

# BASES CIENTÍFICAS PARA LA CONSERVACIÓN DE *Senecio carpetanus* (Boiss. & Reut.) UNA PLANTA EN PELIGRO DE EXTINCIÓN EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DEL PAÍS VASCO.

**Autor:** Nancy Salas García

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

MÁSTER 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 - Ayuntamiento de Vitoria-Gazteiz)

Firmado:

Nancy Salas García

Agustí Agut i Escrig

Javier Loidi Arregui

Fecha inicio: 3 de Octubre de 2012  
Fecha fin: 5 de Septiembre de 2013  
Fecha presentación: 6 de Septiembre de 2013



# Bases científicas para la conservación de *Senecio carpetanus* (Boiss. & Reut.), una planta en peligro de extinción en la Comunidad Autónoma del País Vasco.

Nancy Salas García<sup>1,2</sup>, Agustí Agut Escrig<sup>1</sup>, Eder Somoza Valdeolmillos<sup>1,2</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) (nancy.slgr@gmail.com; aagut@vitoria-gasteiz.org).

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

## ABSTRACT

*Senecio carpetanus* is an endangered species (EN) in the Basque Country. This hemikryptophyte is an Iberian endemism that currently has two known populations located in Álava. It had a population in the area of Olarizu and for that reason this species is one of the priority objectives of the conservation in the Germoplasm Bank (GB) of the Olarizu Botanic Garden (OBG).

The aims are: to update the existing information on known populations in the Basque Country, to determine the optimal timing of seed collection, 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 established an optimal germination protocol for fresh, dry and ultradry seeds of *Senecio carpetanus*, collected in 2011 in two different periods that contrasts with the results of this study after the conservation *ex situ* done according to the international standards.

The statistical analysis using R software is based on the binomial logistic regression model. The results of this study are an extension of the existing information, germination percentages of 60-70% in 20-25°C of temperature, and after the freezing a 40% in whatever temperature. The highest germination percentage was obtained in the seeds collected in September. So, it was tested that the seeds are orthodox and can be preserved *ex situ*.

**Keywords:** germination, optimal germination protocol, *Senecio carpetanus*, seeds, binomial regression logistic, *ex situ* conservation.

## RESUMEN

*Senecio carpetanus* es una especie en peligro de extinción (EN) en la CAPV. Este hemicriptófito es un endemismo ibérico que actualmente cuenta con tan solo dos poblaciones conocidas en la provincia de Álava. Contaba con una población en las Campas de Olarizu por ello esta especie es uno de los objetivos prioritarios de conservación del Banco de Germoplasma (BG) del Jardín Botánico de Olarizu (JBO).

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

El BG del JBO, estableció un protocolo óptimo de germinación para las semillas de *Senecio carpetanus* en estado fresco, seco y ultraseco, recolectadas en el año 2011 en dos periodos diferentes de tiempo, que se contrasta con los resultados de este trabajo tras el proceso de conservación *ex situ* realizado según los estándares internacionales.

El análisis estadístico realizado, utilizando el software R, se ha basado en el modelo de regresión binomial logística. Los resultados de este estudio actualizan y amplían la información existente sobre las poblaciones conocidas, se han obtenido porcentajes de germinación del 60-70% a temperaturas cálidas (20-25°C), y después de la congelación de un 40% en cualquiera de las temperaturas. Se obtuvo un mayor porcentaje en semillas recolectadas en el mes de septiembre. Así, se ha probado que sus semillas son ortodoxas y pueden ser conservadas *ex situ*.

**Palabras clave:** germinación, protocolo de germinación óptimo, *Senecio carpetanus*, semillas, regresión binomial logística, conservación *ex situ*.

## INTRODUCCIÓN

Este estudio se ha centrado en la conservación *ex situ* de semillas de *Senecio carpetanus* para lo cual se han desarrollado los siguientes objetivos:

1. Actualizar la información existente sobre las poblaciones conocidas en la CAPV.
  - 1.a.- Censos poblacionales.
  - 1.b.- Datos fenológicos.
  - 1.c.- Datos fitosociológicos.
2. Determinar el protocolo óptimo de germinación para *Senecio carpetanus*.
  - 2.a.- Semillas frescas, secas, ultrasecas y congeladas.
3. Determinar el momento óptimo de recolección de semillas.
4. Averiguar si es posible conservar *ex situ* la especie y conocer las condiciones necesarias.

### Contexto

La biodiversidad mundial en los últimos años está disminuyendo a gran velocidad, en el periodo comprendido entre 1996 y 2004 un total de 8.321 especies vegetales se incorporaron a la Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), cuyo objetivo es catalogar los taxones que se encuentran en riesgo de extinción global (en peligro crítico, en peligro y vulnerables) (Bacchetta G. *et al.*, 2008).

El germoplasma es un material capaz de transmitir los caracteres hereditarios de una generación a otra (Witt, 1985). Las semillas son el agente de dispersión más frecuente, eficaz y con mayor capacidad de regenerar una planta vascular completa a largo plazo (Bacchetta G. *et al.*, 2008).

El Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de Olarizu (JBO) tiene un doble objetivo. El primero dedicado a la conservación a largo plazo de la flora silvestre amenazada, endémica, rara y singular de la Comunidad Autónoma del País Vasco y territorios limítrofes, además de las especies estructurales y características de los Hábitat de interés comunitario del mismo ámbito geográfico. El segundo objetivo es la consecución de semillas y la producción de planta necesaria para completar las colecciones de planta viva del JBO, entre ellas las colecciones de conservación *ex situ*.

### Antecedentes

La idea de preservar las semillas para garantizar su viabilidad en un periodo largo de tiempo nació entre los años 1920 y 1930, en base a la propuesta del científico ruso Nicolai Ivanovitch Vavilov (Koo B. *et al.*, 2004). Hasta 1992, tras la Cumbre de la Tierra en Rio de Janeiro, las semillas que se conservaban *ex situ* tenían una gran importancia económica. Sin embargo, a partir de entonces, 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 Jardín Botánico de Olarizu (JBO) promovido por el Centro de Estudios Ambientales (CEA) del Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz constituyó su Banco de Germoplasma Vegetal en el año 2010. El “Programa de conservación y reintroducción de la flora amenazada y característica de los Robledales isla de la Llanada Alavesa (LIC ES2110013)” (Agut, A. *et al.* 2012) incorporó entre sus objetivos de conservación a *Senecio carpetanus*.

En el BG del JBO se procedió a la conservación *ex situ* de semillas de *Senecio carpetanus*. Durante el proceso las semillas pasaron por 4 etapas o estados: fresco, seco, ultraseco y conservación a bajas temperaturas. Para hallar el protocolo óptimo de germinación se realizaron ensayos con semillas de esta especie en los 3 primeros estados, a temperaturas de 10, 15, 20 y 25°C.

### Objeto de estudio

*Descripción de la planta.* *Senecio carpetanus* es una planta, herbácea vivaz (hemcriptófito) de la familia de las Asteráceas que llega a alcanzar unos 20-50 cm de altura, de cuya cepa subterránea nace una roseta de hojas lanceoladas y borde casi entero. El tallo erecto consta de hojas caulinares bien desarrolladas, las superiores gradualmente más pequeñas y más profundamente dentadas que las inferiores, el cual termina en una inflorescencia, con un involucre compuesto por brácteas suplementarias. El racimo es ramificado con capítulos de flores amarillas, con 8 lígulas. Los

frutos son aquenios. La floración se produce en los meses de mayo, junio y julio. La fructificación se da a partir de septiembre. (Uribe-Echebarría, P.M., 2010; Uribe-Echebarría, P.M. *et al.* 2006)

**Hábitat.** Esta hemicriptófita se encuentra en prados y juncuales, depresiones inundables, manantiales y trampales. Se comporta como una planta calcícola, es decir, se desarrolla en terrenos de naturaleza caliza. Los límites altitudinales mínimo y máximo son 500 y 1100 m. Regionalmente su distribución comprende las cuencas y montañas de transición situadas en el tercio central del territorio vasco, con valles de altitud media generalmente superior a los 700 m, y las montañas meridionales, las cuales cierran el valle del Ebro. Es una planta orófila, propia de hábitats de montaña. (Aizpuru, I. *et al.*, 2000).

**Encuadre fitosociológico.** En el País Vasco pertenece a comunidades de la clase *Molinio-Arrhenatheretea*, considerándose característica de la alianza *Deschampsion mediae*. Además, participa en numerosas comunidades orófilas ibéricas y en comunidades asociadas a la presencia de condiciones higroturbosas. Se conoce de las clases *Montio-Cardaminetea*, *Thlaspietea rotundifolii*, *Asplenietea trichomanis*, *Epilobietea angustifolii*, *Artemisietea vulgaris*, *Mulgedio-Aconitetea*, *Salicetea herbaceae*, *Festucetea indigestae*, *Festuco hystricis-Ononidetea striatae*, *Nardetea strictae*, *Nardetalia strictae*, *Cytisetea scopario-striati*, *Salici purpureae-Populetea nigrae*, *Pino-Juniperetea*. (Loidi Arregui, J. *et al.*, 1997; Rivas-Martínez S. *et al.* 2002; SIVIM, 2013).

**Distribución.** Endemismo de la Península Ibérica, propio de las montañas de la región mediterránea occidental, y distribuido en 15 provincias (ANTHOS, 2013) entre las cuales se destaca la localización en la Laguna de Foncea (La Rioja), por ser una población con un elevado número de individuos y la más cercana al País Vasco. También, se han localizado poblaciones de *Senecio carpetanus* muy próximas al límite nororiental entre Navarra y la CAPV.

En la CAPV, se encontraba en muy pocas localidades de la Llanada Alavesa y valles occidentales alaveses: Olarizu, Luzuriaga y

Espejo (VV.AA., 2010). Estas poblaciones han desaparecido debido a la destrucción de sus hábitats naturales (lugares herbosos muy húmedos en torno a manantiales y depresiones temporalmente encharcadas). En la actualidad solo sobreviven poblaciones en algunos trampales de Izki (Parque Natural de Izki) y en el Puerto de Herrera (LIC Sierra de Cantabria) (Agut, A. *et al.*, 2012).

En el municipio de Vitoria-Gasteiz se herborizó un pliego testigo (VIT49900) de una población que contaba en 1983 con un centenar de ejemplares (Uribe-Echebarría, P.M., 2010). Se encontraba en las campos de la Dehesa de Olarizu, en zonas de herbazal húmedo de *Molinia caerulea* con *Sanguisorba officinalis* y *Galium boreale* (30TWN2742, 525 m) (Aseginolaza *et al.* 1984). Esta población no se ha vuelto a observar desde hace 30 años.



**Figura 1.** Cartografía del hábitat potencial de *Senecio carpetanus* en el Parque de Olarizu, actual Jardín Botánico de Olarizu. Escala 1:2.500. (Agut, A., *et al.* 2012).

**Grado de amenaza.** En el Catálogo Vasco de Especies Amenazadas (CVEA) de 1998 (BOPV/EHAA, 1998) se encontraba en la categoría de Vulnerable. En 2010 se publicó la Lista Roja de la flora vascular de la CAPV (VV.AA., 2010) que la incluyó en la categoría En peligro de Extinción (EN). En 2011 se renovó el CVEA (BOPV/EHAA, 2011) y fue catalogada en la categoría de En peligro de Extinción (EN).

Este cambio de categoría se debe a que su distribución geográfica es reducida, con 5 o menos localidades, a una disminución del área

que ocupa, a la pérdida de calidad del hábitat y a la pérdida de localidades. El hábitat en el que se encuentra es muy frágil además de haberse destruido en varias de sus antiguas localidades debido a drenajes, ajardinamientos, roturaciones, etc. No es posible catalogarla como Vulnerable debido a que no hay efecto rescate (VV.AA., 2010).

Cabe destacar que debido a la categoría de amenaza actual *Senecio carpetanus* se ha tenido en cuenta en el Plan de Ordenación de los Recursos Naturales (PORN) de los Montes de Vitoria (Araba/Álava) (Gobierno Vasco, 2012).

### Ciclo fenológico

**Tabla 1.** Datos fenológicos de *Senecio carpetanus* (Agut, A. *et al.* 2012).

<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

**Tabla 2.** Características de la semilla de *Senecio carpetanus* (Agut, A. *et al.* 2012).

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



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

Según los datos disponibles en el Seed Information Database of the Royal Botanic Gardens (Kew, 2013) muchas de las especies del género *Senecio* son ortodoxas, especies con semillas tolerantes a la desecación (Kew, 2013), por ello, las etapas que se siguieron para la conservación de *Senecio carpetanus* fueron las mismas que para este tipo de semillas.

*Descripción de la población de la Laguna de Foncea.* La población de *Senecio carpetanus* con la que se ha trabajado se encuentra en la Laguna de Foncea (La Rioja). Cuenta con más de 1000 individuos (Agut, A. *et al.*, 2012). Puesto que se trata de la mayor población conocida y la más cercana al País Vasco los ensayos de germinación se realizaron con semillas provenientes de ésta, sin que la recolección supusiese ningún riesgo para la población a diferencia de las que se encuentran en la CAPV, que cuentan con muy pocos individuos.

La Laguna de Foncea forma parte de las escasas lagunas de origen tectónico de carácter estacional. Su localización se encuentra entre las coordenadas geográficas 43°38'1''N, 3°4'5''W, a 910 m de altitud. El término municipal donde se sitúa es Foncea, en la Demarcación hidrográfica del Ebro, subcuenca del Oroncillo. Tiene una extensión de 1,84 ha. Se encuentra protegida como una Zona de Especial Conservación de Importancia Comunitaria (ZECIC) (Gobierno de España, 2013).

Es una laguna de inundación muy temporal y su potencial valor paisajístico se ve degradado por plantaciones de pinos. Cabe destacar que se encuentra en un estado de conservación alterado, soportando una gran carga ganadera.

### 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), a partir del cual surgió la Red Natura 2000 (ENVIRONMENT, 2012).

En la Comunidad Autónoma del País Vasco, se aprobó el Decreto 167/1996 (BOPV/EHAA, 1996), de 9 de julio, por el que

se regula el Catálogo Vasco de Especies Amenazadas de la Fauna y Flora, Silvestre y Marina, donde se determina el procedimiento de inclusión o exclusión de una especie, subespecie o población en el Catálogo y establece las normas para la elaboración y aprobación de los planes de gestión. En 2011, se actualizó mediante la ORDEN de 10 de enero de 2011. (BOPV/EHAA, 1998; BOPV/EHAA, 2011).

*Senecio carpetanus* está catalogada En peligro de extinción por lo que se encuentra dentro de los objetivos de la normativa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Censos poblacionales

La época óptima para realizar los recuentos es en la etapa de crecimiento o fructificación. Para conocer el número de individuos de las poblaciones de *Senecio carpetanus* en el Puerto de Herrera, Parque Natural de Izki y la Laguna de Foncea, se procedió a la realización de un censo poblacional. El criterio para decidir cuándo se opta por censo directo y cuándo por estimación es realizar el recuento directo de individuos hasta llegar a 2500 ejemplares, independientemente del área de ocupación de la población. Si los individuos sobrepasan los 2500 ejemplares, y no se han contado todos los efectivos de la población se procede a hacer una estima de la población midiendo el área de ocupación de la especie. En el caso de *Senecio carpetanus*, como ya se ha dicho en apartados anteriores, las poblaciones cuentan con un número de individuos bajo (no llega a los 2500 individuos), por ello, se procedió a realizar el censo directo (IRIONDO, J.M., 2011).

### Datos fenológicos

Para obtener estos datos se realizaron sucesivas visitas a las 3 poblaciones de *Senecio carpetanus* mencionadas a lo largo de todo el ciclo fenológico.

### Datos fitosociológicos

Para conocer las comunidades vegetales donde se encuentran las poblaciones de *Senecio carpetanus* se realizaron inventarios utilizando la escala de abundancia de Braun-Blanquet, (Braun-Blanquet, J., 1979). Debido a la presencia de ganado que matiene el pasto ralo, en el Parque Natural de Izki, el inventario para la población de *Senecio carpetanus* no pudo realizarse.

### Tratamiento de las semillas

*Recolección.* La recolección de semillas de *Senecio carpetanus* se realizó en los meses de septiembre y octubre del 2011. Este material se recogió en bolsas de papel, dejándolas en lugares sin altas temperaturas ni irradiación solar directa. La cantidad de semillas recolectada se basó en los métodos de muestreo de poblaciones mostrados en Bacchetta G., *et al.* (2008). Debido a que las semillas de *Senecio carpetanus* tienen un tamaño muy pequeño, se recogió el vilano que las contenía, así, se evitó interrumpir el proceso de maduración fisiológica y se favoreció la adquisición de tolerancia a la deshidratación.

*Postmaduración, cuarentena y limpieza.* Una vez que el material llegó al Banco, se depositó en una bandeja sobre papel de filtro dentro del armario de postmaduración en condiciones de 20-22°C y 40-45% HR durante 2-3 semanas. Este proceso permite que parte de las semillas adquieran la capacidad de germinación, puesto que posiblemente fueron recogidas en distintos estados de maduración.

En el proceso de limpieza se eliminaron restos de las flores e impurezas, dejando el material lo más limpio posible pero sin separar las semillas del vilano.

*Conservación e ingreso de las semillas en el Banco de Germoplasma.* Antes de iniciar el proceso de conservación de las accesiones se separaron aquellas semillas frescas con las que se hicieron los ensayos de germinación. Las etapas de conservación fueron las siguientes: desecado, ultradesecado, encapsulado y almacenamiento o congelación.

Una vez limpias, las semillas se introdujeron en la sala de desecado, bajo condiciones ambientales controladas (10°C y 10-15% HR) durante 2-3 semanas. Transcurrido este tiempo una parte de esas semillas se destinaron a la realización de ensayos de germinación. Antes de introducir las semillas en la vitrina de ultradesecado y ser envasadas, se monitorizó la disminución de su peso y su humedad en equilibrio ( $a_w$ , actividad del agua) mediante una microbalanza de precisión y un psicrómetro, respectivamente. Una vez se

estabilizaron los valores dentro de un rango aceptable, las muestras fueron envasadas en tubos de ensayo reforzado y mantenidas en la vitrina de ultradesecado. Las condiciones dentro de la vitrina fueron de 7-12% HR. Al finalizar esta etapa, al igual que en la etapa de desecado, parte de estas semillas se utilizaron para realizar ensayos de germinación.

Las semillas se envasaron en tubos de vidrio reforzado termosellados (encapsulados) y, una vez etiquetadas fueron colocados en gradillas y éstas en las cámaras de conservación (-18°C durante 10 meses).

*Ensayo de germinación con semillas descongeladas.* Se realizó una selección aleatoria de los tubos termosellados que contenían las semillas congeladas. Para ello, se numeraron los tubos y mediante una tabla de números aleatorios se escogieron tantos como semillas se necesitaban. El número de semillas requerido para realizar el ensayo de germinación fueron 400 (100 semillas para cada temperatura: 10, 15, 20 y 25°C, Fotoperiodo 16/8h día/noche). Para hallar el número de tubos que contendrían aproximadamente 400 semillas se utilizó el peso medio de 100 semillas calculado en la etapa de ultradesecado.

Los tubos seleccionados se pasaron a la cámara de secado durante 24h para que se atemperasen. Tras este período, se abrieron y se mantuvieron durante 24 h en la sala de secado para equilibrar su contenido de humedad con el de la sala. A continuación se extrajeron al laboratorio donde pasaron 24 h a temperatura y humedad ambientales. Tras otro periodo de 24 h. se introdujeron a un envase hermético en ambiente saturado de humedad y temperatura ambiente donde las semillas completaron su rehidratación. Posteriormente, tras 24 h fueron sembradas.

Las 400 semillas que se iban a utilizar se seleccionaron de forma aleatoria.

Para la realización del ensayo se utilizó como medio de germinación agar al 0,6%. La esterilización del medio de germinación se realizó mediante autoclavado, 20 min a 121°C. Se dejó enfriar y se procedió al plaqueado en condiciones asépticas trabajando en la cabina de flujo laminar. Tras la solidificación del agar, se realizó la

siembra de las semillas rehidratadas de *Senecio carpetanus*.

Los recuentos de germinación se realizaron de lunes a viernes. Las semillas germinadas se sembraban en bandejas de alveolo forestal con sustrato universal y se regaban periódicamente manteniendo el sustrato húmedo. Las bandejas se mantuvieron en las cámaras de germinación durante las primeras fases del desarrollo. Posteriormente, se transportaron al invernadero del JBO, con fotoperiodo solar y riego automático.

*Herramientas estadísticas.* Los datos utilizados son los obtenidos de los 3 ensayos realizados en el BG del JBO, en los estados fresco, seco y ultraseco, y los generados en este estudio. Es necesario usar un análisis estadístico que se ajuste al diseño de los ensayos realizados en cada etapa del proceso de conservación o estado (fresco, seco y ultraseco), así como para los llevados a cabo después de éste, tras la congelación. Debido a que se trata de 4 ensayos de germinación diferenciados, que se realizaron en diferentes periodos, las diferencias estadísticas que se pudieran encontrar pueden no ser causadas por cada tratamiento (estado de la semilla y  $T^a$ ), si no por diferencias (desconocidas) en cada experimento. Por ello, se ajustó un modelo estadístico para cada uno de los ensayos realizados.

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 continua.

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 (10, 15, 20, 25°C), y la categórica el estado de las semillas (frescas, secas, ultrasecas, descongeladas). 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:

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

(Observar la sustitución de  $\alpha$  por  $\beta_0$ .)

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.

*Análisis de datos.* Gracias a los datos registrados durante el ensayo de germinación se pudieron caracterizar los resultados obtenidos mediante el cálculo de los siguientes parámetros germinativos:

-Velocidad de germinación ( $T_{50}$ ): corresponde al tiempo necesario para obtener el 50% de la capacidad germinativa del lote (Côme, 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

$N_1$ = porcentaje de semillas germinadas por debajo de  $N/2$

$N_2$ = porcentaje de semillas germinadas por encima de  $N/2$

$T_1$ = número de días que corresponden a  $N_1$

$T_2$ = número de días que corresponden a  $N_2$

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

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

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

Donde:

$n_j$ = n° de semillas germinadas en el día  $d$

$d_j$ = n° de días desde el inicio del ensayo de germinación

$N$ = n° 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 *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 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:

$$VG = VP \times GMD$$

Momento óptimo de recolección de semillas.

Para hallar el periodo de recolección óptimo para *Senecio carpetanus*, se compararon los porcentajes de germinación de semillas en fresco de las dos accesiones existentes en el BG del JBO.

Los datos también se trataron con el software R (Development Core Team, 2011) y se obtuvo el modelo de regresión binomial logística.

Conservación *ex situ*.

Mediante la observación del comportamiento de las semillas con la toma de datos a lo largo de los ensayos de germinación y la comparación de su porcentaje de germinación en todos los tratamientos (estado de la semilla y temperatura), se pudo establecer la forma más



adecuada de conservar *ex situ* semillas de *Senecio carpetanus*.

## RESULTADOS

### Censos poblacionales

Se realizaron censos directos de las poblaciones existentes de *Senecio carpetanus* en la CAPV. En el Parque Natural de Izki se contabilizaron 21 individuos, cifra que supone un aumento de la población con respecto a 2012 (6 individuos). Sin embargo, en el Puerto de Herrera, cuya población constaba menos de 5 individuos, en 2013 parece haberse extinguido, ya que no se ha encontrado ningún ejemplar durante las visitas realizadas a esta localidad. La población de la Laguna de Foncea cuenta con más de un millar de individuos (1016 individuos) pero soportando una gran carga ganadera que ha impedido florecer a la mayoría de la población debido al consumo por la cabaña vacuna que ocupa y aprovecha como pasto toda la laguna.

### Ciclo fenológico

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. Los datos novedosos aportados han sido los referentes al periodo de crecimiento y quiescencia (Tabla 1'). El crecimiento de *Senecio carpetanus* está comprendido entre los meses de mayo, junio y julio, con un período de quiescencia anterior de noviembre a abril.

**Tabla 1'.** Datos fenológicos de *Senecio carpetanus*.

Crecimiento	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
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
Quiescencia	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

### Datos fitosociológicos

Los inventarios realizados para las poblaciones de esta especie en la Laguna de Foncea y el Puerto de Herrera se presentan en las tablas siguientes.

**Tabla 3.** Inventario fitosociológico de la comunidad vegetal en la que participa *Senecio carpetanus* en la Laguna de Foncea. UTM: 30TVN 9419, Altitud: 900m.

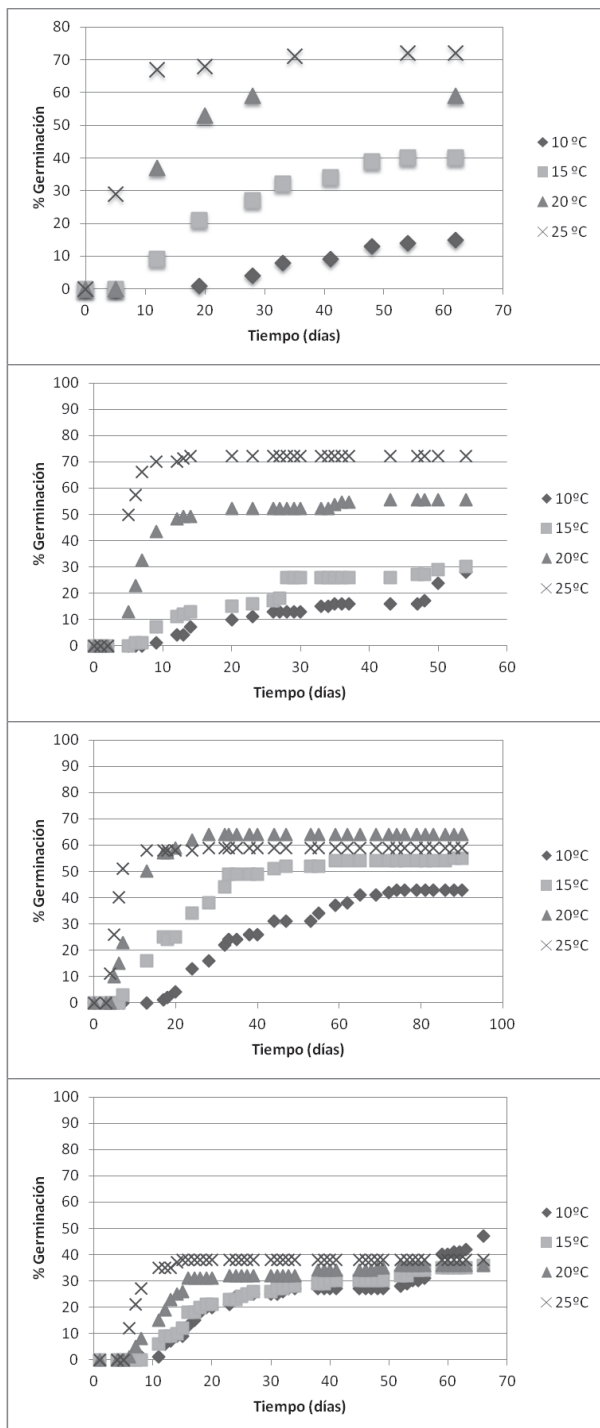
Especie	Abundancia
<i>Deschampsia cespitosa</i>	3
<i>Molinia caerulea</i>	3
<i>Cirsium pyrenaicum</i>	2
<i>Ranunculus flammula</i>	2
<i>Holcus lanatus</i>	2
<i>Senecio carpetanus</i>	2
<i>Potentilla reptans</i>	1
<i>Baldellia ranunculoides</i>	1
<i>Brachypodium pinnatum</i>	1
<i>Lythrum salicaria</i>	+

**Tabla 4.** Inventario fitosociológico de la comunidad vegetal en la que participaba *Senecio carpetanus* en el Puerto de Herrera. UTM: 30TWN 2516, Altitud: 1059m.

Especie	Abundancia
<i>Molinia caerulea</i>	4
<i>Juncus articulatus</i>	3
<i>Schoenus nigricans</i>	2
<i>Cirsium pyrenaicum</i>	2
<i>Parnassia palustris</i>	1
<i>Knautia arvernensis</i>	1
<i>Dactylorhiza elata</i>	1
<i>Deschampsia cespitosa</i>	1
<i>Solanum dulcamara</i>	1
<i>Lysimachia ephemerum</i>	1
<i>Briza minima</i>	1
<i>Lotus maritimus</i>	+
<i>Carex flacca</i>	+
<i>Holcus lanatus</i>	+
<i>Euphrasia stricta</i>	+

## Protocolo óptimo de germinación para *Senecio carpetanus*.

Los resultados de la germinación obtenidos en este estudio se representan en las siguientes gráficas (Figura 2).



**Figura 2.** Porcentajes de germinación de semillas frescas, secas, ultrasecas y descongeladas (de arriba a abajo) a 10, 15, 20 y 25°C.

**Tabla 5.** Modelos de regresión binomial para semillas frescas a 10, 15, 20 y 25°C.

	Parámetros estimados	Error estándar	Valor de z	Pr(> z )
$\beta_0$	-5,293	1,400	-3,781	0,000
$\beta_1$ (temp)	0,433	0,165	2,626	0,009
$\beta_2$ (temp <sup>2</sup> )	-0,007	0,005	-1,611	0,107
$\text{LnOdds}=\beta_0+\beta_1*\text{temp}+\beta_2*\text{temp}^2$				
$\text{LnOdds}=-5,293+0,433*\text{temp}-0,007*\text{temp}^2$				

\*\*\*Nivel de significancia de 0,001  $R^2=0,998$

Hay diferencias significativas en los porcentajes de germinación debido a la variable temp<sup>2</sup> ( $p<0,01$ ). El modelo sigue una curva cuadrática y explica los resultados con un 99,8%.

**Tabla 6.** Modelos de regresión binomial para semillas secas a 10, 15, 20 y 25°C.

	Parámetros estimados	Error estándar	Valor de z	Pr(> z )
$\beta_0$	-2,554	0,373	-6,838	0,000
$\beta_1$ (temp)	0,136	0,020	6,776	0,000
$\text{LnOdds}=\beta_0+\beta_1*\text{temp}$				
$\text{LnOdds}=-2,554+0,136*\text{temp}$				

\*\*\*Nivel de significancia de 0,001  $R^2=0,93$

En las semillas secas también se observan diferencias estadísticas, pero en este caso, debidas a una relación lineal con la temperatura ( $p>0,001$ ) y una  $R^2$  de 93%.

**Tabla 7.** Modelos de regresión binomial para semillas ultrasecas a 10, 15, 20 y 25°C.

	Parámetros estimados	Error estándar	Valor de z	Pr(> z )
$\beta_0$	-7,339	1,490	-4,925	0,000
$\beta_1$ (temp)	0,679	0,172	3,961	0,000
$\beta_2$ (temp <sup>2</sup> )	-0,015	0,005	-3,173	0,002
$\text{LnOdds}=\beta_0+\beta_1*\text{temp}+\beta_2*\text{temp}^2$				
$\text{LnOdds}=-7,339+0,679*\text{temp}-0,015*\text{temp}^2$				

\*\*\*Nivel de significancia de 0,001  $R^2=0,976$

\*\*Nivel de significancia de 0,01

Las semillas ultrasecas siguen un modelo cuadrático el cual tiene diferencias estadísticas en los porcentajes de germinación debidas a las variables temp ( $p<0,001$ ) y temp<sup>2</sup> ( $p<0,01$ ).

**Tabla 8.** Modelos de regresión binomial para semillas descongeladas a 10, 15, 20 y 25°C.

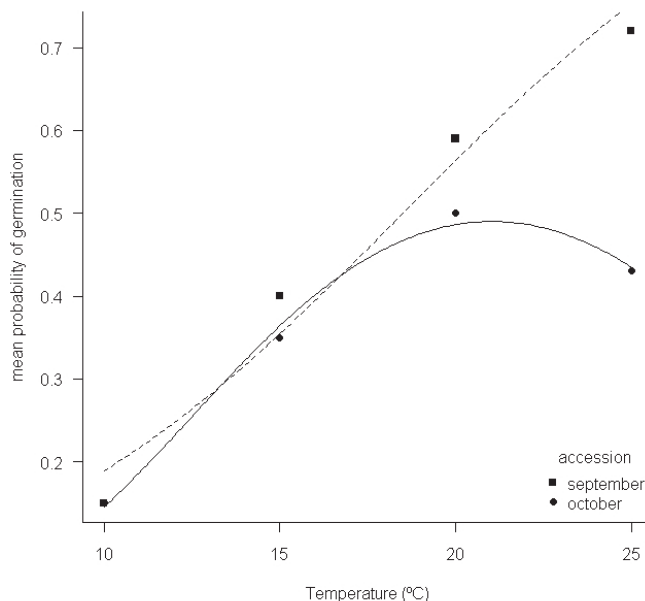
	Parámetros estimados	Error estándar	Valor de z	Pr(> z )
$\beta_0$	1,4425	1,1728	1,2300	0,2190
$\beta_1$ (temp)	-0,2123	0,1449	-1,4650	0,1430
$\beta_2$ (temp <sup>2</sup> )	0,0054	0,0041	1,3190	0,1870
LnOdds= $\beta_0 + \beta_1 * temp + \beta_2 * temp^2$				
LnOdds= $1,4425 - 0,2123 * temp + 0,0054 * temp^2$				
$R^2=0,953$				

Las semillas descongeladas, también siguen un modelo cuadrático, en el cuál no se observan diferencias significativas en los porcentajes de germinación dependiendo de las temperaturas ( $p > 0,1$ ).

**Tabla 9.** Datos obtenidos de los parámetros germinativos.

Acc.	Estado semillas	T (°C)	T <sub>50</sub>	RG	GMT	VP	GMD	VG
124	fresco	10	31,5	19	41,67	0,27	0,24	0,07
		15	18,4	12	26,13	0,97	0,65	0,63
		20	10,6	12	15,80	3,08	0,95	2,93
		25	6,3	5	10,83	5,58	1,16	6,48
	seco	10	30,4	9	22,42	0,50	0,52	0,26
		15	20,0	6	22,53	0,93	0,56	0,52
		20	6,5	5	9,08	4,82	1,03	4,96
		25	4,2	5	5,48	9,46	1,34	12,66
	ultraseco	10	31,7	17	38,93	0,63	0,48	0,30
		15	21,1	7	23,38	1,23	0,61	0,75
		20	9,0	5	12,20	3,35	0,71	2,38
		25	5,3	4	6,76	7,29	0,66	4,78
	Descongelado	10	23,8	7	35,83	0,82	0,71	0,58
		15	16,0	11	25,00	1,11	0,55	0,60
		20	11,8	6	15,47	1,94	0,55	1,06
		25	6,8	6	8,26	3,18	0,58	1,83
Media		15,8	8,5	20,0	2,8	0,7	2,5	
143	fresco	10	30,5	19	37,33	0,24	0,24	0,06
		15	24,6	12	22,29	1,32	0,56	0,74
		20	10,8	12	16,32	2,15	0,81	1,73
		25	8,3	5	11,67	3,58	0,69	2,49
	Media		18,6	12,0	21,9	1,8	0,6	1,3

**Momento óptimo de recolección de semillas**



**Figura 4.** Porcentajes de germinación en las dos accesiones.

Con estos datos se ha hallado el modelo de regresión binomial para semillas recogidas en septiembre y en octubre. Así, el porcentaje de germinación en este caso, se debe en gran medida a la temperatura ( $p > 0,001$ ) y a la interacción entre la temperatura y el periodo de recolección ( $p > 0,01$ ). El modelo explica el 98,7% de los datos.

**Tabla 10.** Modelo de regresión binomial para semillas descongeladas.

	Parámetros estimados	Error estándar	Valor de z	Pr(> z )	
$\beta_0$	-7,323	1,330	-5,505	0,000	***
$\beta_1$ (acc)	0,990	0,575	1,722	0,085	.
$\beta_2$ (temp)	0,640	0,125	5,121	0,000	***
$\beta_3$ (temp <sup>2</sup> )	-0,011	0,003	-3,402	0,001	***
$\beta_4$ (acc*temp)	-0,081	0,030	-2,694	0,007	**
LnOdds= $\beta_0 + \beta_1 * acc + \beta_2 * temp + \beta_3 * temp^2 + \beta_4 * acc * temp$					
LnOdds= $-7,323 + 0,990 * acc + 0,640 * temp - 0,011 * temp^2 - 0,081 * acc * temp$					
$R^2=0,987$					

\*\*\* Nivel de significancia de 0,001  
\*\* Nivel de significancia de 0,01  
· Nivel de significancia de 0,1

### Conservación *ex situ*

El proceso de conservación provoca una dinámica distinta en cada estado. Las semillas en estado natural (fresco) muestran una curva

cuadrática, que refleja un porcentaje mayor (72%) a medida que aumenta la T<sup>a</sup> (25°C). Las semillas secas actúan de la misma forma que las de estado fresco pero con una curva de regresión lineal (72% a 25°C). Las semillas en estado ultraseco siguen una línea de regresión cuadrática, pero con un porcentaje mayor de germinación (62%) a 20°C. Por último, después de pasar por el proceso de congelación, las semillas muestran una curva cuadrática, con un porcentaje en todas las temperaturas alrededor del 40%.

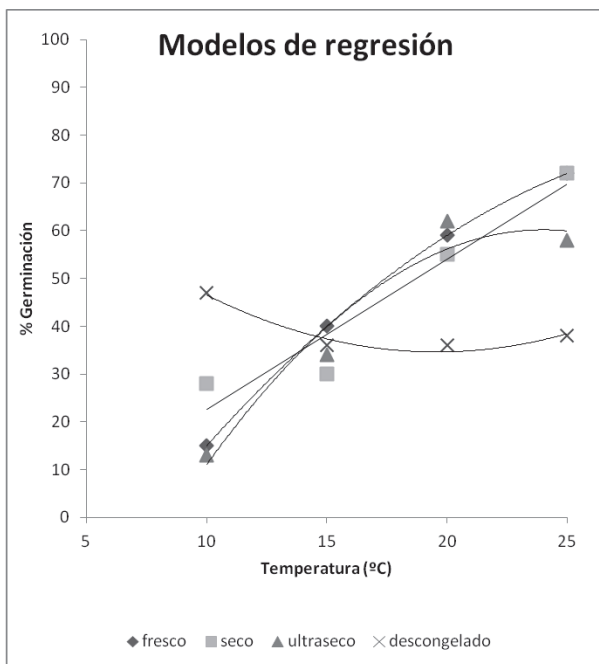


Figura 5. Diferencias entre los 4 modelos de regresión binomial logística (fresco, seco, ultraseco, descongelado).

## DISCUSIÓN

### Censos poblacionales.

La dinámica de las tres poblaciones que se han visitado ha sido distinta. En la Laguna de Foncea se ha observado un mantenimiento del número de individuos de la población y su área de ocupación, aunque su estado de conservación ha empeorado con respecto a 2011. Cabe destacar una disminución del área protegida debido a la saca de madera de la plantación forestal que la rodea, actividad que provoca la alteración del hábitat por la maquinaria pesada que interviene en las labores forestales y un estado de conservación deficiente debido a la excesiva carga ganadera actual. Estos datos aconsejan ser más estrictos con la figura de protección de este espacio debido a que en un futuro esto puede provocar una

disminución de la población de *Senecio carpetanus* en este enclave.

La población que se encuentra en el Parque Natural de Izki ha tenido un aumento respecto al año anterior, aunque el reducido número de individuos presentes hace recomendable un control sobre el pastoreo y el pisoteo que el ganado extensivo existente realiza sobre esta especie.

Sin embargo, la población del Puerto de Herrera, en claro declive desde los últimos años, ha desaparecido. No se ha localizado ningún individuo en las visitas realizadas durante la realización de este estudio, por tanto la especie puede considerarse extinta en esta localidad, a falta de comprobar en los próximos años si no prospera ningún individuo a partir del banco de semillas del suelo.

### Datos fenológicos.

Se ha completado el ciclo fenológico de *Senecio carpetanus* con el seguimiento realizado, obteniendo así datos novedosos y más precisos sobre su fenología.

### Datos fitosociológicos

Se aportan nuevos inventarios fitosociológicos de las comunidades en que participa esta especie. Se aconseja visitar la población del Parque Natural de Izki en el momento adecuado para realizar un inventario de la comunidad vegetal.

### Protocolo óptimo de germinación para *Senecio carpetanus*.

Como ya se ha comentado, este estudio engloba 4 experimentos distintos (ensayos de germinación en fresco, seco, ultraseco y descongelado) que originalmente se pretendían comparar pero finalmente no se ha podido llevar a cabo. Esto no ha sido posible debido a que las diferencias entre los porcentajes de germinación pueden no deberse a las variaciones que puedan provocar los distintos tratamientos, sino a los diferentes periodos de realización de los ensayos, posible diferencias en la manipulación de las semillas, calidad del agar, posibles variaciones en las cámaras de germinación, los cuales no fueron medidos. Por ello, las diferencias, si existen, en la germinación de *Senecio carpetanus* debido a los diferentes

estados de las semillas, uno de los objetivos de este estudio, no han podido hallarse.

No obstante, los datos obtenidos son muy interesantes para observar el desarrollo de las semillas en distintas condiciones. Lo que se observa es una posible adaptación al ambiente. Las semillas en fresco germinan mejor a temperaturas más elevadas (25°C), donde obtienen mayores porcentajes de germinación. Se disminuye así el riesgo de afrontar una helada tardía, aunque, en contraposición, la competencia con las demás especies será, previsiblemente, más alta.

Para que se produzca la germinación el agua debe penetrar dentro de la semilla, disolviendo las sustancias nutritivas con las que se alimenta la nueva planta (Fuentes, J.L., 1988). Sin embargo, el proceso de secado no produce variaciones en la capacidad germinativa de la semilla, ya que antes y después de la desecación el porcentaje de germinación es el mismo. Esto puede explicarse porque, aunque en esta etapa el agua sea un factor limitante, el tiempo en que la semilla se encuentra en estas condiciones es bajo y su capacidad germinativa todavía es alta.

Sin embargo, en los procesos de ultradesecación y congelación se observa como las diferencias iniciales en los porcentajes de germinación se van haciendo menores, destruyéndose así las variaciones que se dan en condiciones normales. Esto puede explicarse por una interacción entre la baja humedad relativa de la semilla y el tiempo que se encuentra en estas condiciones (mayor que las semillas secadas).

Se ha conseguido definir el protocolo óptimo de *Senecio carpetanus* para cada estado. Así, en los estados fresco y seco, la temperatura óptima es 25°C y en semillas ultrasecas es 20°C. Las semillas descongeladas germinan por igual en las distintas temperaturas.

Estos resultados también pueden ayudar a obtener mayores porcentajes de germinación en ciertas temperaturas. Es el caso de las semillas descongeladas, en el que se observa un aumento de la germinación a temperaturas bajas. En estudios futuros sería interesante realizar tratamientos de estratificación fría, así como, combinaciones de temperatura y fotoperiodo distintos al de este estudio.

### *Análisis de los datos*

T<sub>50</sub>: En todos los estados de las semillas el T<sub>50</sub> es menor en las temperaturas de 25°C, es decir, que la semilla germina a una velocidad mayor cuando las temperaturas son cálidas, alcanzando el 50% de germinación entre 4,2 y 8,3 días (Tabla 9). Por lo tanto, se recomienda realizar los ensayos de germinación, cultivo y producción de planta de *Senecio carpetanus* a esta temperatura.

RG: Además de germinar a mayor velocidad, a 25°C las semillas tardan menos tiempo en germinar (4–5 días). Cabe destacar que, una vez descongeladas, las semillas tienen un RG similar a 10 y 25°C.

GMT: El tiempo de germinación medio en cada estado es menor a temperaturas de 25°C, alrededor de 10 días en todos los estados, dato que concuerda con los valores de T<sub>50</sub>. La media es de 20 días, por lo tanto, se podría reducir la duración de éstos (en este estudio de 54-90 días).

VP: Cuando la velocidad de germinación empieza a descender, las semillas que se encuentran a temperaturas de 20-25°C han alcanzado un porcentaje de germinación mayor (3,18-9,46%). Por ello, son más efectivas las temperaturas cálidas.

GMD: En general, es mayor a 25°C. Pero en los casos en los que el porcentaje de germinación ha sido mayor a 20°C (Acc. 124: ultraseco; Acc. 143: fresco) GMD es el más alto. Cabe destacar que, en el estado descongelado es superior a 10°C (Figura 3). Por lo tanto, excepto si las semillas están descongeladas, la temperatura óptima para los ensayos es de 20-25°C.

VG: Es mayor a 25°C, afianzándose el hecho de que esta temperatura es la más favorable para la germinación de semillas de *Senecio carpetanus*.

### Momento óptimo de recolección de semillas

El porcentaje de germinación mayor se alcanza cuando las semillas son recogidas en septiembre (Figura 4). Esto es debido a que la capacidad germinativa óptima de la semilla se

ha alcanzado en este mes y a medida que pasa el tiempo, la semilla se va degradando, va envejeciendo, perdiendo así capacidad de germinación.

Si no hay posibilidad de elegir el momento de recolección, y se realiza en octubre, la temperatura adecuada para lograr el máximo porcentaje son los 20°C.

### Conservación *ex situ*

Aunque el porcentaje de germinación es menor a medida que va transcurriendo el proceso de conservación, los porcentajes que se alcanzan son suficientes para poder conservar y almacenar la semilla en un Banco de germoplasma. Concluyendo así, que las semillas de *Senecio carpetanus* tienen un comportamiento ortodoxo y pueden ser conservadas *ex situ*.

### Conclusión

Se han obtenido datos nuevos que amplían y actualizan la información existente sobre las poblaciones conocidas, se ha definido el periodo óptimo de recolección de las semillas, el protocolo óptimo de germinación en los distintos estados (fresco, seco, ultraseco y tras la congelación) y se ha conseguido determinar que las semillas de *Senecio carpetanus* pueden ser conservadas *ex situ*.

No ha podido establecerse un protocolo óptimo de germinación absoluto, comparando todos los ensayos, pero este objetivo podría lograrse en estudios posteriores mejorando el diseño experimental, clave principal para realizar un buen estudio científico que pueda responder adecuadamente a las cuestiones que se desee resolver.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecer, en primer lugar a Agustí Agut, responsable del BG del JBO, su gran acogida para la realización de este proyecto, su implicación y su dedicación a lo largo del mismo. A Arantza del Canto y María Franco, trabajadoras del BG del JBO, por su inestimable ayuda en los momentos que más se necesitaba.

A Javier Loidi, director del máster, reconocerle el papel institucional y agradecerle la orientación en la elección del proyecto.

A Gonzalo García-Baquero por su implicación en los análisis estadísticos, sus ánimos y comprensión.

A mi familia y amigos agradecerles la paciencia y el cariño en los momentos que se necesitaban.

Y, por último, a Eder Somoza, primero compañero de máster y finalmente gran amigo, por su inestimable ayuda en la realización de este proyecto.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- AIZPURU, I.; ASEGINOLAZA, C.; URIBE-ECHEBARRÍA, P.M.; URRUTIA, P. & ZORRAKIN, I. (2000). *Claves ilustradas de la Flora del País Vasco y Territorio limítrofes*. Departamento de Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz.
- AGUT, A., DEL CANTO, A. & MIRA, S. (2012). *Memoria final del proyecto. "Programa de conservación y reintroducción de la flora amenazada y característica de los robledales isla de la Llanada Alavesa*. Centro de Estudios Ambientales, Vitoria-Gasteiz.
- ASEGINOLAZA, C., GOMEZ, D. LIZAUR, X., MONTSERRAT, G., MORANTE, G., SALAVERRIA, M.R., URIBE-ECHEBARRIA, P.M. & ALEJANDRE, J.A. (1984). Catálogo florístico de Álava, Vizcaya y Guipúzcoa. 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. 378 pp.
- BOPV/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*. (Nº140 ZK.). Departamento de Industria, Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco.
- BOPV/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 la 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.
- BOPV/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. (Nº37 ZK.) Departamento de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco.

- BRAUN-BLANQUET, J. (1979). *Fitosociología. Bases para el estudio de las comunidades vegetales*. Blume Ediciones, Madrid.
- CÔME, D., (1970). *Les obstacles à la germination*. Masson & CIE, Paris.
- GOBIERNO VASCO (2012). Plan de Ordenación de los Recursos Naturales (ORN) del Área de los Montes de Vitoria (Araba/Álava). Borrador. Consultora de Recursos Naturales, S.L.
- HOSMER, D. W. & LEMESHOW, S. (1989). *Applied logistic regression*. Segunda edición. John Wiley & Sons. Capítulo 7, 392 pp. ISBN: 0-471-35632-8.
- FUENTES YAGÜE, J.L. (1988). *Botánica agrícola*. 2ª Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Servicio de Extensión Agraria. Ediciones Mundi-Prensa.
- IRIONDO, J.M. (2011). *Atlas y Libro rojo de la Flora vascular Amenazada de España Manual de metodología de trabajo corológico y demográfico*. 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. NIPO: 770-11-066-5
- KOO, B., PARDEY, P. & WRIGHT, B., (2004). Saving seeds. IPGRI and IFPRI. CABI Publishing. Wallingford, UK. pp. 209-217.
- LOIDI ARREGUI, J., BIURRUN GALARRAGA, I. & HERRERA GALLASTEGUI, M. (1997). *La vegetación del centro-septentrional de España*. Itinera Geobot. 9: 161-618.
- RIVAS-MARTÍNEZ S., DIAZ T.E., FERNANDEZ GONZALEZ F., IZCO J., LOIDI J., LOUSA M. & PENAS A. (2002). *Vascular plant communities of Spain and Portugal. Addenda to the syntaxonomical checklist of 2001*. Itinera Geobot. 15(1) y (2).
- SEO-BirdLife (2004 & 2005). *Taxones vegetales de especial interés detectados en la Comarca de Tiemes-Caracena*. Proyecto LIFE TIERMES. Informe provisional.
- TOMPSETT P.B. & PRITCHARD H.W., (1998). *The effect of chilling and moisture status on the germination, desiccation tolerance and longevity of *Aeusculus hippocastanus* L. seed*. Annals of Botany 82:249-261.
- URIBE-ECHEBARRÍA DÍAZ, P.M. (2010). *La flora amenazada del municipio de Vitoria-Gasteiz (Álava)*. Centro de Estudios Ambientales, Ingunurugiro Gaietarako Ikastegia. Vitoria-Gasteiz.
- URIBE-ECHEBARRÍA, P.M. & ZORRAKIN, I.; CAMPOS, J.A. & DOMINGUEZ, A. (2006). *Flora vascular amenazada en la Comunidad Autónoma del País Vasco*. Departamento de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio del Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz.
- VV.AA. (2010). *Lista Roja de la Flora Vasculare de la CAPV*. Departamento de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco.
- 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

- ANTHOS. SISTEMA DE INFORMACIÓN SOBRE LAS PLANTAS EN ESPAÑA. 20/08/2013.  
<http://www.anthos.es/>. Fotografías de *Senecio carpetanus* (Fam. Compositae) y táxones infraespecíficos.
- GOBIERNO DE ESPAÑA. MINISTERIO DE AGRICULTURA, ALIMENTACIÓN Y MEDIO AMBIENTE. 25/01/2013.  
[http://www.magrama.gob.es/imagenes/es/09047122801f184\\_tcm7-19100.pdf](http://www.magrama.gob.es/imagenes/es/09047122801f184_tcm7-19100.pdf)
- INGURUMENA. GOBIERNO VASCO/EUSKOJAULARITZA. DEPARTAMENTO DE MEDIO AMBIENTE Y POLÍTICA TERRITORIAL. 11/01/2013  
<http://www.ingurumena.ejgv.euskadi.net/r49-u95/es/u95aWar/especiesJSP/U95aSubmitEspecie.do?pk=8388&u95aMigasPan=E,0,1;E,1,1,1,001,1;E,2,8388,016;&bloque=032>
- KEW. SEED INFORMATION DATABASE OF THE ROYAL BOTANIC GARDENS  
<http://data.kew.org/sid/sidsearch.html>. 17/01/2013  
<http://data.kew.org/sid/storage.html> 21/01/2013  
<http://kew.org/glossary/orthodox-recalcitrant-seeds/> 05/09/2013
- ENVIRONMENT. EUROPEAN COMMISSION 16/12/2012  
[http://ec.europa.eu/environment/nature/natura2000/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/environment/nature/natura2000/index_en.htm)
- SIVIM (Sistema de Información de la Vegetación Ibérica y Macaronésica) 31/01/2013  
<http://www.sivim.info/sivi/SSBPBTServlet?f3>.

## 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.

