

# **BASES CIENTIFICAS PARA LA CONSERVACION DE *Arenaria vitoriana*, UNA PLANTA AMENAZADA EN LA COMUNIDAD AUTONOMA DEL PAIS VASCO.**

**Autor: Ander Lertxundi Retegi (ander.lertxundi@hotmail.com).**

**Directores: Agustí Agut Escrig y Javier Loidi Arregui.**

Tesis de Master en Biodiversidad, Funcionamiento y Gestión de ecosistemas.  
Departamento de Biología Vegetal y Ecología.



Facultad de Ciencia y Tecnología/ZTF. Universidad del País Vasco/EHU, Leioa.  
Desarrollado en el Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu (Centro de Estudios Ambientales- Ingurugiro Gaietarako Ikastegia- Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz).

Firmado:                      Ander Lertxundi Retegi                      Agustí Agut Escrig                      Javier Loidi Arregui

Fecha de inicio: 7 de Octubre de 2013  
Fecha fin: 5 de Septiembre de 2014  
Fecha presentación: 8 de Septiembre de 2014



ZTF-FCT  
Departamento de Tecnología Vegetal  
Facultad de Ciencia y Tecnología



# BASES CIENTÍFICAS PARA LA CONSERVACION DE *Arenaria vitoriana*, UNA PLANTA AMENAZADA EN LA COMUNIDAD AUTONOMA DEL PAIS VASCO.

**Ander Lertxundi Retegi<sup>1,2</sup>, Agustí Agut Escrig<sup>1</sup> & Javier Loidi Arregui<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>Banco de Germoplasma Vegetal del Jardín Botánico de Olarizu. Centro de Estudios Ambientales (CEA). Departamento de Medio Ambiente y Espacio Público. Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz. Casa de la Dehesa de Olarizu s/n; 01006; Vitoria-Gasteiz (Álava/Araba) ([ander.lertxundi@hotmail.com](mailto:ander.lertxundi@hotmail.com); [aagut@vitoria-gasteiz.org](mailto:aagut@vitoria-gasteiz.org)).

<sup>2</sup>Facultad de Ciencia y Tecnología. Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Barrio Sarriena s/n; 48940 Leioa (Bizkaia).

## Abstract:

*Arenaria vitoriana* is a rare species according to CVEA and is catalogued like almost threatened (NT) in the Red List 2010 (VV.AA., 2010; BOPV, 2011). It is a western Mediterranean orofit and an Iberian endemism, whose distribution is fragmented in one north area, in Cantabria, Burgos, Álava and Navarra and one southern area whit less extension in Cuenca and Guadalajara.

The aims are: to update the existing information on know populations in the Basque Country, find out if it is possible its *ex situ* conservation, to know the necessary conditions and to determine the optimum germination protocol.

The OBG's GB (Agut, A. et al., 2012), established an optimal germination protocol for fresh seeds of *Arenaria vitoriana*. In this work the results of this preliminary study with those obtained in this specific study contrasted in order to validate or not the results of the previous study, besides knowing the optimal germination protocol after cold stratification pretreatment, attending to the ecology of the species. Secondly, we will check if stays the same percentage of germination, both the same optimal protocol after the conservation process. With the results obtained in tests T2FRESCO and T2EXSITU, as well as the T1FRESCO, we can know if the differences are due to ageing or conservation *ex situ*.

The statistical analysis, using the R software, has been based on the logistic regression, binomial model. The results of this study update and expand the existing information on known populations, found its optimum germination protocol (with photoperiod 12/12 day/night) in T2EXSITU and T2EXSITU' (12 / 22°C and 4/14 or 12 / 22°C) and has been tested that their seeds are orthodox and can be conserved *ex situ* (ultrasecas and - 18°C).

**Key words:** *Arenaria vitoriana*, optimal germination protocol, Germplasm Bank (BG), seed, *ex situ* conservation, Binomial Logistic Regression.

## Resumen:

*Arenaria vitoriana* es una especie Rara según el Catalogo Vasco de Especies Amenazadas y catalogada como Casi Amenazada (NT) en la Lista Roja 2010 (VV.AA., 2010; BOPV, 2011). Se trata de un orófito mediterráneo occidental endémico de la Península Ibérica, cuya área de distribución global está fragmentada en una zona norteña, con localidades aisladas en Cantabria, Burgos, Álava y Navarra y otra zona sureña de menor extensión en Cuenca y Guadalajara.

Los objetivos son: actualizar la información existente sobre las poblaciones de la CAPV, averiguar si es posible su conservación *ex situ*, conocer las condiciones necesarias y determinar su protocolo óptimo de germinación.

El BG del JBO (Agut, A. et al., 2013), estableció un protocolo óptimo de germinación para las semillas de *Arenaria vitoriana* en fresco. En este trabajo se contrastan los resultados de este estudio previo con los obtenidos en este estudio específico para poder validar o no los resultados del estudio anterior, además de conocer el protocolo óptimo de germinación tras el pretratamiento de estratificación fría, atendiendo a la ecología de la especie. En segundo lugar comprobaremos si se mantiene tanto el mismo porcentaje de germinación, como el mismo protocolo óptimo tras el proceso de conservación. Con los resultados obtenidos en los ensayos T2FRESCO y T2EXSITU, además del T1FRESCO, podremos saber si las diferencias son debidas al envejecimiento o a la conservación *ex situ*.

El análisis estadístico realizado, utilizando el software R, se ha basado en el modelo de regresión binomial logístico. Los resultados de este estudio actualizan y amplían la información existente sobre las poblaciones conocidas, se ha determinado su protocolo óptimo de germinación (con fotoperíodo 12/12 día/noche) en T2EXSITU y T2EXSITU' (12/22°C y 4/14 o 12/22°C) y se ha probado que sus semillas son ortodoxas pudiendo ser conservadas *ex situ* (ultrasecas y a -18°C).

**Palabras clave:** *Arenaria vitoriana*, protocolo óptimo de germinación, Banco de Germoplasma (BG), semilla, conservación *ex situ*, Regresión Binomial Logística.

## Introducción

Este estudio se ha centrado en la conservación *ex situ* de semillas de *Arenaria vitoriana*, una especie Rara en la Comunidad Autónoma del País Vasco (VV.AA., 2010; BOPV, 2011). Los objetivos de este trabajo son:

1. Actualizar la información existente sobre poblaciones conocidas en la CAPV.
  1. a.- Censos poblacionales.
  1. b.- Datos fenológicos.
2. Determinar el protocolo óptimo de germinación para *Arenaria vitoriana* en cada estado (fresco y tras proceso de conservación *ex situ*).
3. Averiguar si es posible conservar *ex situ* las semillas de esta especie y conocer las condiciones necesarias.

## Contexto

La biodiversidad mundial está disminuyendo a gran velocidad en los últimos años, en el periodo comprendido entre 1996 y 2004 un total de 8321 especies vegetales se incorporaron a la Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) (Bachetta G. et al., 2008).

El germoplasma es cualquier material capaz de transmitir los caracteres hereditarios de una generación a otra (Witt, 1985).

El Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu (JBO) tiene como objetivo principal la conservación a largo plazo de la flora silvestre amenazada, endémica, rara y singular de la CAPV y territorios limítrofes, además de las especies estructurales y características de los Hábitat de Interés Comunitario del mismo ámbito geográfico (Agut, A. et al., 2012).

## Antecedentes

La propuesta del científico ruso Nicolai Ivanovitch Vavilov, de preservar semilla *ex situ* garantizando su viabilidad en un periodo largo de tiempo, nació entre los años 1920 y 1930 (Koob et al., 2004). Hasta 1992 las semillas conservadas eran de importancia económica; tras la Cumbre de

la Tierra de Río de Janeiro, para evitar la pérdida de biodiversidad se creó el Convenio de Diversidad Biológica (CDB) convirtiendo la conservación de plantas silvestres raras o en riesgo de extinción en el objetivo de los bancos de germoplasma. El JBO constituyó su Banco de Germoplasma Vegetal en el año 2010 y en el “Programa de conservación de flora amenazada de los Montes Altos de Vitoria (LIC ES 2110015)” (Agut, A. et al., 2013) incorporó entre sus objetivos de conservación a *Arenaria vitoriana*. Sus semillas se conservaron *ex situ* ultrasecas y a bajas temperaturas. Para hallar el protocolo óptimo de germinación se realizaron ensayos de germinación con semillas frescas en distintas condiciones experimentales (termoperiodos constantes a 10, 15, 20, 25°C y fotoperíodo de 16/8 h día/noche).

## Objeto de estudio

*Descripción de la planta.* *Arenaria vitoriana* es un caméfito de 5-10 (15) cm de altura con cepa fina y flexible, alargada, de la que nacen ramas laterales cortas sobre cuyos tallos del año se disponen hojas opuestas y decusadas, a modo de cruz. Las hojas son de contorno oval-lanceolado, lampiñas salvo algunos cilios en sus bordes, que están muy engrosados. En la primavera los tallos del año anterior se prolongan, distanciándose más entre sí las parejas de hojas, que tienen su mitad superior retorcida hacia abajo. En la parte apical de dichos tallos nacen los glomérulos de flores, envueltos en brácteas similares a las hojas. Las flores tienen cinco sépalos lanceolados de ápice romo y cinco pétalos bastante grandes, de 10-13 mm, de color blanco, forma elíptica o algo espatulada y enteros en el ápice. La parte sexual la componen 10 estambres y un ovario formado por la unión de 3 carpelos, que da lugar a un fruto en cápsula, muy pequeño y blando, que se abre por 6 dientes apicales. En su interior lleva numerosas semillas negras, con el dorso y la cara enteramente cubiertos por pequeños tubérculos, que pueden ser bajos y anchos, o enteros y alargados.

Florece desde la primera mitad de mayo hasta comienzos de julio, y sus frutos

maduran en verano. Durante casi todo el año es una planta poco vistosa. Es en el momento de la floración cuando resulta bastante llamativa, debido al tamaño relativamente grande de sus blancos pétalos, y al gran número de flores, que dan a cada planta el aspecto de una blanca almohadilla que adorna los pedregosos lugares en los que habita (Agut, A. et al., 2013).

**Cuadro 1.** Clasificación taxonómica de *Arenaria vitoriana*

<i>Arenaria vitoriana</i> Uribe-Echebarria & Alejandro	
<b>Reino</b>	<i>Plantae</i>
<b>Subreino</b>	<i>Traqueobionta</i>
<b>Superdivisión</b>	<i>Spermatophyta</i>
<b>División</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Clase</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Subclase</b>	<i>Caryophyllidae</i>
<b>Orden</b>	<i>Caryophyllales</i>
<b>Familia</b>	<i>Caryophyllaceae</i>
<b>Subfamilia</b>	<i>Alsionioideae</i>
<b>Tribu</b>	<i>Alsineae</i>
<b>Género</b>	<i>Arenaria</i>
<b>Especie</b>	<i>Arenaria vitoriana</i>

**Hábitat.** Este caméfito se encuentra acantonado en descarnaduras calizas levemente deprimidas, temporalmente húmedas por la fusión de la nieve en invierno-primavera y en las que las condiciones de humedad edáfica, hielo y sequedad estival permiten una crioturbación del sustrato. Las montañas de la mitad meridional de la CAPV, donde habita, soportan una cierta continentalidad climática y permiten reproducir a pequeña escala los ambientes del páramo ibérico. Las alteraciones artificiales: pistas, bancales y remociones próximas le favorecen a corto plazo, aunque pueden acabar destruyendo los biotopos naturales que le han servido de refugio durante los últimos milenios. Los límites altitudinales mínimo y máximo son 650 y 1100 m.

**Enquadre fitosociológico.** En el País Vasco pertenece a comunidades de la clase fitosociológica *Festuco hystricis-Ononidetea striatae*, que agrupa vegetación basófila formada por caméfitos de corta talla, en ocasiones pulviniformes, que se mezclan con gramíneas de hojas duras, de

distribución atlántico-medioeuropea y mediterránea. La comunidad vegetal de la que forma parte *Arenaria vitoriana* se encuentra dentro de la alianza *Plantagini discoloris-Thymion mastigophori*. La asociación a la que pertenece es *Festuco hystricis-Genistetum eliasennenii*, que agrupa los matorrales rastreros edafoxerófilos de cresta o espolón de las sierras castellano-cantábricas que surcan el norte de Burgos hasta la Navarra media occidental. Estas comunidades se reconocen como el hábitat de interés comunitario 6170.4. Pastos parameros con *Festuca hystrix* y matorrales de *Genista eliasennenii*. (Peralta, J. 2005; Loidi et al. 1997; SIVIM, 2014)

**Distribución.** Endemismo de la Península Ibérica, propio de las montañas mediterráneas occidentales, distribuido en 6 provincias (Anthos, 2014). Una zona norteña, con localidades aisladas en Cantabria, Burgos, Álava y Navarra, y otra sureña de menor tamaño en Cuenca y Guadalajara.

En la CAPV se encuentra en muy pocas localidades de Álava, la más occidental en las cercanías de Bóveda. Las otras poblaciones se encuentran en los Montes de Vitoria, Treviño, Montes de Izki, Iturrieta y Entzia. Estas últimas contactan ya con la pequeña población navarra de Sierra de Urbasa.

**Grado de amenaza y protección.** En la evaluación realizada para la Lista Roja de la Flora Vasculosa de la CAPV (VV.AA., 2010), siguiendo los criterios de la UICN, *Arenaria vitoriana* ha sido evaluada como NT (Casi Amenazada).

En el Catalogo Vasco de Especies Amenazadas (CVEA) de 1998 (BOPV/EHAA, 1998) se encontraba en la categoría de Rara. En 2011 fue catalogada nuevamente como Rara en el CVEA (BOPV/EHAA, 2011).

La influencia humana ha tenido hasta ahora poca influencia, ya que vive en enclaves descarnados poco apropiados para otros usos, pero por su extremada localización y pequeño tamaño son potencialmente vulnerables.

### Ciclo fenológico.

**Cuadro 2.** Datos fenológicos de *Arenaria vitoriana* (Agut, A. et al., 2013).

<b>Floración</b>	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
<b>Fructificación</b>	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

*Descripción de la semilla como unidad de conservación.*

**Cuadro 3.** Características de la semilla de *Arenaria vitoriana* (Agut, A. et al., 2013).

<b>Talla (mm x mm)</b>	1,15 x 1,16.		
<b>Número de cotiledones</b>	Dicotiledónea.		
<b>Contorno</b>	Ovalado-circular.		
<b>Sección</b>	Reniforme (1:1).		
<b>Color</b>	Negro.		
<b>Estructura exteriores</b>	Pequeños tubérculos.		
<b>Tipo de semillas</b>	Perispermadas.		
<b>Tipo de embrión</b>	Periférico.		
<b>Cat. de conservación</b>	Ortodoxa.		

### Interés del estudio.

Como ya se ha mencionado anteriormente, la pérdida de biodiversidad se ha incrementado en los últimos años debido principalmente a la acción humana. Por ello, en 1992 se aprobó el Convenio de Diversidad Biológica (Williams, C. et al., 2003).

*Arenaria vitoriana* es un endemismo ibérico que debido a la extremada localización y pequeño tamaño de sus poblaciones está catalogada como NT (Casi Amenazada) en la Lista Roja de la Flora Vasculosa de la CAPV (VV.AA., 2010) y como Rara en el vigente Catálogo Vasco de Especies Amenazadas (BOPV/EHAA, 2011).

La germinación de *Arenaria vitoriana* no ha sido estudiada en profundidad todavía, por lo que el protocolo de germinación no está bien definido.

### Materiales y métodos

En este apartado se presentan los protocolos empleados para los censos poblacionales y el tratamiento experimental de los datos recabados.

Además se recogen los protocolos seguidos en el BG del JBO para la recolección, post-maduración, cuarentena y

limpieza, caracterización de semillas y accesiones, conservación e ingreso de las semillas en el BG y estudios germinativos de *Arenaria vitoriana* (Agut, A. et al., 2012), dirigidos a determinar el protocolo óptimo de germinación, y estudiar si es posible la conservación *ex situ* de *Arenaria vitoriana*.

-Censos poblacionales.

La época óptima para realizar los recuentos es la etapa de crecimiento, durante la floración y fructificación. Para conocer el número de individuos de las poblaciones de *Arenaria vitoriana* en las distintas localidades presentes se procedió a la realización de censos poblacionales. Siguiendo las recomendaciones de la Metodología AFA (Atlas de la Flora Amenazada de España) los censos se pueden realizar bien por censo directo, cuando el número de individuos es menor de 2500, o por estimación, si el número de individuos sobrepasa los 2500, procediendo a una estima de la población midiendo el área de ocupación de la especie (Iriando, J.M., 2011). En el caso de *Arenaria vitoriana*, como la poblaciones cuentan con un número de individuos bajo, se realizaron censos directos.

#### -Datos fenológicos.

Para obtener los datos fenológicos se realizaron sucesivas visitas a las distintas poblaciones de *Arenaria vitoriana* durante todo el ciclo fenológico.

#### -Tratamiento de las semillas.

**Recolección.** La recolección de semillas de *Arenaria vitoriana* se realizó en el mes de septiembre en la población de Aguillo (Condado de Treviño, Burgos). Este material se recogió asegurando la mayor diversidad genética posible, sin comprometer la viabilidad de la población en su hábitat natural; calibrando la presión ejercida por la recolección y adaptándola a la población. Para ello fue importante conocer y considerar las características biológicas de la especie, su ciclo vital y biología reproductiva (Bacchetta, G. et al., 2008) mediante el seguimiento y vigilancia de la población durante las semanas previas.

**Post-maduración, cuarentena y limpieza.** Una vez que el material llegó al Banco, se depositó en una bandeja sobre papel de filtro dentro del armario de post-maduración, en condiciones de 20-22°C y 40-45% HR durante 2 semanas. Este proceso permite alcanzar a las semillas no maduras la capacidad de germinación.

En el proceso de limpieza se separaron las semillas de ramas, hojas, frutos, cubiertas, impurezas, etc. Se utilizaron procedimientos manuales y mecánicos.

**Conservación e ingreso de las semillas en el Banco de Germoplasma.** Antes de iniciar el proceso de conservación se separó una submuestra de semillas con las que se hicieron los ensayos de germinación en estado fresco (T1FRESCO y T2FRESCO). Con las semillas conservadas *ex situ* las etapas de conservación fueron las siguientes: desecado, ultrasecado, encapsulado y almacenamiento a bajas temperaturas.

Una vez limpiadas, las semillas se introdujeron en la sala de desecado, de condiciones ambientales controladas (10°C y 10-15% HR), durante 2-3 semanas; en recipientes de plástico abiertos para que las semillas se equilibrasen con las condiciones de la sala. Después, para ultradesecarlas se

introdujeron en una vitrina de metacrilato bajo condiciones controladas (7-12% HR). Se monitorizó la disminución de su peso y contenido de humedad ( $a_w$ , actividad del agua), utilizando una microbalanza de precisión y un psicrómetro respectivamente. Se realizaron tres medidas de estos parámetros, una en cada estado (fresco, seco y ultraseco).

Las semillas ultrasecas se repartieron en tubos de ensayo de vidrio reforzado conformando distintas submuestras, de peso y cantidad conocidas. Se añadió un tampón de algodón hidrófobo separando las semillas de las cápsulas de gel de sílice (agente desecante e indicador de humedad). Los tubos se etiquetaron y se termosellaron a la llama para garantizar su hermeticidad.

Las etiquetas permitían identificarlos por un código de barras, un código de acceso o entrada y el nombre del taxón. Se colocaron en gradillas en la cámara de conservación. Las condiciones de conservación son a -18°C durante un periodo de tiempo indefinido, anotando la fecha de ingreso en la sala de conservación del BG. Los tubos con las semillas de *Arenaria vitoriana* utilizadas en este estudio permanecieron 3 meses en estas condiciones.

#### -Tratamiento experimental.

Los datos utilizados son los obtenidos en los 3 ensayos realizados en el BG del JBO con semillas en tres estados: semillas frescas sin ninguna manipulación ni tratamiento recientemente recolectadas (T1), semillas procesadas para su conservación *ex situ* (ultrasecas y -18°C) y tras 3 meses de almacenamiento (T2) y semillas frescas mantenidas el mismo periodo de tiempo en condiciones ambientales de laboratorio (T2). En los 3 casos se han ensayado 3 condiciones experimentales, consignadas en las cámaras de germinación y crecimiento: termoperiodo 14/4°C, 22/12°C y 30/20°C y fotoperiodo 12/12 h luz/oscuridad. Además se han realizado ensayos control y ensayos con pretratamiento, aplicando sobre los lotes de semillas una estratificación fría previa. La nomenclatura seguida para los controles de cada ensayo han sido los siguientes: T1FRESCO, T2FRESCO,

T2EXSITU. Para los ensayos con pretratamientos: T1FRESCO, T2FRESCO, T2EXSITU.

Para la realización de los ensayos se realizó la selección aleatoria de las semillas, tanto para las frescas como para las conservadas *ex situ*.

El número total de semillas requerido para la realización de cada uno de los distintos ensayos ( frescas, conservadas *ex situ*, fresco tras proceso de conservación) es de 600 semillas, 300 para el control y 300 para las pretratadas.

La semilla podía no estar completamente desarrollada en el momento de la siembra (diferentes grados de maduración), por lo que fue necesario sembrarla en el medio de cultivo adecuado (Lobato de Oliveira Fischer, L. et al., 2013). Por tanto, se utilizó agar al 1% en agua destilada. Se esterilizó en autoclave 20 min a 121°C. Se dejó enfriar y se procedió al plaqueado y siembra en condiciones asépticas en cabina de flujo laminar.

La duración de los ensayos fue de 90 días. En los ensayos control las semillas pasaron 90 días dentro de las cámaras de germinación y crecimiento a las distintas temperaturas y las semillas de los ensayos con el pretratamiento tras 59 días (2 meses) de estratificación fría, pasaron 31 días en las mismas condiciones.

Los recuentos de germinación se realizaron los lunes, miércoles y viernes. Las semillas germinadas en placa, se sembraron en bandejas de alveolos forestales para estudiar su protocolo de producción y cultivo.

#### -Análisis de datos.

Con los datos tomados a lo largo del ensayo de germinación se pudieron caracterizar los resultados obtenidos mediante el cálculo de varios parámetros germinativos que se definen a continuación (Bacchetta, G. et al., 2008):

Velocidad de germinación (T50) (Côme, D., 1970):

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

Donde:

N= porcentaje final de semillas germinadas,  
 N1= porcentaje de semillas germinadas por debajo de N/2,  
 N2= porcentaje de semillas germinadas por encima de N/2,  
 T1= número de días que corresponden a N1, y  
 T2= número de días que corresponden a N2.

Retardo germinativo (RG): Es el tiempo necesario para observar la primera semilla germinada (Bacchetta, G. et al., 2008).

Tiempo medio de germinación (GMT): Permite conocer el tiempo medio de germinación de las semillas analizadas (Tompson, P.B. & Pritchard, H.W., 1998):

$$MGT = \frac{\sum n_i \cdot d_i}{N}$$

Donde:

$n_i$  = nº de semillas germinadas en el día  $d_i$ ,  
 $d_i$  = nº de días desde el inicio del ensayo de germinación, y  
 N = nº total de semillas germinadas al final del ensayo.

Valor Pico (VP): Es el porcentaje de germinación en un punto T respecto al número de días necesarios para alcanzar este punto (Bacchetta, G. et al., 2008):

$$VP = \frac{\% \text{ germinación en T}}{\text{punto T}}$$

Donde:

El punto T es en el que se cortan la curva de germinación (donde la velocidad de germinación empieza a descender) y una recta tangente a la misma desde el origen.

Valor de Germinación media diaria (GMD):

$$GMD = \frac{\% \text{ Germinación total}}{\text{Duración del ensayo}}$$

Vigor de Germinación: relaciona los parámetros VP y GMD mediante la siguiente expresión:

$$VG = VP \times GMD$$

#### -Herramientas estadísticas.

Los datos utilizados son los obtenidos de los 3 ensayos realizados en el BG del JBO, en los estados T1FRESCO, T2FRESCO y tras el proceso de conservación T2EXSITU. Los ensayos T2FRESCO y T2EXSITU se realizaron simultáneamente, en el mismo periodo de tiempo. El T2FRESCO consiste

en un lote de semillas mantenido en condiciones ambientales durante el mismo periodo de tiempo en el que el lote T2EXSITU fue conservado siguiendo la metodología estándar que sigue el BG del JBO, por ello los resultados de ambos ensayos son comparables. El T1FRESCO se trata de un ensayo realizado en diferente periodo de tiempo, por lo que este ensayo solo sirve como orientación, ya que las diferencias estadísticas que se pudieran encontrar pueden no ser causadas por cada tratamiento, si no por diferencias (desconocidas) en cada experimento. Por ello, ajustamos un modelo estadístico para cada ensayo, siendo los que más nos interesan el T1FRESCO y el T2EXSITU, ya que en realidad, en un Plan de Conservación serán los estados de las semillas a partir de los cuáles se debería producir planta, semillas recién recolectadas o frescas (T1FRESCO) o semillas conservadas en el Banco de Germoplasma (T2EXSITU). El ensayo T2FRESCO nos permite conocer contrastando sus resultados con el ensayo T2EXSITU si existen diferencias debidas al proceso de conservación.

Los datos que se obtuvieron a partir de los ensayos de germinación se trataron con el software estadístico R (R Development Core Team, 2013). El tratamiento estadístico que se utilizó fue una regresión binomial logística, la cual se usa para construir modelos de Bernoulli de respuestas binarias (éxito o fracaso), donde  $p$  es la probabilidad de éxito (valor esperado de la variable aleatoria) y su varianza es  $p(1-p)$ . Se modela el cambio de  $p$  a lo largo de un gradiente de temperatura.

Este tipo de regresión es a menudo aplicada mediante el modelo de regresión logístico, en el cual la respuesta es un *logit* y al menos una variable explicativa continúa.

Dados  $n$  ensayos de Bernoulli  $\gamma_i$   $i=1, 2, 3, \dots, n$ , el modelo de regresión logístico con independencia de la probabilidad del éxito  $p_i$  [ $P(Y_i = 1)$ ] en los valores correspondientes a las  $k$  variables explicativas  $x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{ik}$  puede ser escrito como (Hosmer, D. W. & Lemeshow, S, 1989):

$$\ln\left(\frac{p_i}{1-p_i}\right) = \alpha + \sum_{j=1}^k \beta_j x_{ij}$$

Las variables explicativas pueden ser continuas o categóricas. En este caso, la variable continua es la temperatura (4/14° C, 12/22° C y 20/30° C), y la categórica el estado de las semillas (frescas, tras conservación *ex situ*) y el pretratamiento (sin pretratamiento, con pretratamiento). La relación  $p_i/1-p_i$  es conocida como *odds* de éxito o simplemente *odds o*. El *log-odds* es también conocido como "*logit* ( $p_i$ )". Por lo tanto, simplificando y expandiendo la parte derecha del modelo se tiene:

$$\ln(\text{odd}) = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_k x_k$$

El modelo tiene un componente lineal en la parte derecha, el cual puede coger cualquier valor de entre  $-\infty, \infty$ . Lo que se necesita es estimar los parámetros  $k+1$  ( $\alpha$  y el  $k\beta_j$ ) que vienen de cada ensayo independiente.

-Protocolo óptimo de germinación.

A través de los modelos estadísticos se extraen las conclusiones para el protocolo óptimo de germinación.

- Conservación *ex situ*.

Se comprueba, mediante los porcentajes de germinación, si mantiene capacidad germinativa aceptable después del proceso de conservación.

## Resultados

-Censos poblacionales.

**Cuadro 4.** Censos poblacionales de *Arenaria Vitoriana*.

Localidad	Cuadrícula UTM 1km	Nº indiv.
Aguillo	30TWN2832	1376
Alto del Mojón	30TWN5940	410
Beolarra	30TWN3630	27
Campas Valmontáñez 1	30TVN8254	925
Campas Valmontáñez 2	30TVN8253	989
Corral de Félix	30TWN3631	220
El Espinal	30TWN3632	412
Onraitia 1	30TWN5139	200
Onraitia 2	30TWN5039	100
Onraitia 3	30TWN4939	100
Saraso 1	30TWN2730	353
Saraso 2	30TWN2830	284
<b>Total</b>		<b>12 5396</b>



Tras los censos realizados se ha hallado el número total de individuos de las 12 poblaciones conocidas.

- Fenología anual.

Cuadro 5. Datos fenológicos de *Arenaria vitoriana*.

<b>Floración</b>	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
<b>Fructificación</b>	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
<b>Quiescencia</b>	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
<b>Crecimiento</b>	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

A medida que se han ido visitando las poblaciones se han ido observando las diferentes etapas de su ciclo fenológico,

actualizando la información existente al respecto.

- Parámetros germinativos.

Los resultados obtenidos en los diferentes ensayos se presentan en el cuadro 6.

Los parámetros son: Pretratamiento, Estado, Temperatura (T), Porcentaje de Germinación (N), Duración Ensayo (DE), Retardo Germinativo (RG), Tiempo de Última Germinación (TUG), Tiempo 50 (T50), Tiempo Medio de Germinación (MGT), Valor Pico (VP), Germinación Media Diaria (GMD) y Vigor de Germinación (VG).

Cuadro 6. Resultados de los parámetros obtenidos durante los ensayos realizados.

Pretrat.	Estado	T (°C)	N	Duración ensayo	RG	TUG	T50	MGT	VP	GMD	VG
-	T1FRESCO	4/14	66	90	7	32	11,25	11,21	3,07	0,73	2,25
		12/22	58	90	5	18	7	5,68	4,21	0,64	2,71
		20/30	24	90	5	27	11,22	3,1	1,53	0,26	0,41
Estrati. fría	T1FRESCO'	4/14	43	31	0	25	6,2	11,03	3,06	1,38	4,24
		12/22	44	31	0	25	5,5	10,51	4,5	1,41	6,38
		20/30	41	21	0	27	7,25	15,9	3,03	1,32	4
-	T2FRESCO	4/14	56	90	4	34	9,88	7,63	2,97	0,62	1,85
		12/22	63	90	4	38	7,11	7,25	4,53	0,7	3,17
		20/30	30	90	4	38	11	4,92	1,45	0,33	0,48
Estrati. fría	T2FRESCO'	4/14	62	31	0	31	15	33,41	2,17	2	4,35
		12/22	69	31	0	31	14,28	34,67	2,46	2,22	5,48
		20/30	16	31	0	27	4	3,35	1,96	0,51	1,01
-	T2EXSITU	4/14	53	90	9	29	14,87	10,26	2	0,58	1,17
		12/22	58	90	9	25	10	8,24	3,63	0,64	2,34
		20/30	15	90	9	27	17	4,41	0,52	0,16	0,08
Estrati. fría	T2EXSITU'	4/14	64	31	0	31	13,9	31,25	2,64	2,06	5,46
		12/22	64	31	0	31	12,2	29,22	3,12	2,06	6,45
		20/30	9	31	0	31	7,25	17	0,5	1,41	0,7
		MEDIA	46,39	59,94	3,11	29,28	10,27	13,84	2,63	1,06	2,92

-Protocolo óptimo de germinación.

En las graficas 1, 2, 3, 4, 5 y 6 se presenta la germinación acumulada con respecto a los días de duración del ensayo.

-Modelos estadísticos.

Para la comparación entre las semillas de los controles y las sometidas a pretratamiento de estratificación fría, se han

definido los modelos estadísticos de las germinaciones obtenidas en cada uno de los ensayos para cada uno de los estados de conservación estudiados (T1FRESCO, T2FRESCO y T2EXSITU), según el Modelo de Regresión Binomial Logístico. Las curvas atienden a un modelo de regresión cuadrático. En T1FRESCO la  $R^2$  obtenida es de 0,5804952 (cuadro 7), para

T2FRESKO de 0,9257953 (cuadro 8) y para T2EXSITU de 0,972208 (cuadro 9).

Por otro lado, se presenta el modelo estadístico (cuadro 10) que describe las diferencias entre, temperaturas y pretratamientos en los estados de T2FRESKO y T2EXSITU. Como el efecto de la temperatura explica las diferencias entre germinaciones para el 92,55% en T2FRESKO y el 97,22% en T2EXSITU, se ha estudiado el modelo con la variable “temperatura” en *offset* realzando así la significancia de los parámetros

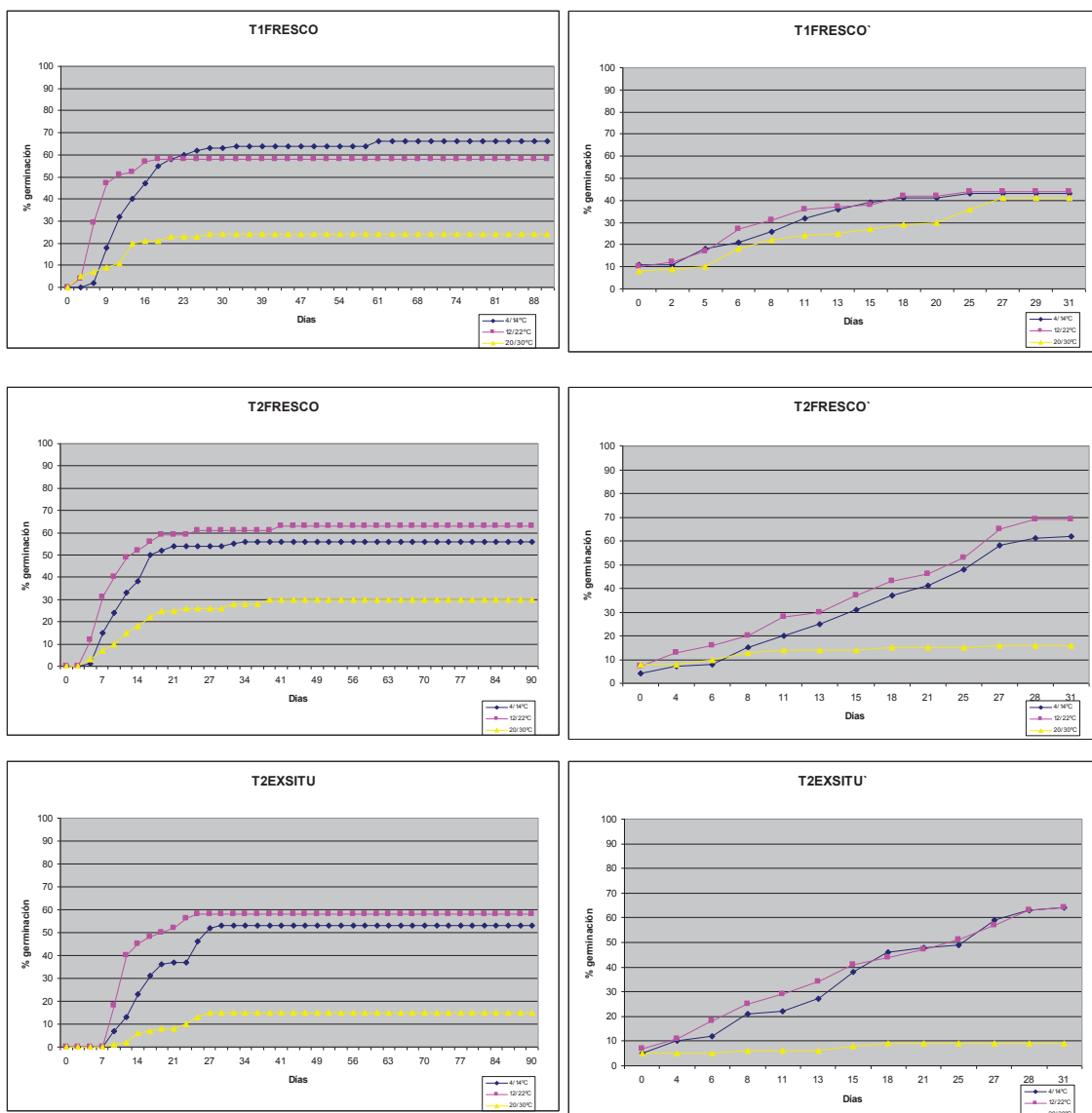
“pretratamiento” y “estado”. La curva atiende a un modelo de regresión lineal quedando un  $R^2$  de 0,001748.

En las graficas 7, 8 y 9 se muestran las curvas de regresión de los 3 estados.

- Conservación *ex situ*.

A continuación, se presentan las curvas que dibujan los porcentajes de germinación de los dos estados frente a la temperatura en cada uno de los estados de conservación.

Graficas 1 y 2 (arriba); 2 y 4 (medio); 5 y 6 (abajo). Resultados de germinación diaria acumulada frente a días.



**Cuadro 7.** Modelo de Regresión Binomial Logístico para T1FRESCO en ambos estados (sin pretratamiento, con pretratamiento)

	<b>Parámetros estimados</b>	<b>Error estándar</b>	<b>Valor de z</b>	<b>Pr(&gt; z )</b>	
<b>β<sub>0</sub></b>	0,433476	0,411123	1,054	0,2917	
<b>β<sub>1</sub> (est)</b>	-0,279351	0,167443	-1,668	0,0952	*
<b>β<sub>2</sub> (temp)</b>	0,061521	0,066719	0,922	0,3565	
<b>β<sub>3</sub> (temp2)</b>	-0,004948	0,002746	-1,802	0,0716	*
LnOdds=β <sub>0</sub> +β <sub>1</sub> *est+β <sub>2</sub> *temp+β <sub>3</sub> *est :temp					
LnOdds=0,433476-0,279351*est+0,061521*temp-0,004948*temp2					

\*Nivel de significancia de 0,1

**Cuadro 8.** Modelo de Regresión Binomial Logístico para T2FRESCO en ambos estados (sin pretratamiento, con pretratamiento)

	<b>Parámetros estimados</b>	<b>Error estándar</b>	<b>Valor de z</b>	<b>Pr(&gt; z )</b>	
<b>β<sub>0</sub></b>	-0,553203	0,425692	-1,300	0,194	
<b>β<sub>1</sub> (est)</b>	-0,031086	0,176316	-0,176	0,860	
<b>β<sub>2</sub> (temp)</b>	0,308800	0,069761	4,427	9,58E-06	***
<b>β<sub>3</sub> (temp2)</b>	-0,016961	0,002903	-5,843	5,11E-09	***
LnOdds=β <sub>0</sub> +β <sub>1</sub> *est+β <sub>2</sub> *temp+β <sub>3</sub> *temp2					
LnOdds=-0,553203-0,031086*est+0,308800*temp-0,016961*temp2					

\*\*\*Nivel de significancia de 0,001

**Cuadro 9.** Modelo de Regresión Binomial Logístico para T2EXSITU en ambos estados (sin pretratamiento, con pretratamiento)

	<b>Parámetros estimados</b>	<b>Error estándar</b>	<b>Valor de z</b>	<b>Pr(&gt; z )</b>	
<b>B<sub>0</sub></b>	-0,945343	0,436225	-2,167	0,0302	*
<b>β<sub>1</sub> (est)</b>	0,187819	0,184985	1,015	0,3100	
<b>β<sub>2</sub> (temp)</b>	0,331558	0,070665	4,692	2,71E-06	***
<b>β<sub>3</sub> (temp2)</b>	-0,019908	0,003049	-6,528	6,64E-11	***
LnOdds=β <sub>0</sub> +β <sub>1</sub> *est+β <sub>2</sub> *temp+β <sub>3</sub> *temp2					
LnOdds=-0,945343+0,187819*est+0,331558*temp-0,019908*temp2					

\*\*\*Nivel de significancia de 0,001

\*Nivel de significancia de 0,05

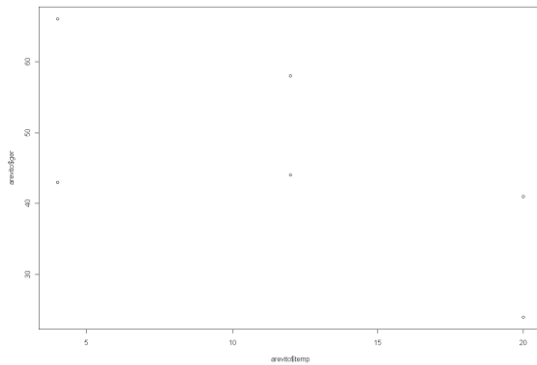
**Cuadro 10.** Modelo de Regresión Binomial Logístico para los estados T2FRESCO y T2EXSITU explicando el comportamiento de la semilla durante el proceso de conservación de manera global.

	<b>Parámetros estimados</b>	<b>Error estándar</b>	<b>Valor de z</b>	<b>Pr(&gt; z )</b>	
<b>β<sub>0</sub></b>	-10,3673	1,0236	-10,128	<2e-16	***
<b>β<sub>1</sub> (est)</b>	-1,5927	0,6699	-2,378	0,0174	*
<b>β<sub>2</sub> (pretrat)</b>	-0,6709	0,6435	-1,043	0,2972	
<b>β<sub>3</sub> (est:pretrat)</b>	0,5910	0,4175	1,416	0,1569	
LnOdds=β <sub>0</sub> +β <sub>1</sub> *est+β <sub>2</sub> *pretrat+β <sub>3</sub> *est :pretrat					
LnOdds=-10,3673-1,5927*est-0,6709*pretrat +0,5910*est :pretrat					

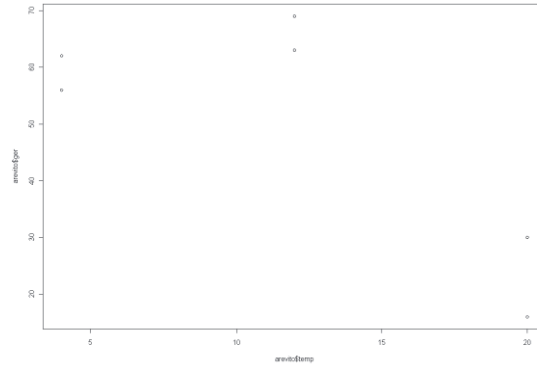
\*\*\*Nivel de significancia de 0,001

\*Nivel de significancia de 0,05

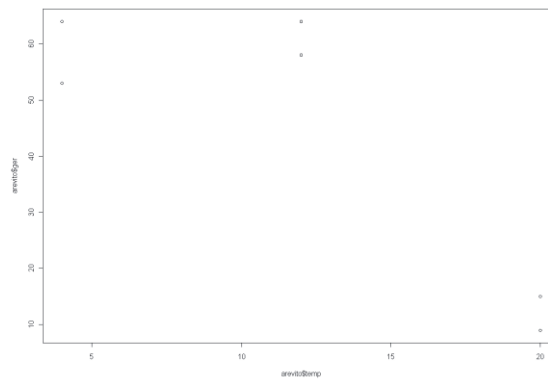
**Gráfica 7.** Resultado de T1FRESCO y T1FRESCO'.



**Gráfica 8.** Resultado de T2FRESCO y T2FRESCO'.



**Gráfica 9.** Resultado de T2EXSITU y T2EXSITU'.



## Discusión

### - Censos poblacionales.

Tras los censos poblacionales realizados se ha corroborado la existencia de *Arenaria vitoriana* en 12 poblaciones citadas anteriormente. La población de Aguillo es la más numerosa junto con las dos poblaciones de las Campas de Valmontañez. La población de Beolarra, con 27 individuos es la menos numerosa.

### - Fenología anual.

Se establece la fenología anual, aportando una mayor precisión y datos novedosos no recogidos en ningún estudio anterior.

### - Parámetros germinativos.

N. Se observa que la germinabilidad de la semillas de *Arenaria vitoriana* es alta a temperaturas bajas (4/14° C) y medias (12/22° C). Tanto en fresco como tras el proceso de conservación *ex situ* los

mayores porcentajes de germinabilidad se obtienen a temperaturas medias (12/22°C).

En cuanto a la diferencia entre las semillas sin pretratamiento y las semillas sometidas a pretratamiento de estratificación fría, los porcentajes son mayores en las semillas pretratadas, tanto en las T2FRESCO como en las T2EXSITU, siendo menor en el T1FRESCO.

RG. Es nulo en las semillas sometidas a estratificación fría y la diferencia en cuanto a las temperaturas en nula. Podemos concluir que el proceso de conservación retarda la primera germinación, siendo el RG de 4 días para las T2FRESCO y de 9 para las T2EXSITU.

TUG. En las semillas sometidas a pretratamiento puede ser conveniente prolongar unos días los ensayos, debido a que las últimas germinaciones se dan al final.

T50. Podemos observar que tanto para las temperaturas bajas (4/14° C) y altas (20/30° C) el T50 es mayor en la mayoría

de los casos, obteniéndose un T50 menor para las temperaturas medias (12/22° C), siendo esta la mejor combinación de temperaturas para obtener porcentajes de germinación elevados.

MGT. Se ha obtenido gran fluctuación entre las temperaturas estudiadas y para cada ensayo. No se sigue un patrón pero el tiempo medio requerido es de 14 días. Podemos observar que en la mayoría de los casos a temperaturas altas (20/30° C) se requiere menos tiempo de germinación media en comparación al resto.

VP. Los valores pico mayores son para las temperaturas intermedias (12/22° C), lo que nos indica que las semillas de *Arenaria vitoriana* a dichas temperaturas se comportan de una manera más explosiva.

GMD. Solo se supera la unidad en los ensayos en los que se ha realizado pretratamiento de estratificación fría, siendo las temperaturas bajas y medias las idóneas.

VG. El índice de vigor de germinación consolida las conclusiones obtenidas en los otros parámetros germinativos estudiados.

#### -Protocolo óptimo de germinación.

Los protocolos óptimos que nos interesan son los de los estados fresco y tras su conservación *ex situ*, ya que son las dos situaciones frente a las que nos podemos enfrentar en un hipotético Plan de Recuperación o Conservación de la especie que requiera refuerzos poblacionales, introducciones benignas o reintroducciones, puesto que contaríamos con la posibilidad de recolectar semillas y ponerlas a germinar (semillas frescas) o utilizar las semillas que guardamos en los bancos (deshidratadas y congeladas, tras proceso de conservación *ex situ*) en caso de que la situación sea tan extrema que así lo requiera.

En el caso de las semilla frescas no hemos obtenido un protocolo óptimo de germinación, ya que las diferencias debido a la temperatura no son significativas (0,1) entre las distintas condiciones de ensayo, habiendo otros factores que también afectan a la germinabilidad. A pesar de todo, el termoperiodo con el que hemos conseguido mayor porcentaje de germinación es el de 4/14°C para T1FRESCO y cualquiera de los tres termoperiodos para T1FRESCO',

obteniéndose en los tres casos porcentajes parecidos (43,44 y 41%).

Para las semillas conservadas *ex situ*, el protocolo óptimo obtenido es de un termoperiodo de 12/22°C en T2EXSITU y de 4/14 o 12/22°C en T2EXSITU'. En este caso la temperatura es el factor determinante para la germinación de las semillas, con un nivel de significancia del 0,001.

#### - Conservación *ex situ*.

La germinabilidad media del lote de semillas conservado en condiciones ambientales es del 49% y el de las semillas conservadas *ex situ* del 44%, siendo esta diferencia despreciable, ya que el nivel de significancia del estado de las semillas es del 0,1. Así, podemos concluir que las semillas de *Arenaria vitoriana* tienen un comportamiento ortodoxo y que pueden ser conservadas *ex situ* bajo las condiciones descritas anteriormente (ultrasecas y a -18°C) con apenas variaciones en su germinabilidad.

#### - Conclusión.

En cuanto al pretratamiento, una vez comparado el control frente a la estratificación fría no se observan diferencias significativas. Pensamos que la estratificación fría es la que mejor se adapta a la ecología y hábitat de la especie pero tal vez alguna combinación de estratificación cálida y posteriormente fría aumentaría los porcentajes de germinabilidad.

Este trabajo actualiza y amplía la información que se poseía sobre *Arenaria vitoriana* y sus poblaciones conocidas en la CAPV y territorios limítrofes. No hemos podido establecer un protocolo óptimo de germinación en el caso de las semillas frescas, pero si para el lote conservado *ex situ* y hemos determinado que es posible la conservación *ex situ* de dicha especie.

#### Agradecimientos

Agradecer, en primer lugar a Agustí Agut, responsable del BG del JBO, su acogida para la realización de este proyecto, su implicación y su dedicación a lo largo del mismo.

A Javier Loidi, director del máster y codirector de este trabajo, reconocerle el

papel institucional y agradecerle la orientación en la elección del proyecto.

Y, por último, a mi familia y cuadrilla por el apoyo dado durante este tiempo.

## Referencias

- AGUT, A. et al., 2012 El Banco de Germoplasma Vegetal del Jardín Botánico de Olarizu. Biogaia: 6-7pp.
- AGUT, A., DEL CANTO, A. y MIRA, S. “Memoria final del proyecto programa de conservación y reintroducción de la flora amenazada y característica de los robledales isla de Llanada Alavesa (LICES2110013)”, 2012. Banco de germoplasma del Centro de estudios ambientales de Vitoria-Gasteiz. 114pp.
- AGUT A., DEL CANTO A., FRANCO M. (2013), Conservación ex situ de la flora amenazada y característica de los Montes Altos de Vitoria (LIC ES2110015). Banco de Germoplasma Vegetal del Jardín Botánico de Olarizu. Centro de Estudios Ambientales. Dpto. de Medio Ambiente y Espacio Público del Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz. Dpto. de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca. Gobierno Vasco. Informe inédito.
- 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.
- ASEGINOLAZA, C., GOMEZ, D., LIZAU, 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.
- BACCHETTA, G., BUENO SANCHEZ, A., FENU, G., JIMENEZ-ALFARO, B., MATTANA, E., PIOTTO, B. & VIREVAIRE, M. (EDS) (2008). Conservación ex situ de plantas silvestres. Principado de Asturias/ La Caixa. 378pp
- B.O.P.V/EHAA, (1996), Decreto 167/1996, de 9 de julio, por el que se regula el catálogo Vasco de Especies Amenazadas de la Fauna y Flora Silvestre y marina. (Nº 140 ZK). Departamento de Industria, Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco.
- B.O.P.V/EHAA, (1998). Orden de 10 de julio de 1998, del Consejero de Industria, Agricultura y Pesca por la que se incluyen en el catálogo vasco de Especies Amenazadas de Fauna y Flora, Silvestre y Marina, 130 taxones y 6 poblaciones de la flora vascular del País Vasco (Nº 141 ZK). Departamento de Industria, Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco.
- B.O.P.V/EHAA, (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. (Nº 37 ZK). Departamento de Medio Ambiente.
- CÔME, D., (1970) “Les obstacles à la germination”, 1970. Masson & CIE, París
- IRIONDO, J.M. (Coordinador). “Atlas y Libro Rojo de la Flora Vascular Amenazada de España. Manual de metodología del trabajo corológico y demográfico”, 2011. Dirección General de Medio Natural y Política Forestal (Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino). Sociedad Española de Biología de la Conservación de Plantas. Madrid, 70 pp.
- KOO B., PARDEY P. & WRIGHT B., 2004. Saving seeds. IPGRI and IFPRI. CABI Publishing. Wallingford, UK. pp. 209-217.
- LOBATO DE OLIVEIRA FISCHER, L., ROSSAROLLA, M.D., FISCHER, C., LOBATO DE OLIVEIRA, E. & LUIZ GIACOBBO, C. “Emergência de plântulas de porta-enxertos de

- pessegueiro submetidos a diferentes períodos de estratificação”, Enero-Marzo 2013. Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. Revista: Ciência Agronômica, v. 44, n. 1, p. 199-204. [www.ccarevista.ufc.br](http://www.ccarevista.ufc.br) ISSN 1806-6690  
Obtenido de <http://www.accesowok.fecyt.es/>
- LOIDI, J., BIURRUN, I. & HERRERA, M. (1997). La vegetación del centro-septentrional de España. *Itinera Geobotanica* 9: 161-618.
- LOIDI, J., DÍAZ T.E., & HERRERA, M. (1997). El paisaje vegetal del Norte-Centro de España. *Itinera Geobotanica* 9: 5-160.
- PERALTA, J. (2005). Hábitats de Navarra de interés y prioritarios (Directiva de Hábitats). Universidad Pública de Navarra. Pamplona.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. “R: A language and environment for statistical computing”, 2011. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL: <http://www.R-project.org/> 25/03/2013
- TOMPSETT P.B. & PRITCHARD H.W. “The effect of chilling and moisture status on the germination, desiccation tolerance and longevity of *Aeusculus hippocastanus* L. seed”, 1998. *Annals of Botany* 82:249-261.
- IUCN, “Red List Categories”, 1994. Prepared by the IUCN Species Survival Commission. IUCN, Gland, Switzerland.
- IUCN, “Red List Categories and Criteria: Version 3.1”, 2001. IUCN Species Survival Commission. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, Uk.
- 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. (2012). Catálogo florístico de los Montes de Vitoria. Centro de Estudios Ambientales, Ingurugiro Gaietarako Ikastegia. Vitoria-Gasteiz. Informe inédito.
- URIBE-ECHEBARRIA, P.M., ZORRAKIN, I., CAMPOS, J.A. & DOMINGUEZ, A. (2006). Flora Vasculare Amenazada en la Comunidad Autónoma del País Vasco. Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz.
- VV.AA. “Lista Roja de la flora vasculare de la C.A.P.V”, 2010. IHOBE. Gobierno Vasco. Dpto. de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y pesca.
- WILLIAMS, C., DAVIS, K. & CHEYNE, P. (2003). The CBD for Botanists: An Introduction to th/e Convention on Biological Diversity for people working with botanical collections. Royal Botanic Gardens, Kew.
- WITT, S., (1985). Biotechnology and genetic diversity. California Agricultural Lands Project, San Francisco. 145 pp.
- Páginas web consultadas:  
Sistema de Información de las plantas de España <http://www.anthos.es/> 1/02/2014  
Sistema de Información de la vegetación Ibérica y Macaronésica <http://www.sivim.info/sivi/1/02/2014>  
<http://www.ingurumena.ejgv.euskadi.net/r4-9-u95/es/u95aWar/especiesJSP/U95aEConsultaEspecie.do?u95aMigasPan=E,14,1;E,1,1,1,1,1;&pk=11380>. 12/12/2013  
Royal Botanic Gardens, Kew: [www.kew.org](http://www.kew.org) 5/9/2013
- Programas informáticos:  
R DEPELOMPENT CORE TEAM (2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org> 25/03/2013







