cálidas, obteniendo en ambos casos el mayor porcentaje de germinación a 20ºC, 81% en la accesión 125/2011 y 89% en la 144/2011 (Gráfica 10). Observando el resto de parámetros, vemos que presentan el mismo comportamiento que el porcentaje de germinación en función de las distintas temperaturas, de forma que en ambos casos el menor retardo germinativo y la mayor velocidad de germinación o menor T_{50}, se obtiene a los 20ºC (Tablas 19 y 20).

En general los porcentajes obtenidos con la accesión 144/2011, recogida el 14 de octubre son superiores a los obtenidos con la 125/2011, recogida el 14 de septiembre (Gráficas 11 y 12), aunque ambas presentan comportamientos análogos frente a los distintos tratamientos, se comportan de igual manera.

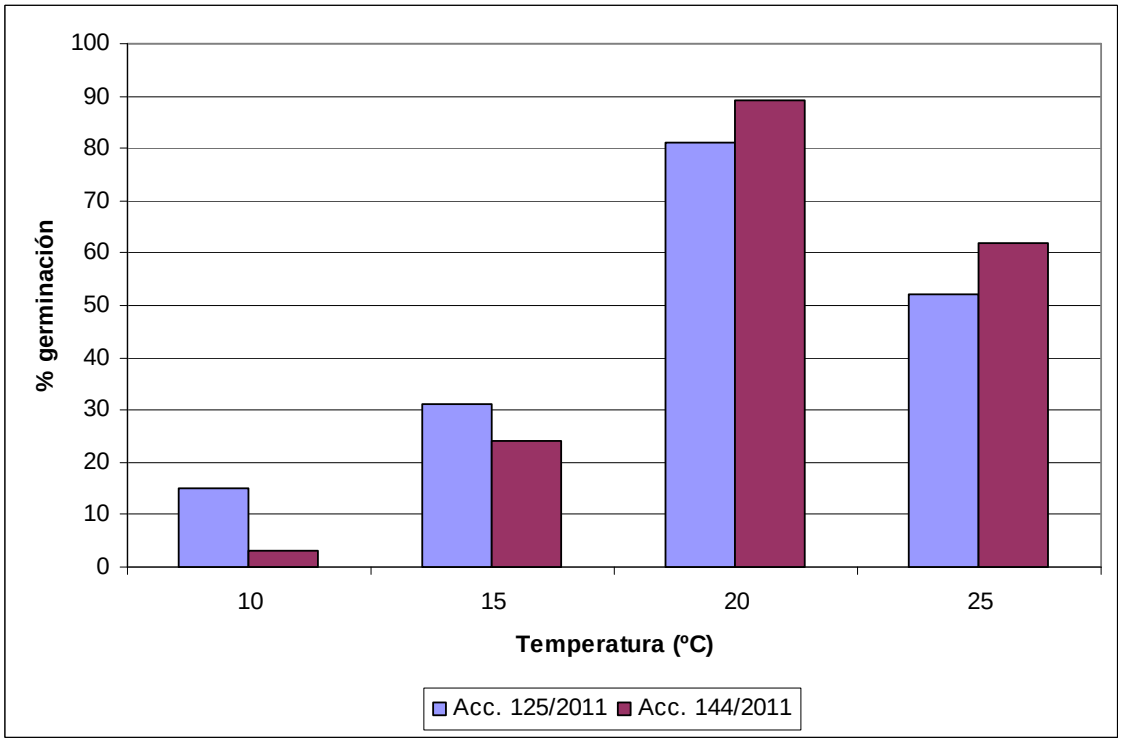
Tabla 19: Parámetros de germinación, accesión 125/2011

Tratamiento	Germinación (%)	Duración ensayo (días)	T_0 (días)	Última germinación (días)	T_{50} (días)
LUZ 10ºC	15±1,9	64	30	56	34,1
LUZ 15ºC	31±5,5	64	21	64	28,1
LUZ 20ºC	81±9,1	64	22	43	20,5
LUZ 25ºC	52±2,8	64	14	64	26,9
OSC 10ºC	0	65	0	0	0
OSC 15ºC	0	65	0	0	0
OSC 20ºC	0	65	0	0	0
OSC 25ºC	1±1	65	24	24	0

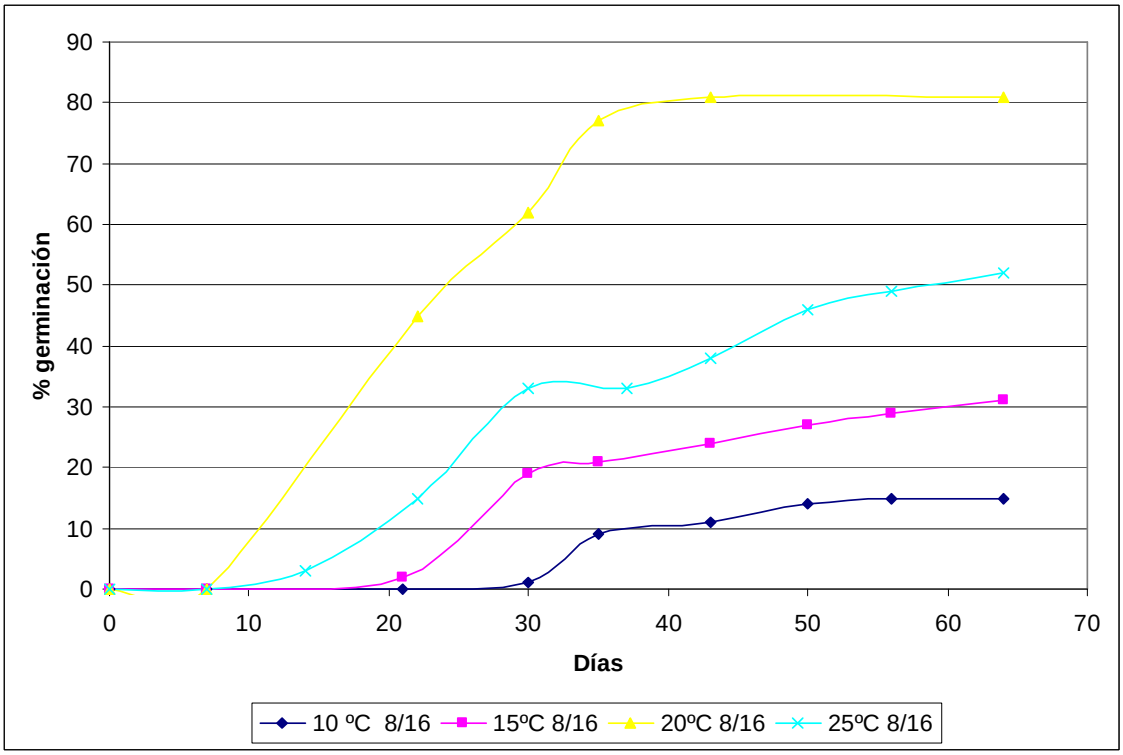
Tabla 20: Parámetros de germinación, accesión144/2011

Tratamiento	Germinación (%)	Duración ensayo (días)	T_0 (días)	Última germinación (días)	T_{50} (días)
LUZ 10ºC	3±1,9	64	35	43	37,5
LUZ 15ºC	24±3,3	64	21	43	30,9
LUZ 20ºC	89±8,7	64	21	56	24,6
LUZ 25ºC	62±2,6	64	22	56	28,2
OSC 10ºC	0	65	0	0	0
OSC 15ºC	0	65	0	0	0
OSC 20ºC	0	65	0	0	0
OSC 25ºC	0	65	0	0	0

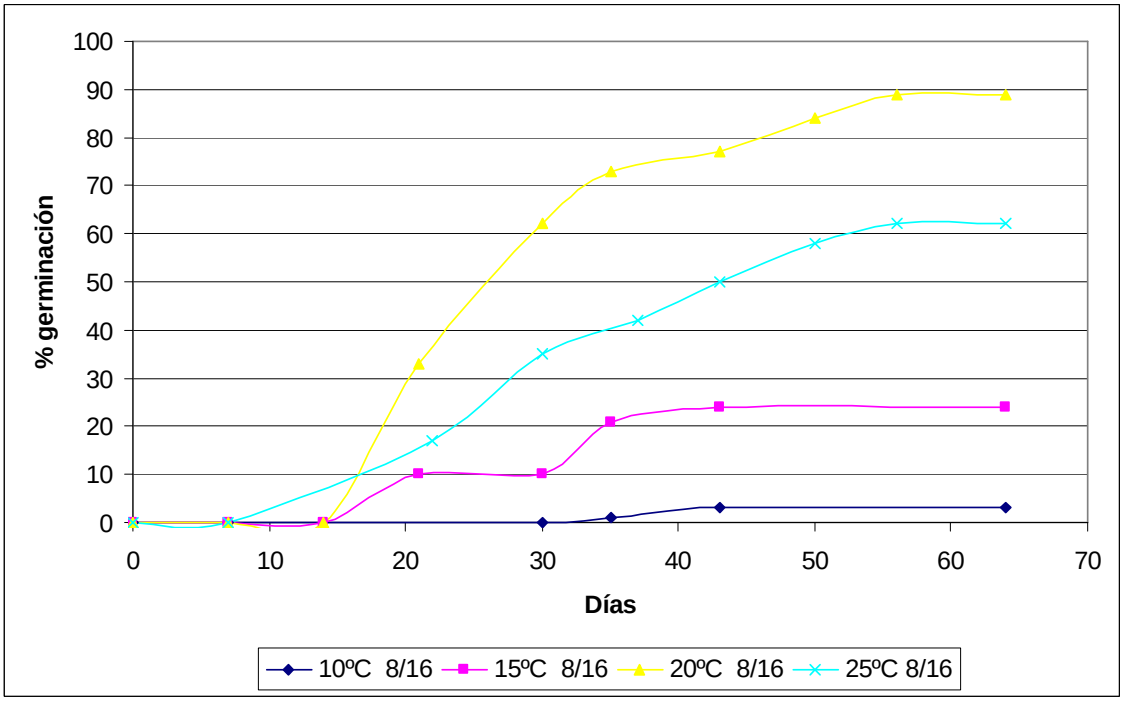
Gráfica 10: Porcentajes de germinación final de *Berula erecta*, en condiciones de luz.



Gráfica 11: Curvas de germinación de accesión 125/2011 de *Berula erecta* en condiciones de luz.



Gráfica 12: Curvas de germinación de accesión 144/2011 de *Berula erecta* en condiciones de luz.



5.3.5. *Galium boreale* L.

Familia: *Rubiaceae*

Descripción:

Planta herbácea vivaz de entre uno y dos palmos de altura, de color verdoso algo azulado (glauco), lampiña o cortamente pulverulenta. Tallos rígidos, erguidos y muy ramificados, sobre los que se disponen numerosos verticilos de hojas, en número de cuatro en cada nudo. Hojas de forma estrechamente lanceolada, casi linear en ocasiones, y en las que se advierten claramente por el envés tres nervios bien marcados. Cáliz con limbo casi nulo, pero corola bien notoria, en forma de rueda, casi sin tubo y con cuatro pétalos blancos, ovado-lanceolados, entre los que se sitúan otros tantos estambres. Fruto seco, dividido en dos mitades de superficie lampiña o cubierta de pelillos curvados en el ápice a modo de minúsculos garfios, derivado de la unión de dos carpelos globulosos.

Hábitat:

Forma pequeñas poblaciones en herbazales con suelo húmedo, al borde de charcas, en depresiones inundables, turberas y trampales, tanto sobre areniscas como sobre margas, en altitudes comprendidas entre 500-600 m.

Distribución:

Es una planta circumboreal, esto es, que se reparte por los territorios fríos y templados del Hemisferio Norte. En la Península Ibérica resulta ser una planta muy rara, limitada a la zona Norte. En la CAPV sólo se ha encontrado hasta la fecha en Álava: en el desfiladero de Sobrón y algunos puntos de la Llanada como Olárizu y Luzuriaga.

Grado de amenaza:

-Catálogo Vasco de Especies Amenazadas 1998: Rara.
-Lista Roja 2010: Vulnerable (VU).
-Catálogo Vasco de Especies Amenazadas 2011: Vulnerable.

Cumple los criterios para ser catalogada como en peligro de extinción (EN). Presenta una distribución geográfica reducida, con una fragmentación severa, no aparece en más de 5 localidades, disminución de las poblaciones conocidas y su hábitat se ha reducido y degradado en algunas localidades, pero por efecto rescate desde Burgos, se rebajaría un grado, a la categoría de vulnerable (VU).

La desecación de zonas húmedas para su transformación en campos de cultivo, los drenajes, creación de balsas de riego y obras de ajardinamiento son causas decisivas de su enrarecimiento general y de su desaparición de las localidades en que vivía anteriormente. Ha de tenerse en cuenta que las poblaciones de esta planta en nuestras latitudes son siempre pequeñas y aisladas, por lo que deberían protegerse las escasas zonas húmedas en las que aún vive.

En la CAPV, de las tres poblaciones existentes, dos aparecen en espacios protegidos, Sobrón (LIC 2110002) y Luzuriaga (Robledales isla de la Llanada Alavesa, LIC ES2110013), mientras que la tercera población, localizada en la Dehesa de Olárizu, se daba por extinta al no haber sido observada desde hace más de 25 años, tras el ajardinamiento de la zona.

Durante el desarrollo de este proyecto se prospectaron las Campas de la Dehesa de Olarizu, redescubriendo la presencia, la persistencia, de esta población pese al intenso régimen de siegas al que están sometidas estas praderas incluidas, actualmente, en una zona recreativa integrada en el Jardín Botánico de Olarizu. Desde su redescubrimiento, el área de las Campas de Olarizu donde pervive la población se gestiona para la conservación de la población y la recuperación del hábitat del que forma parte.

En diversos estudios sobre la flora amenazada del municipio de Vitoria-Gasteiz se recomendaba, entre otras acciones, la recolección de semillas de la población del municipio, su conservación en un banco de germoplasma y utilización de una pequeña proporción de las mismas para ensayos de germinación realizando, en caso de obtener resultados positivos, “introducciones benignas”. (Uribe-Echebarría, 2010).

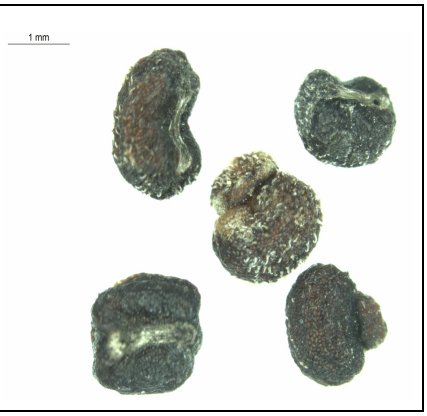
Fenología:

Florece en pleno verano, de junio a agosto, madurando los pequeños frutos al comienzo del otoño.

Floración	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructificación	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

Descripción de semillas:

Talla (mm x mm)	1.5 mm x 1.5 mm
Número cotiledones	Dicotiledónea
Contorno	Circular
Sección	Circular (1:1)
Color	Negro
Estructuras exteriores	Cubierta externa con pelos ganchudos.
Ornamentación	Rugosa, pelosa
Tipo semillas	No determinado
Tipo embrión	No determinado
Categoría conservación	Parece ser ortodoxa



Datos accesión

-Nº accesión: 131/2011
-Fecha recolección: 19/09/2011
-Lugar de recolección: Prado-juncal de Olarizu (Vitoria-Gasteiz).
-UTM: 30TWN2742
-Estado fitosanitario de semillas: Ausencia de vestigios de hongos o patógenos.
-Días transcurridos desde recolección hasta ensayo: 63
-Estado de la semilla previo al ensayo: Fresco.
-Cantidad de semillas de la accesión: 2.872

Resultados y discusión

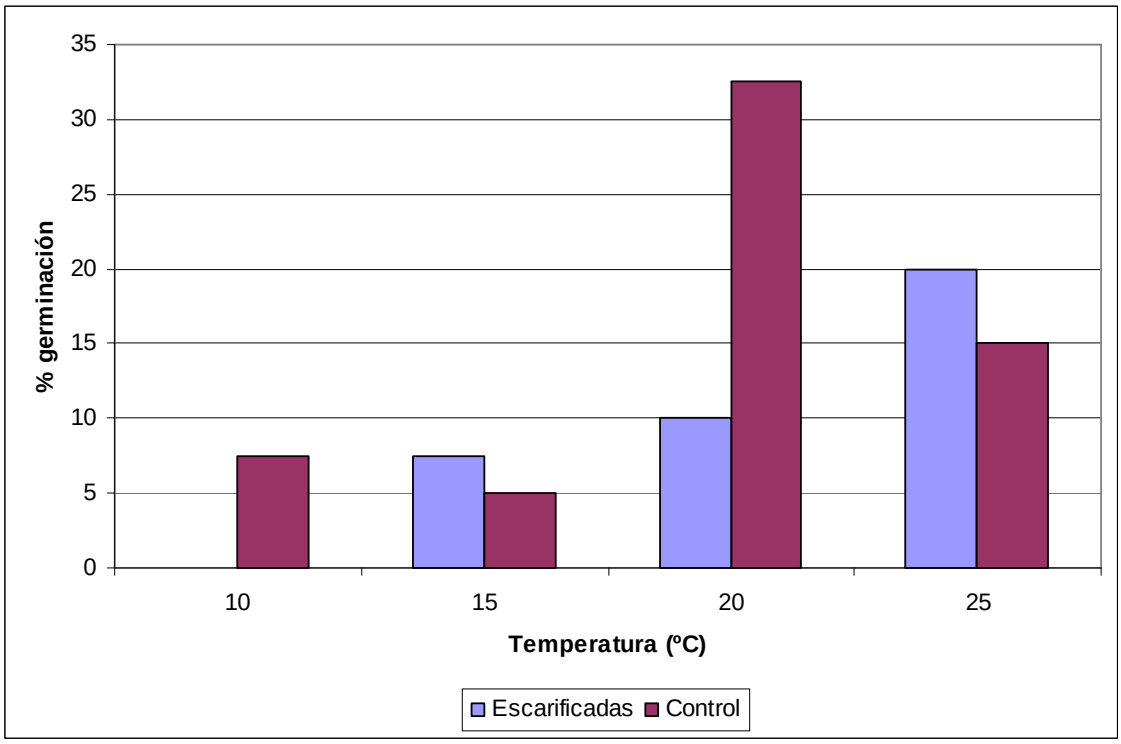
Las semillas de *Galium boreale* requieren luz para germinar, siendo prácticamente nulo el porcentaje obtenido en condiciones de oscuridad (Tabla 21). Respecto a la temperatura, en semillas escarificadas, la tasa de germinación es mayor a medida que aumenta ésta, obteniendo el mayor porcentaje de germinación a 25ºC (20%) mientras que en semillas no escarificadas, control, el mejor resultado se consigue a 20ºC (32,5%) en condiciones de luz (Gráfica 13). En todo caso, los porcentajes obtenidos son muy bajos.

Respecto al tratamiento empleado para la ruptura de la dormición física de las semillas, la escarificación, sólo ha mejorado la tasa de germinación en condiciones de luz a 10 y 20ºC, siendo este último tratamiento aquel con el que se ha obtenido mayor porcentaje de germinación, 32,5% (Gráfica 13), mientras que para el resto de los tratamiento ha disminuido el porcentaje. Por otro lado tampoco parece que este pretratamiento aumente la velocidad de germinación ni reduzca el retardo germinativo (Tabla 21, Gráficas 14 y 15).

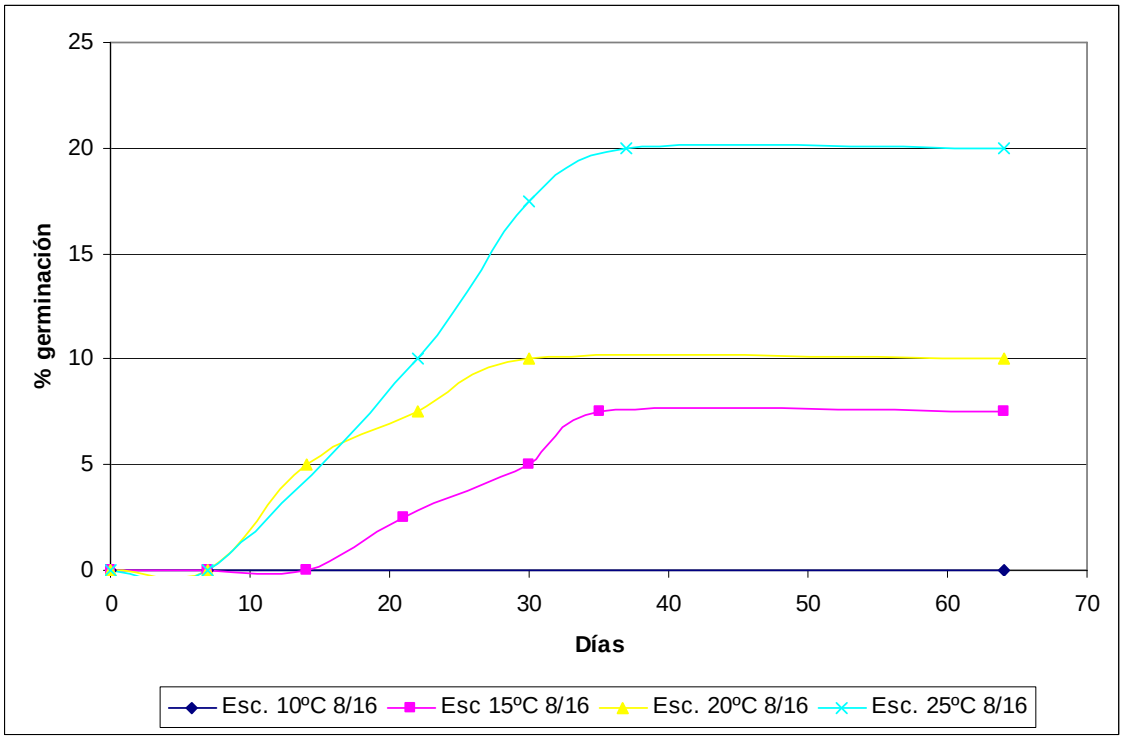
Tabla 21: Parámetros de germinación, accesión 131/2011

Pretrat.	Tratamiento	Germinación (%)	Duración ensayo (días)	T_0 (días)	Última germinación (días)	T_{50} (días)
Escarificadas	LUZ 10ºC	0	64	0	0	0
	LUZ 15ºC	7,5±4,79	64	21	35,00	25,5
	LUZ 20ºC	10±4,08	64	14	0	14
	LUZ 25ºC	20±0	64	22	37,00	22
	OSC 10ºC	0	65	0	0	0
	OSC 15ºC	0	65	0	0	0
	OSC 20ºC	0	65	0	0	0
	OSC 25ºC	0	65	0	0	0
Control	LUZ 10ºC	7,5±7,5	64	35	43,00	28
	LUZ 15ºC	5±2,89	64	21	30,00	21
	LUZ 20ºC	32,5±7,5	64	22	50,00	20,9
	LUZ 25ºC	15±5	64	22	43,00	22
	OSC 10ºC	0	65	0	0	0
	OSC 15ºC	0	65	0	0	0
	OSC 20ºC	0	65	0	0	0
	OSC 25ºC	7,5±4,79	65	24	65,00	34,2

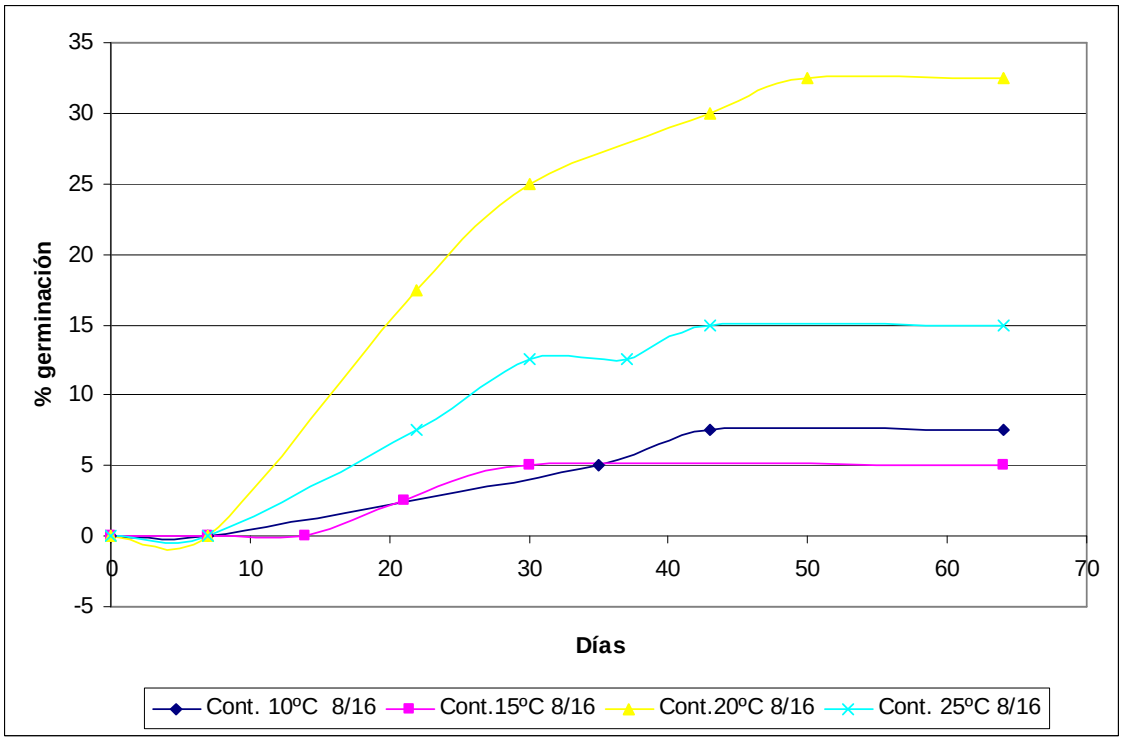
Gráfica 13: Porcentajes de germinación final de *Galium boreale*, en condiciones de luz.



Gráfica 14: Curvas de germinación de accesión *Galium boreale* en condiciones de luz, semillas escarificadas.



Gráfica 15: Curvas de germinación de accesión *Galium boreale* en condiciones de luz, semillas no escarificadas (control).



5.3.6. *Senecio carpetanus* Boiss. & Reut.

Familia: *Asteraceae* (*Compositae*)
Sinónimos: *Senecio celtibericus* Pau

Descripción:

Planta herbácea vivaz que alcanza normalmente entre uno y dos palmos de altura. En el ápice de una gruesa cepa subterránea nace una roseta de hojas basales de contorno lanceolado y de borde casi entero. A lo largo de los erectos tallos se distribuyen con disposición alterna las hojas caulinares, gradualmente más pequeñas y más profundamente divididas que las basales. El ápice de los tallos está rematado por la inflorescencia, en racimo ramificado, con capítulos de flores amarillas, con hasta 8 lígulas, provisto en la base de varias brácteas suplementarias de las principales. Fruto en el típico aquenio de las compuestas, provisto de vilano.

Hábitat:

Se desarrolla en prados y prado-juncales de lugares manantíos y depresiones inundables, entre los 500-1100 m.

Distribución:

Endemismo ibérico propio de las montañas de la región mediterránea occidental. Alcanza su límite nororiental en una localidad Navarra muy próxima al límite con la CAPV (ASEGINOLAZA *et al.*, 1984). También se conocen algunas localidades burgalesas y riojanas próximas. En la CAPV solamente se conoce en algunos puntos de Álava.

Grado de amenaza:

-Catálogo Vasco de Especies Amenazadas 1998: Vulnerable.
-Lista Roja 2010: En peligro de extinción.
-Catálogo Vasco de Especies Amenazadas 2011: En peligro de extinción.

Cumple los criterios para asignarle el grado de en peligro de extinción (EN). Distribución geográfica reducida, con no más de 5 localidades y disminución del área de ocupación, extensión de presencia, pérdida de calidad del hábitat y pérdida de localidades. Su hábitat es muy frágil y ya ha sido destruido recientemente en varias de sus antiguas localidades. No rebajable a vulnerable (VU), por no existir “efecto rescate”.

Hace todavía pocos años vivía en varios puntos de la Llanada y Valles occidentales alaveses. Diversas alteraciones provocadas por la acción humana han hecho que desaparezcan la mayoría de sus antiguas poblaciones, esto es, ha sufrido una drástica disminución de sus poblaciones en los últimos 20 años. En la actualidad sólo sobrevive penosamente en muy pocas localidades, frágiles ante la menor alteración, en el Puerto de Herrera y algunos trampales de Izki. No se ha vuelto a ver en Olárizu,

Luzuriaga y Espejo, lugares de donde podría haber desaparecido por obras diversas, como drenajes, ajardinamientos, roturaciones.

Fenología:

Florece en pleno verano, desde julio hasta el comienzo del otoño, en septiembre. Los frutos maduran ya en el otoño

Floración	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructificación	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

Descripción de semillas:

Talla (mm x mm)	2 mm x 0.5 mm
Número cotiledones	Dicotiledónea
Contorno	Linear
Sección	Circular (1:1)
Color	Amarillento
Estructuras exteriores	Vilano
Ornamentación	Linear, pelosa
Tipo semillas	Endospérmica
Tipo embrión	Axial-linear.
Categoría conservación	Ortodoxa

Datos accesión

-Nº accesión: 124/2011
-Fecha recolección: 14/09/2011
-Lugar de recolección: Laguna de Foncea (La Rioja)
-UTM: 30TVN9419
-Estado fitosanitario de semillas: Ausencia de vestigios de hongos o patógenos.
-Días transcurridos desde recolección hasta ensayo: 68
-Estado de la semilla previo al ensayo: Fresco.
-Cantidad de semillas de la accesión: 24.235

-Nº accesión: 143/2011
-Fecha recolección: 04/10/2011
-Lugar de recolección: Laguna de Foncea (La Rioja)
-UTM: 30TVN9419
-Estado fitosanitario de semillas: Ausencia de vestigios de hongos o patógenos.
-Días transcurridos desde recolección hasta ensayo: 48
-Estado de la semilla previo al ensayo: Fresco.
-Cantidad de semillas de la accesión: 113.199

Resultados y discusión:

Como se observa, las semillas de *Senecio carpetanus* requieren luz para germinar, siendo nulo el porcentaje obtenido en condiciones de oscuridad (Tablas 22 y 23). Muestra preferencia por las temperaturas cálidas (20-25ºC), obteniendo los mejores

resultados a 25ºC para la accesión 124/2011 y a 20ºC para la 143/2011 (Gráfica 16). Observando el resto de parámetros, vemos que en ambas accesiones al aumentar la temperatura se disminuye el retardo germinativo y aumenta la velocidad de germinación, disminuye T_{50} (Tablas 22 y 23).

En general los porcentajes obtenidos con la accesión 124/2011, recogida el 14 de septiembre son superiores a los obtenidos con la 143/2011, recogida el 4 de octubre (Gráficas 17 y 18), aunque ambas presentan comportamientos casi análogos frente a los distintos tratamientos.

El retardo germinativo de esta especie es muy corto, germina en cinco días a 25ºC, como se observa en la pendiente inicial de las curvas representadas en las *gráficas* 17 y 18. La velocidad de germinación, sobre todo a temperaturas cálidas, es muy alta, alcanzando valores de T_{50} muy bajos, de hasta 6,2 días. Es decir, a los doce días la accesión 124/2011 a 25ºC había alcanzado el 70% de germinación.

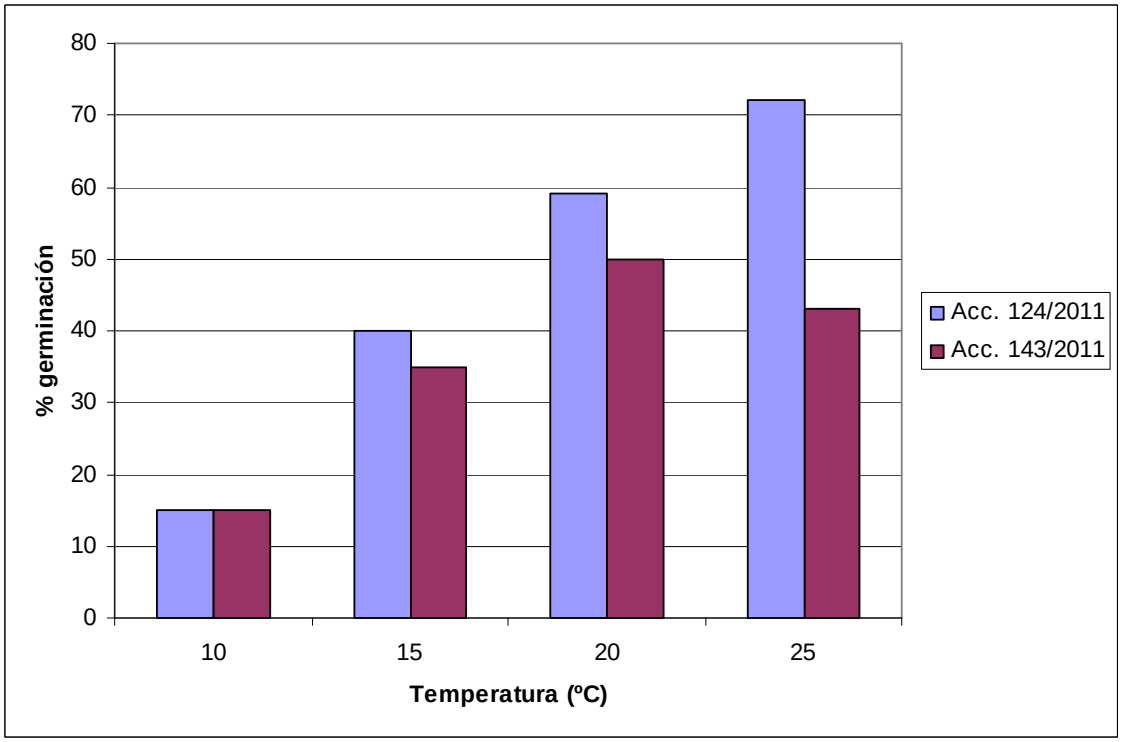
Tabla 22: Parámetros de germinación, accesión 124/2011.

Tratamiento	Germinación (%)	Duración ensayo (días)	T_0 (días)	Última germinación (días)	T_{50} (días)
LUZ 10ºC	15±3,42	62	19	62	32,4
LUZ 15ºC	40±2,31	62	12	54	18,4
LUZ 20ºC	59±5,51	62	12	48	10,6
LUZ 25ºC	72±3,65	62	5	54	6,2
OSC 10ºC	0	63	0	0	0
OSC 15ºC	0	63	0	0	0
OSC 20ºC	0	63	0	0	0
OSC 25ºC	0	63	0	0	0

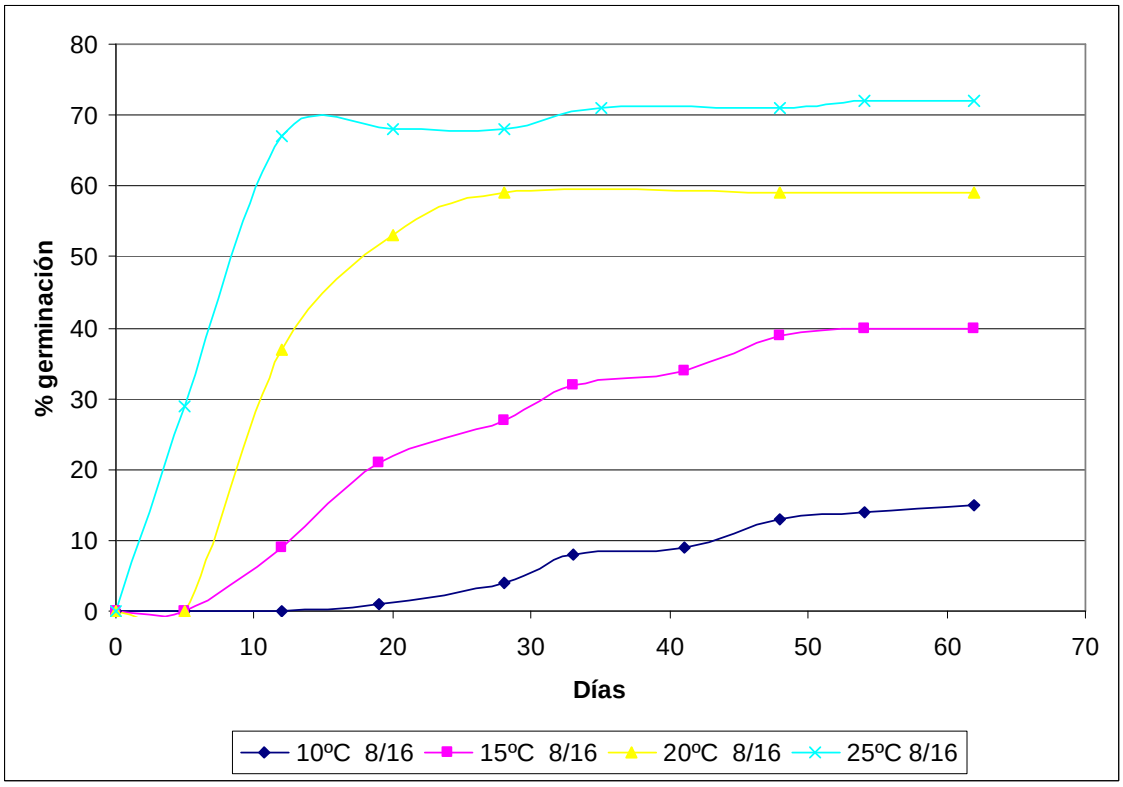
Tabla 23: Parámetros de germinación, accesión 143/2011.

Tratamiento	Germinación (%)	Duración ensayo (días)	T_0 (días)	Última germinación (días)	T_{50} (días)
LUZ 10ºC	15±1	62	19	62	30,5
LUZ 15ºC	35±5,26	62	16	44	13,7
LUZ 20ºC	50±2,58	62	12	41	10,8
LUZ 25ºC	43±9,15	62	5	41	8,3
OSC 10ºC	0	63	0	0	0
OSC 15ºC	0	63	0	0	0
OSC 20ºC	0	63	0	0	0
OSC 25ºC	0	63	0	0	0

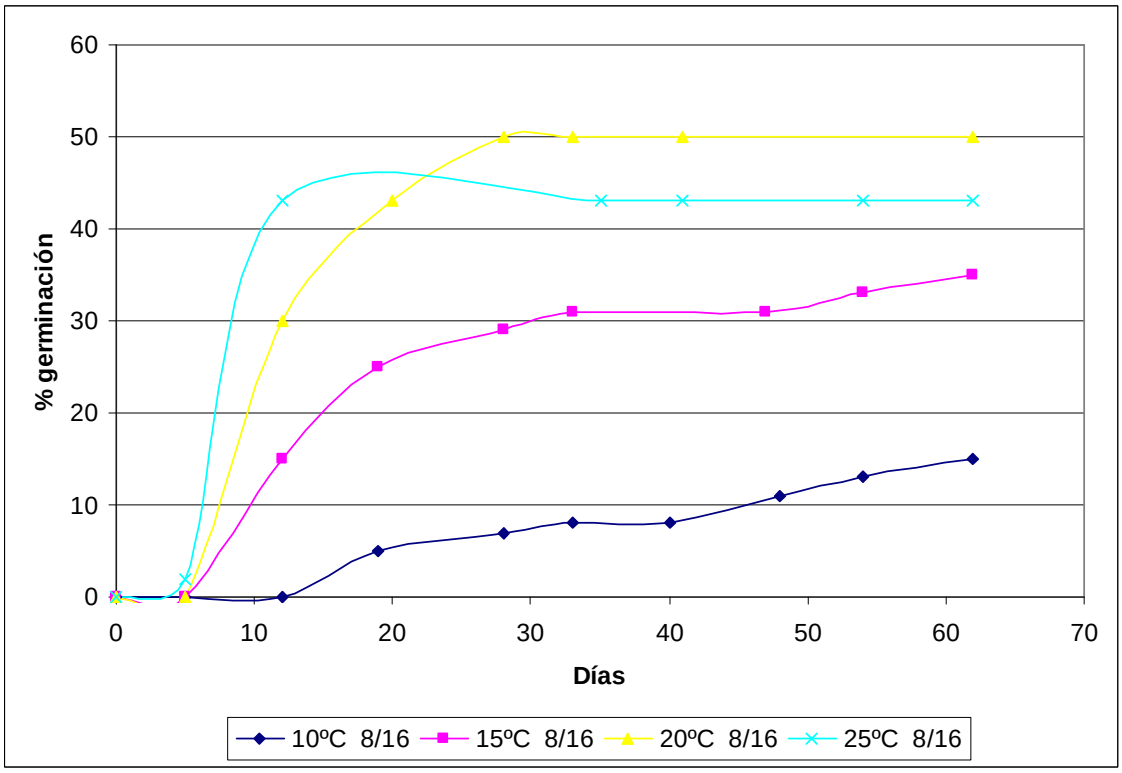
Gráfica 16: Porcentajes de germinación final de *Senecio carpetanus*, en condiciones de luz.



Gráfica 17: Curvas de germinación de accesión 124/2011 de *Senecio carpetanus* en condiciones de luz.



Gráfica 18: Curvas de germinación de accesión 143/2011 de *Senecio carpetanus* en condiciones de luz.



5.4. Conclusiones

Los resultados obtenidos para *Narcissus bulbocodium* subsp. *citrinus y Narcissus pseudonarcissus* subsp. *pallidiflorus,* se ajustan a la información bibliográfica recopilada previamente, donde se indica que generalmente los taxones este género requieren bajas temperaturas (10-15 ºC) y oscuridad para germinar, presentando una velocidad de germinación muy baja (valores de T_{50} elevados).

En el caso de *Narcissus bulbocodium*, la fotosensibilidad es menos acusada, ya que parte de las semillas sí germinan en condiciones de luz. Es decir, para esta especie la luz desfavorece el proceso germinativo, pero sin paralizarlo, de forma que la estabilización de los porcentajes de germinación en oscuridad a 10ºC entorno a los cien días, probablemente se deba a la alteración de las condiciones de oscuridad al realizar el recuento en luz, supuesto en el que incluso se podrían lograr porcentajes de germinación mayores de no interrumpir dicho fotoperiodo. En cambio, en el caso de *N. pseudonarcissus* subsp. *pallidiflorus*, la fotosensibilidad es muy marcada, la germinación en condiciones de luz es nula y los valores obtenidos en oscuridad a 10ºC a los 100 y 135 días son idénticos, de manera que posiblemente se haya paralizado el proceso germinativo mediante el golpe de luz aplicado durante el recuento intermedio de las placas de oscuridad.

Sería conveniente realizar nuevos experimentos sin interrumpir las condiciones de oscuridad, bien realizando un único recuento para todos los tratamientos al concluir el ensayo o mediante recuentos frecuentes empleando un dispositivo de luz verde que no afecte a dicho fotoperiodo. Sin lugar a dudas la segunda opción es la más beneficiosa, ya que permitiría obtener una cantidad suficiente de datos para el cálculo de los parámetros de germinación, el análisis estadístico de los resultados y la elaboración de gráficas que muestran el comportamiento del proceso a lo largo del tiempo con mayor precisión y claridad. De esta forma sería posible comprobar también el efecto del golpe de luz aplicado en los recuentos de las placas de oscuridad, si la estabilización y congelación de los valores de germinación se debe a su efecto o a haber alcanzado el porcentaje máximo de germinación del lote.

En *Narcissus bulbocodium* subsp. *citrinus,* el mayor porcentaje de germinación (94%) se ha obtenido en las placas sometidas a 10ºC durante 135 días, en condiciones de oscuridad (Tabla 24). Habría que valorar si ese pequeño incremento en el porcentaje de germinación compensa los gastos de esfuerzo, tiempo y espacio al mantener el ensayo un mes más o se considera suficiente el porcentaje obtenido en las placas sometidas a 10ºC durante 100 días, sin empleo de GA_3 y en condiciones de oscuridad (90%). Así el pretratamiento de las semillas mediante un periodo de temperatura cálida (100 días a 20ºC) no incrementa en este caso el porcentaje final, pudiéndose por lo tanto prescindir del mismo. Aunque el efecto que éste presenta tanto en la velocidad de germinación como en el retardo germinativo (en tan sólo 35 días se alcanzan porcentajes similares a los obtenidos en 100 días), resulta muy interesante para esta especie de germinación lenta, de forma que hace plantearse nuevas líneas de investigación con el fin de optimizar el tiempo de dicho pretratamiento y obtener así resultados más favorables. El uso de GA_3 para esta especie queda descartado.

En el caso de *Narcissus pseudonarcissus* subsp. *pallidiflorus* el mayor porcentaje de germinación (86%), se ha conseguido sometiendo sus semillas a 10ºC durante 35 días, previo pretratamiento a 20ºC durante 100 días, en condiciones de oscuridad y con empleo de GA_3 (Tabla 24). En este caso, se debería valorar si compensa la aplicación de dicha hormona, ya que no se aconseja su uso en semillas destinadas a producción de planta, debido al efecto mutágeno que presenta sobre las plántulas, considerando que se han obtenido porcentajes muy similares (82%) a 10ºC durante 35 días con pretratamiento de 100 días a 20ºC, en condiciones de oscuridad sin empleo de GA_3. En cualquier caso, se observa claramente que el pretratamiento de estratificación cálida resulta beneficioso en la germinación de *N. pseudonarcissus* subsp. *pallidiflorus*, a diferencia de lo observado en *N. bulbocodium*. Resultaría interesante también en este caso realizar diversas pruebas, con el fin de optimizar el tiempo de dicho pretratamiento y duración del ensayo.

Por último podemos concluir que la viabilidad de las accesiones de narcisos empleadas es muy alta y ha superado con creces las expectativas debido la complejidad de las condiciones de germinación, lentitud y posibles dormiciones que presentan las distintas especies de este género.

En el caso de *Merendera montana*, tras estudiar los resultados obtenidos se observa que las semillas de esta especie también requieren bajas temperaturas de germinación (10ºC) y presentan gran preferencia por germinar en condiciones de oscuridad, sin mostrar una fotosensibilidad tan marcada como las otras dos especies de geófitos estudiadas *Narcissus bulbocodium* y *Narcissus pseudonarcissus*. Sería también aconsejable llevar a cabo un nuevo ensayo realizando recuentos de oscuridad más frecuentes mediante un método que no afecte a dicho fotoperiodo. La velocidad de germinación de esta especie es tremendamente baja, tal y como se indicaba en la bibliografía sobre especies similares consultada.

Los mejores resultados se han obtenido en semillas sometidas a pretratamiento cálido (20ºC) durante 100 días y mantenidas en condiciones de oscuridad, sin empleo de GA_3, a 10ºC durante 35 días (35% en la accesión 014/2011 y 70% en la accesión 016/2011). Aunque si consideramos el periodo fuera del ensayo, se han llegado a alcanzar en esas mismas condiciones, porcentajes mucho mayores de incluso del 95% en la accesión 016/2011, ver tabla 24. Sería aconsejable realizar un nuevo ensayo germinando las semillas a 10ºC, tras ser pretratadas a 20ºC, como mínimo durante 90 días, de manera que exista una réplica de todos los tratamientos de oscuridad en condiciones de luz, para poder así comparar los resultados.

El empleo de GA_3 favorece la germinación de la especie, pero los resultados obtenidos son mucho menores que los alcanzados con las semillas sometidas a estratificación cálida y germinadas en oscuridad sin emplear dicha hormona, de forma que sería aconsejable desestimar su uso en futuros ensayos sobre esta especie.

El mayor porcentaje de germinación obtenido para la accesión 14 es de 34% (39% ampliando tiempo del ensayo) y para la accesión 16 es de 70% (95% ampliando el tiempo del ensayo). Considerando la complejidad de los protocolos de germinación observados en especies similares, presencia de dormición morfofisiológica y considerando que en el estudio de *Colchicum macrophyllum* los mejores resultados obtenidos son del 70%, podemos concluir que la viabilidad de la muestra 016/2011,

recogida en las campas de Olárizu es elevada y para la 014/2011, recogida en Uribarri-Arrazua, es baja. Ambas accesiones fueron recogidas en la misma época pero en zonas distintas de manera que puede que el estado de maduración no sea el mismo.

Berula erecta requiere luz para germinar y aunque germina a todas las temperaturas, los mayores porcentajes (81% para accesión 124/2011 y 89% para la 144/2011) para esta especie se obtienen manteniendo las semillas a 20ºC durante 64 días (Tabla 24).

La diferencia en los porcentajes entre ambas accesiones se puede deber al estado de maduración de las semillas, ya que en la primera recolección las plantas presentaban gran cantidad de semillas todavía inmaduras y las semillas con aspecto más maduro, e incluso apariencia más saludable que las de la segunda recolección, posiblemente no habían alcanzado el punto máximo de madurez. Sería conveniente realizar otro ensayo con semillas recolectadas a finales de octubre o principios de noviembre, para así concretar la fecha óptima de recolección de semillas para la población de *Berula erecta* de estudio.

El tiempo de ensayo parece ser adecuado, suficiente como para que los porcentajes de germinación se estabilicen en los distintos tratamientos. Las semillas comienzan a germinar entorno a los 10-20 días.

Respecto a la viabilidad de las semillas, podemos decir que es elevada y tratándose de una especie en peligro de extinción para la que no existe bibliografía previa acerca de su protocolo de germinación, la obtención de resultados cercanos al 90% es un resultado más que satisfactorio.

Galium boreale también requiere luz para germinar y aunque prácticamente ha germinado a todas las temperaturas, los mayores porcentajes para esta especie se obtienen a 20ºC durante 64 días con semillas no escarificadas (Tabla 24).

Los porcentajes de germinación alcanzados han sido bastante bajos, probablemente no por una baja viabilidad de las semillas, sino por una posible dormición física al presentar una cubierta impermeable y no haber escogido el método adecuado para su ruptura o no haberlo realizado correctamente. Sería conveniente llevar a cabo nuevos ensayos, escarificando las semillas mediante la pulidora durante más tiempo o empleando otros métodos de escarificación mediante papel de lija o extracción manual de la cubierta seminal.

El tiempo de ensayo parece ser adecuado, suficiente como para que los porcentajes de germinación se estabilicen en los distintos tratamientos. Las semillas comienzan a germinar entorno a los 5-10 días.

Por último, en el caso de *Senecio carpetanus* los mayores porcentajes se alcanzan en condiciones de luz (8/16), manteniéndolas a 25ºC durante 64 días para la accesión 124/2011 (72%) y a 20ºC para la 143/2011 (50%).

A pesar de obtener una tasa de germinación bastante elevada, los porcentajes en realidad deberían ser todavía mayores, ya que en la toma de datos tan solo se contabilizaron las semillas germinadas, sin tener en cuenta las semillas vanas o vacías.

Teniendo en cuenta que el número de frutos sin semilla (que se observaban completamente translucidas al finalizar el ensayo) era muy elevado, los resultados obtenidos habrían sido notablemente mayores. De esta manera, no podemos decir que la viabilidad de las accesiones sea baja y los resultados obtenidos superan con creces las expectativas, más aun al tratarse de una planta en peligro de extinción sin bibliografía previa, como sucedía con *Berula erecta*.

Por otro lado como hemos dicho, los porcentajes obtenidos con la accesión 124/2011, recogida el 14 de septiembre, aunque las condiciones el día de recolección fuesen desfavorables, son superiores a los obtenidos con la 143/2011, recogida el 4 de octubre.

Además el corto tiempo de retardo, la alta velocidad de germinación, su pequeño tamaño y la emergencia radicular casi simultánea a la emergencia de los cotiledones complicó de forma notoria la siembra a tierra de las semillas germinadas.

Con todo esto concluimos que para futuros ensayos con esta especie sería recomendable realizar recuentos diarios, pudiendo sembrar las semillas antes de la emergencia de los cotiledones y anotar tras el ensayo el número de semillas vanas.

Tabla 24: Condiciones óptimas de germinación (empleando agar-agar 0,6% como medio de germinación)

	T(ºC)	Fotoperiodo	Pretatamiento	Duración ensayo (días)	Porcentaje germinación (%)
N. bulbocodium subsp. *citrinus*	10	Oscuridad	-	135	94
N. pseudonarcissus subsp. *pallidiflorus*	10	Oscuridad	Estratificación cálida (100 días 20ºC)	35	82
Merendera montana	10	Oscuridad	Estratificación cálida (100 días 20ºC)	88	35 (acc. 014) 95 (acc. 016)
Berula erecta	20	8/16	-	64	89 (acc.144) 81 (acc.124)
Galium boreale	20	8/16	-	64	32.5
Senecio carpetanus	25	8/16	-	64	72 (acc. 124)
Senecio carpetanus	20	8/16	-	64	50 (acc.143)

6. Cultivo de las especies prioritarias de los Robledales isla de Llanada Alavesa en el Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu

6.1. Introducción

En cuarto lugar, se han llevado a cabo ensayos de producción y multiplicación de planta, necesarios para poder llevar a cabo los ensayos de cultivo y reintroducción en las parcelas experimentales del Jardín Botánico de Olarizu.

El Jardín Botánico de Olarizu cuenta con cuatro cámaras de germinación y crecimiento, un invernadero, un umbráculo y bancales de producción para llevar a cabo los ensayos de producción y multiplicación de planta.

El principal objetivo de las colecciones de los bancos de germoplasma en el campo de la conservación es la producción de plantas, con el fin de destinarlas a refuerzos poblacionales, creación de colecciones vivas o nuevas poblaciones, obtención de semillas para la reposición de las accesiones o para destinarlas a estudios científicos. Se trata pues de la etapa final y fundamental ya que la conservación de semillas carecería de sentido si no se tiene la capacidad de reproducir dicho material.

A pesar de esto, es un proceso muy complicado ya que son pocos los bancos que se dedican al cultivo de plantas silvestres amenazadas, de forma que el conocimiento respecto a establecer una metodología es muy escaso. En España, salvo notables excepciones (Red Andaluza de Jardines Botánicos, Jardín Botánico Viera y Clavijo, Parque Nacional del Teide, y Jardín Botánico de Soller principalmente) existe muy poca experiencia al respecto. Mediante el Proyecto *Phoenix 2014*, iniciativa de la Asociación Ibero-Macaronésica de Jardines Botánicos (AIMJB), se pretende establecer los protocolos de germinación, producción de planta y cultivo de las especies más amenazadas de la flora española, conocer el momento óptimo en el desarrollo de las distintas especies para introducirlas con éxito en su hábitat natural, así como exponer una muestra de las especies seleccionadas en las colecciones de cada Jardín Botánico.

Al igual que sucede para el proceso de germinación, las exigencias ecológicas de las distintas especies son muy variables de forma que cada una presenta un protocolo de siembra y producción de planta específico y adecuado a sus necesidades. De forma que éste reproduzca en la medida de lo posible las condiciones ambientales naturales del hábitat al que pertenecen las distintas especies. Se deben considerar así las condiciones climáticas (temperatura, luz y humedad) y las condiciones edáficas (tipo de suelo, acidez, nutrientes…). Es recomendable entonces sembrar las especies de necesidades ecológicas diferentes en distintos semilleros (agrupando las de necesidades similares, incluso con sustratos distintos), exponiendo así cada semillero a distintas condiciones en función de sus requerimientos (exposición solar, cantidad de riego, tipo de sustito…). Por lo tanto, considerar el número de taxones y sus necesidades ecológicas es de vital importancia.

En el caso de semillas de plantas amenazadas, en las que generalmente el número de semillas limita los ensayos de germinación y más aun de producción de planta, es necesario realizar una búsqueda bibliográfica previa y el contacto con bancos de germoplasma que hayan desarrollado protocolos de producción para la misma especie.

Si se conoce el protocolo de germinación de la especie en concreto, las semillas pueden ser sembradas directamente en el sustrato adecuado bajo las condiciones óptimas de temperatura, luz y humedad. En caso contrario, se debe investigar dicho protocolo repicando las semillas germinadas a contenedores adecuados con sustrato adecuado. Con especies amenazadas lo ideal es trabajar en condiciones de laboratorio, cámaras de germinación o de crecimiento, donde el control de dichos parámetros es completo y automatizado, obteniendo así un mayor porcentaje de germinación, un uso más eficaz de un número limitado de semillas. En este caso, se aconseja no pasar las plantas ya emergidas directamente al invernadero, sino mantenerlas un mínimo de 3 a 4 días en la cámara par observar así su evolución y desarrollo. Otras opciones de producción de planta son los bancos termorregulados, invernaderos o las siembras en el exterior protegiendo la zona de ciertos agentes meteorológicos, herbívoros, etc. Lógicamente a menor control de condiciones, menor porcentaje de germinación, esto es, se precisa mayor cantidad de semillas para obtener mismo número de planta, de forma que es menos eficaz o válido para el caso concreto de especies amenazadas.

Debido a la escasa información existente sobre la germinación y producción de plantas silvestres amenazadas, es de especial importancia registrar el máximo de información posible a cerca de los procesos llevado a cabo así como los resultados obtenidos con ellos.

Por último, la recolección del material vegetativo y su posterior propagación puede ser una buena vía, a veces la única, para la conservación de un genotipo, de un taxón o de una población. Las técnicas de propagación vegetativa convencionales pueden emplearse en el caso de poblaciones en grave peligro de extinción, de poblaciones o individuos que no producen semillas o que producen cantidades muy pequeñas. También es una buena estrategia de conservación para especies que se propagan fácilmente por vía vegetativa, o para especies con semillas recalcitrantes. Por lo general se puede utilizar cualquier parte de la planta para su propagación vegetativa. Teniendo en cuenta las metodologías de propagación clásicas, los materiales más utilizados son las estaquillas aéreas herbáceas o leñosas, las estaquillas de raíz, los rizomas, los tubérculos y los bulbos.

6.2. Material y métodos

Parte de la colección del Banco de Germoplasma de Vitoria-Gasteiz se ha destinado a ensayos de germinación y producción de planta. Concretamente se ha empleado cierta cantidad de semillas de 7 accesiones de especies prioritarias de los Robledales isla de la Llanada Alavesa, con el objetivo de introducirlas posteriormente en parcelas experimentales del Jardín Botánico de Olárizu al cual pertenece. En un futuro se espera también destinar parte de la colección al intercambio a través del *Index Seminum* con otros bancos de germoplasma.

Ambos procesos, ensayos de germinación y producción de planta, se realizaron de forma conjunta, de manera que a medida que las semillas germinaban eran sembradas en un contenedor y sustrato adecuados a las distintas especies de estudio, procurando siempre llevarlo a cabo en el menor tiempo posible, el mismo día en el que se realizaban los recuentos de germinación. La siembra de semillas ya germinadas, es un paso clave y delicado que condiciona en gran medida la cantidad final de planta, de forma que se realizó con extremo cuidado puesto que al trabajar con especies silvestres prioritarias, la pérdida de planta sería muy perjudicial.

Como se ha detallado anteriormente, se llevaron a cabo diversos ensayos de germinación, en 2 sesiones diferenciadas, para 6 especies, de las cuales todas a excepción de *Merendera montana* aparecen incluidas en el Catálogo Vasco de Especies Amenazadas 2011. En la primera sesión se realizó un ensayo conjunto con semillas frescas pertenecientes a 3 especies de geófitos de condiciones ecológicas similares: *Narcissus bulbocodium* subsp. *citrinus*, *Narcissus pseudonarcissus* subsp. *pallidiflorus* y *Merendera montana*. Mientras que en la segunda se estudió el proceso germinativo en semillas frescas de 3 especies de zonas húmedas continentales y hábitats con elevada humedad edáfica: *Berula erecta*, *Galium boreale*, *Senecio carpetanus*.

Los contenedores empleados se escogieron considerando características propias de las distintas especies (tipo de sistema radical y tamaño estimado que pueden alcanzar las plantas hasta su repicación en las parcelas experimentales), así como el número de plantas, espacio e infraestructuras disponibles. En el ensayo de germinación conjunto de las 3 especies geófitas citadas anteriormente, se emplearon diferentes tipos de bandejas perforadas con distinto número y tamaño de alvéolo (bandeja hortícola de 28 alvéolos de 6 cm, bandeja hortícola de 18 alvéolos de 9 cm, bandeja forestal de 50 alvéolos de18 cm y bandeja forestal de 48 alvéolos de18 cm), hasta comprobar que el sistema más adecuado y adaptado al ensayo consistía en bandejas forestales de plástico rígidas con 54 alvéolos de 16cm de profundidad, al permitir obtener un mayor número de plantas en el menor espacio posible, ser de fácil manejo y poder ser reutilizadas al no estropearse fácilmente por el sol. Este último tipo de contenedor ha sido el utilizado para el resto de ensayo realizados.

El sustrato, que debe ser también escogido en función de la especie a cultivar, debe ser ligeramente ácido, con capacidad de tamponar, de textura fina, elevada porosidad, estructura estable, alto contenido en materia orgánica y baja salinidad (Raymond, 1989), presentando así una buena retención hídrica, facilidad de humidificación y buena capacidad de aireación. Considerando que las plantas objeto de estudio no presentan grandes exigencias edáficas, se empleó sustrato profesional orgánico de turba herbácea con enmienda orgánica (Lorelurra 60l), manteniéndolo siempre para las especies del segundo ensayo en condiciones de encharcamiento.

La siembra de semillas en el sustrato, en este caso una vez germinadas, es un paso clave y delicado que debe realizarse con el máximo cuidado posible, para evitar cualquier daño en la radícula recién emergida que provoque la muerte de la futura plántula. La siembra se realizó manualmente empleando pinzas de laboratorio en todos los casos. La profundidad de siembra varía en función del tipo de planta, tamaño de la semilla y la necesidad o no de luz para completar el proceso germinativo hasta la emergencia de los cotiledones. Una vez colocadas las semillas en el sustrato, se

compactó con la mano y se regó ligeramente, para evitar escorrentía, desenterramiento de la semilla o cambios de alvéolo por arrastre del agua de riego.

Cabe destacar el caso concreto de *Berula erecta* y *Senecio carpetanus*, especies con una velocidad de germinación y tasa de crecimiento bastante elevadas. En ambas especies sería más correcto emplear el término de repicado, ya que la mayoría de las veces las semillas se colocaron en el semillero una vez finalizado el proceso germinativo, esto es, con los cotiledones completamente emergidos, aumentando considerablemente la dificultad del proceso. En el caso de la *Berula erecta*, a la hora de realizar los recuentos de germinación semanales, las plántulas presentaban ya dos cotiledones de tamaño considerable, siendo posible enterrar la diminuta raíz con ayuda de pinzas de laboratorio, dejando ambos cotiledones ya emergidos. Mientras que en el caso de *Senecio carpetanus*, con una velocidad de germinación todavía mayor, prácticamente la totalidad de las semillas presentaban ya los cotiledones emergidos y embebidos en agar, siendo imposible en este caso, debido al pequeño tamaño de las semillas y las plántulas, enterrar únicamente la radícula.

Por último, en las semillas de los narcisos y *Merendera montana* germinadas en oscuridad, el proceso germinativo estaba también completamente finalizado a la hora de pasarlas al semillero. En este caso, debido al tamaño de los cotiledones y consistencia de las plántulas, fue un proceso relativamente sencillo, realizándolo con sumo cuidado para evitar la ruptura de la pequeña plántula y su muerte.

Las semillas (o plántulas) se colocaron en los semilleros, una por alvéolo, en función del orden de germinación, manteniendo siempre constante la temperatura. Esto es, a medida que las semillas de una cámara germinaban, a una temperatura concreta (10, 15, 20 o 25ºC), se iban sembrando en las bandejas forestales, registrando siempre en la Base de Datos del Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu, la localización en los distintos semilleros y el tratamiento al que habían sido sometidas cada una de las semillas.

Las bandejas forestales se mantuvieron en el interior de las cámaras de germinación durante un tiempo variable, en función del crecimiento de las plantas, espacio disponible, época del año y condiciones meteorológicas antes de ser transportadas al invernadero. Durante aproximadamente 2 semanas, cada bandeja se mantuvo a la misma temperatura en la cual habían germinado las semillas que albergaban. Pasado ese tiempo y tras observar el crecimiento de las distintas especies a las distintas temperaturas, se optó por mantener las bandejas a la temperatura en la cual las plantas presentaban un aspecto más sano y vigoroso. Como proceso de aclimatación previo al transporte al invernadero, se realizó un descenso paulatino y controlado de la temperatura durante las 2 últimas semanas hasta equipararla en la medida de lo posible con la temperatura ambiental media existente en los invernaderos.

Durante la estancia en las cámaras de germinación, los semilleros forestales se colocaron sobre bandejas plásticas impermeables. Permitiendo su hidratación desde la base por capilaridad y mantener las especies de la segunda sesión de ensayos en condiciones de encharcamiento, renovando el agua estanca periódicamente para reducir en la medida de lo posible la proliferación de algas. Mediante este sistema de hidratación se disminuyó el número de riegos por superficie, prácticamente limitado a los alvéolos con plántulas todavía sin emerger, evitando la pudrición del material

vegetal ya emergido. Todos los riegos se realizaron con agua corriente sin adición de fertilizantes y el fotoperiodo se mantuvo siempre constante (8/16).

Una vez las plantas iban presentando un tamaño y vigor considerable, tras un periodo de aclimatación previo, se fueron transportando al invernadero de forma gradual. Las bandejas forestales se colocaron sobre mesas de cultivo de superficie enrejada, que favorecen la formación de un mejor y más proporcionado sistema radical, con cuidado de evitar traumas y roturas de las raíces, ya que al haber estado sobre una superficie impermeable y húmeda las raíces habían tendido a escarpar de las bandejas forestales. El riego se realizo de forma automatizada por aspersión. Las hierbas infestantes fueron eliminadas manualmente, procurando no dañar las raíces o desenterrar las plantas cultivadas.

Todo el proceso de producción de planta fue registrado e informatizado pasando a formar parte de la Base de Datos del Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu, ya que existen muy pocas experiencias en la producción de planta silvestres amenazadas y toda la información producida durante este proceso será de gran importancia. Se anotó la fecha de siembra y ubicación concreta de cada semilla germinada (cámara, bandeja, alvéolo), se registraron las condiciones a las que fueron sometidas las distintas bandejas (temperaturas y fotoperiodo), así como las fechas en las que se transportaron las distintas bandejas al invernadero. Durante la estancia en las cámaras de germinación, se realizaron recuentos semanales de emergencia y muerte de plántulas, disminuyendo la frecuencia de éstos tras su traslado al invernadero. En el último recuento realizado el día 26 de abril, se eliminaron manualmente las plántulas obtenidas a partir de semillas tratadas con GA_3, ya que estas no pueden ser introducidas en las parcelas experimentales.

A partir de los datos registrados calculamos: el Porcentaje de supervivencia (%) a la repicación o siembra de semillas ya germinadas, mediante el número de semillas sembradas y el número de plántulas emergidas y vivas a las dos semanas de ser colocadas en semillero, así como el Porcentaje de supervivencia final (%), considerando el número de semillas sembradas y el número de plántulas existentes en el último recuento realizado.

Las semillas no germinadas durante los ensayos, fueron sembradas directamente en tierra y sometidas a las condiciones en las que se habían obtenido los mayores porcentajes de germinación con el fin de no perder semilla y obtener más cantidad de planta, ya que se trata especies amenazadas.

Además de la producción de planta a partir de semillas, se realizó también producción de planta a partir de material vegetativo con *Littorella uniflora* (L.) Ascherson. Tras varios días de recolección con pinzas, debido al pequeño tamaño de la la planta, sus flores y frutos, tras limpiar la muestra y obtener únicamente una semilla, realizamos una búsqueda bibliográfica en la que obtuvimos que ésta apenas produce semilla y se reproduce básicamente de forma vegetativa. Aprovechando las plantas que crecían sobre zonas de sustrato fangoso removidas por los jabalíes, con una curiosa predilección por escarbar sobre los pequeños grupos que forman la población de esta diminuta planta, cogimos una mezcla de fango y restos vegetales que fueron repicados a unas bandejas de rejilla y colocadas en el estanque de la Casa de la Dehesa de Olárizu, a

la espera de que se reproduzca vegetativamente e incorporarla en un futuro al Jardín de Plantas Útiles y Amenazadas del Jardín Botánico de Olarizu.

6.3. Resultados y discusión

En todos los ensayos en el 100% de los casos se obtuvieron plántulas normales, provistas de órganos esenciales para la vida de la futura planta, incluyéndose aparentemente dentro de la categoría de plántulas intactas, sin leves defectos ni infecciones secundarias.

Como se observa en los resultados para todas las especies de estudio (Tablas 25, 26 y 27), el Porcentaje de supervivencia final presenta valores similares, aunque siempre menores, al Porcentaje de supervivencia a la repicación, esto es, la mayoría de plántulas se pierden en el momento de traspaso de las semillas recién germinadas en placa con agar al semillero. Dicho de otra forma, el número de plántulas una vez emergidas o repicadas que mueren durante su estancia en las cámaras de germinación o traslado al invernadero, es muy bajo.

Los mayores porcentajes de supervivencia tanto a la siembra de semillas germinadas (o repicación) como final, los presentan *N. bulbocodium* y *N. pseudonarcissus* (Tabla 25), en contraste con el *Senecio carpetanus*, especie en la que se ha producido la mayor perdida de planta, especialmente durante el proceso de repicado.

Tabla 25: Resultados de producción de planta de los ensayos de la primera sesión.

	Nº semillas sembradas	Nº plántulas emergidas	Nº de plántulas muertas	Nº plántulas obtenidas	Porcentaje de supervivencia a repicación (%)	Porcentaje de supervivencia final (%)
N. bulbocodium	391	298	7	291	76,21	74,42
N. pseudonarcisus	226	131	3	128	57,96	56,64
M. montana	350	119	12	107	34,00	30,57

Tabla 26: Número actual de plantas de la primera sesión de ensayos.

	Nº plántulas obtenidas	Plántulas eliminadas (GA3)	Nº plántulas actual
N. bulbocodium	291	117	174
N. pseudonarcisus	128	11	117
M. montana	107	26	81

Tabla 27: Resultados de producción de planta de los ensayos de la segunda sesión.

	Nº semillas sembradas	Nº plántulas emergidas	Nº de plántulas muertas	Nº plántulas obtenidas	Porcentaje de supervivencia a repicación (%)	Porcentaje de supervivencia final (%)
B. erecta	498	150	21	129	30,12	25,90
G. boreale	93	35	2	33	37,63	35,48
S. carpetanus	367	54	10	44	14,71	11,99

6.4. Conclusiones

Los resultados obtenidos muestran que la mayor pérdida de planta se produce durante el proceso de siembra de semillas ya germinadas. Considerando que las especies de estudio, como es común en plantas silvestres amenazadas, carecían de protocolo de germinación, fue necesario realizar ensayos sobre dicho proceso hasta dar con la temperatura y condiciones óptimas requeridas por cada especie.

Al emplear las semillas destinadas a ensayos de germinación para la producción de planta, conseguimos minimizar al máximo el número de semillas usado, con el inconveniente de tener que realizar la siembra de semillas ya germinadas y en algunos casos la repicación de pequeñas plántulas. Aumentando de esta manera la dificultad, el esfuerzo y el tiempo empleados. Para futuras situaciones en las que sea necesario producir planta de alguna de las especies estudiadas, sería ya posible realizar directamente la siembra en sustrato y mantener las bandejas en las condiciones mediante las cuales se obtuvo un mayor porcentaje de germinación. En este caso se esperaría obtener una cantidad de planta mayor al evitar el delicado paso del proceso con el que se ha producido la mayor pérdida de planta.

Sería conveniente para futuros ensayos realizar recuentos de germinación diarios, para así evitar la posible pérdida de planta en especies como *Senecio carpetanus*, en las que su elevada tasa de germinación y crecimiento junto con su diminuto tamaño complica aun más el repicado al semillero, pudiendo ser esta la causa de los resultados obtenidos.

En casos de especies con baja o nula producción de semillas y una vigorosa reproducción vegetativa, siempre y cuando existan numerosas poblaciones y éstas cuenten con suficiente cantidad de individuos, como en el caso de Littorella uniflora, cuyos rizomas pueden ser recogidos en campo sin ninguna dificultad y sin suponer ninguna afección grave a la población la recolección de explanaos para su reproducción vegetativa y cultivo es una opción satisfactoria.

7. Introducción de las especies prioritarias de los Robledales isla de Llanada Alavesa en las parcelas experimentales del Jardín Botánico de Olarizu

En quinto lugar, se ha ensayado la viabilidad de las plantas producidas en las distintas parcelas experimentales de cultivo y reintroducción del Jardín Botánico de Olarizu.

El éxito de los ensayos de germinación, producción y multiplicación, cultivo y reintroducción permitirá sentar las bases para desarrollar en el futuro programas de restauración de áreas degradadas y de reintroducción o refuerzo de las poblaciones de flora amenazada y característica de los Robledales isla de la Llanada Alavesa.

El Jardín Botánico de Olarizu cuenta con una serie de parcelas experimentales a disposición del Banco de Germoplasma: dos de ellas se ubican en el Robledal de Olarizu y el arroyo con el mismo nombre, otra corresponde a una zona de trampal y otras dos a una zona de prado-juncal. La gestión de estas tres últimas parcelas dependía del Servicio de Parques y Jardines del Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz hasta el año 2011, de forma que eran sometidas a frecuentes siegas. Tras el redescubrimiento de *Galium boreale* y la delimitación del área ocupada por su población actual, se cedió la gestión de estas parcelas al CEA, con el objetivo de proteger y recuperar la población de *Galium boreale* presente y regenerar el hábitat en que se vive esta especie. Por último, en el Lago del Jardín Botánico de Olarizu, el Banco de Germoplasma cuenta también con un espacio donde introducir aquellas especies ligadas a medios acuáticos continentales.

De este modo, el día 3 marzo del 2012, se introdujeron 15 plantas de *Berula erecta* en la parcela experimental del Lago del Jardín Botánico de Olarizu, con una separación de aproximadamente un metro entre planta y planta, en una zona de la orilla con encharcamiento fluctuante. Se introdujeron otras 6 en el arroyo de Olarizu. Todas ellas perviven a día 15 de julio de 2012, presentando un perfecto estado fitosanitario y un desarrollo vigoroso, tras un primer periodo de aclimatación a las nuevas condiciones. A continuación, el día 15 de mayo de 2012 se introdujeron 15 plantas de *Galium boreale*, obtenidas a partir de semillas de la población de las Campas de Olárizu, en la parcela experimental cercana a la zona donde fue redescubierta dicha población.

En el futuro, una vez bien desarrollados los bulbos, se introducirá *Narcissus pseudonarcissu*s subsp. *pallidiflorus* en las parcelas del Robledal de Olarizu, mientras que *Narcissus bulbocodium* y *Merendera montana* se introducirán en el prado-trampal asociado al Robledal de Olarizu.

Durante los años venideros se realizará el debido seguimiento de estos ensayos de cultivo y reintroducción que sentarán las bases para futuras acciones de conservación *in situ* (introducciones benignas, reintroducciones, fundación de nuevas poblaciones, refuerzos poblacionales, restauración de hábitats degradaos, etc.) que se puedan realizar respecto a la flora amenzada de los Robledales isla de la Llanada Alavesa.

8. Divulgación científica de los objetivos y resultados de este proyecto.

Los objetivos y resultados de este proyecto han sido divulgados entre la comunidad científica mediante la presentación de comunicaciones orales y diversos pósters en distintos congresos y jornadas científicas que a continuación se detallan:

XI Simposio de la Asociación Ibero-Macaronésica de Jardines Botánicos (AIMJB).
Organiza: Asociación Ibero-Macaronésica de Jardines Botánicos (AIMJB).
Tipo de participación: Comunicación oral y póster.
Lugar y Fecha: Jardim Botânico do Faial, Horta, Ilha do Faial, Açores, Portugal, 15-19 de Junio 2011.

V Congreso de Biología de la Conservación de Plantas.
Organiza: Sociedad Española de Biología de la Conservación de Plantas
Tipo de participación: Póster.
Lugar de celebración: Es Mercadal, Menorca (España), del 28 Septiembre al 1 de Octubre 2011.

Jornadas Científicas "Bancos de Germoplasma: Reservorios de Biodiversidad".
Organiza: Universidad de León .
Tipo de participación: Póster.
Lugar de celebración: Univeridad de León (León, España), del 6 al 7 Octubre 2011.

III Jornadas Técnicas de los Jardines Botánicos: Hacia la sostenibilidad.
Organiza: Asociación Ibero-Macaronésica de Jardines Botánicos (AIMJB).
Tipo de participación: Póster.
Lugar de celebración: Real Jardín Botánico Juan Carlos I de la Universidad de Alcalá (Alcalá de Henares, España), del 6 al 8 de junio del 2012.

9. Divulgación y sensibilización ciudadana sobre los objetivos y resultados de este proyecto.

El Jardín Botánico de Olarizu, que incluye en su extensión el Parque periurbano de Olarizu, es un espacio público, integrado en el Anillo Verde de Vitoria-Gasteiz, entorno que ha permitido llevar a cabo actividades de divulgación y sensibilización de los objetivos y resultados del proyecto mediante la edición de folletos informativos que están disponibles al público en el espacio de información medioambiental de la Casa de la Dehesa de Olarizu (Centro de recepción de visitantes del Jardín Botánico de Olarizu y actual sede del CEA).

Los folletos editados incorporan información sobre la labor que desempeña el Jardín Botánico en la Conservación Vegetal con referencia concreta a los objetivos y resultados del proyecto que nos ocupa. Los contenidos versan sobre la necesidad de conservar *in situ* el rico patrimonio biológico de los Robledales isla de la Llanada Alavesa, el bosque autóctono, sobre la conservación *ex situ* a largo plazo de dicho patrimonio y el estudio de los protocolos de germinación en el Banco de Germoplasma que posibilitan y/o mejoran medidas de conservación *in situ* como la reintroducción o refuerzo poblacional de las especies más amenazadas y características, para evitar o minimizar la posibilidad de daños irreversibles en sus poblaciones o incluso su extinción, la restauración de áreas degradas de estos hábitats, las especies que se han estudiado, los resultados y aportaciones más relevantes, etc. en un estilo sencillo, directo y asequible para todos los públicos.

Los folletos han sido distribuidos en todos Centros Cívicos de los barrios de Vitoria-Gasteiz y en todas las oficinas municipales para que estén a disposición de la ciudadanía, así como en las facultades y bibliotecas de la Universidad del País Vasco existentes en la ciudad para que estén al alcance de la comunidad universitaria. Además, ha sido enviado a todas las asociaciones de vecinos, asociaciones culturales y fundaciones existentes en el municipio y su edición digital ha sido enviada via *mailing* a todos los contactos que reciben periódicamente el Boletín Digital del CEA. A continuación se detalla el listado de centros cívicos, oficinas municipales y otras entidades que han recibido folletos divulgativos para su difusión:

ARANA EUSKALTEGIA
ARATZ EUSKALTEGIA
ASOC. VECINOS GURE AUZUNE
ASOCIACIÓN DE CONCEJOS DE VITORIA. CASA DE HIJOSDALGOS
ASOCIACIÓN LAS CUATRO TORRES
AYUNTAMIENTO VITORIA-GASTEIZ-OFICINA MUNICIPAL DE INFORMACIÓN JOVEN
AYUNTAMIENTO VITORIA-GASTEIZ-PALACIO ZULUETA
AYUNTAMIENTO VITORIA-GASTEIZ-DPTO. PROMOCIÓN ECONÓMICA
AYUNTAMIENTO VITORIA-GASTEIZ-PALACIO DE VILLASUSO
AYUNTAMIENTO VITORIA-GASTEIZ-CULTURA. PALACIO DE MONTEHERMOSO
AYUNTAMIENTO VITORIA-GASTEIZ-SERVICIO DE CONGRESOS Y TURISMO
AYUNTAMIENTO VITORIA-GASTEIZ-DPTO. ASUNTOS SOCIALES Y DE LAS PERSONAS MAYORES
AYUNTAMIENTO VITORIA-GASTEIZ-OFICINA DE TURISMO
AYUNTAMIENTO VITORIA-GASTEIZ-SERV. INFORMACIÓN CIUDADANA
BIBLIOTECA CENTRAL. CAMPUS ÁLAVA
CASA DE LA CULTURA - D.F.A.-DPTO. CULTURA
CENTRO CÍVICO ABETXUKO
CENTRO CÍVICO ALDABE
CENTRO CÍVICO ARANA

CENTRO CÍVICO ARIZNABARRA
CENTRO CÍVICO ARRIAGA
CENTRO CÍVICO EL CAMPILLO
CENTRO CÍVICO EL PILAR
CENTRO CÍVICO HEGOALDE
CENTRO CÍVICO IBAIONDO
CENTRO CÍVICO IPARRALDE
CENTRO CÍVICO JUDIMENDI
CENTRO CÍVICO LAKUA
CENTRO SOCIO-CULTURAL ADURZA
CENTRO SOCIO-CULTURAL ERREKALEOR
CENTRO SOCIO-CULTURAL SAN MARTÍN
CENTRO SOCIO-CULTURAL SANTA LUCÍA
CLUB NAUTICO VITORIA
DIPUTACIÓN FORAL DE ÁLAVA-OFICINA DE REGISTRO
ESCUELA DE INGENIERÍA TÉCNICA
ESCUELA UNIVERSITARIA DE MAGISTERIO
ESCUELA UNIVERSITARIA DE TRABAJO SOCIAL
ESCUELA UNIVERSITARIA ESTUDIOS EMPRESARIALES
FACULTAD FILOLOGÍA, GEOGRAFÍA E HISTORIA
FUNDACIÓN ECOLOGISTA GAIA
FUNDACIÓN JESÚS OBRERO
GASTEIZ EUSKALTEGIA
INSTITUTO VASCO DE EDUCACIÓN FÍSICA
MUSEO DE CIENCIAS NATURALES DE ÁLAVA
OFIC. ATENC. CIUDADANA-POLIDEPORTIVO ARANALDE
OFIC. ATENC. CIUDADANA-CENTRO SOCIAL SAN MARTÍN
OFIC. ATENC. CIUDADANA-POLIDEPORTIVO ABETXUKO
OFIC. ATENC. CIUDADANA ARIZNABARRA-POLIDEPORTIVO ARIZNABARRA
OFIC. ATENC. CIUDADANA MENDIZORROTZA
UPV - FACULTAD DE FARMACIA – DECANATO
UPV - FACULTAD DE FARMACIA -BIBLIOTECA
ZADOR
ZALDIARAN EUSKALTEGIA

El folleto también ha sido distribuido en las siguientes jornadas:

III Jornadas Técnicas de los Jardines Botánicos: Hacia la sostenibilidad.
Organiza: Asociación Ibero-Macaronésica de Jardines Botánicos (AIMJB)
Lugar y Fecha: Real Jardín Botánico Juan Carlos I de la Universidad de Alcalá (Alcalá de Henares, España), del 6 al 8 de junio del 2012.

Jornada sobre Conservación y Recuperación de las Especies de Flora en Peligro de Extinción.
Organiza: Itsasmendikoi-Dpto. de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco.
Lugar y Fecha: Centro Itsasmendikoi de Fraisoro, Zizurkil, 17 de mayo del 2012.

En la propuesta original se pretendía instalar paneles informativos junto a las parcelas experimentales de cultivo y reintroducción, pero como todavía no está ejecutado el Proyecto de Comunicación, señalética y cartelería del Arboreto de los Bosques de Europa y se pensó que tal vez no era adecuado señalar la existencia de plantas amenazadas cultivadas antes de que estén bien asentadas en el terreno, teniendo en cuenta la gran afluencia de público y el acceso libre de todo el jardín botánico en su extensión actual, finalmente se optó por instalar unos sencillos paneles del mismo formato que el resto de paneles informativos existentes en el Anillo Verde donde tan solo se señalaba “Parcela de restauración ecológica. Respeta su flora”. En el futuro los

paneles interpretativos del Jardín Botánico de Olarizu integrarán la información referida a la introducción de especies amenazadas para su cultivo en las distintas parcelas experimentales y los distintos especímenes estarán debidamente identificados y etiquetados.

En todo caso, los objetivos y resultados alcanzados con el proyecto han sido transmitidos durante las visitas guiadas realizadas al Jardín Botánico de Olarizu con el alumnado de Ciencias Ambientales de la UPV/EHU, visitando las parcelas de experimentales de cultivo y reintroducción *in situ*, así como en conferencias y distintos artículos publicados en boletines y revistas divulgativas:

Conferencia "El Jardín Botánico de Olarizu. Un Jardín Botánico del siglo XXI"
Acto: Agenda Cultural del Jardín Botánico de Santa Catalina, organizado por la Asociación de Amigos del Jardín Botánico de Santa Catalina.
Lugar de presentación: Jardín Botánico de Santa Catalina (Trespuentes, Álava) Año: 2011.

Programa de conservación y reintroducción de la flora amenazada y característica de los Robledales isla de la Llanada Alavesa
Boletín Digital del CEA. Marzo 2011.

Localizada una población de *Galium boreale* en las campas de Olarizu 27 años después de darse por desaparecida.
Boletín Digital del CEA. Septiembre 2011.

El Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu: al rescate de la flora amenzada
Revista: +Verde. Noticias del Anillo Verde. Verano 2011: 3-4.

El Banco de Germoplasma Vegetal del Jardín Botánico de Olarizu (JBO).
Revista: Biogaia-Revista del Colegio Oficial de Biólogos de Euskadi 14 (2012): 6-7.

El Jardín Botánico de Olarizu (Vitoria-Gasteiz).
Revista: El Botánico/O Botânico-Revista de la Asociación Ibero-Macaronésica de Jardines Botánicos (AIMJB) 6 (2012): 22-23.

10. Resultados obtenidos y objetivos alcanzados durante el proyecto

Los resultados obtenidos en este proyecto han supuesto un notable paso adelante en la conservación de la flora amenazada y característica del municipio de Vitoria-Gasteiz, laprovincia de Álava y el País Vasco, tanto porque han desarrollado actuaciones de conservación propuestas por expertos en un área de especial importancia, como es el LIC de los Robledales isla de la Llanada Alavesa, como porque han supuesto el inicio de la colección del Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu.

La conservación *ex situ* de germoplasma vegetal de especies silvestres es un área relativamente nueva que ha cobrado una enorme importancia en los últimos años, y existe una gran necesidad de preservar material, así como una importante carencia de información biológica asociada. Este proyecto ha permitido conservar la diversidad genética de numerosas especies y poblaciones que se ven amenazadas por la actividad del hombre y que actualmente no están conservadas *ex situ*. Los resultados alcanzados más relevantes son:

1. Establecimiento de una colección *ex situ* de la flora amenazada y característica de los Robledales isla de la Llanada Alavesa que asegura su conservación a largo plazo.

2. Establecimiento de protocolos y metodología de gestión del germoplasma vegetal de la flora amenazada y característica de los Robledales isla de la Llanada Alavesa en sus distintas fases: recolección, limpieza, caracterización y conservación.

3. Elaboración de protocolos de germinación, con resultados satisfactorios, para seis especies características de los Robledales isla de la Llanada Alavesa, cinco de las cuales están incluidas en el Catálogo Vasco de Especies Amenazadas (BOPV/EHAA, nº 37 ZK., 2011): *Narcissus bulbocodium* subsp. *citrinus*, *Narcissus pseudonarcissus* subsp. *pallidiflorus*, *Merendera montana*, *Berula erecta*, *Galium boreale* y *Senecio carpetanus*.

4. Elaboración de protocolos de producción y multiplicación de planta con resultados satisfactorios, para las seis especies características de los Robledales isla de la Llanada Alavesa señaladas en el punto anterior, cinco de las cuales están incluidas en el Catálogo Vasco de Especies Amenazadas (BOPV/EHAA, nº 37 ZK., 2011).

5. Ensayos de cultivo y reintroducción en parcelas experimentales de las especies señaladas en el Jardín Botánico de Olarizu que permitirán establecer en un futuro próximo sus protocolos de cultivo y reintroducción , sentando las bases para futuras acciones de conservación *in situ* (introducciones benignas, reintroducciones, fundación de nuevas poblaciones, refuerzos poblacionales, restauración de hábitats degradaos, etc.) que se puedan realizar respecto a la flora amenzada de los Robledales isla de la Llanada Alavesa.

6. Documentación y difusión de la información producida y el conocimiento generado: Base de Datos del Banco de Germoplasma, elaboración de una memoria final de proyecto, elaboración de publicaciones científicas y divulgativas dando a conocer los objetivos y resultados alcanzados en el desarrollo de este proyecto.

Cabe señalar que durante la redacción de esta memoria está concluyendo el ensayo de germinación dedicado a establecer el protocolo de germinación de otra de las especies amenazadas de los Robledales isla de la Llanada Alavesa: *Pentaglottis sempervirens*. Al igual que en el resto de especies estudiadas hasta el momento, sus semillas germinadas han sido sembradas y han producido plantas sanas y vigorosas que serán trasladadas al invernadero para establecer su protocolo de producción y multiplicación, siendo posteriormente reintroducidas y cultivadas en la parcela experimental del Robledal de Olarizu. De todos modos, la pequeña cantidad de semillas recolectadas recomienda incluir a esta especie en nuevos proyectos que aborden la conservación *ex situ* de ésta y otras especies amenazadas y características de los Robledales isla de la Llanada Alavesa que , durante el desarrollo de este primer y exitoso proyecto, no han podido ser recolectadas o en caso de haber podido ser recolectadas no han podido ser abordadas en profundidad estableciendo tan solo los protocolos de recolección y conservación, sin posibilidad de poder estudiar el resto de protocolos por diferentes motivos como el plazo de ejecución del proyecto, los recursos materiales y humanos asociados a éste o la baja producción de semillas (priorizando su conservación en el Banco de Germoplasma) u otros motivos relacionados con el ciclo biológico y la fenología de dichas especies así como distintos condicionantes ecológicos que han existido durante el desarrollo del proyecto.

11. Agradecimientos

Agradecemos al Dpto. de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco la concesión de la subvención que ha hecho posible la realización de este proyecto.

Agradecemos al equipo humano del Centro de Estudios Ambientales del Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz todo el apoyo y la colaboración prestada para alcanzar los objetivos y resultados logrados, así como los consejos y facilidades que nos han brindado para la divulgación y difusión de los mismos.

Agradecemos a Andrea Aguilar, Julen Urra, Mireia Sagarra, Eder Somoza y Gorka Castaño su colaboración temporal en distintas tareas asociadas al proyecto durante sus estancias en prácticas y sus contratos en el Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu.

Agradecemos encarecida y especialmente, la colaboración y el asesoramiento recibidos por P.M. Uribe-Echebarría, Botánico y Conservador del Herbario VIT del Museo de Ciencias Naturales de Álava, con quien hemos compartido dudas, impresiones, intensas jornadas de campo, interesantes y nuevos hallazgos, a la vez que nos transmitía parte de su gran conocimiento botánico y florístico.

12. Bibliografía

AIZPURU I, ASEGINOLAZA C, URIBE-ECHEBARRIA PM, URRUTIA P, ZORRAKIN (EDS.) (1999), Claves ilustradas de la Flora del País Vasco y territorios limítrofes. Ed. Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz

ANTONIDAKI-GIATROMANOLAKI, A., DRAGASSAKI, M., PAPADIMITRIOU, M. & VLAHOS, I. (2008), Effects of stratification, temperature and light on seeds germination of *Colchicum macrophyllum* B. L. Burt Technological Educational Institute of Crete, School of Agricultural Technology Stavromenos, P. O. Box 1939, Heraklion 71004, Crete Greece. Propagation of Ornamental Plants Vol. 8, № 2, 2008: 105-107

ARNOTS DAFNI, AVI SHMIDA, AND MICHAEL AVISHAI (1980), Leafless Autumnal-flowering geophytes in the Mediterranean region: Phytogeographical, ecological and evolutionary aspects. Department of botany The Hebrew University of Jerusalem.

ASEGINOLAZA, C., GOMEZ, D., LIZAUR, X., MONTSERRAT, G., MORANTE, G., SALAVERRIA, M.R., URIBE-ECHEBARRIA, P.M. & ALEJANDRE, J.A. (1984). *Catálogo florístico de Alava, Vizcaya y Guipúzcoa*. Ed. Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz.

ASEGINOLAZA, C., GOMEZ, D., LIZAUR, X., MONTSERRAT, G., MORANTE, G., SALAVERRIA, M.R . & URIBE-ECHEBARRIA, P.M. (1988). *Vegetación de la Comunidad Autónoma del País Vasco*. Ed. Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz.

ASEGINOLAZA, C., GOMEZ, D., LIZAUR, X., MONTSERRAT, G., MORANTE, G., SALAVERRIA, M. R . & URIBE-ECHEBARRIA, P.M. (1991). *Hojas 112-IIIForonda y 112-IV-Vitoria-Gasteiz. Mapa de Vegetación de la Comunidad Autónoma del País Vasco*. Ed. Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz.

BACCHETTA, G., BUENO SÁNCHEZ, A. FENU, G., JIMÉNEZ-ALFARO, B., MATTANA, E., PIOTTO, B. & VIREVAIRE, M. (EDS.) (2008). *Conservación ex situ de plantas silvestres.* Principado de Asturias/La Caixa. 378 pp.

BAÑARES, Á., G. BLANCA, J. GÜENES, J. C. MORENO Y S. ORTIZ (2003). *Atlas y Libro Rojo de la Flora Vascular Amenazada de España.* Dirección General de Conservación de la Naturaleza. Madrid.

BOE, 1990. Real Decreto 439/1990, de 30 de marzo por el que se regula el Catálogo Nacional de Especies Amenazadas. BOE (Boletín Oficial del Estado), nº 82, 1/04/90.

BOE, 2006. Orden MAM/1498/2006, de 26 de abril, por la que se incluyen en el Catálogo Nacional de Especies Amenazadas determinadas especies de flora y cambian de categoría algunas especies incluidas en el mismo. BOE (Boletín Oficial del Estado), nº 117, 17/05/06.

BOPV/EHAA, nº 141 ZK. (1998). *Catálogo Vasco de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre y Marina (Flora Vascular).* Orden de 10 de julio de 1998, del Consejero de Industria, Agricultura y Pesca. Vitoria-Gasteiz.

BOPV/EHAA, nº 37 ZK (2011) Orden de 10 de enero de 2011, de la Consejera de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca, por la que se modifica el Catálogo Vasco de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre y Marina y se aprueba el texto único. Vitoria-Gasteiz.

BUENO SÁNCHEZ, A. B. JIMÉNEZ-ALFARO, Y J.A. FERNÁNDEZ PRIETO (2007). Plantas prioritarias para la conservación en el ámbito cantábrico: perspectivas para la Red Cantábrica de Conservación de Flora. *Naturalia Cantabricae* 3: 7-13.

CATON, B. & URIBE-ECHEBARRIA, P.M. (1980). *Mapa de Vegetación de Alava*. Ed. Diputación Foral de Alava. Vitoria-Gasteiz.

CIRUJANO, S., A. ARAGONÉS, M. MORENO, M. ÁLVAREZ COBELAS & Á. RUBIO (1998). Aspectos botánicos y limnológicos de la balsa de Betoño (Vitoria). Centro de Estudios Ambientales, Ingurugiro Galetarako Ikastegia. Vitoria-Gasteiz. Informe inédito.

CIRUJANO, S., L. MEDINA, M. MORENO & A. RUBIO (2000). Aspectos botánicos y limnológicos de la balsa de Zurbano (Vitoria). Centro de Estudios Ambientales, Ingurugiro Galetarako Ikastegia. Vitoria-Gasteiz. Informe inédito.

CIRUJANO, S., O, SORIANO, J. VELASCO, A. GARCÍA-VALDECASAS, M. ÁLVAREZ COBELAS & M. MORENO. 2003. Estudio de la flora acuática y la fauna bentónica y nectónica del Parque Periférico de Salburua (Vitoria).Centro de Estudios Ambientales, Ingurugiro Galetarako Ikastegia. Vitoria-Gasteiz.

COMMISSION EUROPEENNE DG ENVIRONNEMENT (1999). *Manuel d'Interprétation des habitats de L'Union Eurpéenne. Version Eur 15/2, Octobre 1999*. Luxembourg.

COOLBEAR P., GRIERSON D. & HEYDECKER W. (1980), Osmotic pre-sowing treatements and nucleic acid accumulation in tomato seeds (*Lycopersicon lycopersicum*). Seed Science and Technology 8: 289-303.

COPETE E., HERRANZ J.M., FERRANDIS P., BASKIN C.C. AND BASKIN J.M. (2011), Physiology, morphology and phenology of seed dormancy break and germination in the endemic Iberian species *Narcissus hispanicus* (Amaryllidaceae). ETSIA, Department of Plant Production and Agricultural Technology, University of Castilla-La Mancha.

DIRECTIVA 92/43/CEE del Consejo, de 21 de mayo de 1992, relativa a la Conservación de los Hábitats Naturales y de la Fauna y Flora silvestres.

DIRECTIVA 97/62/CE DEL Consejo de 27/10/97, por la que se adopta al progreso científico y técnico la Directiva 92/43/CEE, relativa a la Conservación de los Hábitats Naturales y de la Fauna y Flora silvestres.

DUNN, H., HUSSELL Y D.A. WELSH (1999). Priority-Setting Tool Applied to Canada´s LandsBirds Based on Concern and Responsability of Species. *Conservation Biology* 13(6): 1404-1415

DIRECCIÓN DE BIODIVERSIDAD DEL GOBIERNO VASCO & CONSULTORA DE RECURSOS NATURALES S.L. (2003). *Espacios naturales privilegiados de la Comunidad Autónoma del País Vasco: Red Natura 2000.* Departamento de Ordenación del Territorio y Medio Ambiente del Gobierno Vasco. Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz. 367 pp.

ESCUDERO, A., OLANO, J.M., GARCIA, J.M., BARIEGO, P., MOLINA MARTIN, C., ARRANZ, J.A., MOLINA GARCIA, J.I. & EZQUERRA, F.J. (2008). *Guía básica para la interpretación de los hábitats de interés comunitario en Castilla y León*. Junta de Castilla y León. Consejería de Medio Ambiente. Valladolid.

ESTRATEGIA EUROPEA PARA LA CONSERVACIÓN DE LA FLORA (2003). Generalitat Valenciana. Adaptación en español de la original en inglés. Ed: Planta Europa y el Consejo de Europa, 2002.

ESTRATEGIA GLOBAL PARA LA CONSERVACIÓN VEGETAL. 2002. UNEP/CBD/COP/6/INF/22. ww.biodiv.org

EUROPEAN NATIVE SEED CONSERVATION NETWORK, ENSCONET (2004) http://www.ensconet.com

FARNSWORTH, E.J., S. KLIONSKY, W.E. BRUMBACK, Y K. HAVENS (2006). A set of simple decision matrices for prioritizing collection of rare plant species for ex situ conservation. En : *Biological Conservation* 128, p. 1-12

GENMEDOC (2004-2006) Prácticas de germinación en los bancos de semillas de la red Banques de semences de la méditerranée. http://www.genmedoc.org/

GIMÉNEZ-BENAVIDES L., ESCUDERO A., PÉREZ-GARCÍA F. (2005), Seed germination of high mountain Mediterranean species: altitudinal, interpopulation and interannual variability, Biodiversity and Conservation Group, University of Rey Juan Carlos-ESCET, Móstoles, Madrid, Spain.

HARRIS, G.M., C.N. JENKINS Y S.L. PIMM (2005). Refining Biodiversity Conservation Priorities. *Conservation Biology* 19 (6): 1957-1968.

HARTLEY, S. Y W. KUNIN (2003). Scale Dependency of Rarity, Extinction Risk, and Conservation Priority. *Conservation Biology* 176: 1559-1570.

IKT, S.A. (2002). *Mapa de vegetación actual del municipio de Vitoria-Gasteiz. Escala 1: 5.000*. Centro de Estudios Ambientales, Ingurugiro Gaietarako Ikastegia. Vitoria-Gasteiz. Informe inédito.

IKT, S.A. (2005). *Mapa de vegetación de la CAPV. Escala 1: 10.000*. Para el Gobierno Vasco.

JARDÍ BOTÀNIC DE BARCELONA
http://www.jardibotanic.bcn.es

JARDI BOTÀNIC DE LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA
http://www.jardibotanic.org

JARDÍN BOTÁNICO CANARIO VIERA Y CLAVIJO
http://www.step.es/jardcan/

JARDÍN BOTÁNICO DE CÓRDOBA
http://www.jardinbotanicodecordoba.com/

JACOBSEN J.V. & PRESSMAN E. (1979). A Structural Study of Germination in Celery (*Apium graveolens*) Seed wtih Emphasis on Endosperm Breakdown. Division of Plant Industry, CSIRO, P.O., Canberra, Autralia, and Volcani Center, Agricultural Research Organization, Bet Dagan, Israel.

JIMÉNEZ-ALFARO, B., A. BUENO SÁNCHEZ Y J.A. FERNÁNDEZ PRIETO (2007), Valoración de plantas de interés para la conservación en Asturias a través de un Índice de Responsabilidad. *Naturalia Cantabricae* 3: 25-36.

JIMÉNEZ-ALFARO, B., COLUBI, A., GONZALEZ-RODRIGUEZ, G. (2011). A comparison of point-scoring procedures for species prioritization and allocation of seed collection resources in a mountain region. Biodivers. Conserv. (2010) 19:3667–3684.

LOIDI, J., DÍAZ T.E., & HERRERA, M. (1997). El paisaje vegetal del Norte-Centro de España. *Itinera Geobotanica* 9: 5-160.

LOIDI, J., BIURRUN, I. & HERRERA, M. (1997). La vegetación del centro-septentrional de España. *Itinera Geobotanica* 9: 161-618.

LOIDI, J., BIURRUN I., CAMPOS J.A., GARCÍA-MIJANGOS I., HERRERA M. (2006), La Vegetación de la Comunidad Autónoma del País Vasco, Leyenda del Mapa de Series de Vegetación a escala 1:50.0000. Informe inédito del Proyecto UNESCO 03/02 realizado para el Dpto. de Medio Ambiente del Gobierno Vasco a través de la Cátedra UNESCO.

MASTER, L.L. (1991). Assesing threats and setting priorities for conservation. *Conservation Biology*, 5:559-563.

MORENO, J.C. (coord.). 2008. Red list of Spanish vascular flora. Dirección General de Medio Natural y Política Forestal. Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino, y Sociedad Española de Biología de la Conservación de Plantas, Madrid.

MORTEZA ALIREZAIE NOGHONDAR, HOSSEIN ARQUEE, SHAMSALI REZAZADEH, MAHMOUD SHOOR, YAHYA SELAHVAR, NAVID VAHDATI MASHHADIAN (2011), Warm Stratification and Chemical Treatments Overcome the Dormancy and Promotes Germination of *Colchicum kotschyi* Boiss Seeds under in Vitro Condition. Ferdowsi University of Mashhad, Agriculture Faculty, Horticultural Sciences Department, Mashhad, Iran.

NEIKER (2001). *Estudio de la biodiversidad de los robledales del acuífero de Vitoria- Gasteiz mediante marcadores genéticos moleculares*. Centro de Estudios Ambientales, Ingurugiro Gaietarako Ikastegia. Vitoria-Gasteiz. Informe inédito.

PÄRTEL, M., R. KALAMEES, Ú. REIER, E-L. TUVI, E. ROOSALUSTE, A. VELLAK, M. ZOBEL (2005). Grouping and prioritization of vascular plant species for conservation: combining natural rarity and management need. *Biological Conservation* 123: 271-278.

PECO, B., TRABA, J., LEVASSOR, C., SÁNCHEZ, A.M. & AZCÁRATE, F.M. (2003), Seed size, shape and persistence in dry Mediterranean grass and scrublands Departamento de Ecología, Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco, 28049, Madrid, Spain.

PERALTA, J. (2005). *Hábitats de Navarra de interés y prioritarios (Directiva de Hábitats)*. Universidad Pública de Navarra. Pamplona.

PÉREZ-GARCÍA F., PITA J.M., GONZALEZ-BENITO M.E., IRIONDO J.M. (1973), Effects of Light, temperature and seed priming on germination of celery seeds (*Apium Graveolens*). International Seed Testing association, Zürich, SUISSE.

REAL DECRETO 1997/1995, de 7 de diciembre, *por el que se establecen medidas para contribuir a garantizar la biodiversidad mediante la conservación de los hábitats naturales y de la fauna y flora silvestres* (BOE 310 de 28/12/1995)

SEED DATA BASE, ROYAL BOTANIC GARDENS, KEW. (2011). http://data.kew.org/sid/sidsearch.html

SISTEMA DE INFORMACIÓN DE LAS PLANTAS DE ESPAÑA, ANTHOS. (2011) http://www.anthos.es/

SHI, H., A. ASHIBINDU SINGH, S. KANT, Z. ZHU, Y WALLER (2005). Integrating Habitat Status, Human Population Pressure, and Protection Status into Biodiversity. Conservation Priority Setting. *Conservation Biology* 19(4), p. 1273-1285.

TENNER, C. (2003). Establishing Priorities for a Plant Conservation Programme. En Smith, D., J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard, y R.J. Probert (Eds.), *Seed Conservation. Turning science into practice*. Royal Botanic Gardens, Kew.

THANOS C.A. & DOUSSI M.A. (1995), Ecophisiology of seed germination in endemic Labiates of Crete. Israel Journal of Plant Science 43: 227-237.

THOMAS T.H. & VAN STADEN J. (1995), Dormancy break of celery (*Apium graveolens*) seed by plant derived smoke extract NU Research Unit for Plant Growth and Development. Department of Botan, University of Natal, Scottsville, South Africa.

THOMPSON, A. (1977). A note of the germination of *Narcissus bulbodium*. L. Royal botanic gardens, Wakehurst Place, Ardingly, Sussex

THOMPSON P.A. (1974), Germination of Celery, *Apium graveolens* L., in Response to Fluctuating Temperature. Journal of Experimental Botany (1974) 25 (1):156-163.doi:10.1093/jxb/25.1.156.

URIBE-ECHEBARRIA, P.M. (1994). *Informe botánico sobre el área de Salburua (Vitoria-Gasteiz)*. Informe inédito para el Centro de Estudios Ambientales del Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz.

URIBE-ECHEBARRIA, P.M. (2004). *Estudio de la flora y vegetación no acuáticas del Parque de Salburua (Álava)*. Centro de Estudios Ambientales, Ingurugiro Gaietarako Ikastegia. Vitoria-Gasteiz. Informe inédito.

URIBE-ECHEBARRIA, P.M. (2005). *Informe botánico sobre el área de Montes de Vitoria*. Centro de Estudios Ambientales, Ingurugiro Gaietarako Ikastegia. Vitoria-Gasteiz. Informe inédito.

URIBE-ECHEBARRIA, P.M. (2006). *Estudio de caracterización botánica del Parque de Armentia*. Centro de Estudios Ambientales, Ingurugiro Gaietarako Ikastegia. Vitoria-Gasteiz. Informe inédito.

URIBE-ECHEBARRIA, P.M. (2010a). *La flora amenazada del municipio de Vitoria-Gasteiz*. Centro de Estudios Ambientales, Ingurugiro Gaietarako Ikastegia. Vitoria-Gasteiz. Informe inédito.

URIBE-ECHEBARRIA, P.M. (2010b). *Estudio de caracterización botánica de los bosques de fondo de valle del municipio de Vitoria-Gasteiz (Álava)*. Centro de Estudios Ambientales, Ingurugiro Gaietarako Ikastegia. Vitoria-Gasteiz.

URIBE-ECHEBARRIA, P.M., ZORRAKIN, I., CAMPOS, J.A. & DOMINGUEZ, A. (2006). *Flora Vascular Amenazada en la Comunidad Autónoma del País Vasco*. Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz.

VANDELOOK F. & VAN ASSCHE J.A. (2008), Temperature requirements for seed germination and seedling development determine timing of seedling emergence of three monocotyledonous temperate forest spring geophytes. Laboratory of Plant Ecology, K.U. Leuven, Kasteelpark Arenberg 31, B-3001 Leuven, Belgium.

VV.AA., 2000. Lista roja de flora vascular española. (valoración según categorías UICN). Conservación vegetal, 6 (extra).

VV.AA., 2010. Lista roja de la flora vascular de la CAPV. IHOBE. Gobierno Vasco. Dpto. de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca.

ANEXO I: LISTADO DE PRIORIZACIÓN

Género	especie	IPC percentil	IPC ordinal
Narcissus	***pallidiflorus***	1	1
Valeriana	***pyrenaica***	2	2
Pentaglottis	***sempervirens***	3	1
Ranunculus	***auricomus***	3	2
Conopodium	***pyrenaeum***	3	3
Epipactis	*hispanica*	4	5
Narcissus	***asturiensis***	5	2
Ilex	***aquifolium***	6	4
Crataegus	***laevigata***	7	2
Berula	***erecta***	7	2
Brachypodium	***sylvaticum***	8	4
Viola	*odorata*	9	4
Quercus	*robur*	9	3
Malus	***sylvestris***	9	5
Stachys	***sylvatica***	9	5
Hypericum	*tomentosum*	9	5
Bromus	*benekenii*	9	5
Euphorbia	*villosa*	9	5
Laserpitium	*latifolium*	9	5
Prunus	*avium*	9	5
Silene	***dioica***	9	5
Smyrnium	*olusatrum*	9	5
Stellaria	*neglecta*	9	5
Carex	***remota***	9	4
Helleborus	*viridis*	9	4
Iris	*foetidissima*	9	4
Lamium	***galeobdolon***	9	4
Rosa	*agrestis*	9	4
Rosa	*arvensis*	9	4
Tamus	***communis***	9	4
Lonicera	***periclymenum***	10	5
Melampyrum	*pratense*	10	5
Populus	*tremula*	10	5
Sambucus	*nigra*	10	5
Viburnum	*lantana*	10	5
Fritillaria	***pyrenaica***	10	4
Geranium	*robertianum*	11	6
Glechoma	***hederacea***	11	6
Hypericum	***hirsutum***	11	6
Lathraea	*clandestina*	11	6
Lonicera	***xylosteum***	11	6
Rhamnus	***cathartica***	11	6
Ruscus	***aculeatus***	11	6
Viburnum	*opulus*	11	6
Viscum	*album*	11	6
Cruciata	*glabra*	11	6
Filipendula	***ulmaria***	11	6
Hypericum	*pulchrum*	11	6

Aconitum	*napellus*	11	6
Astragalus	*glycyphyllos*	11	6
Blechnum	*spicant*	11	6
Bryonia	*dioica*	11	6
Carex	*umbrosa*	11	6
Conium	***maculatum***	11	6
Crocus	***nudiflorus***	11	6
Elymus	*caninus*	11	6
Eupatorium	*cannabinum*	11	6
Frangula	*alnus*	11	6
Galium	*palustre*	11	6
Geranium	***lucidum***	11	6
Geranium	*sanguineum*	11	6
Hepatica	*nobilis*	11	6
Heracleum	***sphondylium***	11	6
Humulus	***lupulus***	11	6
Iris	***graminea***	11	6
Isopyrum	*thalictroides*	11	6
Knautia	*arvernensis*	11	6
Lapsana	*communis*	11	6
Lathyrus	*linifolius*	11	6
Lilium	***martagon***	11	6
Lithospermum	*officinale*	11	6
Lonicera	*etrusca*	11	6
Luzula	*multiflora*	11	6
Melampyrum	*cristatum*	11	6
Ornithogalum	***pyrenaicum***	11	6
Orobanche	*hederae*	11	6
Potentilla	*sterilis*	11	6
Quercus	*faginea x robur*	11	6
Ranunculus	*ficaria*	11	6
Rosa	*canina*	11	6
Rosa	*micrantha*	11	6
Rosa	*pimpinellifolia*	11	6
Salix	*alba*	11	6
Salix	*fragilis*	11	6
Sanicula	***europaea***	11	6
Satureja	*menthifolia*	11	6
Senecio	*aquaticus*	11	6
Sorbus	*aria*	11	6
Sorbus	*torminalis*	11	6
Stachys	***officinalis***	11	6
Viola	*alba*	11	6
Littorella	***uniflora***	12	3
Genista	*teretifolia*	12	5
Thymelaea	*ruizii*	12	5
Acer	*campestre*	13	5
Ajuga	*reptans*	13	5
Carex	*sylvatica*	13	5
Euonymus	***europaeus***	13	5
Melica	*uniflora*	13	5
Pulmonaria	***longifolia***	13	5

Stellaria	***holostea***	13	5
Symphytum	*tuberosum*	13	5
Carex	***pendula***	14	6
Cornus	***sanguinea***	14	6
Crataegus	*monogyna*	14	6
Euphorbia	***amygdaloides***	14	6
Euphorbia	*dulcis*	14	6
Hedera	*helix*	14	6
Ligustrum	***vulgare***	14	6
Prunus	*spinosa*	14	6
Ranunculus	*tuberosus*	14	6
Rubus	*caesius*	14	6
Vicia	***sepium***	14	6
Quercus	*faginea*	14	7
Cirsium	*eriophorum*	14	6
Endressia	*castellana*	14	6
Galium	*pinetorum*	14	6
Thymus	*munbyanus*	14	6
Helictotrichon	*cantabricum*	15	5
Alliaria	***petiolata***	15	7
Cardamine	***pratensis***	15	7
Galium	*aparine*	15	7
Geum	***urbanum***	15	7
Veronica	*chamaedrys*	15	7
Lamium	***maculatum***	15	7
Agrimonia	*eupatoria*	15	7
Aquilegia	*vulgaris*	15	7
Arum	***italicum***	15	7
Calystegia	*sepium*	15	7
Carex	*divulsa*	15	7
Clematis	***vitalba***	15	7
Fragaria	*vesca*	15	7
Fraxinus	*angustifolia*	15	7
Lolium	*perenne*	15	7
Poa	*trivialis*	15	7
Populus	*nigra*	15	7
Populus	*x canadensis*	15	7
Ranunculus	***acris***	15	7
Ranunculus	***repens***	15	7
Rubia	***peregrina***	15	7
Satureja	*vulgaris*	15	7
Sisymbrium	*austriacum*	15	7
Solanum	*dulcamara*	15	7
Ulmus	***minor***	15	7
Viola	*riviniana*	15	7
Euphorbia	*flavicoma*	16	6
Phalaris	*minor*	17	5
Fraxinus	***excelsior***	17	6
Baldellia	***ranunculoides***	17	6
Cannabis	*sativa*	17	6
Carduus	*nutans*	17	6
Carex	*montana*	17	6

Carex	*viridula*	17	6
Chaerophyllum	*temulum*	17	6
Fraxinus	*pensylvanica*	17	6
Lamium	*x hybridum*	17	6
Mespilus	*germanica*	17	6
Oenanthe	*fistulosa*	17	6
Orchis	*coriophora*	17	6
Orobanche	*alba*	17	6
Rosmarinus	*officinalis*	17	6
Serapias	*parviflora*	17	6
Sparganium	*erectum*	17	6
Stachys	*heraclea*	17	6
Thalictrum	*flavum*	17	6
Trifolium	*resupinatum*	17	6
Corylus	*avellana*	18	7
Rubus	*ulmifolius*	18	7
Carex	***flacca***	19	8
Erica	*vagans*	19	8
Hypericum	*perforatum*	19	8
Taraxacum	*officinale*	19	8
Urtica	*dioica*	19	8
Alnus	*glutinosa*	19	8
Pinus	*sylvestris*	19	8
Plantago	*major*	19	8
Salix	*atrocinerea*	19	8
Stellaria	*media*	19	8
Acer	*pseudoplatanus*	19	7
Aceras	*anthropophorum*	19	7
Aesculus	*hippocastanum*	19	7
Alisma	***lanceolatum***	19	7
Allium	*vineale*	19	7
Anacamptis	*pyramidalis*	19	7
Angelica	***sylvestris***	19	7
Anthyllis	*vulneraria*	19	7
Argyrolobium	*zanonii*	19	7
Asperula	*cynanchica*	19	7
Aster	*linosyris*	19	7
Aster	*squamatus*	19	7
Atriplex	*prostrata*	19	7
Ballota	*nigra*	19	7
Barbarea	*intermedia*	19	7
Bellardia	*trixago*	19	7
Brachypodium	***pinnatum***	19	7
Campanula	*rapunculus*	19	7
Carduncellus	***mitissimus***	19	7
Carlina	*vulgaris*	19	7
Cirsium	*tuberosum*	19	7
Coronilla	*scorpioides*	19	7
Cruciata	*laevipes*	19	7
Dactylorhiza	*elata*	19	7
Deschampsia	*cespitosa*	19	7
Elymus	*repens*	19	7

Erodium	*malacoides*	19	7
Euphrasia	*stricta*	19	7
Festuca	*hystrix*	19	7
Galium	*fruticescens*	19	7
Galium	*mollugo*	19	7
Galium	*papillosum*	19	7
Genista	***tinctoria***	19	7
Geranium	*columbinum*	19	7
Geranium	*rotundifolium*	19	7
Gladiolus	*illyricus*	19	7
Glyceria	*fluitans*	19	7
Gymnadenia	*conopsea*	19	7
Helianthemum	***apenninum***	19	7
Helianthemum	*nummularium*	19	7
Helichrysum	*stoechas*	19	7
Hippocrepis	*comosa*	19	7
Inula	*salicina*	19	7
Iris	*germanica*	19	7
Iris	***pseudacorus***	19	7
Juglans	*nigra*	19	7
Juniperus	***communis***	19	7
Lathyrus	*aphaca*	19	7
Lathyrus	***pratensis***	19	7
Lemna	*minor*	19	7
Linum	***bienne***	19	7
Linum	*strictum*	19	7
Lotus	*corniculatus*	19	7
Lysimachia	*vulgaris*	19	7
Mantisalca	*salmantica*	19	7
Medicago	*polymorpha*	19	7
Melica	*ciliata*	19	7
Melilotus	*officinalis*	19	7
Melissa	*officinalis*	19	7
Mentha	*pulegium*	19	7
Onobrychis	*argentea*	19	7
Onobrychis	*viciifolia*	19	7
Ononis	*reclinata*	19	7
Ophrys	*insectifera*	19	7
Ophrys	*lupercalis*	19	7
Ophrys	*scolopax*	19	7
Ophrys	*sphegodes*	19	7
Orchis	*purpurea*	19	7
Orobanche	*gracilis*	19	7
Pallenis	*spinosa*	19	7
Pastinaca	*sativa*	19	7
Persicaria	*amphibia*	19	7
Pilosella	*officinarum*	19	7
Platanthera	*bifolia*	19	7
Poa	*compressa*	19	7
Polygala	*alpina*	19	7
Potentilla	*erecta*	19	7
Potentilla	*montana*	19	7

Prunella	*grandiflora*	19	7
Prunella	*hyssopifolia*	19	7
Ranunculus	*flammula*	19	7
Ranunculus	***gramineus***	19	7
Ranunculus	*trichophyllus*	19	7
Rumex	***conglomeratus***	19	7
Rumex	*pulcher*	19	7
Salvia	***pratensis***	19	7
Sanguisorba	***minor***	19	7
Saxifraga	*granulata*	19	7
Scilla	*autumnalis*	19	7
Serapias	*cordigera*	19	7
Serapias	*lingua*	19	7
Serratula	*tinctoria*	19	7
Silaum	*silaus*	19	7
Succisa	*pratensis*	19	7
Tanacetum	*parthenium*	19	7
Teucrium	*polium*	19	7
Teucrium	*pyrenaicum*	19	7
Teucrium	*scordium*	19	7
Torilis	*japonica*	19	7
Trifolium	*fragiferum*	19	7
Trifolium	*montanum*	19	7
Trifolium	*ochroleucon*	19	7
Trifolium	*scabrum*	19	7
Trinia	*glauca*	19	7
Typha	*latifolia*	19	7
Veronica	*beccabunga*	19	7
Vicia	*sativa*	19	7
Vulpia	*ciliata*	19	7
Xeranthemum	*inapertum*	19	7
Achillea	*millefolium*	20	8
Allium	*roseum*	20	8
Aphyllanthes	*monspeliensis*	20	8
Apium	*nodiflorum*	20	8
Arctium	*minus*	20	8
Astragalus	*monspessulanus*	20	8
Avenula	*bromoides*	20	8
Avenula	*mirandana*	20	8
Bellis	*sylvestris*	20	8
Blackstonia	*perfoliata*	20	8
Brachypodium	*distachyon*	20	8
Briza	*media*	20	8
Bromus	*sterilis*	20	8
Campanula	*hispanica*	20	8
Cardamine	*hirsuta*	20	8
Carex	***cuprina***	20	8
Carex	*hallerana*	20	8
Carex	*humilis*	20	8
Centaurea	*jacea*	20	8
Cerastium	*fontanum*	20	8
Cerastium	*glomeratum*	20	8

Cichorium	*intybus*	20	8
Cirsium	*arvense*	20	8
Cirsium	***pyrenaicum***	20	8
Cirsium	*vulgare*	20	8
Convolvulus	*cantabrica*	20	8
Coris	*monspeliensis*	20	8
Crepis	*vesicaria*	20	8
Cynosurus	*cristatus*	20	8
Cynosurus	*echinatus*	20	8
Dipsacus	*fullonum*	20	8
Dorycnium	*pentaphyllum*	20	8
Epilobium	*hirsutum*	20	8
Epilobium	*parviflorum*	20	8
Eryngium	*campestre*	20	8
Euphorbia	*exigua*	20	8
Festuca	*arundinacea*	20	8
Festuca	*indigesta*	20	8
Festuca	*rubra*	20	8
Fumaria	*officinalis*	20	8
Galium	*verum*	20	8
Genista	***hispanica***	20	8
Genista	*scorpius*	20	8
Geranium	*dissectum*	20	8
Globularia	*vulgaris*	20	8
Helianthemum	*oelandicum*	20	8
Helleborus	*foetidus*	20	8
Hordeum	*murinum*	20	8
Juglans	*regia*	20	8
Juncus	*articulatus*	20	8
Juncus	*bufonius*	20	8
Lactuca	*serriola*	20	8
Lamium	*purpureum*	20	8
Lavandula	*latifolia*	20	8
Leucanthemum	*pallens*	20	8
Linum	*catharticum*	20	8
Linum	*suffruticosum*	20	8
Luzula	*campestris*	20	8
Lycopus	*europaeus*	20	8
Malva	*moschata*	20	8
Medicago	*lupulina*	20	8
Medicago	*minima*	20	8
Mentha	*aquatica*	20	8
Mentha	*suaveolens*	20	8
Merendera	***montana***	20	8
Molinia	*caerulea*	20	8
Muscari	*comosum*	20	8
Orchis	*mascula*	20	8
Petrorhagia	*nanteuilii*	20	8
Phleum	*pratense*	20	8
Phragmites	*australis*	20	8
Picris	*hieracioides*	20	8
Pimpinella	*saxifraga*	20	8

Plantago	*media*	20	8
Poa	*bulbosa*	20	8
Poa	*pratensis*	20	8
Polygala	*vulgaris*	20	8
Potentilla	*neumanniana*	20	8
Potentilla	*reptans*	20	8
Prunella	***vulgaris***	20	8
Prunus	*domestica*	20	8
Pulicaria	*dysenterica*	20	8
Pyrus	*communis*	20	8
Ranunculus	*bulbosus*	20	8
Rhinanthus	***mediterraneus***	20	8
Rumex	*obtusifolius*	20	8
Sambucus	*ebulus*	20	8
Samolus	*valerandi*	20	8
Santolina	*chamaecyparissus*	20	8
Scilla	***verna***	20	8
Scirpus	*holoschoenus*	20	8
Scirpus	***lacustris***	20	8
Scrophularia	*balbisii*	20	8
Seseli	*montanum*	20	8
Silene	*vulgaris*	20	8
Thesium	*divaricatum*	20	8
Thymus	*praecox*	20	8
Torilis	***arvensis***	20	8
Tragopogon	***pratensis***	20	8
Trifolium	*campestre*	20	8
Veronica	*persica*	20	8
Agrostis	*capillaris*	21	9
Bellis	*perennis*	21	9
Bromus	*erectus*	21	9
Bromus	*hordeaceus*	21	9
Bromus	*madritensis*	21	9
Coronilla	*minima*	21	9
Dactylis	*glomerata*	21	9
Daucus	*carota*	21	9
Holcus	*lanatus*	21	9
Juncus	*inflexus*	21	9
Koeleria	*vallesiana*	21	9
Lotus	*corniculatus*	21	9
Lythrum	*salicaria*	21	9
Picris	*echioides*	21	9
Plantago	*lanceolata*	21	9
Poa	*annua*	21	9
Primula	***veris***	21	9
Rumex	*crispus*	21	9
Senecio	*vulgaris*	21	9
Sinapis	*arvensis*	21	9
Sisymbrium	*officinale*	21	9
Trifolium	*pratense*	21	9
Trifolium	*repens*	21	9
Triticum	*sativum*	21	9

ANEXO II: MAPA DE LOCALIZACIÓN DE LA POBLACIÓN REDESCUBIERTA DE *Galium boreale* EN LAS CAMPAS DE OLARIZU

ANEXO III: MAPA DE DISTRIBUCIÓN ACTUAL DE *Berula erecta* EN EL MUNICPIO DE VITORIA-GASTEIZ

ANEXO IV: MAPA DE LOCALIZACIÓN DE LAS PARCELAS DE CULTIVO Y REINTRODUCCIÓN DE FLORA AMENAZADA EN EL JARDÍN BOTÁNICO DE OLARIZU

ANEXO V: PUBLICACIONES CIENTÍFICAS

ANEXO VI: FOLLETO DIVULGATIVO

ANEXO VII: PANELES INSTALADOS EN LAS PARCELAS DE CULTIVO Y REINTRODUCCIÓN

ANEXO VIII: COPIA DIGITAL

El siguiente DVD contiene:

- Versión digital de la memoria del proyecto (.pdf)
- Versión digital de la cartografía (.pdf)
- Versión digital del material de divulgación científica y social (.pdf)
- Reportaje fotográfico (.ppt)