

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA
ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERIA AGRONÓMICA Y DEL
MEDIO NATURAL
GRADO EN INGENIERÍA FORESTAL Y DEL MEDIO NATURAL



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

**INFORME TÉCNICO SOBRE LA CAPACIDAD
GERMINATIVA DE LAS SEMILLAS DE TRES
ESPECIES AMENAZADAS PRESENTES EN LOS
SALADARES VALENCIANOS**

Autor: Jose Antonio Forte Gil

Tutora: Mónica Tereza Boscaiu Neagu

Cotutor: Pablo Ferrer Gallego

Curso académico: 2016-2017

RESUMEN

Este trabajo se ha centrado en el estudio de la germinación de semillas de tres especies de interés en los saladares valenciano: *Thalictrum maritimum*, *Centaurea dracunculifolia* y *Linum maritimum*, con el fin de determinar el tiempo útil de su almacenamiento en el banco de semillas de los Viveros del Servicio Devesa-Albufera del Saler. Así mismo se ha procedido a realizar una serie de protocolos para testar la viabilidad de las semillas, como para establecer un método óptimo de pretratamiento de las semillas en caso de obtener porcentajes bajos de germinación. La finalidad de este trabajo es de elaborar unas recomendaciones prácticas para ahorrar esfuerzos a la hora de obtener nuevas plantas para las labores de reintroducción y refuerzo de poblaciones dentro de los ecosistemas del Parque Natural de la Albufera de Valencia.

Los resultados obtenidos indican que las semillas de *T. maritimum* y *C. dracunculifolia* tienen un periodo corto de viabilidad a temperatura ambiente, de no más de tres años. En cambio, las semillas de *L. maritimum* mantienen unos elevados porcentajes de germinación durante un periodo de 10 años. En relación a la velocidad de germinación, solamente se nota una disminución en *L. maritimum* en las semillas más antiguas. El ensayo de vitalidad efectuado en la especie con peores resultados de germinación, *T. maritimum*, concuerda con los resultados de germinación en placas Petri. Para mejorar la germinación de esta especie se recomienda la escarificación de las semillas como pretratamiento óptimo.

Un mayor número de semillas de las especies estudiadas han germinado en las placas Petri que en la siembra directa en sustrato.

Palabras clave: Bancos de semillas, *Centaurea dracunculifolia*, *Linum maritimum* porcentaje de germinación, *Thalictrum maritimum*, velocidad de germinación, viabilidad.

Summary

This work has focused on the study of the seed germination of three species of interest in the Valencian salt marshes: *Thalictrum maritimum*, *Centaurea dracunculifolia* and *Linum maritimum*, in order to determine the useful storing period in the seed bank of The

Nurseries of the Devesa-Albufera Service of the Saler. Also, a series of protocols have been carried out to test the viability of the seeds, and to establish an optimal method of pretreatment of the seeds in case of obtaining low percentages of germination. The purpose of this work is to elaborate practical recommendations to save efforts in the work devoted to obtaining new plants for reintroduction and reinforcement of populations within the ecosystems of the Natural Park of the Albufera of Valencia.

The results indicate that the seeds of *T. maritimum* and *C. dracunculifolia* have a short period of viability at room temperature, of no more than three years. In contrast, the seeds of *L. maritimum* maintain a high germination percentage during a period of 10 years. In relation to the germination velocity, a decrease was noticed only in *L. maritimum* older seeds. The vitality test carried out on the species with the worst germination results, *T. maritimum*, agrees with the results of germination in Petri dishes. To improve the germination of this species it is recommended the scarification of the seeds as an optimal pretreatment.

A higher number of seeds of the studied species have germinated in the Petri plates than in the direct sowing in substrate.

Key words: Seed banks, *Centaurea dracunculifolia*, *Linum maritimum*, germination percentage, *Thalictrum maritimum*, germination rate, seed viability

ÍNDICE

1.	ANTECEDENTES.....	5
2.	CONSERVACIÓN EX SITU –BANCOS DE GERMOPLASMA.....	8
2.1.	JARDINES BOTÁNICOS.....	8
2.2.	BANCOS DE GERMOPLASMA	8
2.3.	BANCOS DE SEMILLAS.....	10
3.	OBJETIVOS.....	13
3.1.	Objetivo general.....	13
3.2.	Objetivos específicos.....	13
4.	ESPECIES SELECCIONADAS.....	14
5.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	17
5.1.	MATERIAL.....	17
5.2.	MÉTODOS.....	18
6.	RESULTADOS	23
6.1.	GERMINACIÓN EN PLACAS PETRI.....	23
6.1.1.	<i>Thalictrum maritimum</i>	23
6.1.2.	<i>Centaurea dracunculifolia</i>	28
6.1.3.	<i>Linum maritimum</i>	30
6.2.	SIEMBRA EN SUSTRATO.....	32
6.3.	TEST DE VIABILIDAD PO LA PRUEBA DEL TETRAZOLIO.....	33
7.	CONCLUSIONES.....	34
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	35

1. ANTECEDENTES

La vegetación de las malladas

Los saladares representan ecosistemas únicos, muy especializados, con una alta productividad primaria, y que albergan una enorme biodiversidad florística y faunística. Los saladares litorales tienen un valor ecológico añadido puesto que representan áreas de hibernación de aves acuáticas (Simas *et al.*, 2001). Estos ecosistemas son también económicamente importantes ya que pueden ser utilizados como criaderos para varias especies de peces y crustáceos (Dijkema *et al.*, 1990; Reed, 1990).

Las zonas costeras valencianas, dominadas por playas arenosas, de grava o de restinga se caracterizan por la frecuencia de “mallades” (depresiones entre dunas, en la toponimia local), marjales y albuferas, donde las diferencias en la textura, salinidad o el grado de humedad del suelo condicionan la presencia de una vegetación muy peculiar (Costa y Boira, 1981).

En el pasado estos tipos de hábitats se han visto muy castigados, ya que debido al temor al paludismo se les consideraba como lugares insalubres. Desecación, construcción y contaminación de las aguas han sido los principales factores causantes de la pérdida de estos interesantes ecosistemas. Otro factor para tener en consideración es el hecho de que la franja costera de la Comunidad Valenciana soporta prácticamente la totalidad de la actividad agrícola, gran parte de la actividad industrial y grandes núcleos de población, junto con una enorme presión turística. La combinación de todos estos factores ha sometido a estos ecosistemas a grandes impactos, provocando la degradación de muchos de ellos. La Dehesa de El Saler, en el Albufera de Valencia, se puede considerar como una de las áreas afortunadas por sus circunstancias históricas. Como La Albufera y su dehesa pertenecieron a la corona real desde el siglo XII, el uso de este espacio estuvo sometido a fuertes restricciones. Por este motivo este espacio natural llegó hasta el principio del siglo XX, momento en el que pasó a ser propiedad del Ayuntamiento de Valencia, sin grandes alteraciones. La mayor agresión sufrida por este territorio se produce entre las décadas de 1960 y 1970, debido a un gran proyecto de urbanización (ejecutado parcialmente) y que afectó de forma muy negativa a todos los hábitats existentes en esta zona. Sin embargo, los más afectados fueron los primeros cordones dunares, que se destruyeron por completo, y con su arena se rellenaron las malladas para crear amplias zonas urbanizadas e infraestructuras; esto provocó la falta de inundación

natural de estas depresiones interdunares durante la estación húmeda, alterando su funcionamiento hidrológico. Además, en muchas malladas se plantaron especies alóctonas. Este conjunto de agresiones provocó una reducción o pérdida de las características específicas originales del hábitat, así como la reducción de las poblaciones de numerosas especies de interés y la desaparición completa de algunas especies vegetales; así, nueve especies se han extinguido localmente (ocho de ellas están incluidas en el Catálogo Valenciano de Especies Amenazadas, y cuatro en la Lista Roja de la UICN).

La situación, afortunadamente, ha cambiado en las últimas décadas, cuando comenzó a considerarse el gran valor ecológico de estos hábitats. Desde principios de los años 80, el Servicio Devesa-Albufera del Ayuntamiento de Valencia ha realizado actuaciones y estudios encaminados a la regeneración de los ecosistemas de la Devesa de La Albufera. La actuación más destacada con relación a las malladas ha sido la regeneración geomorfológica de muchas de ellas, y están en marcha programas de conservación y recuperación de la vegetación halófila en las mismas.

La flora de los marjales y saladares litorales valencianos incluye taxones de gran interés, algunos endémicos o amenazados (Laguna, 1998), lo que ha llevado a que gran parte de los que aún se mantienen sin alteraciones mayores sean hoy espacios protegidos. De hecho, todas las lagunas costeras han sido propuestas como LICs (Lugares de Interés Comunitario) para integrarse en la red Natura 2000 como ZECs (Zonas de Especial Conservación) o ZEPAs (Zonas de Especial Protección para las Aves). En particular, los hábitats 1150 (Lagunas costeras) and 1510 (Estepas salinas mediterráneas, *Limonietalia*), relacionadas intrínsecamente con los saladares, son considerados prioritarios por la legislación europea (Council Directive, 1992). Además, muchas microreservas, algunas dedicadas a la protección de la vegetación halófila, también se localizan en estos humedales (Laguna, 2003).

La vegetación de las malladas incluye especies estructurales, que constituyen las comunidades típicas de saladar, como la asociación *Puccinellio festuciformis-Arthrocnemum fruticosi* en las zonas más saladas, o los herbazales halohidrófilos (*Carici extensae-Juncetum maritimi*; *Schoenus-Plantaginetum crassifoliae*) en las zonas más externas donde la salinidad es menor (Costa y Boira, 1981). Estas especies tienen un papel fundamental en las estructuras de estas comunidades vegetales, pero son bastante homogéneas entre los diferentes territorios y relativamente abundantes. Lo que confiere

gran individualidad y un valor añadido a estos ecosistemas son las especies diferenciales, que aparecen con menor frecuencia, pero justamente son aquellas de las que depende la singularidad de cada mallada. En el territorio de referencia para este proyecto, muchas de estas especies son endémicas (algunos endemismos valencianos exclusivos) o muy raras, amenazadas o incluso, como se ha mencionado anteriormente, han desaparecido del territorio del Parque Natural, aunque siguen presentes en otros saladares valencianos.

Las tres especies incluidas en este estudio pertenecen a la categoría funcional de especies diferenciales de las malladas valencianas.

- *Thalictrum maritimum* L. de la familia Ranunculaceae, es un endemismo valenciano.
- *Linum maritimum* L. es una especie litoral de la familia Linaceae, presente en el Sur de Europa y Norte de Africa.
- *Centaurea dracunculifolia* Dufour es un endemismo iberolevantino.

2. CONSERVACIÓN EX SITU –BANCOS DE GERMOPLASMA

La metodología más eficiente para la conservación de las especies vegetales es proteger sus hábitats, lo que se denomina conservación *in situ*. Sin embargo, debido a las dificultades que la protección *in situ* conlleva, en la gestión de especies vegetales se recurre cada vez a los métodos de conservación *ex situ* (Conway, 1988; Ashton, 1987).

La conservación *ex situ* es, según la FAO (2014), la conservación de la diversidad biológica fuera de su hábitat natural. Las alternativas de conservación *ex situ* de plantas se pueden agrupar en dos tipos:

- Jardines Botánicos
- Bancos de Germoplasma

2.1. JARDINES BOTÁNICOS

Según Wyse Jackson y Sutherland (2000), los jardines botánicos son instituciones que poseen colecciones de plantas cultivadas, bien documentadas, que se orientan a la investigación científica, la conservación, la exposición pública y la educación. Se podría decir que también son bancos de germoplasma, pero con unas características diferentes, ya que cuando se crearon no buscaban una variabilidad genética intraespecífica, sino un propósito de clasificación taxonómica.

2.2. BANCOS DE GERMOPLASMA

Tradicionalmente la conservación *ex situ* de especies vegetales estaba basada en el mantenimiento de especies singulares en los jardines botánico. A lo largo del tiempo, se entendió que simples colecciones consistiendo en un tan sólo uno o pocos individuos de los taxones de interés no representa la mejor forma de conservación y se planteó la forma de aumentar la variabilidad genética de las colecciones a través de los bancos de germoplasma. Hoy día cientos de jardines botánicos tienen sus propios bancos de germoplasma, conservando más de la tercera parte de las especies silvestres del planeta (Iriondo Alegría, 2001). Los bancos de germoplasma no existen solamente en los jardines

botánicos, muchas administraciones han implementado esta metodología de conservación. En Valencia colecciones de semillas (esporas) de especies silvestres de interés, endémicas o amenazadas están ubicadas en el Banco de Germoplasma del Jardí Botànic de la Universitat de València (BGJBUV), los cultivos *in vitro* de especies amenazadas en el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) o en el Banco de Germoplasma de la Flora Silvestre Valenciana el Centro para la Investigación y Experimentación Forestal de la Comunitat Valenciana (CIEF). Como ejemplo de los resultados alcanzados solamente en el CIEF en la actualidad se conservan más de 2.700 accesiones de 755 especies silvestres, y se conocen de manera exhaustiva sus protocolos de germinación (Ferrer Gallego *et al.*, 2013).

Los bancos de germoplasma se pueden definir como centros destinados a la conservación de recursos genéticos con las condiciones necesarias para prolongar sus vidas (FAO, 2014), es decir, es una colección de materiales genéticos que son recogidos directamente de las plantas en forma de semillas, fragmentos de plantas o tejidos y están destinados a la propagación vegetativa. Pueden ser de cuatro tipos, bancos de semillas, bancos de polen, bancos de clones y bancos de conservación *in vitro*. Su objetivo principal es preservar la diversidad genética de las especies vegetales, a la vez que sirven de seguro contra los desastres naturales o antropológicos, que pudieran tener lugar en los espacios donde se realiza la conservación *in situ*, a la vez que es imprescindible adquirir el conocimiento necesario para cultivar las especies amenazadas y sus requerimientos ecológicos (Cuevas, 1988)

Los bancos de germoplasma son una valiosa herramienta para poder llevar a cabo la preservación *ex situ*, tanto como acción preventiva, como de conservación de la diversidad vegetal o incluso como respuesta urgente ante a la extinción de especies o poblaciones (Bacchetta *et al.*, 2008).

Es de suma importancia que en los bancos de germoplasma se mantenga la viabilidad, la calidad y la integridad genética de las muestras de semillas, garantizando a su vez que las muestras que se distribuyen y conservan estén libres de enfermedades como bacterias, virus, hongos o insectos, transmitidas por semillas y plagas reglamentadas.

Gracias a los acuerdos y obligaciones que se adoptaron en la Cumbre de la Tierra de Rio de Janeiro en 1992 se introdujo la conservación de semillas de plantas silvestres raras o

en peligro de extinción, ya que antes los bancos de germoplasma estaban destinados solo a la conservación de especies con interés alimentario.

2.3. BANCOS DE SEMILLAS

Dentro de la categoría amplia de bancos de germoplasma los más frecuentes son los bancos de semillas. Las funciones básicas de los bancos de semillas se pueden resumir de la siguiente manera:

- Asegurar la provisión de lotes de semillas, de buena calidad y origen conocido, de especies vegetales de interés forestal.
- Procurar la conservación de lotes de semillas de especies de interés forestal, mediante el uso de técnicas que prolonguen lo máximo posible la longevidad de las muestras.
- Gestionar y regular la calidad de los materiales forestales, así como de los recursos genéticos.

Por este motivo es importante que, las muestras aceptadas tengan una alta viabilidad en el momento de la recolección, evitando así la adquisición de semillas dañadas o diseminadas en el suelo. (Página Web Generalitat Valenciana).

Por otro lado, algunas de las actividades más importantes que se realizan en los bancos de semillas con relación a las muestras son:

1. **Recolección:** La recolección se realiza aplicando las técnicas más adecuadas para cada una de las especies, teniendo en cuenta además la distribución, ecología y características biológicas del taxón. Es imprescindible, por lo tanto, seguir unos protocolos mínimos y unas pautas para el desarrollo de esta actividad, garantizando así una mayor efectividad en la viabilidad y longevidad del germoplasma (Bacchetta *et al.*, 2008)
2. **Secado y almacenamiento:** Las semillas deben secarse hasta el contenido de humedad adecuado, y a continuación es preciso que las muestras se guarden en recipientes herméticos para su almacenamiento (FAO, 2014).
3. **Control de la viabilidad de las semillas:** Dicha actividad se realiza con el propósito de detectar la pérdida de la viabilidad de las muestras.

4. Caracterización: Según la FAO (2014), entendemos caracterización como la descripción del germoplasma vegetal. Es importante tener el mayor número de conocimientos sobre el germoplasma que se conserva.
5. Documentación: Es necesario que la información y los datos obtenidos en los bancos de semillas, referentes a la conservación y el uso del material, sean registrados en una base de datos.

Según las necesidades específicas de cada especie, se establecerán unas condiciones climáticas determinadas para alargar la longevidad de las semillas.

Además, se ha visto que el almacenamiento de semillas a largo plazo es una operación simple y económica en cuanto al uso de recursos humanos, tecnología, infraestructuras y gastos de mantenimiento (Maxted et al. 1997); ya que las semillas están adaptadas a la dispersión en el tiempo, y tienen la capacidad de permanecer viables largos periodos de tiempo (Chin, 1994).

El banco de germoplasma del servicio Devesa-Albufera es un banco de semillas, que almacena a corto plazo semillas de especies propias de la Comunidad Valenciana. Se caracteriza por sus condiciones de temperatura ambiente destinado, principalmente, a la producción de plantas para el refuerzo de poblaciones, más que a la conservación del material genético, por lo que tanto la viabilidad como el periodo útil de almacenamiento de material genético se ve muy reducido en el tiempo. La obtención del material vegetal para las repoblaciones es una de las primeras necesidades para poder asegurar la recuperación de los hábitats degradados. Con este objetivo la Oficina Técnico del servicio Devesa-Albufera puso en funcionamiento un vivero para la producción del material vegetal necesario para la restauración de la cubierta vegetal. A lo largo de este tiempo se ha ido ampliando el número de especies que son producidas y se han completado las instalaciones, teniendo en cuenta la conservación de la diversidad genética local. Por este motivo se han ido incrementado las colecciones de semillas recogidas en el parque natural. Actualmente el banco de semillas cuenta con más de 170 especies diferentes de la Devesa y la Albufera, entre las que se encuentran prácticamente la totalidad de las especies características de los ecosistemas importantes.

La gestión del banco de semillas del servicio Devesa- Albufera es un ejemplo de complementación entre programas de conservación *ex situ* y conservación *in situ* almacenando a medio y corto plazo germoplasma representativo de las poblaciones. En

este sentido este banco de semillas ejerce su función como etapa intermedia, para producir fuera del hábitat nuevos ejemplares, que posteriormente realimenten el trabajo de conservación en el medio natural. Solamente la aplicación sinérgica de la conservación *in situ* y *ex situ* puede asegurar una buena gestión de las especies amenazadas (Hernández Bermejo y Clemente, 1994; Laguna, 1998).

3. OBJETIVOS

El mayor problema del banco de semillas de los Viveros Municipales del Servicio Devesa-Albufera del Saler, es el reducido espacio que tienen destinado al almacenamiento y conservación de material genético. Ante esta problemática, se ha decidido analizar la viabilidad de las semillas procedentes de colecciones de varios años de tres especies diferenciales de las malladas valencianas. Las tres especies están presentes en la zona del parque, pero sus poblaciones son bastante reducidas. Por este motivo requieren una monitorización y la disponibilidad de semillas con buena capacidad germinativa, para los posibles reforzamientos poblacionales.

3.1. Objetivo general

El principal objetivo de este trabajo ha sido determinar la capacidad germinativa y la viabilidad de las semillas de tres especies, *Thalictrum maritimum*, *Linum maritimum* y *Centaruea dracunculifolia*, presentes en los sistemas de malladas del Parque Natural de la Albufera, con el fin de optimizar el espacio destinado al banco de germoplasma.

3.2. Objetivos específicos.

Los objetivos hacia los que se ha enfocado el trabajo son:

1. Determinar la capacidad germinativa de las semillas de diferentes años almacenadas en el banco de semillas.
2. Determinar la viabilidad de las semillas a lo largo de los años y cuando estas ya no son óptimas para seguir almacenándolas.
3. Establecer uno o varios protocolos de germinación que aseguren un mayor porcentaje de éxito de germinación.

4. ESPECIES SELECCIONADAS

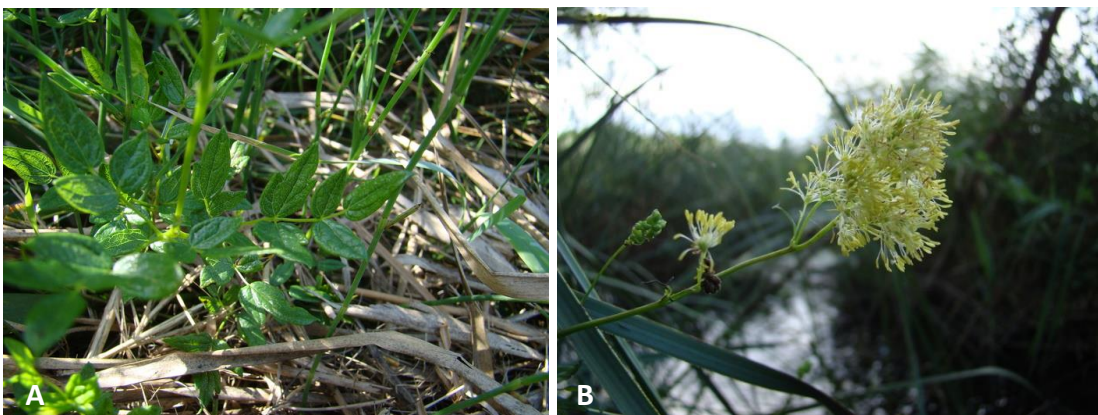
Las especies seleccionadas viven en sistemas de malladas, por lo que su interés botánico reside en la capacidad que tienen de vivir en condiciones de encharcamiento y su resistencia a cierta salinidad en el agua.

Además, las tres especies seleccionadas son plantas halófitas (Lidón *et al.*, 2009) que se definen por tener la habilidad de completar su ciclo de vida en concentraciones de sal de al menos 200mM NaCl en condiciones similares a las que se podrían encontrar en el medio natural (Flowers *et al.*, 1986; Flowers y Colmer, 2008), es decir, que son plantas específicas de ecosistemas salinos, que toleran, además, concentraciones salinas que matan al 99% de otras especies (Flowers *et al.*, 1986).

Las halófitas crecen en diferentes tipos de hábitats, como por ejemplo en zonas salinas húmedas, estuarios, saladares litorales o de interior, lagunas costeras, marjales o malladas.

- ***Thalictrum maritimum* L. (familia Ranunculaceae)**

Es una especie endémica del litoral Valenciano y está catalogada como vulnerable tanto en la Lista roja de la Flora Vascular, como en el Catálogo Valenciano de Especies de Flora Amenazadas. Sólo una de las cuatro poblaciones conocidas cuenta con un número de individuos significativo, y concentra el 95% de los efectivos de la especie (Lidón *et al.*, 2009).



Figuras 1a y 1b *T. maritimum* L. con detalle de la planta y de la inflorescencia.
Fuente: Floracatalana.net

- *Linum maritimum* L. (familia **Linaceae**)

Es una especie de litoral, que aparece en suelos salinos acompañando al anterior, pero no tiene categoría UCIN.



Figura 2. *L. maritimum* L. con detalle de la inflorescencia. Fuente: Floracatalana.net

- *Centaurea dracunculifolia* Dufour (syn. *C. jacea* L. subsp. *dracunculifolia* (Dufour) A. Bòlos y O. Bòlos) (familia **Asteraceae**)

Es un endemismo iberolevantino, y está catalogado con la categoría UICN LR/NT (Menor riesgo /Casi amenazado)



Figuras 3a y 3b *C. dracunculifolia* Dufour con detalle de la inflorescencia. Fuente: Florasilvestre.es

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. MATERIAL

Para el estudio se han empleado semillas almacenadas en el banco del Servicio Devesa-Albufera, recogidas en diferentes en los años indicados en la Tabla 1.

Las semillas proceden de recolecciones anuales de frutos en el campo. Después de su limpieza, las semillas se secan mediante la utilización de gel de sílice hasta un 5% de humedad, en cámaras herméticas y a temperatura ambiente. El almacenamiento de las semillas se realiza en bolsas estancas de plástico, almacenadas en una habitación que cuenta con un aparato de aire acondicionado que impide que la temperatura pueda superar los 18° C.

Tabla 1. Relación de las semillas de diferentes años empleadas en los protocolos de germinación.

<i>T. maritimum</i>	<i>L. maritimum</i>	<i>C. dracunculifolia</i>
2016	2016	2016
2015	2015	2015
2014	2014	2014
2013	2011	2013
2010	2007	2012
2009	2006	2011
2005	2004	2010
2001	2003	2005
2000	2002	2000
1997	2001	1995
1991	1993	1991

5.2. MÉTODOS

Ensayos previos y desinfección de las semillas

El estudio se ha empezado con unos ensayos previos de germinación de las semillas más recientes. En primer lugar, se ha detectado el problema de contaminación por hongos de las semillas. Para solucionar este problema se han probado varios métodos de esterilización que no afecten a la capacidad germinativa de las semillas. Se empezó desinfectando las semillas durante 5 minutos con detergente comercial para vajillas en un bote estanco agitando fuerte, pero no se bajó el porcentaje de semillas contaminadas. Se probó la desinfección durante 5 minutos con el mismo detergente más 5 minutos de agitado fuerte con lejía comercial. Los resultados mejoraron, pero aún se mantenía un porcentaje elevado de la contaminación en las placas (más del 50% de las semillas). por lo que se decidió ampliar el tiempo de agitado con lejía a 10 minutos, lo que ya proporciono unos buenos resultados.

Otro método de desinfección de semillas que se probó fue mediante agua oxigenada, dejando las semillas en un agitador durante 24 horas sumergidas en H₂O₂ con una concentración del 3%, lo que tampoco dio muy buenos resultados. Considerando también el tiempo requerido para este método se descartó.

Ensayos de germinación

Los ensayos han sido realizados en placas Petri estándar (diámetro 9cm) con una capa de algodón estéril y dos capas de papel de filtro al que se le añadían 25 ml de agua milliQ (agua esterilizada dos veces). El número de semillas empleado ha sido de 20 semillas por placa, con tres replicas (placas) por cada especie y cada año.

Una vez preparadas las placas se llevaron a una cámara de germinación (Equitec, modelo EGCHS HR), donde permanecen por un periodo de 30 días, con un fotoperiodo de 16 horas de luz y una temperatura de 30° C, y 8 horas de oscuridad y 20° C. Se realiza un seguimiento de la germinación comprobando en número se semillas germinadas cada dos o tres días. Se considera germinada una semilla cuando emerge la radícula y adquiere un tamaño de unos 2 o 3 mm.

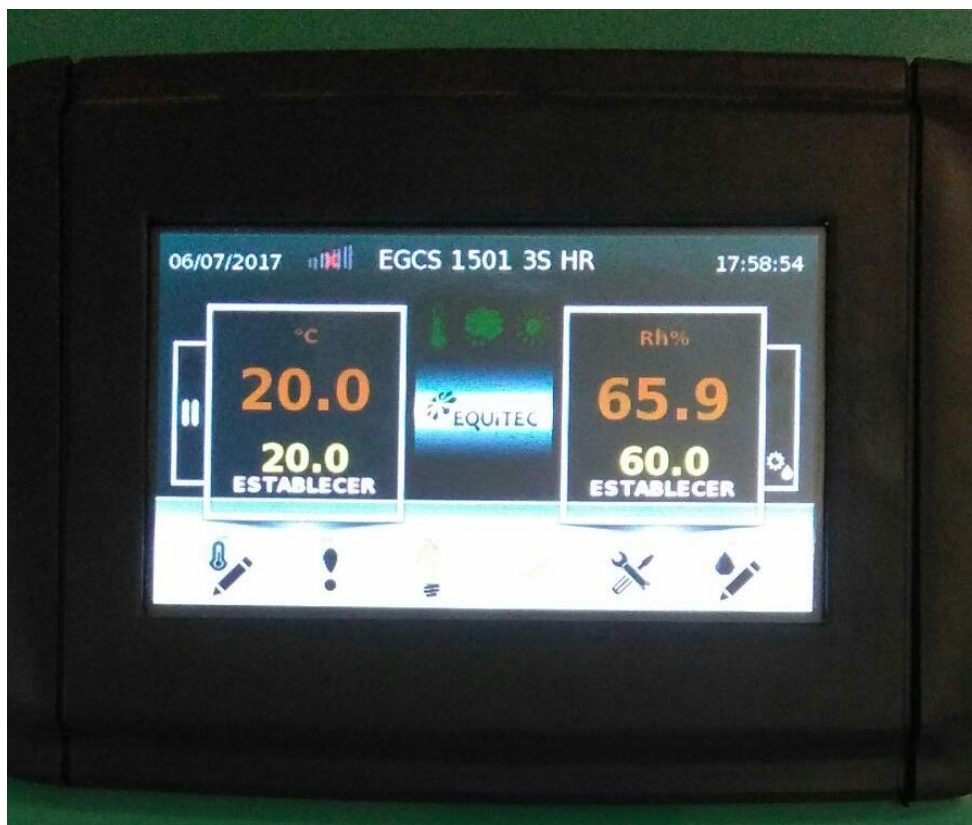


Figura 4. Detalle de la temperatura y humedad de la cámara de germinación. Pretratamiento de las semillas para estimular la germinación

Como los resultados obtenidos en los ensayos previos en *T. maritimum* indicaban una baja capacidad germinativa se ha recurrido a varios métodos de pretratamientos, habitualmente utilizados para estimular la germinación (Asl *et al.*, 2011; Yücel y Yılmaz, 2009). Los pretratamientos se han aplicado únicamente en la especie *T. maritimum*.

Escarificación química

Las semillas se han sumergido en ácido sulfúrico (H_2SO_4) con una concentración del 96% durante veinte segundos en Erlenmeyer, después se enjuagaron con abundante agua destilada, se desinfectaron y se pusieron en las placas Petri.

Escarificación mecánica

Para este método se ha empleado una lija de grano muy fino con la que se han frotado los aquenios hasta abrirlos y extraer la semilla, después se ha procedido a desinfectarlas y a transferirlas en las placas Petri.



Figura 5. Semillas de *Thalicttrum maritimum* sin escarificar (A) y escarificada (B).

Tratamiento con ácido giberélico (AG₃)

Tras la previa desinfección de las semillas estas son colocadas en una placa Petri y se cubren con una dilución de AG₃ de 200 ppm y se mantienen a temperatura ambiente durante 24 horas.

Siembra en sustrato

Para la siembra en sustrato (50 % turba, 25% perlita, 25% vermiculita) se han utilizado lotes de semillas del 2016 para las tres especies, estas se han desinfectado y se han sembrado sin ningún tipo de pretratamiento, con el único objetivo de ver el tiempo y la capacidad de germinación en condiciones diferentes de las anteriores.



Figura 6. Detalle de semillas de *Centaurea dracunculifolia* germinando.

Ensayos de viabilidad de las semillas

Este ensayo solo se ha realizado con semillas de *T. maritimum*, la especie más problemática, para poder obtener unos resultados más concluyentes. En él se ha procedido a escarificar las semillas para separarlas de la cubierta, después con la punta de un punzón se han raspado las semillas dejándolas en un vaso de precipitados con agua durante 24 horas a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se cuelan y se ponen de nuevo en el vaso de precipitados con una disolución de Tetrazolio al 1% de concentración y se incuban en una estufa a 30°C otras 24 horas en oscuridad.

Una vez terminado el ensayo, habrá que separar las semillas en dos categorías, viables sin defectos y no viables. Las semillas viables con defectos, se reconocen lesiones del embrión que es un límite crítico al concepto de viabilidad y se clasifican como viables con defectos severos, y viables con defectos leves. De esta forma se termina el análisis del lote y se determina el valor de la viabilidad por Tetrazolio. (Craviotto y Arango, 2005)

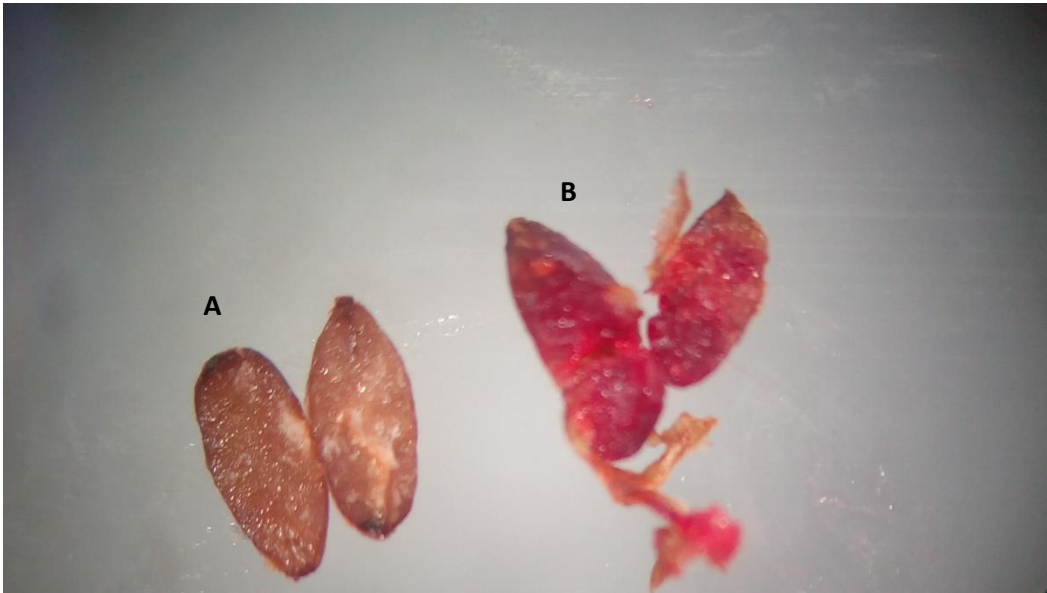


Figura 7. Detalle de una semilla no teñida (A) y otra teñida (B).

Tratamiento de los datos

Los porcentajes de germinación se han calculado como medias de las tres replicas por cada especie, año y tratamiento. Se ha estimado la velocidad de germinación mediante la fórmula del tiempo medio de germinación MGT (Mean Germination Time) descrita por Ellis y Roberts (1981).

$$\text{MGT} = \frac{\sum Ni * Ti}{\sum Ni}$$

Siendo n_i el número de semillas germinadas en cada toma de datos y t_i el tiempo en días de la toma de datos desde el comienzo de la prueba.

Par calcular la significancia de las diferencias entre accesiones o pretratamientos en caso de *T. maritimum* así como entre la germinación de los diferentes años de las tres especies se ha aplicado un ANOVA de un factor, después de la previa transformación de los datos. El análisis estadístico se ha efectuado con el programa Statgraphics Centurión.

6. RESULTADOS

Durante el estudio se han realizado diferentes pretratamientos en los ensayos de germinación, aunque no ha sido necesario para las semillas de *Linum* y *Centaurea*, que han funcionado bien en control tras una simple desinfección, pero sí que ha sido imprescindible para *Thalictrum*, el cual presentaba muchos problemas en control por contaminación de hongos y ha sido necesario idear distintos ensayos hasta establecer el método más efectivo para estimular la germinación de las semillas.

6.1. GERMINACIÓN EN PLACAS PETRI

6.1.1. *Thalictrum maritimum*

- **Pretratamientos del *Thalictrum maritimum***

Debido a los problemas de germinación vistos en el *T. maritimum* se ha procedido a realizar diferentes pretratamientos para averiguar el que mejor resultados da en la germinación. Para ello se han empleado semillas de los dos años más recientes, que son los del 2015 y 2016, las cuales se han sometido a escarificación química, escarificación mecánica y un tratamiento con ácido giberélico y han sido comparadas con una muestra en control. Estos resultados han sido analizados mediante un Anova de un factor a un nivel de confianza del 95% y en las Figuras 8 y 9 se muestran los resultados de germinación para las semillas del año 2016 y en las Figuras 10 y 11 para las semillas del año 2015.

En cuanto a las semillas del año 2016, se puede observar que el mayor porcentaje de semillas germinadas se alcanza mediante la escarificación mecánica, llegando a alcanzar casi un 60% de éxito, siendo además su evolución la más rápida, como se puede observar en la Figura 9. Sin embargo, como la Figura 8 muestra, mediante la escarificación química y el tratamiento con ácido giberélico no se llega a alcanzar el 50% de semillas germinadas.

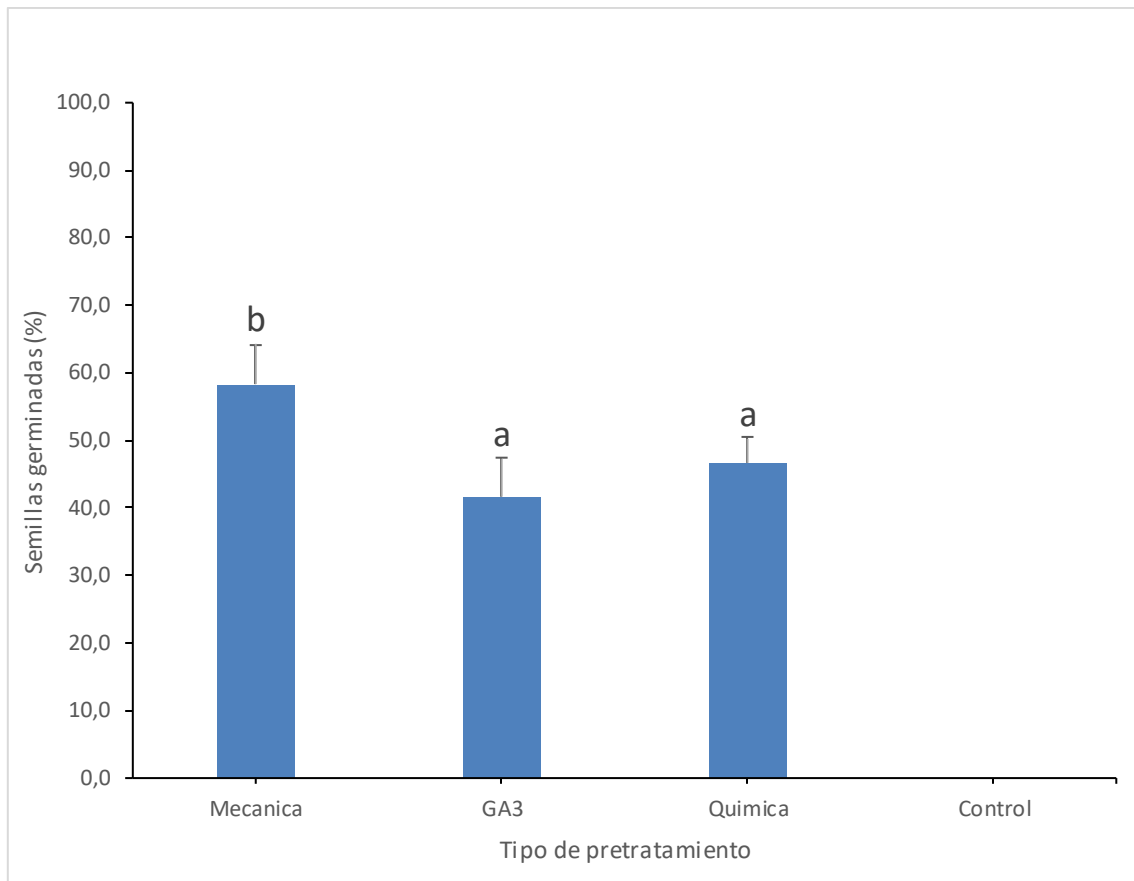


Figura 8. Porcentaje final de germinación en función del pretratamiento de las semillas de 2016 en la especie *Thalicttrum maritimum*. Las diferentes letras indican diferencias significativas a un nivel de confianza de 95%.

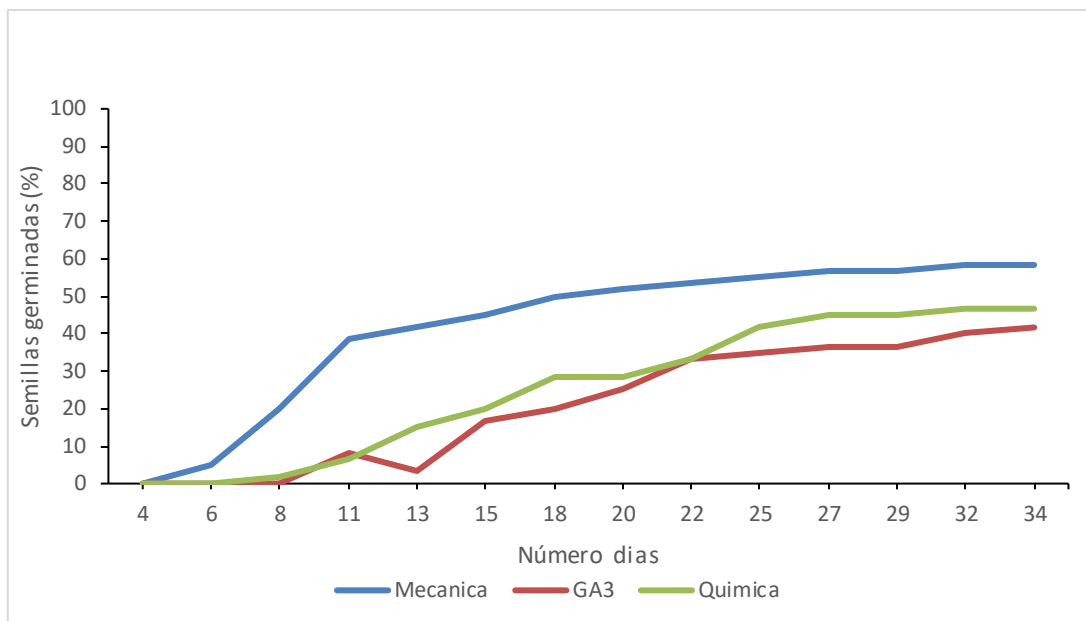


Figura 9. Evolución de la germinación en las semillas del año 2016 en función del pretratamiento para la especie *Thalicttrum dracunculifolia*.

Por otra parte, como podemos observar en las Figuras 10 y 11, con las semillas del año 2015, el mayor porcentaje de semillas germinadas se alcanza mediante el mismo método que con las semillas del año 2016, que es la escarificación mecánica. Sin embargo, cabe destacar que en comparación con las semillas del año 2016 los pretratamientos de escarificación química y ácido giberélico dan unos resultados mucho menores, no llegando a alcanzar ni el 30% de semillas germinadas.

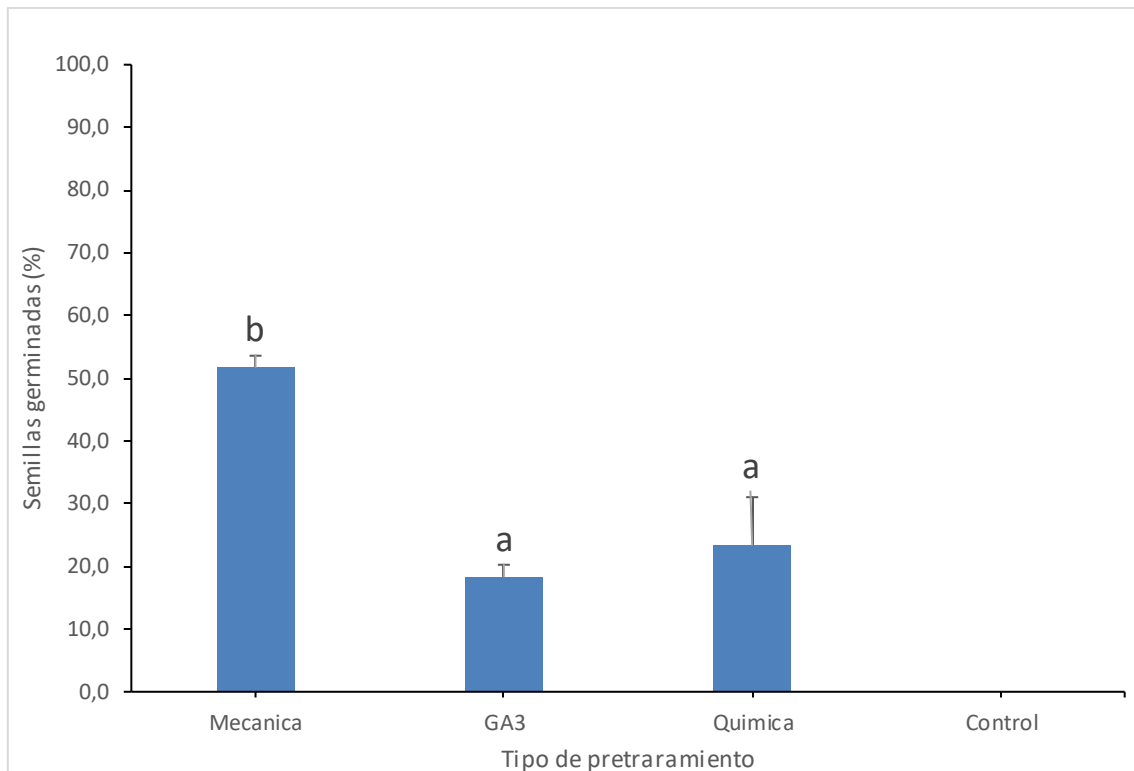


Figura 10. Variación del porcentaje final de germinación en función del pretratamiento de las semillas de 2015 en la especie *Thalictum maritimum*. Las diferentes letras indican diferencias significativas a un nivel de confianza de 95%.

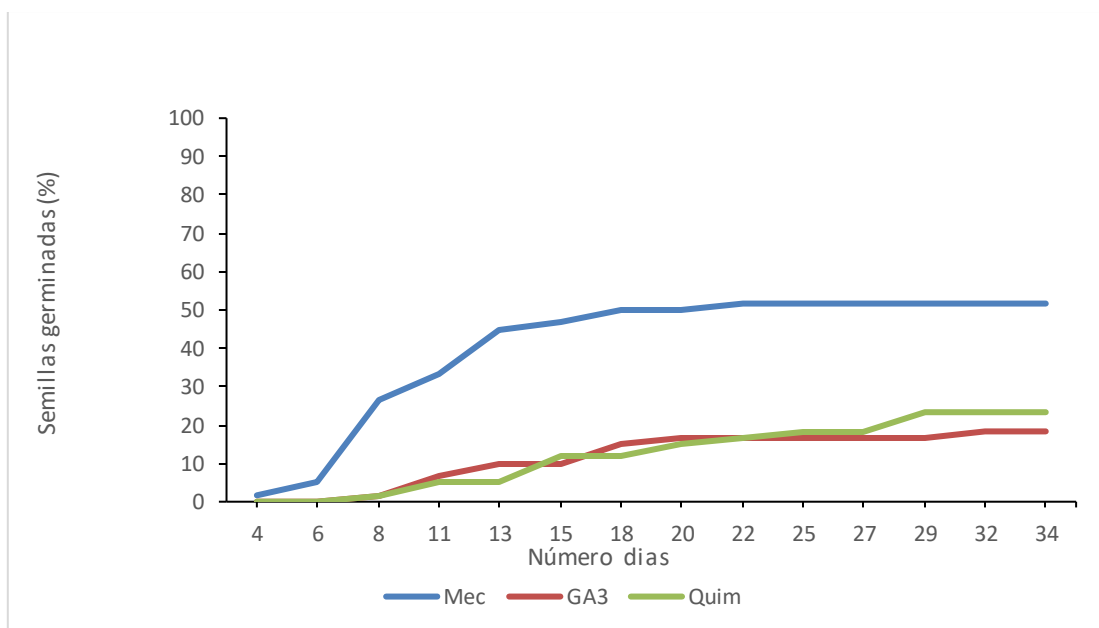


Figura 11. Evolución de la germinación en las semillas de 2015 en función del pretratamiento para la especie *Thalictum maritimum*.

- **Escarificación mecánica**

Como hemos observado en las Figuras 8 - 11, el pretratamiento que mejor resultado ha dado es la escarificación mecánica. Por este motivo, se han tratado los lotes de semillas mediante esta forma. En la Figura 12 se observa el porcentaje final de germinación con su análisis estadístico y la gráfica representada en la Figura 13 muestra la evolución de la germinación.

Los resultados que se muestran en las Figuras 12 y 13 reflejan que el mayor éxito en la germinación se obtiene con el lote del 2016 siendo la germinación menor conforme la antigüedad de las semillas, sin embargo, es en el año 2013 donde la germinación cae por debajo del 50% de éxito.

Por último, en las gráficas podemos observar que las semillas son viables a partir del año 2010, siendo los resultados de germinación de los años anteriores nulos.

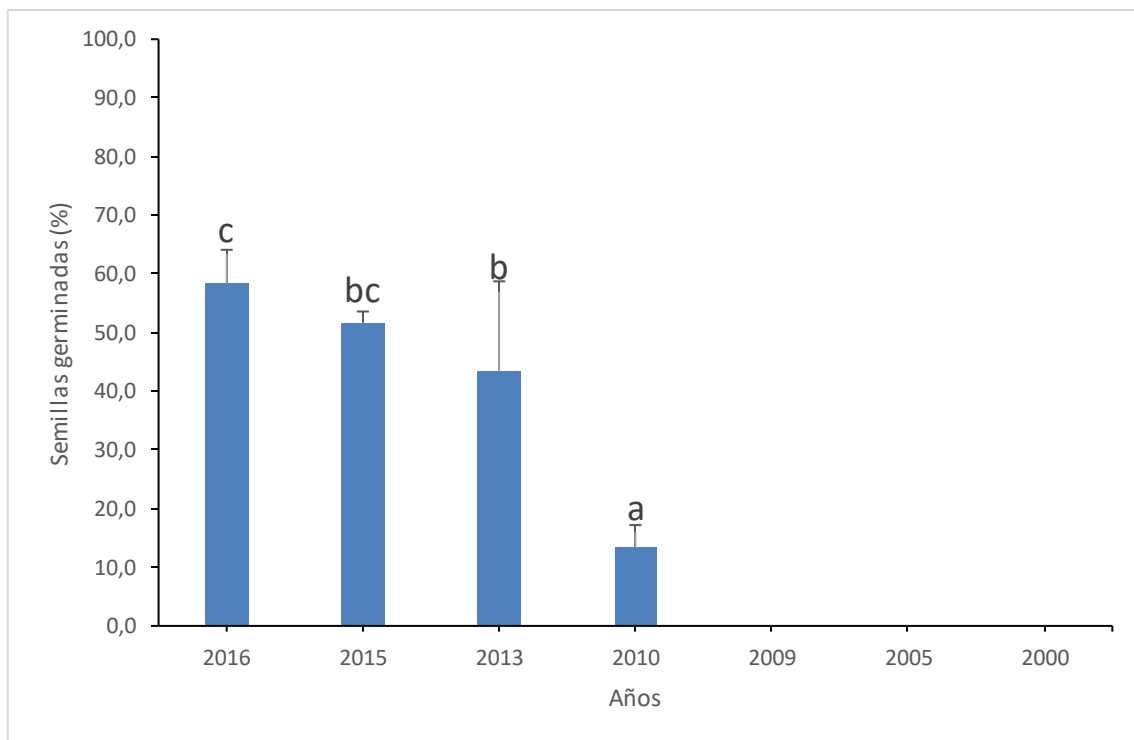


Figura 12. Porcentaje final de germinación de semillas de varios años de *Thalicttrum maritimum* sometidas a la escarificación mecánica previa. Las diferentes letras indican diferencias significativas a un nivel de confianza de 95%.

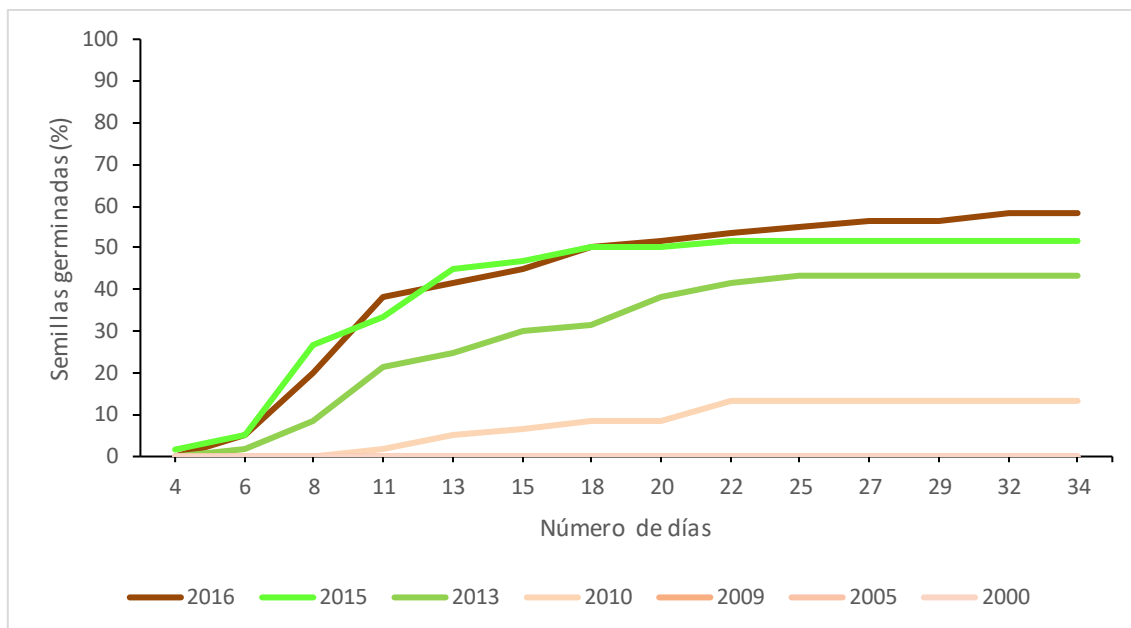


Figura 13. Evolución la germinación de semillas de varios años de *Thalicttrum maritimum* sometidas a una escarificación mecánica previa.

Además, se ha calculado el tiempo medio de germinación que se muestra en la Tabla 2, en la cual no se refleja una diferencia significativa entre las semillas de varios años respecto a la velocidad de germinación.

Tabla 2. Tiempo medio de germinación calculado para los diferentes lotes de semillas de *Thalicttrum maritimum*.

AÑOS	2016	2015	2013	2010	2009	2005	2000
MGT	12,6	10,5	14,0	17,0	0	0	0

6.1.2. *Centaurea dracunculifolia*

Para la germinación de *C. dracunculifolia* no ha sido necesario ningún pretratamiento, ya que los resultados tras la desinfección han sido óptimos. En las Figuras 14 y 15 se muestran los porcentajes finales y la evolución en la germinación de los diferentes años usados, siendo las semillas del año 2015 las que han dado mejores resultados en la germinación. En la gráfica también vemos que entre el año 2014 y 2013 hay una diferencia significativa en cuanto al porcentaje de germinación. Es en las semillas anteriores al año 2011 donde se pierde la viabilidad.

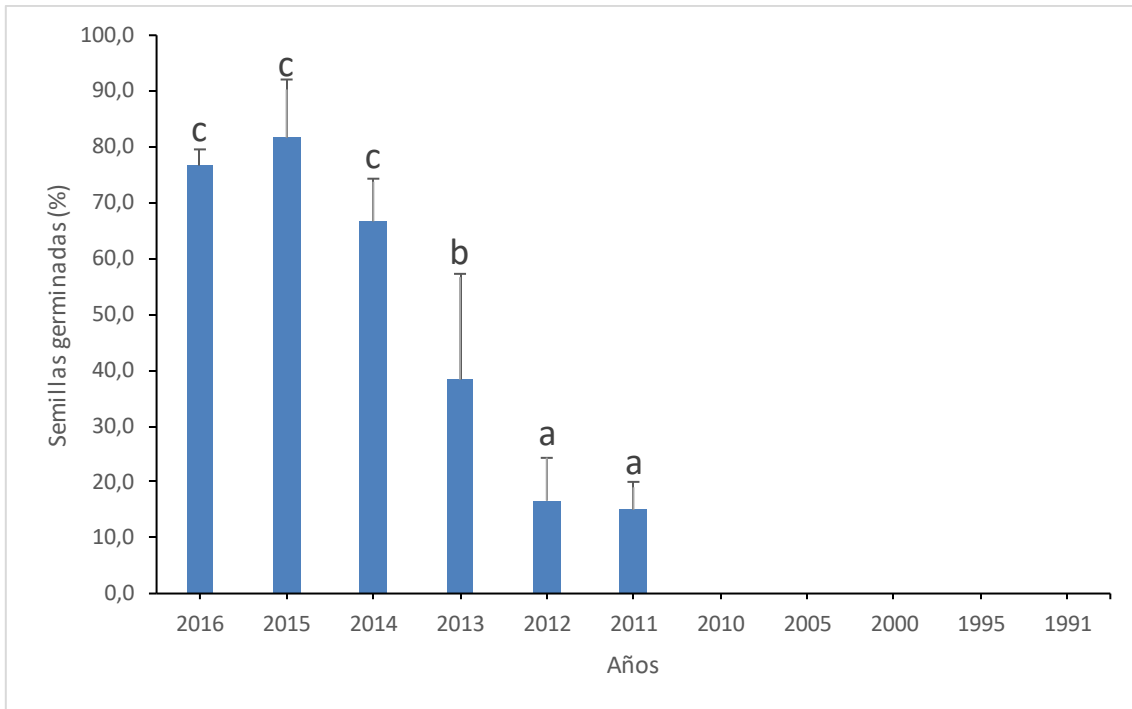


Figura 14. Porcentaje final de germinación de semillas de varios años de *Centaurea dracunculifolia*. Las diferentes letras indican diferencias significativas a un nivel de confianza de 95%.

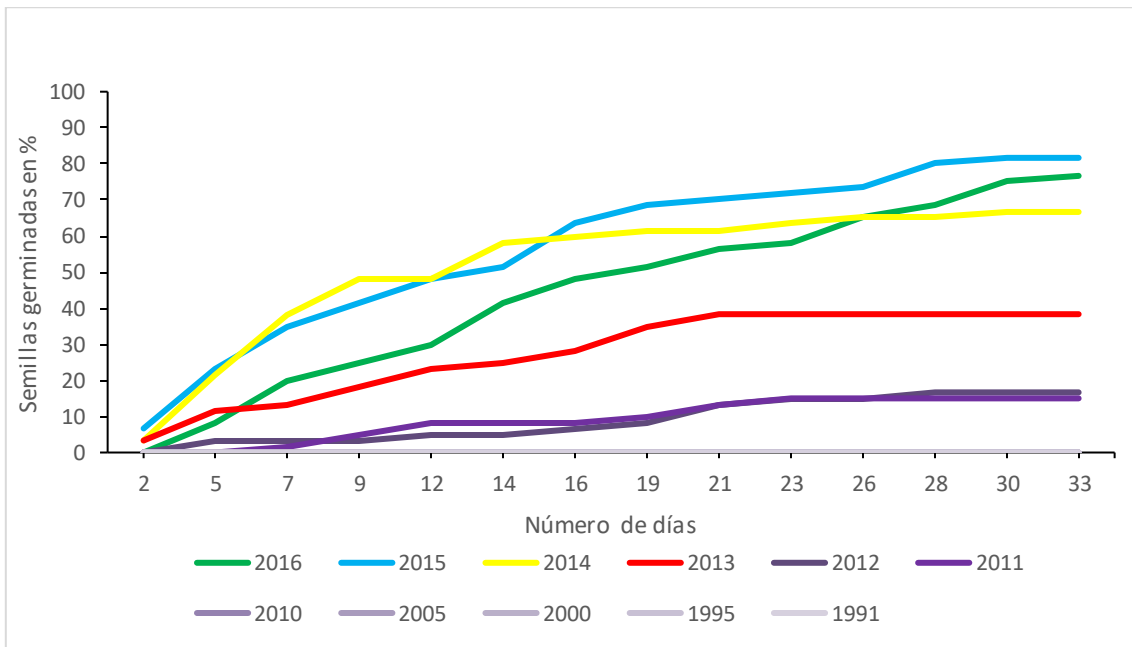


Figura 15. Evolución la germinación de semillas de varios años de *Centaurea dracunculifolia*.

En la Tabla 3 se muestra el tiempo medio de germinación en la que no observamos ninguna relación entre la edad de las semillas y la velocidad de la germinación.

Tabla 3. Tiempo medio de germinación calculado para la germinación de los diferentes años usados en *Centaurea dracunculifolia*.

AÑOS	2016	2015	2014	2013	2012	2011	2010	2005	2000	1995	1991
MGT	16,0	12,2	9,5	11,4	17,1	14,8	0	0	0	0	0

6.1.3. *Linum maritimum*

En este caso tampoco ha sido necesario realizar ningún pretratamiento de las semillas, siendo suficiente una desinfección previa de las semillas para obtener unos buenos resultados.

En las Figuras 16 y 17 vemos tanto el porcentaje final de la germinación como la evolución de estas, en las cuales podemos observar que las semillas mantienen una viabilidad parecida a lo largo de los años que van del 2007 al 2016 y no es hasta los lotes anteriores al 2006 donde estas empiezan a perder viabilidad. Las semillas dejan de ser completamente viables en los años anteriores al 2002.

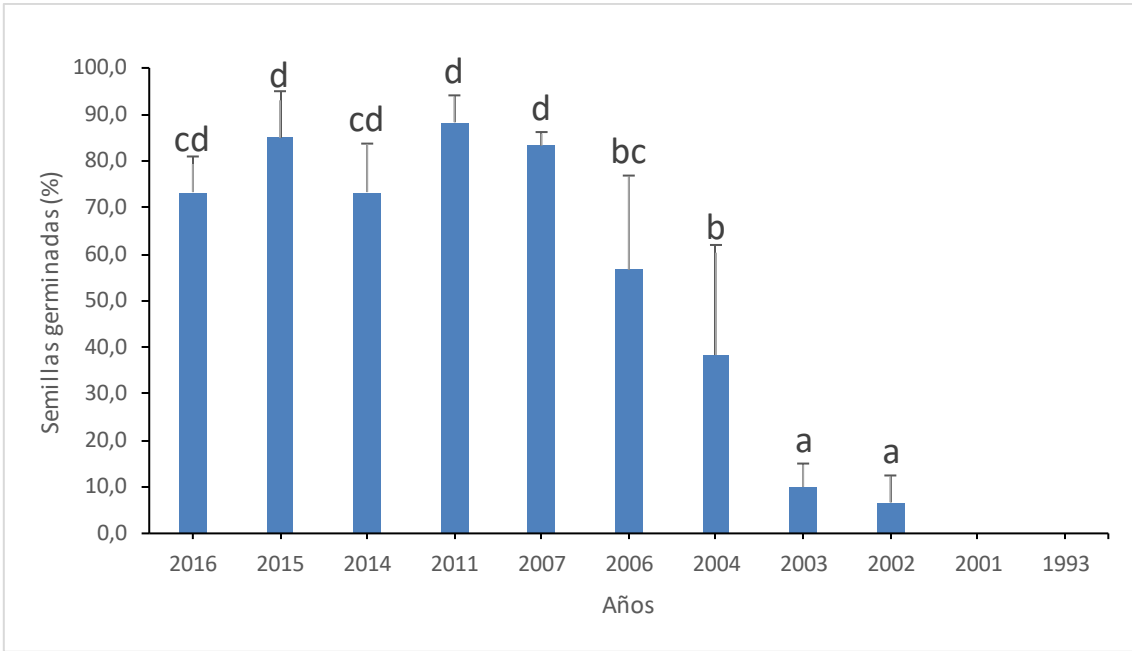


Figura 16. Porcentaje final de germinación de semillas de varios años de *Linum maritimum*. Las diferentes letras indican diferencias significativas a un nivel de confianza de 95%.

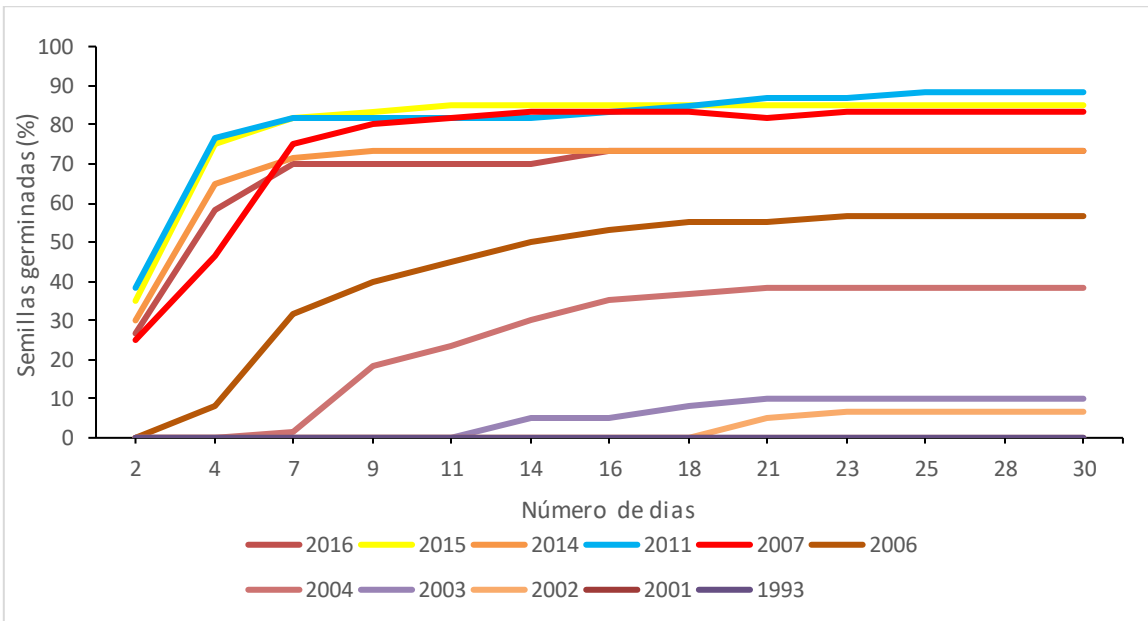


Figura 17. Evolución la germinación de semillas de varios años de *Linum maritimum*.

También podemos ver en la Tabla 4 que las semillas mantienen una relación entre su edad y su velocidad de germinación.

Tabla 4. Tiempo medio de germinación calculado para las semillas de los diferentes años en *Linum maritimum*.

AÑOS	2016	2015	2014	2011	2007	2006	2004	2003	2002	2001	1993
MGT	4,3	3,6	3,6	4,5	6,4	9,1	11,9	16,5	21,5	0	0

6.2. SIEMBRA EN SUSTRATO

En la Figura 18 vemos el comportamiento que han tenido las tres especies al sembrarse en sustrato semillas del año 2016, siendo los resultados obtenidos diferentes a las muestras de las placas Petri.

Se puede observar como en este caso *C. dracunculifolia* es la especie que mejor germina habiendo germinado entorno al 70% de las semillas, además de tener una mayor velocidad de germinación. *T. maritimum* sigue siendo la especie que peores resultados da, obteniendo un éxito muy bajo que apenas ha llegado al 15%. Para *L. matitimum* se ha conseguido entorno a un 40% de semillas germinadas que es la mitad de las obtenidas en la cámara de germinación.

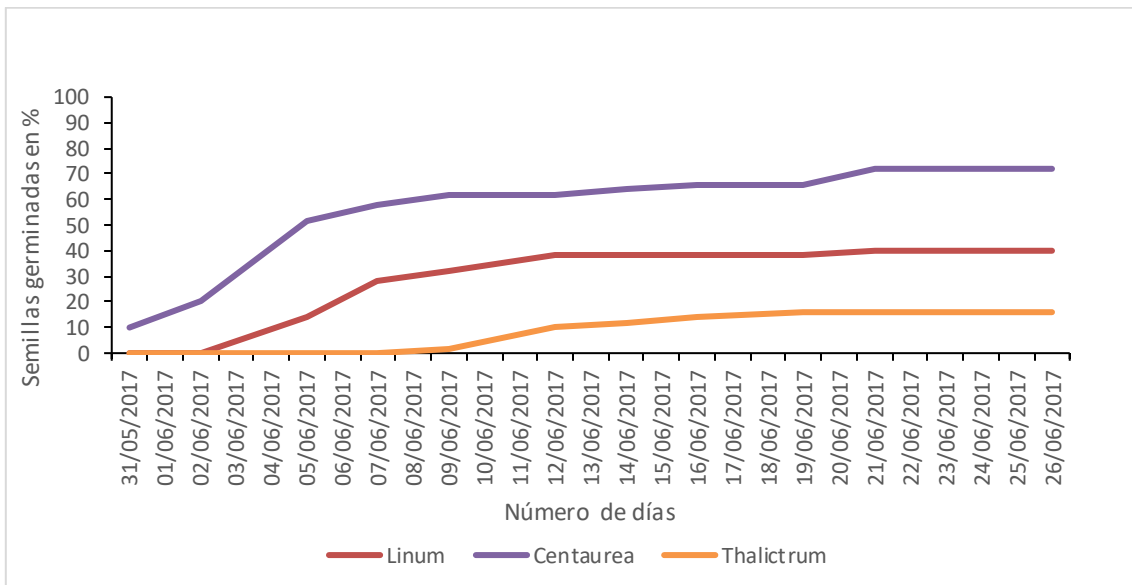


Figura 18. Comparación de la dinámica de la germinación de las diferentes especies para los lotes de semillas de las 2016 sembradas en sustrato y sin ningún tipo de pretratamiento.

6.3. TEST DE VIABILIDAD PO LA PRUEBA DEL TETRAZOLIO

Tras realizar la prueba del tetrazolio se ha procedido a calificar las semillas en distintos grupos. Las teñidas son aquellas en las que tanto el embrión como el tejido nutricional se han teñido por completo y son las viables, las teñidas en parte son aquellas en las que se ha teñido tanto el embrión como el tejido nutricional pero quedando alguna parte de estos sin teñir y tendrán una viabilidad dudosa, ya que no sabemos si están perdiendo viabilidad o se han dañado al arañarlas con el punzón en la fase de preparación de la prueba, las no teñidas son semillas no viables, las que solo tengan el embrión teñido y las que solo tienen el tejido nutricional teñido tampoco son viables.

Como se muestra en la Tabla 4, las semillas de *T. maritimum* anteriores al año 2010 ya no son viables, al igual que ocurre en la germinación, como bien demuestran los datos antes vistos, y para los años que van del 2013 al 2016 sí que son viables y el porcentaje de estas es algo superior que, en las pruebas de germinación, siendo las semillas de los años 2016 y 2015 respectivamente las que mejor resultado ofrecen, empezando a aparecer semillas no viables en los lotes anteriores al año 2014. Esto concuerda con lo visto en los ensayos de las placas Petri.

Tabla 4. Resultados de la prueba de viabilidad de semillas con tetrazolio en *Thalictrum maritimum*.

Años	2016	2015	2014	2013	2010	2009	2005	1997
Teñidas	85	75	55	60	0	0	0	0
Teñidas en parte	15	25	35	30	0	0	0	0
No teñidas	0	0	10	10	100	100	100	100
Embrión teñido	0	0	0	0	0	0	0	0
Tejido nutricional teñido	0	0	0	0	0	0	0	0

7. CONCLUSIONES

Este trabajo representa una herramienta de apoyo en la gestión de los bancos de semillas, estructuras vitales para preservar la flora ante cualquier perturbación del medio, y poder así reconstruir los ecosistemas tal cual deberían ser.

Los resultados obtenidos en las tres especies estudiadas indican que *L. maritimum* es la especie de las tres seleccionadas que mejor mantiene su viabilidad a lo largo de los años y la que mejores porcentajes de germinación tiene. Además, es la especie que más rápido ha germinado en las placas Petri, y es la única de las tres en la que se mantiene una relación directa entre la edad de las semillas y el tiempo medio de germinación, por lo que a las semillas les cuesta mucho más germinar conforme van pasando los años. *T. maritimum* y *C. dracunculifolia* mantienen la viabilidad de forma similar en el tiempo, aunque las semillas de *C. dracunculifolia* germinan mucho mejor. En cuanto a la especie *T. maritimum* se ha llegado a la conclusión que es mediante la escarificación mecánica como se obtienen los mejores resultados y aunque sigue apareciendo contaminación en las muestras es un método rápido y económico de germinar las semillas para la producción de plantas.

Los resultados de la siembra en sustrato indican, que la especie *C. dracunculifolia* es la que mejor germina en sustrato, y que tanto para *T. maritimum* como para *L. maritimum* podría ser interesante hacerles algún pretratamiento previo para subir el porcentaje de semillas germinadas.

Después de lo que se ha comprobado en los ensayos de germinación, mantener semillas de *C. dracunculifolia* y *T. maritimum* más de seis años es totalmente innecesario, ya que en los lotes con más de seis años no germina ninguna semilla, de hecho, a partir del cuarto año de antigüedad estos lotes bajan tanto su viabilidad que en caso de requerir más espacio se podrían eliminar. Sin embargo, en *L. maritimum* si que se pueden mantener los lotes durante al menos catorce años que es cuando pierden toda su viabilidad, y no es hasta pasado diez años desde su recolección donde empiezan a perder viabilidad, por lo que son las semillas que mejor aguantan bajo las condiciones de conservación que tienen en el banco de semillas de los viveros del servicio Devesa-Albufera.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Ashton, P.S., (1987). Biological considerations in in-situ versus ex-situ plant conservation. En: *Botanic Gardens and the World Conservation Strategy*. Bramwell, D., Hamann, O., Heywood, V.H., Syngé, H., eds. Academic Press, London, pp. 117-130.
- Asl, M.B., Sharivivash, R. y Rahbari, A. (2011). Effect of different treatments on seed germination of honey locust (*Gleditschia triacanthos*). *Modern Applied Science* 5:200-204.
- Bacchetta, G., Bueno Sánchez, A., Fenu, G., Jiménez-Alfaro, B., Mattana E., Piotta B. y Virevaire, M. (Eds.) (2008). *Conservación ex situ de plantas silvestres*. Obra Social La Caixa y Gobierno del Principado de Asturias, 375 pp.
- Bañares, Á., Blanca, G., Güemes, J., Moreno, J.C. Y Ortiz, S. Eds. (2004). *Atlas y Libro Rojo de la Flora Vasculare Amenazada de España. Taxones prioritarios*. Dirección General para la Biodiversidad, Publicaciones del O.A.P.N., Madrid.
- Chin, H.F. (1994), Seedbanks: conserving the past for the future. *Seed Science and Technology* 22, 385-400.
- Cuevas, S. y Jesus, A. (1988). *Recursos Fitogenéticos. Bases conceptuales para el estudio y conservación*. Universidad Autónoma Chapingo Dpto. Fitotecnia. Chapingo, Mexico, 244pp.
- Conway, W. (1988). Can technology aid species preservation? En: *Biodiversity*. Wilson, E.O., ed., National Academy Press, Washington, DC, pp. 263-268.
- Costa, M. y Boira, H. (1981). La vegetación costera valenciana: los saladares. *An. Jard. Bot. Madrid* 38 (1):233-244.
- Craviotto, R.M. y Arango, M.R. (2005). Simiente de trigo: nueva herramienta en el control de calidad para mejorar la producción. *INTA EEA Oliveros* 31: 48-50.
- Dijkema, K.S., Bossinade, J.H., Bouwsema, P. y Glopper, R.J. (1990). Salt marshes in the Netherlands Wadden Sea: rising high-tide levels and accretion enhancement.

- En *Expected Effects of Climatic Change on Marine Coastal Ecosystems, Developments in Hydrobiology*, 57, eds. J.J. Beukema, W.J. Wolff, J.J.W.M. Brouns. Kluwer Academic, Dordrecht, pp. 173-188.
- Ellis, R. y Roberts, E.H. (1981). The quantification of aging and survival in orthodox seeds. *Seed Sci. Technol.* 9:373-409
- FAO (2014). *Normas para bancos de germoplasma de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura*. Comisión de recursos genéticos para la alimentación y la agricultura.
- Ferrer Gallego, P.P., Ferrando, I., Gago, C. y Laguna, E. Eds. (2013). *Manual para la conservación de germoplasma y el cultivo de la flora valenciana amenazada*. Colección Manuales Técnicos Biodiversidad, 3. Conselleria d'Infraestructures, Territori i Medi Ambient. Generalitat Valenciana. Valencia.
- Flowers, T.J. y Colmer, T.D. (2008) Salinity tolerance in halophytes. *New Phytol.* 179, 945–963. doi:10.1111/j.1469-8137.2008. 02531.x
- Flowers TJ, Hajibagheri MA, Clipson NJW (1986) Halophytes. *Quart. Rev. of Biol.* 61, 313–337. doi:10.1086/415032
- Greuter, W., Burdet, H.M. y Long G. (1989). MedChecklist, vol. 4, Dicotyledones (LauraceaeRhamnaceae). Geneva: Conservatoire et Jardin Botaniques.
- Iriondo Alegría, J.M. (2001). Conservación de germoplasma de especies raras y amenazadas (Revisión). *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.* 16 (1): 5-24.
- Laguna, E. (Ed.). (1998). *Flora endémica, rara o amenazada de la Comunidad Valenciana*. Ed. Gen. Valenciana. Consejería de Medio Ambiente. Valencia.
- Laguna, E. (Ed.) (2003). *Hàbitats prioritarios de la Comunidad Valenciana*. Ed. Generalitat Valenciana. Conselleria de Territori i Habitatge, Valencia.
- Lidón, A., Boscaiu, M., Collado, F. y Vicente, O. (2009). Soil requirements of three salt tolerant, endemic species from South-East Spain. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj* 37 (2), 64-70.

- Maxted, N., Ford-Lloyd, B.V., Hawkes, J.G., (1997). *Complementary conservation strategies. En: Plant genetic conservation. The in situ approach*. Ed. Chapman y Hall, London, pp. 15-39.
- Reed, D.J. (1990). The impact of sea-level rise on coastal salt marshes. *Prog. Phys. Geog.* **14**, 465-481.
- Simas, T., Nunes, J.P. y Ferreira, J.G. (2001). Effects of global climate change on coastal salt marshes. *Ecol. Model.* 139: 1-15.
- Wyse Jackson, P. y Sutherland, L.A. (2000). *International Agenda for Botanic Gardens in Conservation*. Botanic Gardens Conservation International, U.K.
- Yücel, E. y Yılmaz, G. (2009). Effects of different alkaline metal salts (NaCl, KNO₃), acid concentrations (H₂SO₄) and growth regulator (GA₃) on the germination of *Salvia cyanescens* Boiss. & Bal. seeds. *Gazi University Journal of Science* 22:123-127

Páginas Web consultadas

<http://albuferavalencia.com/historia/el-medio-fisico-natural>

<http://www.floracatalana.net>

http://www.florasilvestre.es/mediterranea/Compositae/Centaurea_dracunculifolia.htm

http://www.cma.gva.es/comunes_asp/documentos/agenda/Cas/65557-CatalogoFloraAmenazada.pdf

<http://historia.bio.ucm.es/rsehn/cont/publis/boletines/243.pdf>

www.researchgate.net

<http://www.biodiversityinternational.org>

<http://www.fao.org>

ANEXOS

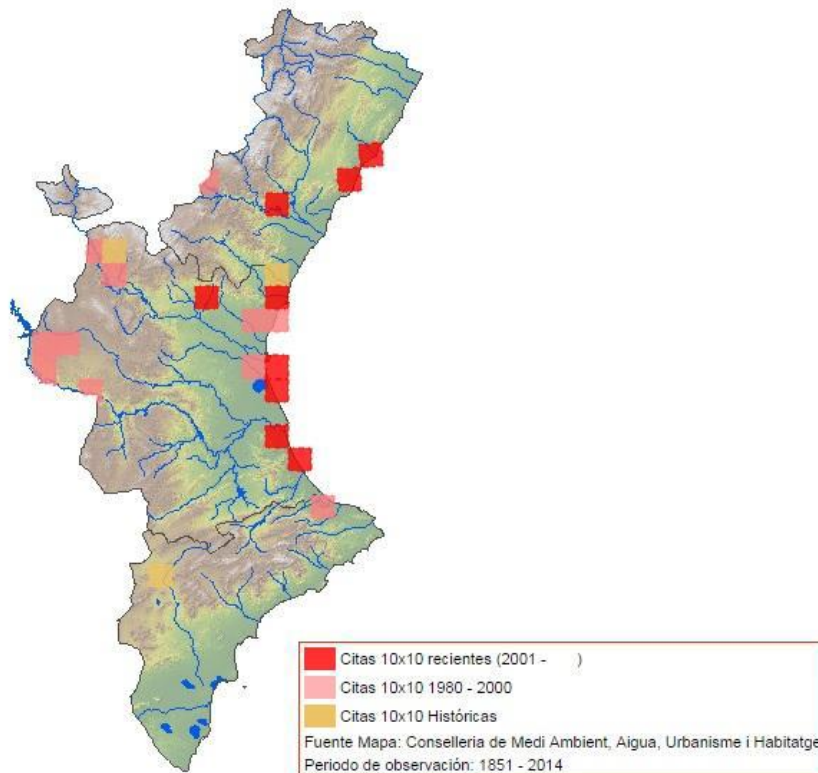
ANEXO I. DESCRIPCIÓN PLANTAS

***Linum maritimum* L.**

Nombre común: Lino marítimo, Lli marítim

Descripción: Planta hemicriptófita que puede llegar a los 100 cm de altura, glabra o ligeramente pelosa, ramifica desde la base y sus tallos son simples o ramosos hacia el ápice. Sus hojas tienen 3-12 mm de longitud, lanceoladas o elípticas; las basales opuestas, obtusas y con tres nervios, las superiores alternas, agudas y con un nervio central. Florece de Mayo a Agosto y tiene inflorescencia paniculada y laxa; las flores con pedicelos de 3-6 mm, los sépalos de 3-4 mm y los pétalos de 8-15 mm de color amarillo; el fruto es una cápsula subglobosa.

Distribución y hábitat: Habita en herbazales y juncuales perennes, sobre sustratos húmedos y salinos, en áreas litorales e interiores. Está distribuida por la Región Mediterránea, muy común en el centro y mitad occidental, y dispersa por la mitad oriental de este territorio (Greuter et al., 1989; yilmaz y kaynak, 2008).



Mapa de distribución de *Linum maritimum* L. Fuente: CMA, GVA

Amenazas: Las principales amenazas a las que se enfrenta esta especie son la contaminación de los recursos hídricos, la desecación de las malladas y el aumento de la presión humana sobre sus hábitats de distribución.

***Thalictrum maritimum* L.**

Nombre común: Ruibarbo de los pobres, ruda de mallada

Descripción: Hierba perenne, de hasta 60-80 cm, erecta, con tallos simples, glabros, gráciles, de color verde brillante, algo estriados, con costillas rojizas finas.

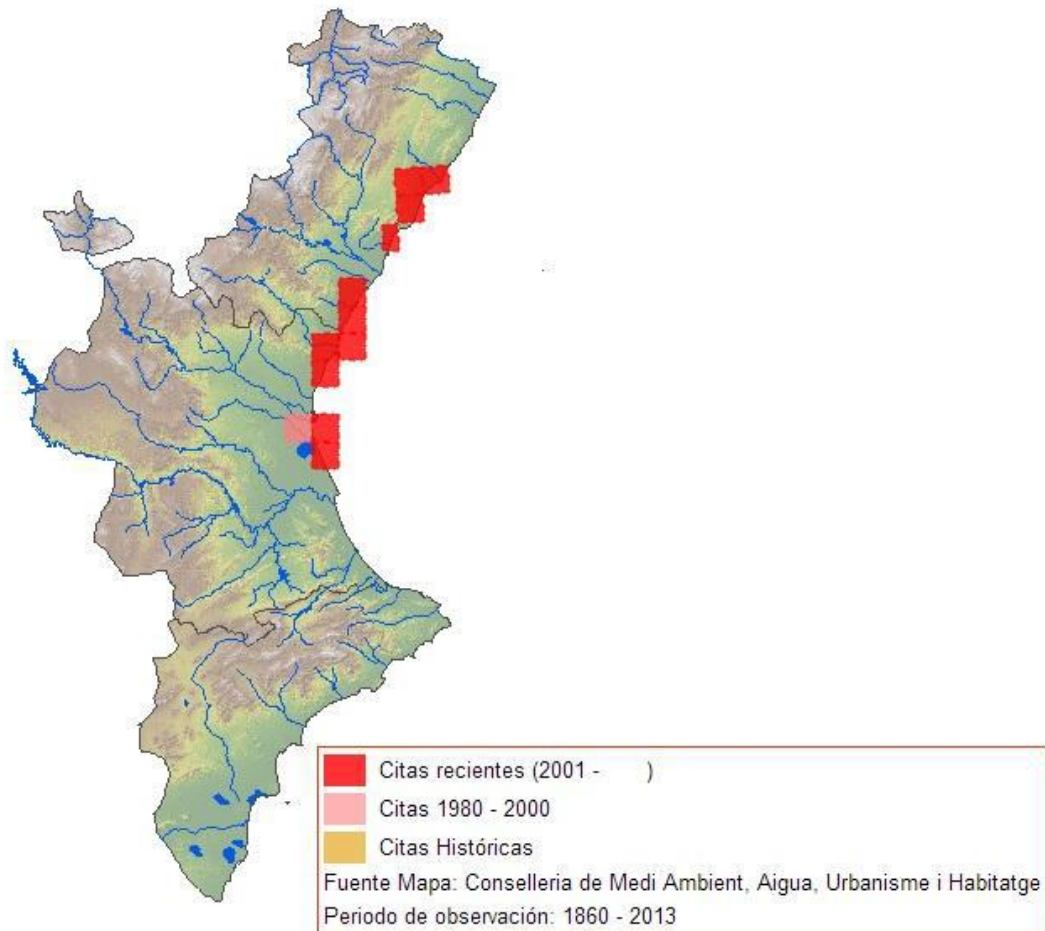
Hojas pinnatisectas, con segmentos foliares inferiores enteros o con lóbulo lateral; los superiores linear-lanceolados, muy estrechos. Inflorescencia laxa.

Flores apétalas, de color amarillo. Estambres numerosos, que sobrepasan el perianto.

Fruto en aquenio fusiforme, provisto de costillas finas.

Distribución y hábitat: Endemismo exclusivo del litoral de la Comunitat Valenciana que se presenta de forma localizada en el Prat de Cabanes-Torreblanca (Castellón), la Marjal de Almenara (Castellón), la Marjal dels Moros (Valencia) y la Albufera de Valencia. Este endemismo exclusivo tiene su localidad clásica en la Devesa del Saler, donde fue descubierta por León Dufour a mediados del siglo XIX. La mayoría de las malladas que contenían poblaciones de esta especie en la Devesa fueron arrasadas durante el desarrollo del proyecto urbanístico que afectó a esta zona en las décadas de 1970 y 1980.

Es una planta propia de marjales litorales, formando parte de juncales y carrizales, más o menos salobres, en los bordes de depresiones temporalmente inundadas; secundariamente, puede encontrarse en cañaverales y herbazales higrófilos en bordes de acequias. En estos hábitats aparece acompañada por *Centaurea dracunculifolia*, *Cladium mariscus*, *Linum maritimum*, *Lotus corniculatus*, *Juncus maritimus*, *J. subnodulosus*, *Phragmites australis*, *Plantago crassifolia*, *Scirpus holoschoenus*, entre otras.



Mapa de distribución del *Thalicttrum maritimum* L. Fuente CMA, GVA

Amenazas: La especie ha sufrido la degradación de muchos de los sitios donde antes habitaba. Las causas de este proceso se relacionan con la desecación y soterramiento de humedales y malladas para su aprovechamiento agrario y urbanístico, las modificaciones del régimen natural de inundación y del equilibrio salino, la extracción minera del sustrato (turbas), la contaminación difusa por fertilizantes, el desplazamiento por plantas competidoras o invasoras, la afectación por incendios repetitivos, el arranque durante operaciones de limpiezas de márgenes de acequias, etc. Las poblaciones más cercanas a dunas litorales sufren a menudo los efectos de la presión humana. También se han observado problemas en poblaciones situadas en zonas para las que se prolongaban artificialmente niveles elevados de inundación con objeto de mantener el uso cinegético o las poblaciones amenazadas de fauna acuática. A largo plazo tampoco deben desdeñarse los efectos asociados al incremento de la erosión marina y la intrusión salina. Bañares *et al.* (2007)

***Centaurea dracunculifolia* Dufour**

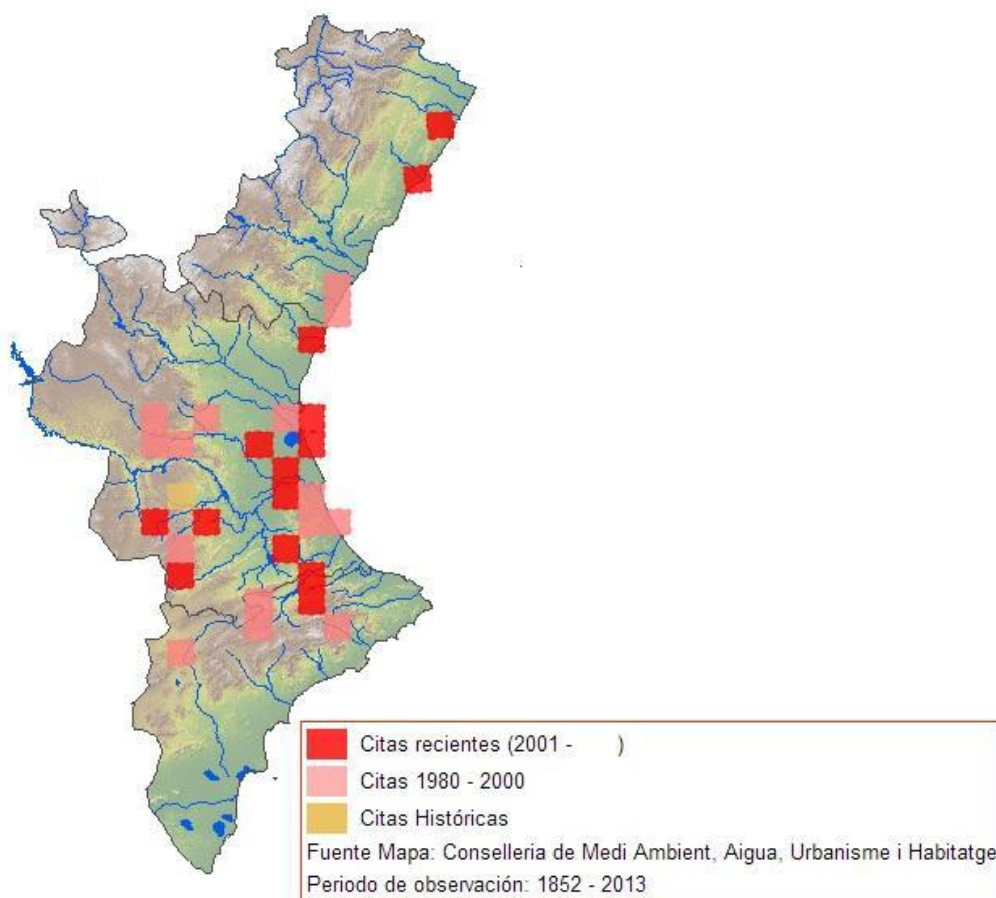
Sinónimos: *Centaurea jacea* L. subsp. *dracunculifolia* (Dufour) A. Bolòs y O. Bolòs.

Nombre común:

Descripción: Planta vivaz, con tallos erectos, débiles, ramificados en la mitad superior. Sus hojas inferiores son linear-lanceoladas, enteras y largamente pecioladas; las hojas superiores son lineares y sésiles. Los capítulos terminales son solitarios, el involucre tiene 7-10x7-8 mm, subcilíndrico; brácteas son araneosas, las medias con apéndice apical, escarioso, denticulado-lacerado y de color pálido. Las flores son flosculosas, rosadas-lilas, las externas son neutras, radiadas. El fruto es un aquenio de 3 mm, sin vilano. Florece entre julio y octubre.

Distribución y hábitat: Es un endemismo iberolevantino disperso pero escaso por todo el territorio valenciano, principalmente por la zona costera, aunque en ocasiones se aleja de la costa.

Habita en juncales y prados húmedos, con frecuencia ligeramente salinos, instalados principalmente por el litoral, rara vez penetra en el interior.



Mapa de distribución de *Centaurea dracunculifolia*. Fuente: CMA, GVA

Amenazas: La desecación de las malladas, la gran afluencia de turistas que contaminan con las basuras que dejan y que pisan las dunas, destruyendo su hábitat, y la contaminación de las aguas.

ANEXO II. DETALLES TÉCNICOS DE LA CÁMARA DE GERMINACIÓN

Cámaras de crecimiento con iluminación LED y humedad controlada con flujo de aire horizontal.



□

- Rango de temperatura de +2° C a +60°C.
- Control de humedad: Rango de trabajo de 20% a 90% R.H. (+/-3%), en un rango de temperatura +20°C to +40°C.
- Control de temperatura y/o humedad.
- Panel de control con teclado táctil 4,3 "TFT
- Registrador de datos electrónico con representación gráfica de los datos.
- Control de intensidad lumínica, fotoperiodo día/noche.
- Control de temperatura.
- Sonda con una precisión de 0.1°C.
- Homogeneidad de la cámara +/-0,5°C. a 27°C y +/-1,0°C. a 40°C
- Estabilidad en la camera +/-0,1°C. a 27°C y +/-0,3°C. a 40°C

- Microprocesador para el control y programación de los parámetros con sistema PID.
- Alarmas acústicas y visuales independientes, con batería de respaldo de 48h, por:
 - ✓ Temperaturas Max. / Min.
 - ✓ Fallo de sonda
- Sistema humidificador por ultrasonidos
Luces en la puerta y las traseras.
- Control de lumínico en 6 niveles de intensidad, posibilita simular el amanecer / atardecer

ANEXO III. GALERIA DE IMÁGENES



Figura 1. Detalle de semillas de *Centaurea dracunculifolia*

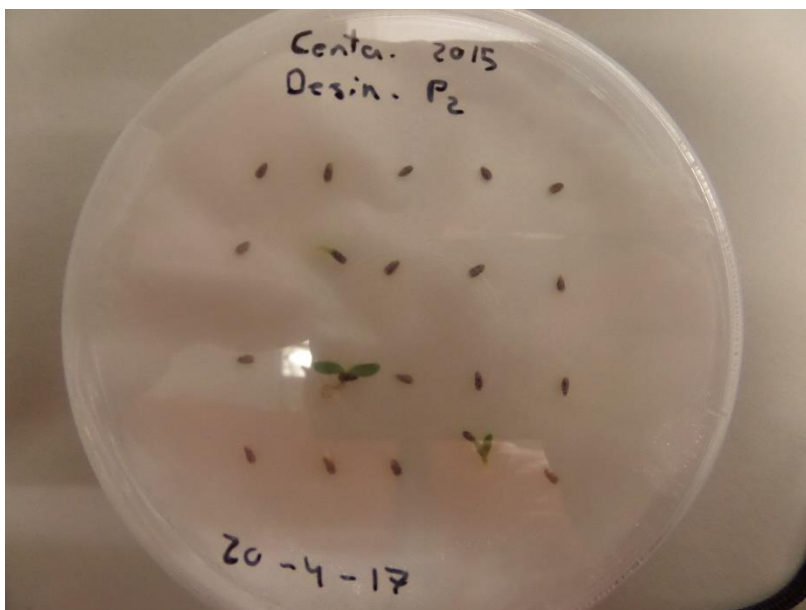


Figura 2. Semillas de *Centaurea dracunculifolia* germinando.



Figura 3. Semillas de *Centaurea dracunculifolia* después de los 30 días de germinación.



Figura 4. Semillas de *Linum maritimum* en la primera semana de germinación.

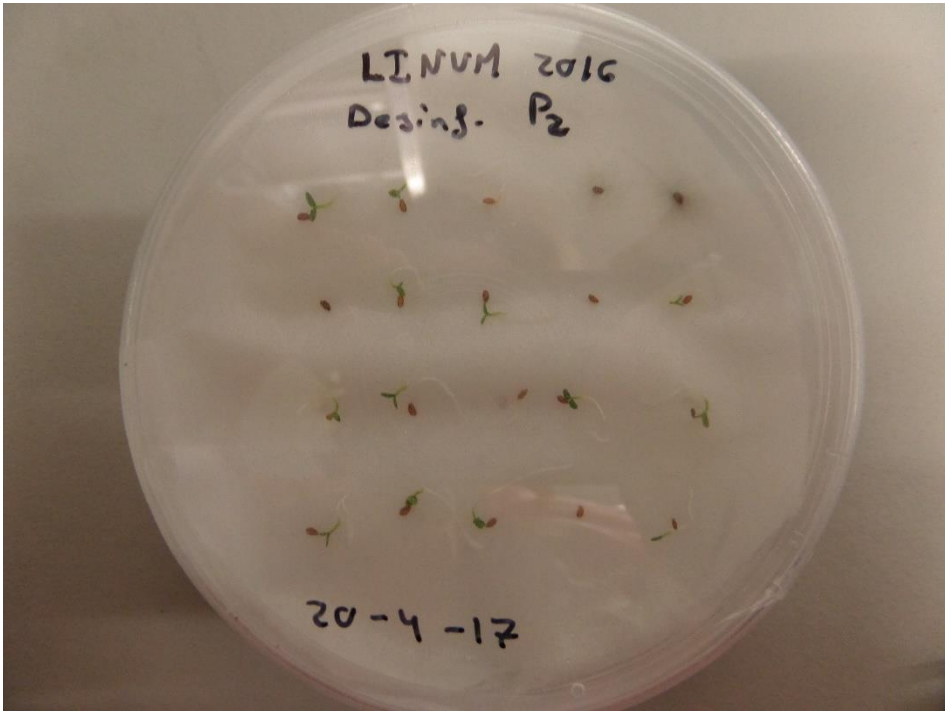


Figura 5. Semillas de *Linum maritimum* completamente germinadas.

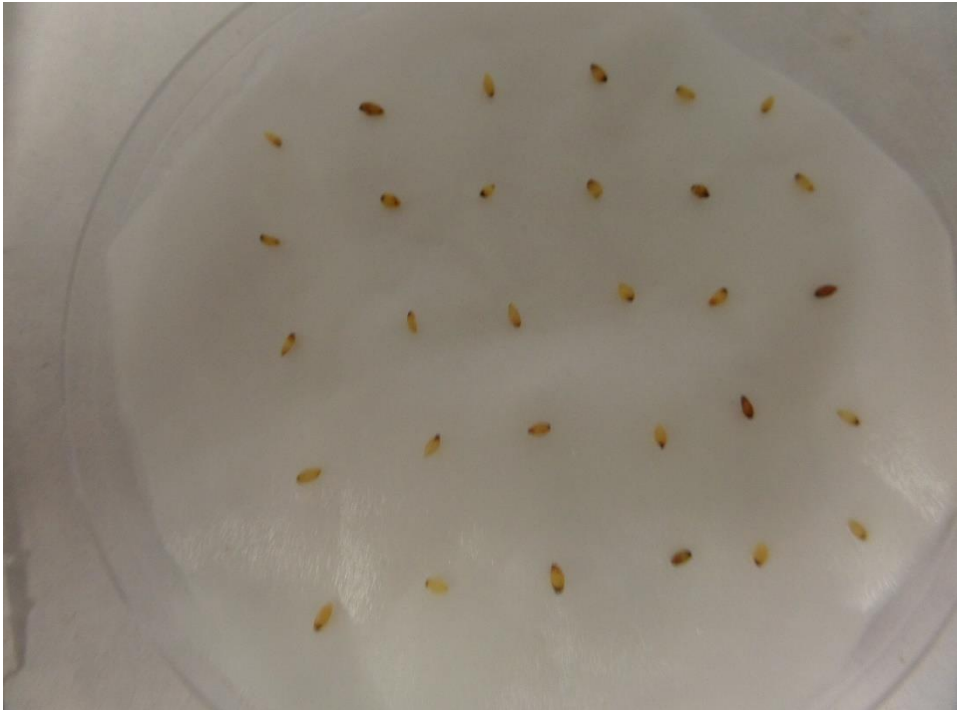


Figura 6. Placa Petri con semillas de *Thalicttrum maritimum* ya preparada.

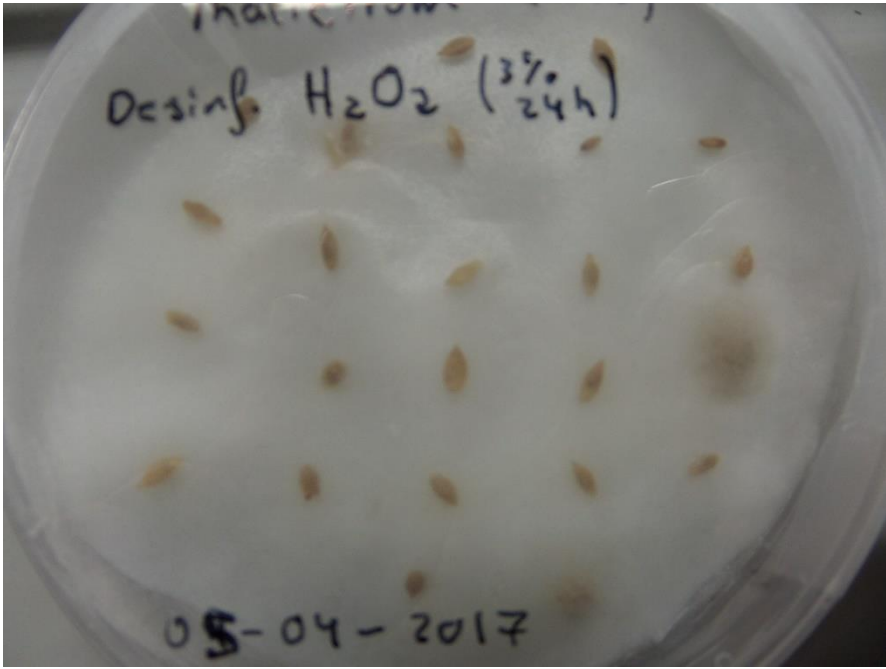


Figura 7. Placa Petri con semillas de *Thalictrum maritimum* en la que podemos observar contaminación por hongos, después de una desinfección con H₂O₂.



Figura 8. Imagen del interior de la cámara de germinación con las placas Petri.



Figura 9. Detalle de una semilla de *Thalicttrum dracunculifolia* teñida parcialmente tras la prueba de tinción con Tetrazolio.



Figura 10. Plántulas de empezando a germinar tras la siembra en sustrato.



Figura 11. Plantas de *Linum maritimum* al terminar la prueba de la siembra en sustrato.



Figura 12. Plantas de *Centaurea dracunculifolia* a los 30 días de la siembra en sustrato.



Figura 13. Plantas de *Thalictrium maritimum* al terminar el ensayo de siembra en sustrato.



Figura 14. Imagen de la bandeja donde se sembraron las semillas de las tres especies y el desarrollo de estas al terminar el ensayo.