



Máster Interuniversitario en Mejora Genética Vegetal

Evaluación de la variabilidad morfológica en una colección de poblaciones de *Sedum sediforme* valenciana.

TRABAJO FINAL DE MÁSTER

Alumno

Enrique Galán Mateos

Curso académico

2016 - 2017

Director

Salvador Soler Aleixandre

Valencia, septiembre de 2017



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Instituto de Conservación y Mejora
de la Agrobiodiversidad Valenciana

El Doctor D. Salvador Soler Aleixandre, profesor del Máster Oficial Interuniversitario en Mejora Genética Vegetal, en calidad de directores del Trabajo de Fin de Máster, por la Presente,

RECONOCEN

Que el Trabajo Fin de Máster realizado por la alumna D^a. Enrique Galán Mateos, con el título: “Evaluación de la variabilidad morfológica en una colección de poblaciones de Sedum sediforme Valenciana.” y realizado bajo nuestra dirección, reúne las condiciones necesarias para completar la formación del alumno y por tanto,

AUTORIZAN

La presentación del citado Trabajo Final de Máster para su defensa ante el correspondiente Tribunal. Y para que así conste a los efectos oportunos así lo firman,

Fdo: D. Salvador Soler Aleixandre
Máster Oficial en Mejora Genética Vegetal

Valencia, 25 de septiembre de 2017

FORMULARIO DEPÓSITO TRABAJO FINAL DE MÁSTER

AUTOR	1 ^{er} APELLIDO	2 ^o APELLIDO	NOMBRE	DNI/NIE
	Galán	Mateos	Enrique	71092711-X
DIRECTOR	1 ^{er} APELLIDO	2 ^o APELLIDO	NOMBRE	
	Soler	Aleixandre	Salvador	
UNIVERSIDAD			MÁSTER	
UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA			Mejora Genética Vegetal	
TÍTULO DE LA TESIS				
Evaluación de la variabilidad morfológica en una colección de poblaciones de <i>Sedum sediforme</i> valenciana.				
RESUMEN	<p><i>Sedum sediforme</i>, conocida en valenciano como "Raïm de pastor", es una planta perenne pequeña y suculenta, de la familia Crassulaceae. Es nativa de la región mediterránea y se distribuye por las regiones templadas y frías de los dos hemisferios. Vive en áreas con muy poca tierra, a menudo en los tejados, paredes secas y entre grietas en las rocas. La planta, con un porte recto, puede alcanzar una altura de entre 30 y 50 cm. Las hojas son carnosas, afiladas y oblongas, de color azul verdoso glauco. La inflorescencia se forma en la parte superior de los tallos y se compone generalmente de varias ramas (4-6), dispuestas como los radios de una rueda, con flores hermafroditas de color blanco-amarillo. El objetivo del trabajo es evaluar la diversidad morfológica de las poblaciones de <i>S. sediforme</i> de los diferentes territorios valencianos. Se usaron 101 plantas pertenecientes a otras tantas poblaciones de <i>Sedum</i> spp. Estas poblaciones fueron recogidas en 72 localidades de València. Para la caracterización morfológica, se establecieron diferentes descriptores de planta y de inflorescencia. Asimismo, a partir del seguimiento de la evolución de las plantas puestas en cultivo, se estableció la escala de estados vegetativos de la especie. De las 101 poblaciones recogidas, 88 corresponden a <i>Sedum sediforme</i>, 7 al <i>S. album</i>, 5 a <i>S. dashyphyllum</i> y 1 a <i>S. acre</i>. <i>S. sediforme</i> es la especie de <i>Sedum</i> predominante en los cuatro territorios forales valencianos. Dentro de las poblaciones de <i>S. sediforme</i>, cabe mencionar la variabilidad observada tanto en términos de sección, longitud y ancho de las hojas, color de los brotes, flores y pétalos, como en el período de floración. Estos tres últimos caracteres han servido para distinguir entre <i>S. sediforme</i> subsp. <i>sediforme</i> y <i>S. sediforme</i> subsp. <i>dianium</i>. Esta última, con hojas más planas y más anchas, y con flores y pétalos de un color amarillo más intenso que la subespecie <i>sediforme</i>, aparece según las referencias circunscrita a la parte más oriental del territorio foral de Xàtiva. Sin embargo, en el presente trabajo se ha podido identificar en un área más extensa. Así mismo, se ha caracterizado la colección de plantas frente al contenido en polifenoles y se ha puesto a punto un protocolo de extracción de ADN para la futura catacterización de la colección a nivel molecular.</p>			

<p>ABSTRACT</p>	<p><i>Sedum sediforme</i>, a scientific name of the Spanish word “Raïm de pastor”, is a small succulent perennial plant, from the family of <i>Crassulaceae</i>. It is native to the Mediterranean region and is distributed by the temperate and cold regions of the two hemispheres. It lives in areas with very little earth, often on the roofs, dry walls and between cracks in the rocks. The plant, with a straight port, can reach a height of between 30 and 50 cm. The leaves are fleshy, sharp, oblong and fleshy, greenish-blue glaucous. The inflorescence forms at the top of the stems and is usually composed of several branches (4-6), arranged like the wheel spokes, with white-yellow hermaphrodite flowers. The objective of the work is to evaluate the morphological diversity of the <i>S. sediforme</i> populations of the different Valencian territories. 101 plants belonging to many other populations of <i>Sedum</i> spp. were used. These populations were collected in 72 localities in Valencia. For the morphological characterization, different descriptors of the plant and of inflorescence were established. For the follow-up of the evolution of plants since March, the scale of vegetative states of the species was established. Of the 101 collected populations, 88 correspond to the <i>Sedum sediforme</i> species, 7 to the <i>S. album</i>, 5 to <i>S. dashyphyllum</i> and 1 to <i>S. acre</i>. <i>S. sediforme</i> is the species of <i>Sedum</i> predominant in the four Valencian foral territories. Within the populations of <i>S. sediforme</i>, it is worth mentioning the variability observed both in terms of section, length and width of the leaves, the color of the buds, flowers and petals, as well as in the period of flowering. These last three characters have served to distinguish between <i>S. sediforme</i> subsp. <i>sediforme</i> and <i>S. sediforme</i> subsp. <i>dianium</i>. The latter with flatter and broader leaves, and with flower buds and petals of a more intense yellow color than the <i>sediforme</i> subspecies, appears according to the references circumscribed to the more eastern part of the foral territory of Xàtiva. However, in the present work it has been possible to identify in a more extensive area. Also, the collection of plants against the polyphenol content has been characterized and a method of DNA extraction has been developed for the future cacterization of the collection at the molecular level.</p>
<p>RESUM</p>	<p><i>Sedum sediforme</i>, coneguda en valencià com "Raïm de pastor", és una planta perenne petita i suculent, de la família <i>Crassulaceae</i>. És nativa de la regió mediterrània i es distribueix per les regions temperades i fredes dels dos hemisferis. Viu en àrees amb molt poca terra, sovint en les teulades, parets seques i entre esquerdes a les roques. La planta, amb un port erecte, pot arribar a una altura d'entre 30 i 50 cm. Les fulles són carnoses, afilades i oblongues, de color blau verdós glauc. La inflorescència es forma a la part superior de les tiges i es compon generalment de diverses branques (4-6), disposades com els radis d'una roda, amb flors hermafrodites de color blanc-groc. L'objectiu del treball és avaluar la diversitat morfològica de les poblacions de <i>S. sediforme</i> dels diferents territoris valencians. Es varen utilitzar 101 plantes pertanyents a altres tantes poblacions de <i>Sedum</i> spp. Aquestes poblacions van ser recollides en 72 localitats de València. Per a la caracterització morfològica, es van establir diferents descriptors de planta i de inflorescència. Així mateix, a partir del seguiment de l'evolució de les plantes en cultiu, es va establir l'escala d'estats vegetatius de l'espècie. De les 101 poblacions recollides, 88 corresponen a <i>Sedum sediforme</i>, 7 al <i>S. album</i>, 5 a <i>S. dashyphyllum</i> i 1 a <i>S. acre</i>. <i>S. sediforme</i> és l'espècie de <i>Sedum</i> predominant en els quatre territoris forals valencians. Dins de les poblacions de <i>S. sediforme</i>, cal esmentar la variabilitat observada tant en termes de secció, longitud i ample de les fulles, color dels brots, flors i pètals, com en el període de floració. Aquests tres últims caràcters han servit per distingir entre <i>S. sediforme</i> subsp. <i>sediforme</i> i <i>S. sediforme</i> subsp. <i>dianium</i>. Aquesta última, amb fulles més planes i més amples, i amb flors i pètals d'un color groc més intens que la subespècie <i>sediforme</i>, apareix segons les referències circumscriu a la part més oriental del territori foral de Xàtiva. No obstant això, en el present treball s'ha pogut identificar en una àrea més extensa. Així mateix, s'ha caracteritzat la col·lecció de plantes enfront del contingut en polifenols i s'ha posat a punt un protocol d'extracció d'ADN per a la futura cacterització de la col·lecció a nivell molecular.</p>

PALABRAS CLAVE	DESCRIPTORES EN ESPAÑOL		
	Caracterización; <i>Sedum sediforme</i> ; <i>Crassulaceae</i> .		
	DESCRIPTORES EN INGLÉS		
	Characterization, <i>Sedum sediforme</i> , <i>Crassulaceae</i>		
	DESCRIPTORES EN VALENCIANO		
	Caracterizació, <i>Sedum sediforme</i> ; <i>Crassulaceae</i> .		
CLASIFICACIÓN DE LA UNESCO	Códigos UNESCO: https://upct.es/contenido/doctorado/Documentos/2012/CODIGOS_UNESCO.pdf		
	CAMPO	DISCIPLINA	SUBDISCIPLINA
	31	3	9

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mi tutor D. Salvador Soler Aleixandre todo el apoyo que me ha dado, así como por transmitirme su pasión por la agricultura y las singularidades que esta posee en las tierras valencianas. Obviamente ningún trabajo lo realiza una única persona, por lo tanto, tengo que estar inmensamente agradecido al equipo de laboratorio con el que he compartido este tiempo. Mil gracias a María, Elena Soler, Leandro, Bernat, Elena Rosa, Amparo y Cristina por ayudarme en todo momento y hacer que cada día de trabajo sea alegre.

Tampoco me quería olvidar a los compañeros de Master, con los que he convivido tantas y tantas horas. El agobio mereció la pena. También quisiera darle gracias a Carla por orientarme en esto de trabajar con especies silvestres y en general a la mayoría de la gente con la que me he cruzado en este tiempo por el COMAV, personal de limpieza, personal de mantenimiento, personal de seguridad e investigadores.

En último término a mis padres y mi hermana Elena por su apoyo incondicional. Y este año tengo una obligada mención para mi compañero de faena y ocio, Dani. Al final siempre hay un “flip” para cada problema.

INDICE GENERAL

1.	Introducción.....	1
1.1	Origen de los cultivos. Domesticación de especies silvestres	1
1.2	Uso de los vegetales en alimentación.....	3
1.2.1	Dieta Mediterránea. Uso de plantas silvestres.....	4
1.3	Uso Ornamental de las plantas.....	7
1.3.1	Tendencias arquitectónica y urbanística. Jardines como elemento de disfrute y funcional.....	7
1.4	Calidad de los alimentos.....	8
1.4.1	Calidad funcional. Importancia de los compuestos antioxidantes	8
1.4.1.1	Ácido ascórbico.....	9
1.4.1.2	Compuestos fenólicos.....	10
1.5	Descripción e interés de <i>Sedum sediforme</i> (Jacq.) Pau.....	11
1.5.1	Taxonomía y morfología.....	11
1.5.2	Hábitat y distribución.....	13
1.5.3	Intereses del <i>Sedum sediforme</i> (Jacq.) Pau. como ornamental, constructivo Gastronómico	14
2.	Objetivos	15
3.	Materiales y Métodos.....	16
3.1	Material vegetal	16
3.1.1	Obtención del Material Vegetal. Recolección <i>Sedum spp.</i>	19
3.1.2	Obtención de las Réplicas del Material vegetal. Sustrato, aporte hídrico y diferencias entre ambientes	20
3.2	Caracterización morfológica.....	21
3.2.1	Establecimiento de los estados fenológicos.	22
3.2.2	Evaluación del contenido en Vitamina C y polifenoles totales	24
3.2.2.1	Determinación del contenido en Vitamina C	25
3.2.2.2	Determinación del contenido en Polifenoles totales	26
3.3	Ensayo de reproducción por esqueje de hoja.....	26
3.4	Puesta a punto del protocolo de extracción de ADN.....	27
3.5	Validación de marcadores microsatélites en <i>S. sediforme</i>	28
4.	Resultados y Discusión.....	30
4.1.	Caracterización del material vegetal.	30
4.1.1.	Caracterización morfológica.....	31
4.1.1.1.	Caracterización morfológica previa	31
4.1.1.2.	Caracterización de las réplicas.	33
4.1.2.	Establecimiento de estados fenológicos y uso en el seguimiento del ciclo biológico en la colección de poblaciones de <i>S. sediforme</i>	36
4.1.3.	Determinación de los perfiles de contenido en Vit. C.....	38
4.1.4.	Determinación del contenido en polifenoles totales.	39
4.2.	Ensayo de reproducción por esqueje de hoja.....	40
4.3.	Puesta a punto del protocolo de extracción de ADN en <i>S. sediforme</i>	41
4.4.	Validación de marcadores microsatélites en <i>S. sediforme</i>	43
5.	Conclusiones.....	45
6.	Bibliografía.....	47
7.	ANEXO I	
8.	ANEXO II	

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Lista de especies silvestres utilizadas en el mediterráneo.....	5
Tabla 2. Listado de cada una de las entradas recolectadas.	16
Tabla 3. Caracteres y códigos asignados para la evaluación Preliminar.	21
Tabla 4. Caracteres añadidos a los Preliminares.....	22
Tabla 5. Descripción de los Estados Fenológicos.....	22
Tabla 6. Entradas seleccionadas para el análisis de los parámetros de calidad.	25
Tabla 7. Porcentaje de materia seca de <i>S. sediforme</i>	25
Tabla 8. Pruebas de ajuste del protocolo de extracción ADN de <i>S. sediforme</i>	28
Tabla 9. Características de los 8 marcadores de <i>Sedum alfredii</i> (Hui-run Huang, 2008).....	28
Tabla 10. Experimentos realizados para evaluar microsatélites en la población de <i>S.sediforme</i>	29
Tabla 11. Clasificación botánica de las poblaciones de <i>Sedum spp.</i> de la colección.....	30
Tabla 12. Caracteres significativos de la población de <i>S. sediforme</i>	31
Tabla 13. Matriz de correlaciones.....	36
Tabla 14. Colección de poblaciones que han llegado a floración. Características florales.	37
Tabla 15. Contenido en vitamina C de las poblaciones evaluadas.....	39
Tabla 16. Contenido en polifenoles totales de las poblaciones analizadas.....	39
Tabla 17. Evaluación de modificaciones del protocolo original de extracción de ADN y ajustado para <i>S. sediforme</i>	41
Tabla 18. Comprobación de las variciones del protocolo original de extracción de ADN y ajustado para <i>S. sediforme</i>	42

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Evolución del género <i>Brassica</i> en diversas especies desde un ancestro común debido a distintos objetivos de mejora fijados	2
Fig. 2. Aporte calórico medio a nivel mundial.....	3
Fig. 3. Representación molecular de la vitamina C en sus dos formas estables interconvertibles: ácido ascórbico (izquierda) y ácido dehidroascórbico (derecha).....	10
Fig. 4. Representación molecular de algunos compuestos polifenólicos de importancia antioxidante, agrupados por sub-familias. 1Shan et al. (2005) y 2Justesen et al. (1998).....	10
Fig. 5. Entrada de <i>S. sediforme</i> del municipio de Alcalá de Xivert, de la colección relativa a este trabajo.	12
Fig. 6. Detalle del corimbo floral de <i>S. sediforme</i>	13
Fig. 7. Detalle del corimbo floral de <i>S. sediforme</i> .subs <i>dianium</i>	13
Fig. 8. Esquejes de <i>S. sediforme</i>	20
Fig. 9. Alveolo de plantas madre <i>S. sediforme</i>	20
Fig. 10. Maceta con réplica de <i>S. sediforme</i>	20
Fig. 11. Recta patrón del ácido cafeico obtenida a concentraciones 0 - 2 - 4 - 6 - 8 y 10 ppm.....	26
Fig. 12. Reproducción por hoja <i>G. paraguayensis</i>	27
Fig. 13. Detalle de <i>G. paraguayensis</i>	27
Fig. 14. Distribución geográfica de las poblaciones de <i>Sedum spp.</i> de la colección dentro de los territorios forales históricos del antiguo reino de Valencia	30
Fig. 15. Agrupación de poblaciones con los datos de la caracterización preliminar	32
Fig. 16. Agrupación de poblaciones con los datos de la caracterización de la réplica de invernadero.....	33
Fig. 17. Agrupación de poblaciones con los datos de la caracterización de la réplica en la parcela.	34
Fig. 18. Agrupación de poblaciones con los datos de la caracterización de la réplica de jardín urbano.....	34
Fig. 19. ACP de la caracterización previa	35
Fig. 20. ACP de la réplica de la Parcela.....	35
Fig. 21. ACP de la réplica de jardín urbano	35
Fig. 22. ACP de la réplica de Invernadero	35
Fig. 23. Bote de “Raïmet de Pastor” encurtido.....	38
Fig. 24. Porcentaje de individuos regenerados a partir de hoja.	40
Fig. 25. Grafica calidad ADN. Protocolo original	41
Fig. 26. Grafica calidad ADN. Protocolo ajustado	41
Fig. 27. Imagen del gel. Experimento 1.	42
Fig. 28. Imagen del gel. Experimento 2.	43
Fig. 29. Imagen del gel. Experimento 2.....	43
Fig. 30. Imagen del gel. Experimento 3	44
Fig. 31. Imagen del gel. Experimento 3	44

ABREVIATURAS

a. C: antes de Cristo
g.: gramos
mg: miligramos
cm³: centímetros cúbicos
AA: ácido ascórbico
ADHA: ácido dehidroascórbico
Abs: absorbancia
°C: grado centígrado
ml: mililitros
m.f.: materia fresca
m.s.: materia seca
ppm: partes por millón
rpm: revoluciones por minuto
mm: milímetros
cm: centímetros
subp: subespecie.
L. Hoja: Longitud de hoja
An. Hoja: Anchura hoja
Al. Hoja: Altura hoja
Apex hoja: Apéndice de la hoja
Pig. Hoja: Pigmentación de la hoja
Intensidad pig Intensidad pigmentación
Sec hoja: Sección de la hoja
D. tallo veg: Diámetro del tallo vegetativo
Al. Flor: Altura del tallo inflorescencia
Pos. Tallo flor: Posición tallo inflorescencia
N. rami: Número de ramificaciones
N. flor rami: Número de flores por ramificación
F. botón: Forma botón floral
Forma botón: Número de sépalos
F. sépalos: Forma de los sépalos
N. pet: Número de pétalos
L. pétalos: Longitud pétalos
C. pet: Color pétalos
N. carpelos: Número de carpelos
N. estam: Número de estambres
C. fil: Color del filamento
C. antera: Color de la antera

REDOX: reacción de oxido-reducción

CAM: Metabolismo ácido de las *Crasulaceas*

nm: nanómetros.

dNTP: desoxirribonucleótido trifosfato

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

1. Introducción

1. Introducción.

1.1 Origen de los cultivos. Domesticación de especies silvestres.

El ser humano durante la mayor parte de su proceso evolutivo ha presentado distintos comportamientos alimentarios, desde el vegetarianismo en los primeros estadios de su historia como especie hasta la transición al omnivorismo. Pero en todos y cada uno de estos periodos el consumo de plantas se ha establecido como la base para obtener los nutrientes necesarios para la supervivencia (Fundación Favaloro-AWWE. Madrid. 2007).

Tras la última era glacial, en el periodo comprendido entre 12.000 a. C y 7.000 a. C (17.000 a. C hasta 3.500 a. C, dataciones en puntos geográficos distintos) el ser humano pasa del aprovechamiento directo de los recursos que la naturaleza le proporcionaba de forma cíclica, a cultivar algunas de las especies que recogía, comenzando así el proceso de domesticación de especies vegetales. El objetivo del cultivo es tratar de tener una fuente de alimento constante y uniforme (Vigouroux *et al.*, 2011). Esto ocurre en el periodo Pre-Neolítico y Neolítico en distintas zonas del planeta, de una manera más o menos simultánea (Mesoamérica, Sudamérica, Medio Oriente, África saheliana, China y Sudeste de Asia) (Vigouroux *et al.*, 2011; Meyer *et al.*, 2012). La domesticación sigue el siguiente proceso: el hombre recolecta cereal silvestre y crea pequeños graneros para su alimentación. Posteriormente, se da cuenta que usando esas semillas almacenadas se pueden crear pequeñas zonas de cultivo, no teniendo que desplazarse por la naturaleza para recoger las plantas que necesitan y asentándose de forma permanente junto a estas. De esta forma el trigo y la cebada se convertían en los precursores del desarrollo agrícola. A estos cultivos primigenios se le unieron de manera progresiva otros muchos provenientes de la introducción de nuevas especies silvestres, creando un superávit de alimentos, que serán usados para alimentar animales salvajes y convertirlos en domésticos. Otros autores creen que el paso al sedentarismo y la sociedad agraria fue consecuencia a una explosión demográfica que generó una alta necesidad de alimento (Casañas, 2010; Nuez, 2010).

Las pruebas arqueológicas en la zona mediterránea datan el paso del Neolítico al sedentarismo y la agricultura alrededor 6000 a.C. (Zohary y Hopf, 2000). Pero no terminaron en ese momento los procesos de domesticación de miembros del reino vegetal, sino que ese fue el primer hito, y tomando este como punto de salida hasta la actualidad, se ha producido la incorporación de numerosas especies para el uso humano en sus diferentes aprovechamientos, como puede ser el alimentario o nutricional al que nos estamos refiriendo hasta ahora, el medicinal (Johns, 1990; Rivera *et al.*, 2005; Leonti *et al.*, 2006), e incluso el ornamental para el disfrute y placer de la belleza a través de los sentidos.

La domesticación trata de la elección de forma inconsciente de los individuos (plantas o animales) que presentan las características más deseables para el hombre, (como ha ocurrido con los cultivos más importantes, de domesticación temprana), o de manera consciente apoyada por herramientas genéticas (como es el caso de los cultivos desarrollados recientemente). Como consecuencia, aparecen fenotipos que difieren de sus progenitores silvestres para diversos caracteres morfológicos, fisiológicos, químicos, así como agronómicos que facilitan la adaptación a sistemas agrícolas. Algunos de los más importantes están relacionados con la indehiscencia de la semilla, la germinación, el hábito de crecimiento, tamaño, palatabilidad o reducción de la toxicidad (Abbo *et al.*, 2014; Meyer *et al.*, 2015). Se sabe que los cultivos primigenios fueron cereales y leguminosas, de interés por su grano, seguidos de otras plantas aprovechables por sus raíces comestibles o por sus frutos (García-Herrera, 2014). Estos cultivos fueron después distribuidos posteriormente a distintas regiones, sufriendo cambios secundarios por adaptación a las mismas (Abbo *et al.*, 2014).

Sin embargo, la domesticación no se ha aplicado a todas las especies vegetales, y más aún, no todos los cultivos han sido sometidos a la misma intensidad de selección. Así, en la actualidad coexisten plantas domesticadas, semi-domesticadas y silvestres. Aunque las semi-domesticadas pueden crecer en

el medio natural, han sufrido cierta presión de selección para su puesta en cultivo, pero no suficiente como para poder distinguir las claramente de las formas silvestres. Por su parte, las formas domesticadas han sido sometidas a una selección artificial tal que en la actualidad requieren un sistema agrícola para su desarrollo (Meyer et al., 2012). En cualquier caso, tanto unas como otras han sido sometidas posteriormente a un proceso de mejora más o menos intenso, que es evidente, si se comparan cultivares actuales con otros más antiguos.

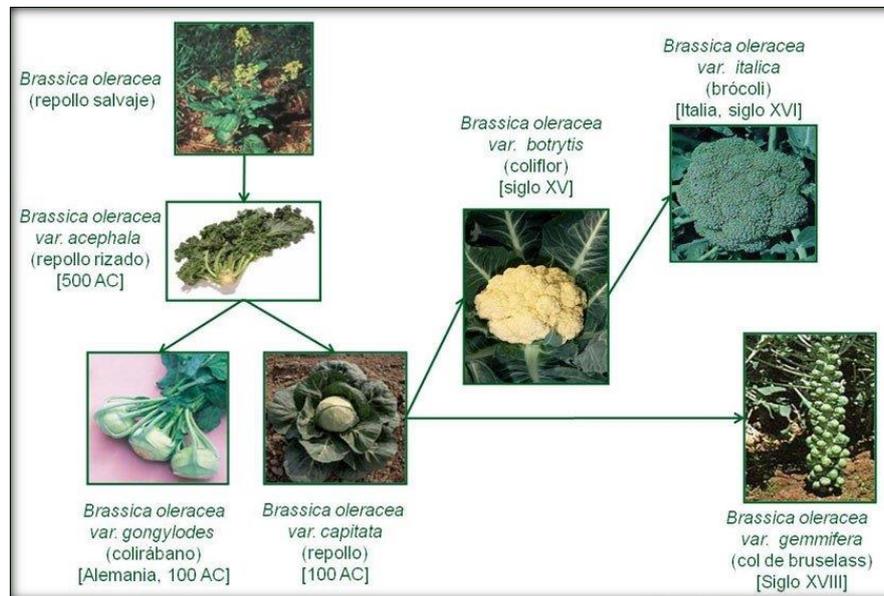


Fig. 1. Evolución del género *Brassica* en diversas especies desde un ancestro común debido a distintos objetivos de mejora fijados. Imagen del Dr. Wayne Parrot, Universidad de Georgia. EE.UU. Fuente: www.chilebio.cl

La mejora genética vegetal se intensificó en el siglo XIX, centrada en la búsqueda de uniformidad fenotípica de los cultivos y, por lo tanto, de uniformidad genética (González Gutiérrez, 2004). Los principales objetivos perseguidos fueron el aumento de la productividad, el desarrollo de resistencias o tolerancias a plagas y enfermedades de igual manera que la mejora para distintos caracteres agronómicos (como el hábito de crecimiento, la facilidad en la recolección o la producción escalonada, entre otros). Por contraposición, la mejora de la calidad no ha sido un objetivo de interés hasta las últimas décadas (Llácer et al., 2006). Diversos autores han relacionado el proceso de domesticación y mejora tradicional de plantas con una pérdida de su calidad en comparación con sus ancestros silvestres (Grivetti y Ogle, 2000; Flyman y Afolayan). Esta situación se ve agravada, además, por la correlación generalmente negativa entre producción y los componentes que definen la calidad (Causse et al., 2010). Por lo general, esta pérdida de calidad se ha intentado solventar volviendo al uso de variedades tradicionales y empleándolas como material inicial de mejora (Brugarolas et al., 2009; Figàs et al., 2015) o bien recuperando compuestos a través de la introgresión de genes de especies silvestres emparentadas. Sin embargo, ambas estrategias tienen inconvenientes que limitan el éxito de la mejora en este campo. Por un lado, se ha perdido una parte importante de la diversidad asociada a las variedades locales, limitándose así las fuentes a utilizar como material de partida. Por otro, la introgresión de genes de especies relacionadas no siempre es fácil ni exitosa. A este respecto, una alternativa novedosa es la explotación comercial de vegetales silvestres, de mayor calidad funcional en líneas generales y que, además, pueden aportar nuevos sabores.

1.2 Uso de los vegetales en alimentación

En la actualidad se estima que existen alrededor de 300.000 especies en el reino vegetal, de las cuales un 10% (alrededor de 30.000) pueden presentar algún tipo de interés alimentario. Aunque tan sólo alrededor de 7.000 especies a lo largo de la historia han sido utilizadas para consumo humano y/o del ganado, bien por introducción en cultivo o, en su mayoría, por recolección directa de la naturaleza (FAO, 2015). En la época actual y pesar de que en cada cultura presente en el planeta utiliza algún cultivo endémico, la cifra total aproximada es de 200 especies explotadas (González Gutiérrez, 2004), y dentro de ellos, unos 30 cultivos serían los que en términos absolutos se pueden considerar importantes. Dentro de este grupo de importancia encontramos, los cereales, que cubren el 45% de las necesidades energéticas humanas, aportando 3 de ellos (arroz, trigo y maíz) más del 40% del total (Fig. 2) (National Geographic, 2011).

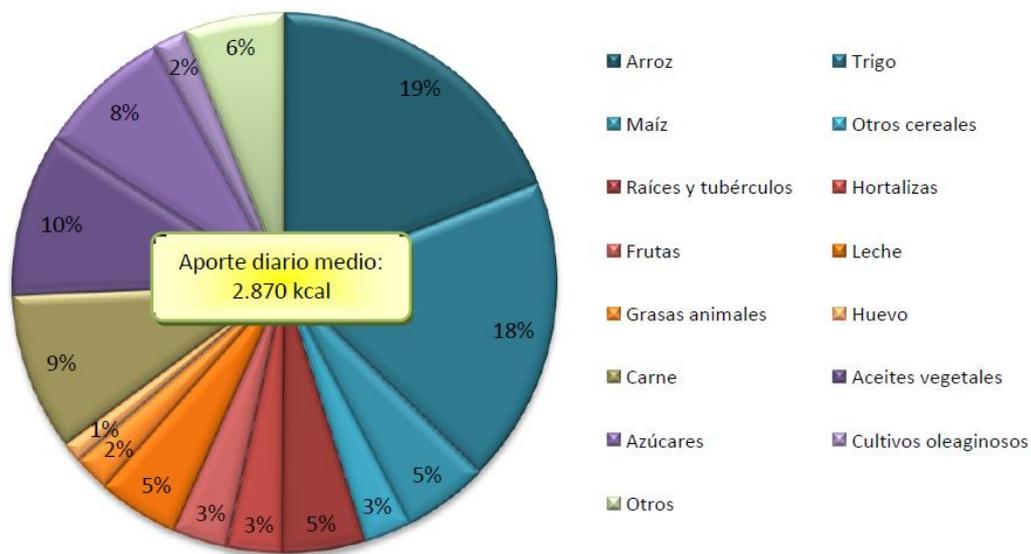


Fig. 2. Aporte calórico medio a nivel mundial. Se han agrupado por gama cromática los distintos grupos de alimentos: cereales; raíces y tubérculos, frutas y hortalizas; derivados animales; carne; derivados vegetales; otros. Adaptado de National Geographic, 2011.

Por lo tanto y sabiendo que la dieta humana actual se basa en el consumo de unos pocos vegetales existe un nicho de actuación en cuanto a la diversificación e incorporación de nuevas especies para la alimentación tanto humana como animal, con los cuales cubrir las necesidades calóricas (FAO, 2014). La incorporación de elementos de otras especies en los cultivos ya ocurre con relativa frecuencia en la actualidad, ya que en los programas de mejora se incorporan alelos de otras especies o géneros a determinados cultivos, ya sea para aumentar la variabilidad o simplemente para modificar ciertos caracteres de los mismos. La introducción de plantas silvestres comestibles en distintas regiones del planeta ha sido un hecho favorecido por distintos factores, económicos, y sociales principalmente. Por una parte, está la necesidad de cubrir el aporte de nutrientes cuando no se puede lograr a través de la dieta básica con el consumo de alimentos cultivados y comercializados. Esto se debe a que los vegetales silvestres, incluyendo aquellos consumidos por sus hojas, frutos, raíces y tubérculos, son fuente de nutrientes como proteínas, minerales, vitaminas o fibra (Mohammed y Sharif, 2011), además de ser de fácil acceso para toda la población. Recurrir a ellos con este fin es una práctica muy relacionada con situaciones de escasez de alimentos o económica. En este sentido, se ha documentado en el pasado la utilización de este tipo de plantas en distintas comunidades rurales del mediterráneo, asociada a situaciones de guerra y postguerra (Bonet y Vallès, 2002; Tardío *et al.*, 2006) y en la actualidad todavía

ocurre en zonas como el oeste de África (Acho *et al.*, 2014a). Por otra parte, para algunas culturas su recolección no siempre ha estado ligada a necesidades nutricionales entendidas en sentido estricto, sino que se han empleado como parte de su tradición culinaria por el sabor que pueden aportar a los platos, así como por los beneficios que se les atribuye sobre la salud. Las culturas más destacadas en este sentido son las mediterráneas, que siempre han vivido en relación muy estrecha con el ambiente.

Sin embargo, el consumo de estas plantas no debe hacerse de forma indiscriminada ni en grandes cantidades. Las plantas cultivadas, como consecuencia de su domesticación y posterior mejora, no tienen por norma general en la actualidad compuestos altamente tóxicos. Por el contrario, las plantas silvestres no se han visto sometidas a procesos de selección, de modo que no se han eliminado aquellos compuestos anti-nutrientes o tóxicos que pudieran contener como mecanismos naturales de defensa. Por lo tanto, su consumo debe ser más limitado y con ciertas precauciones. Por ejemplo, en plantas aprovechadas por sus hojas verdes se han determinado niveles elevados de nitratos, fitatos, taninos u oxalatos (Zoro *et al.*, 2013; Acho *et al.*, 2014a). Estos compuestos afectan a procesos metabólicos importantes para el crecimiento y reducen la biodisponibilidad de distintos iones metálicos, como calcio, magnesio, zinc o hierro, por la formación de quelatos (Soetan y Oyewole, 2009). El consumo de otras plantas puede tener un riesgo aún mayor debido a la presencia de compuestos que resultan tóxicos. Dentro de la familia de las boragináceas, por ejemplo, hay distintas especies clasificadas como comestibles; sin embargo, esta familia destaca por la presencia de alcaloides como la pirrolizidina, que pueden resultar hepatotóxicos e incluso carcinogénicos (Wiedenfeld y Edgar, 2011). Tanto es así que Guil-Guerrero (2014) recomienda el estudio de toxicidad de las especies silvestres con uso comestible juntamente con el estudio funcional de las mismas.

Pese a ello, el conocimiento tradicional ha permitido que el hombre pueda alimentarse de estas plantas, en cantidades moderadas, reduciendo al mínimo las posibilidades de intoxicación y otros problemas relacionados. En el caso de especies consumidas por sus partes verdes, se recolectan las hojas y brotes tiernos. En ellos, la producción y acumulación de compuestos no deseados es menor, ya que de forma general van relacionados con el crecimiento de los órganos. Del mismo modo, la acumulación de compuestos relacionados con el aroma y sabor es menor en comparación con partes más adultas. Por lo tanto, aunque por norma general estas plantas tienen un sabor más intenso y amargo que sus emparentados cultivados, su consumo es agradable al gusto. Otra práctica que se sigue muy habitualmente es el procesamiento por cocinado, escaldado, etc., con el fin de eliminar o inactivar ciertos compuestos (Acho *et al.*, 2014).

1.2.1 Dieta Mediterránea. Uso de plantas silvestres.

Sabiendo que plantas constituyen una gran parte de los aportes calóricos necesarios para el mantenimiento nutricional eficiente de la humanidad. En distintas partes del mundo ha aparecido una dieta acorde a los productos propios de la región edafo-climática, ello ha llevado a la domesticación de algunas especies endémicas, la cuales se han compartido tierras de labor con aquellas que se extendieron desde sus distintos centros de origen.

En este caso nos compete hacer referencia a la zona mediterránea. En función de lo anteriormente dicho y debido a las emigraciones, colonizaciones e intercambios comerciales ha adaptado a su sector agroalimentario, los productos que definen per se su dieta son los cereales, frutas y verduras y uno más moderado de carne, pescado y productos lácteos (Guarrera y Savo, 2013). En otros lugares la estructura de su dieta es distinta. Presentan una proporción de uso de ciertos productos distinta. Haciendo una comparación con países del norte de Europa se observa que esta es menor en frutas y verduras (Heinrich *et al.*, 2005). Diversos estudios han evidenciado el potencial de los compuestos bioactivos que existen tanto en frutas como en verduras con la prevención de enfermedades cardiovasculares, degenerativas y

neurológicas (Shah y Channon, 2004), diferentes tipos de cáncer (Trichopoulou *et al.*, 2000) y un aumento de la calidad de vida y la longevidad (Manios *et al.*, 2006). Todo ello ha derivado en la consideración como una dieta sana, equilibrada y de calidad.

En la dieta mediterránea, ha estado muy extendido el uso de vegetales silvestres como componentes auxiliares. Su recolección y consumo ha sido estacional, por lo general entre finales de otoño y primavera o principios de verano, aunque el ciclo biológico y las condiciones ambientales marcan el tiempo de recolección de cada especie (Heinrich *et al.*, 2005). Este crecimiento escalonado de distintas plantas ha definido los platos que se preparan, adaptándolos a cada estación. Por otra parte, la existencia y abundancia de cada especie no es homogénea entre las distintas regiones, de modo que la tradición culinaria es variable. En consecuencia, de forma general se ha producido un abandono paulatino durante las últimas generaciones a causa de la homogeneización cultural sobre todo en el mundo occidental. En contra posición a ello se están realizando diversos esfuerzos para conservar estas tradiciones y estudiar que beneficios pueden aportar, siendo necesario un proceso de investigación y recolección de datos e información de las distintas zonas rurales, cosa que por ejemplo se realiza en la Península Ibérica (Bonet y Vallès, 2002), Grecia (Leonti *et al.*, 2006), Italia (Guarrera y Savo, 2013) o Turquía (Dogan, 2012). En la Tabla 1 se recoge una muestra de estas especies silvestres tradicionalmente empleadas.

Condicionado por lo anteriormente expuesto, en el año 2013 la UNESCO a declaró a la dieta mediterránea Patrimonio Cultural Inmaterial de la Humanidad, después de la presentación de la candidatura de forma conjunta por los países en los que es parte de su tradición y acervo cultural como son Chipre, Croacia, España, Grecia, Italia, Marruecos y Portugal.

Tabla 1. Lista de especies silvestres utilizadas en el mediterráneo. Adaptada de Guarrera y Savo, 2013.

<i>Allium nigrum</i> L.	Ajo silvestre	B	Cocinado o en zumo
<i>Apium nodiflorum</i> (L.) Lag.	Berraza	PA	En fresco o cocinado
<i>Asparagus acutifolius</i> L.	Esparraguera silvestre	Br	Hervido
<i>Beta maritima</i> L.	Acelga silvestre	PA	Cocinado
<i>Borago officinalis</i> L.	Borraja	PA	Fresco, cocinado o en sopa
<i>Brassica nigra</i> (L.) K. Koch	Mostaza	PA	Hervido o en sopa
<i>Bunias erucago</i> L.	Muñidor	PA	Hervido
<i>Campanula rapunculus</i> L.	Rapónchigo	R y PA	Hervido
<i>Capparis spinosa</i> L.	Alcaparrera	F	En escabeche
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik.	Zurrón de pastor	PA	En fresco
<i>Cardamine hirsuta</i> L.	Berro amargo	PA	En fresco, cocinado o zumo
<i>Carduus pycnocephalus</i> L.	Cardo	T y CT	En fresco o cocinado
<i>Chenopodium album</i> L.	Cañizo	PA	En fresco
<i>Chenopodium bonus-henricus</i> L.	Alimoaches	PA	Hervido o en sopa
<i>Chondrilla juncea</i> L.	Achicoria dulce	PA	En fresco
<i>Cichorium intybus</i> L.	Achicoria silvestre	PA	En fresco o hervido
<i>Clinopodium nepeta</i> (L.) Kuntze	Calaminta	PA	Condimento

B: bulbo, Br: brote joven, CT: capítulo tierno, F: botón floral, Fr: fruto, PA: parte aérea, Pl: planta pequeña, R: raíz, S: semilla, T: tallo tierno.

Tabla 1. Continuación. Lista de especies silvestres utilizadas en el mediterráneo. Adaptada de Guarrera y Savo, 2013.

<i>Crepis capillaris</i> (L.) Wallr.	Crepis	PA	En fresco
<i>Crepis vesicaria</i> L.	Cabeza roja	PA	En fresco o hervido
<i>Cynara cardunculus</i> L. subsp. <i>cardunculus</i>	Cardo lechero	CT	Cocinado
<i>Dioscorea communis</i> (L.) Caddick & Wilkin	Nueza negra	Br	Hervido
<i>Diplotaxis eruroides</i> (L.) DC.	Oruga silvestre	PA	En fresco o cocinado
<i>Diplotaxis tenuifolia</i> (L.) (DC).	Rúcula de flor amarilla	PA	En fresco o en zumo
<i>Eryngium campestre</i> L.	Cardo corredor	Br	En fresco
<i>Eryngium campestre</i> L.	Cardo corredor	Br	En fresco
<i>Hedysarum coronarium</i> L.	Zulla	PA	Hervido
<i>Humulus lupulus</i> L.	Lúpulo	Fr y Br	Hervido o en sopa
<i>Hyoseris radiata</i> L. subsp.	Radiata Estrella	Br	En fresco
<i>Malva sylvestris</i> L.	Malva silvestre	R, PA y F	Hervido, en sopa o en zumo
<i>Melissa officinalis</i> L.	Melisa	Br	En fresco
<i>Ridolfia segetum</i> (L.)	Moris Neldo	S y PA	En fresco o deshidratado
<i>Rorippa nasturtium-aquaticum</i> (L.) Hayek	Berro	PA	En fresco, hervido o zumo
<i>Sedum sedifforme</i> (Jacq) Pau.	Raïm de Pastor	PA	En fresco, encurtido
<i>Scolymus hispanicus</i> L.	Cardillo	T	En fresco o cocinado
<i>Sonchus tenerrimus</i> L.	Cerraja tierna	PA	En fresco, hervido o zumo
<i>Sonchus oleraceus</i> L.	Cerrajón	Pa	En fresco, encurtido
<i>Sonchus tenerrimus</i> L.	Lisón	PA	En fresco.
<i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip.	Matricaria	PI	En fresco o hervido
<i>Taraxacum officinale</i> Weber et Wiggers	Diente de león	F Y PA	En fresco o hervido
<i>Urospermum dalechampii</i> (L.) Scop. ex F.W.Schmidt	Lechuguilla	R	En fresco
<i>Urtica dioica</i> L.	Ortiga mayor	PA, R Y S	En fresco, hervido o en sopa

B: bulbo, Br: brote joven, CT: capítulo tierno, F: botón floral, Fr: fruto, PA: parte aérea, PI: planta pequeña, R: raíz, S: semilla, T: tallo tierno.

En los últimos años ha surgido una corriente de recuperación del conocimiento tradicional y de los aspectos que definen cada cultura, que ya ha favorecido la recuperación y explotación comercial de algunas de estas plantas. Por ejemplo, la rúcula, planta ya recolectada por los romanos para su consumo, ha sido recuperada y se cultiva a gran escala desde la década de los 90, convertida en acompañante de muchos platos de la región mediterránea (Heinrich *et al.*, 2005). Otro ejemplo de esta corriente viene de la mano de importantes cocineros de reconocimiento mundial como Ferran Adrià o Eneko Atxa, quienes ya han incorporado distintos vegetales silvestres a sus platos (García-Herrera, 2014). Esta búsqueda de variación y sofisticación en los platos, de incorporar nuevos sabores a los mismos, ligada a la búsqueda de nuevos alimentos funcionales, podrían ser aspectos clave para la revalorización de muchos vegetales silvestres, abriendo nuevas salidas al mercado. Su puesta en cultivo presentaría la ventaja, además, de no requerir la aplicación de importantes prácticas agronómicas, ya que en su mayoría están adaptadas a condiciones limitantes y estresantes.

1.3 Uso Ornamental de las plantas.

Las plantas han sido usadas por lo general desde tiempos antiguos como elemento de decorativo, en sus diversos formatos, ya que evocan la relación primigenia del hombre con la naturaleza previa a la creación de medios ambientes con marcado carácter antropocéntrico. Por lo general desde las primeras civilizaciones conocidas, el uso como ornamento de plantas como de sus flores u otras partes de las mismas ha estado muy extendido. De forma general existen tres maneras de usar las plantas como ornamento. Una de ellas es dentro del hogar, siendo un disfrute privado. Con un disfrute idéntico otra serían los jardines particulares y por último en los parques públicos donde son expuestas para la observación de toda la sociedad.

Ya en las culturas antiguas de oriente medio, como la Mesopotámica y la Babilónica se mencionan los jardines como unos monumentos esplendorosos, a modo de ejemplo los jardines de Babilonia o en el sumerio Poema de Inanna (diosa de la madre tierra). Esta tradición de usos de las plantas fue heredándose paulatinamente de una potencia dominante en su tiempo a la siguiente. De esta manera los egipcios de igual crean los similares espacios, pero implementando nuevas formas de distribución de las plantas, con formas de tipo geométrico que facilitaban el manejo e introdujeron nuevas especies silvestres. Todos estos conocimientos servían como base y hacían evolucionar el concepto paisajístico. Así los griegos y Romanos utilizan composiciones vegetales para crear espacios de transición entre la naturaleza y las casas en las que viven, con nuevos individuos del reino vegetal, como el boj o el laurel, no usados con anterioridad. Esta es la forma en que cada cultura adaptaba los elementos principales en función de la disponibilidad de los mismos. Un ejemplo de ello son los jardines chinos en los que sus principales elementos son las plantas acuáticas y arbustivas haciendo del agua el elemento de guía en estas composiciones. Todo está amalgama de estilos fue aunada en la cultura Omeya de Al-andalus, con sus famosos jardines, la inmensidad territorial del Califato hizo que aparecieran influencias de todos los tipos que derivaron en una forma de entender la ornamentación como la representación terrenal del paraíso, conectando la importancia del agua con la amplitud y distribución greco-romana y la ampliación del catálogo de especies, usando de todas partes del mundo conocido hasta entonces. Seguidamente, durante la edad media se creó una tendencia a la ampliación todavía si cabe del concepto de tener un trozo de naturaleza cercano, seguido en la edad moderna por las clases altas de la sociedad, un ejemplo es creación de los jardines de estilo inglés o Versalles en Francia. La sociedad occidental actual, una gran parte de la población tiene cubiertas sus necesidades básicas, como son el alimento y la vivienda. A consecuencia de este hecho aparecen nuevas necesidades, basadas en el ocio y disfrute de los placeres de la vida. Siendo el disfrute sensorial de la belleza natural uno de los más importantes, generando una Horticultura ornamental cuyo fin sea cubrir esa necesidad.

Existen un innumerable número de especies ornamentales, más de 300 géneros y 3000 especies distintas usadas con este fin, siendo el concepto de novedad uno de los que más hacen moverse el mercado, ya que algo insólito hace reaccionar a la gente y a su vez mueve el mercado variando su demanda.

1.3.1 Tendencias arquitectónica y urbanística. Jardines como elemento de disfrute y funcional.

Actualmente existe una sensibilidad con todo lo relacionado con el paisaje, los jardines y en especial con las denominadas zonas verdes y parques, ya que son sinónimo de bienestar, prosperidad y calidad de vida. Por ello, hay un importante incremento en la incorporación de estos espacios en las grandes urbes (Ruíz-Gómez, E.M. 2012). Esta tendencia desde finales del s. XX se vio consolidada por la incorporación por parte de la UNESCO del concepto paisaje dentro del patrimonio inmaterial de la

humanidad, en el año 1972. En el año 2000 se realizó La Convención Europea del Paisaje creándose El Convenio Europeo del Paisaje. Este convenio fue adoptado legalmente por el Estado Español. A continuación, una cita relativa al articulado legal:

[...] se compromete a reconocer jurídicamente los paisajes como elementos fundamentales del entorno humano, expresión de la diversidad de su patrimonio común, cultural y natural, y como fundamento de su identidad. (Convenio Europeo del Paisaje. 2000, Art. 5).

En este sentido el paisaje posee varias definiciones, teniendo cada rama del saber una propia. Aun así, todas y cada una de ellas presentan un común denominador, que se trata de un concepto creado por el hombre en el que el mismo actúa como observador. El concepto de paisajismo se integra en las sociedades actuales mediante dos formas. En forma de Jardín, como un elemento natural siempre modelado y delimitado por la mano del hombre. Siendo utilizado con frecuencia como espacio de expresión para mostrar la vinculación del hombre con su entorno natural (Ruíz-Gómez, E.M. 2012). Y el denominado espacio verde, siendo este heredero de las funciones de los jardines públicos. Sus principales aportaciones a la vida del hombre son las de proporcionar una mejora en la calidad de vida y facilitar espacios para la realización de actividades culturales y lúdicas (Ruíz-Gómez, E.M. 2012).

En la actualidad la jardinería privada es usada como elemento arquitectónico buscando la eficiencia energética en las viviendas de nueva construcción utilizando los denominados tejados verdes (Niachou, 2001). De igual manera, los espacios verdes de nueva creación en las urbes tienen en cuenta el gasto hídrico y adaptan la gama vegetal hacia especies adaptada a su ámbito climático (Alexandri y Jones, 2008). En el mediterráneo y zonas con precipitaciones escasas y deslocalizadas a lo largo del tiempo (Atlas Climático Ibérico, Aemet, 2011), se está tendiendo al uso de plantas de alta eficiencia en su uso de agua, creando jardines xerofíticos con un consumo neto de agua muy inferior a los tradicionales.

1.4 Calidad de los alimentos.

Hoy en día las necesidades nutricionales básicas en las zonas desarrolladas del mundo están cubiertas (FAO, 2016). Por lo tanto, el consumidor presta atención a parámetros que van más allá en su alimentación: la funcionalidad de los alimentos que consume y la satisfacción sensorial que estos le provocan durante la acción de alimentarse. Siendo estos componentes los que forman parte de la calidad de un alimento. Esto conlleva la existencia de una preocupación por lo que se define como la calidad función, refiriéndose a esta como la presencia de compuestos bioactivos en los alimentos que protegen al organismo frente a distintas enfermedades (Llácer *et al.*, 2006). Este puede ser un concepto que solo es importante en los países desarrollados, pero en realidad en aquellos en vías de desarrollo puede serlo más. Esto se debe a que este tipo de alimentos podrían ser una herramienta de control de enfermedades de alto impacto en dichas poblaciones. Por otra parte, el consumidor busca cada vez más alimentos y condimentos que despierten nuevas sensaciones culinarias y activen sus sentidos, especialmente gusto y olfato. Este nuevo requisito ha llevado a la inclusión, en los últimos años, de análisis sensoriales de compuestos volátiles en distintos programas de mejora, e incluso a emprender programas cuyo objetivo principal es la mejora de la fracción volátil (Casañas y Costell, 2006).

1.4.1 Calidad funcional. Importancia de los compuestos antioxidantes

Halliwell define en 1990 el término antioxidante como "cualquier sustancia que, cuando está presente en bajas concentraciones en comparación con un sustrato susceptible de oxidarse, previene o reduce significativamente dicha oxidación". El modo general de actuación es la cesión de iones hidrógeno (H^+) o electrones a radicales libres siguiendo diversos mecanismos, de modo que los

neutraliza y reduce su capacidad de provocar daños sobre otras biomoléculas (Prior *et al.*, 2005); esto se conoce como “la capacidad de neutralizar los electrones libres”, y por lo tanto la ralentización de los procesos que degradan paulatinamente los sistemas bioquímicos presentes en los seres vivos, siendo este, el proceso conocido coloquialmente como envejecimiento.

Los radicales libres, que son aquellos responsables de los daños en los distintos sistemas biomoleculares, son moléculas con electrones desapareados, de forma que tienen capacidad de interacción con otras como lípidos, proteínas o ADN, produciendo el daño oxidativo sobre éstas (Lobo *et al.*, 2010). Un ejemplo de la incidencia de estos radicales libres es la peroxidación de los lípidos. Siendo posiblemente uno de los procesos más delicados en lo relativo a los alimentos, ya que influye en la conservación y mantenimiento de las cualidades organolépticas. Por lo tanto, el enranciamiento de las grasas puede dar lugar a la aparición o formación de compuestos químicos potencialmente perjudiciales para el consumidor (Halliwell, 2002). Por el contrario, no presenta un excesivo problema sobre proteínas o ADN, moléculas menos influyentes en la calidad y textura del alimento. Sin embargo, es fundamental proteger esta biomolécula, base de todo el desarrollo vital de los organismos. Se ha relacionado el estrés oxidativo causado por los radicales libres sobre el ADN y proteínas con un aumento del riesgo de envejecimiento celular prematuro, cambios mutagénicos y desarrollo de tumores y se han visto además relacionados con distintas enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas (Yildiz *et al.*, 2008).

La existencia de antioxidantes, producidos de forma natural en el organismo humano tales como el ácido úrico o el glutatión, no están presente en las cantidades necesarias para la neutralización de los procesos oxidativos. Por ello es importante incorporar mediante la dieta, la cual debe tener una proporción adecuada de fruta y verdura, aquellos que no pueden ser sintetizados, como el ácido ascórbico o los flavonoides (McDermott, 2000). Ha sido demostrado que aquellas dietas que incorporan vegetales variados y abundantes son más saludables, ya que favorecen una situación de equilibrio electrodinámico en los procesos celulares (Rock *et al.*, 1996). Consecuencia de todo esto, se acuña el término de alimento funcional, definiéndolo como el alimento que además de realizar el aporte nutricional esencial para el organismo, a su vez realiza una acción beneficiosa sobre una o más funciones del mismo (Cámara, 2006).

Algunos de los componentes significativos que definen el carácter funcional de un alimento son los siguientes:

1.4.1.1 Ácido ascórbico

La vitamina C se trata de un éster cíclico de 6 carbonos que puede presentarse en dos formas estables interconvertibles, el ácido ascórbico (AA) o forma reducida y el ácido dehidroascórbico (ADHA) o forma oxidada (Fig. 3) (Padayatti *et al.*, 2002). Es una vitamina hidrosoluble muy común en las plantas, relacionada con procesos de crecimiento y desarrollo, la fotosíntesis y la resistencia a estrés (Smirnoff, 2000). Sus dos formas presentan actividad como vitamina, la forma reducida de la vitamina C es de mayor interés por i) ser un fuerte antioxidante y ii) actuar como cofactor en reacciones metabólicas donde intervienen metaloenzimas de cobre o hierro que deben estar reducidos (USDA, 2000). El mantenimiento de esta forma en las células se produce por reacción con el glutatión (Meister, 1994); sin embargo, varios factores pueden conducir a su oxidación, siendo irreversible en algunos casos (Cámara, 2006).

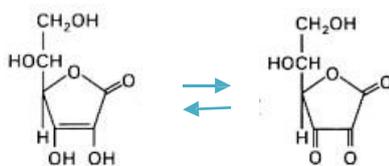


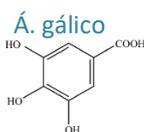
Fig. 3. Representación molecular de la vitamina C en sus dos formas estables interconvertibles: ácido ascórbico (izquierda) y ácido dehidroascórbico (derecha).

Por lo tanto, la vitamina C en general y el ácido ascórbico en particular han de ser incorporadas en la dieta. Aunque la mayoría de animales son capaces de producirla, el hombre y otros grupos como los simios han perdido esta capacidad (Lobo *et al.*, 2010). Existen alimentos catalogados como ricos en vitamina C, tales como la espinaca, perejil, coliflor, col de Bruselas, pimiento, cítricos, fresa o kiwi (Cámara *et al.*, 2003). En la actualidad se considera que la ingesta de 5 raciones de frutas y verduras variadas al día son suficientes para cubrir la cantidad diaria recomendada, que varía entre 75 mg para mujeres y 90 mg para hombres adultos (USDA, 2000). En contraposición a todo esto, un exceso de esta vitamina (para adultos, 2 g/día) puede tener efectos adversos como alteraciones gastrointestinales, cálculos renales o una absorción excesiva de hierro (USDA, 2000). Por consiguiente y sabiendo que la cantidad y estabilidad de la Vitamina C es muy voluble ya que está condicionada por factores agroambientales han de tenerse en cuenta una serie de parámetros. El primero de ellos es la madurez a la hora de la recolección, ya que se ha establecido una correlación positiva entre la cantidad de vitamina C y el punto de maduración (Blosland y Votava, 2000). En segundo lugar, la estacionalidad influye de manera clara (Padayatti *et al.*, 2002). Por último, ha de tenerse muy en cuenta el proceso tanto el transporte, almacenamiento de la fruta, y el procesado ya que se ha determinado una correlación negativa entre temperatura y estabilidad que pueden afectar a la cantidad final disponible (Padayatti *et al.*, 2002).

1.2.1.2 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son uno de los grupos de químicos más extendido en el reino vegetal, conociéndose más de 8.000 estructuras diferentes (Bravo, 1998). Son productos del metabolismo secundario de las plantas, derivados de la fenilalanina siguiendo la ruta biosintética de los fenilpropanoides (Duthie, 1999). Dentro de los compuestos fenólicos se diferencian distintos subgrupos de acuerdo con la estructura química de su esqueleto: ácidos fenólicos (incluyendo los ácidos hidroxicinámicos e hidroxibenzoicos), flavonoides (incluyendo antocianinas, flavonoles, flavonas, flavononas, isoflavonas y chalconas), amidas polifenólicas (incluyendo los capsaicinoides y avenanthramidas) y otros, como, lignanos o curcuminas (Fig. 4) (Tsao, 2010). Estos compuestos pueden encontrarse en las plantas de forma aislada, como algunos ácidos, aunque generalmente aparecen unidos a azúcares, glicosilados mediante enlaces hemiacetales ácido-lábiles (Wallace y Fry, 1994).

Ácidos hidroxicinámicos¹



Ácidos hidroxibenzoicos¹

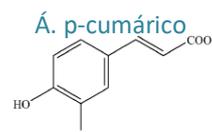
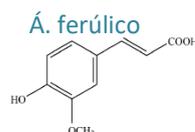
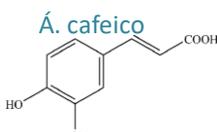


Fig. 4. Representación molecular de algunos compuestos polifenólicos de importancia antioxidante, agrupados por sub-familias. ¹Shan *et al.* (2005) y ²Justesen *et al.* (1998).

revisión y recalificación dentro de los otros géneros de crasas debido a que presentan una morfología dispar para algunos caracteres descritos en las clasificaciones fenotípicas tradicionales (Lorenzo Gallo, 2012). Por ello se han estado realizando estudios filogenéticos (Roeland C.H.J. van Ham, 1994) para hacer una determinación más concreta de lo que forma parte del género o no. A esta familia pertenecen algunas plantas cultivadas de forma ornamental como son *Sedum spectabile*, *Sedum telephium*, *Sedum caudicola* 'Lidakense' (Herbaceous sedum, Christopher Whitehouse, 2007). *Sedum palmeri*, *Sedum praealtum* y *Sedum pachyphytum*

S. sediforme (Jacq.) Pau Lag. es una especie silvestre por lo general con distintas denominaciones. En idioma Valenciano “raïm de pastor” o “crespinell”, y en castellano como uña de gato, uva de pájaro o uña de pajarillo dependiendo de la región. El encuadramiento taxonómico de esta planta es el siguiente.

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Tracheophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Orden:	<i>Saxifragales</i>
Familia:	<i>Crassulaceae</i>
Género:	<i>Sedum</i>
Especie:	<i>S.sediforme</i> (Jacq.) Pau Lag.

Se trata de una planta suculenta perianual con tallos florales erectos de entre 25 y 60 cm y tallos de tipo vegetativo más cortos, aunque con variación de tamaño y de tipo semiprostrado por norma general. Ambos tipos de tallo son de tipo leñoso en su base. Las hojas son suculentas, oblongas, de tipos ovalado-lanceoladas hasta elípticas (Weeb et al.), con tamaños de 6-25 mm largo, anchos 2-8 mm de ancho, subcilíndricas, en ocasiones planas en su haz, agudas o mucronadas, con un pequeño espolón en la base del tallo. Los renuevos suelen ser estériles e imbricados. En cuanto a la inflorescencia se trata de un corimbo, sin brácteas, normalmente erecto antes de la antesis, curvándose las ramas de forma lateral una vez fructificado. Las flores en estos corimbos suelen ser pentámeras u octámeras, formadas por pedicelos que pueden tener tamaños desde 0,3 hasta 2 mm, sépalos soldados al receptáculo de 2-3 mm, de tipo ovalado o triangular, glabros. Los Pétalos varían en cuanto a tamaño, entre 3,5 y 9 mm de color amarillo pálido o cremoso. Los estambres generalmente doblan en número a los pétalos. En cuanto anteras y sus filamentos serán color blanco hasta amarillo, con estilos persistentes de 1 a 3 mm. Por último, sus semillas serán oblongas con la testa acostillada y el ápice agudo.



Figura 5. Entrada de *S.sediforme* del municipio de Alcala de Xivert, de la colección relativa a este trabajo.

A de tenerse en cuenta que dentro de la variabilidad fenotípica que presenta esta planta, ha sido descrita un tipo concreto en el año 1967 en la zona de Denia que se denomina *Sedum sediforme* subs. *dianium* (O. Bolòs, 1967) cuyos caracteres diferenciales serían hojas claramente aplanadas, subespatuladas u obovadas. Las medidas serían, las hojas del tallo 16 mm de largo y 8-10 mm de ancho y la de sus renuevos 10-18 mm de longitud y una anchura entre 4-5 mm en ambos. Presentando también como carácter diferencial el color amarillo intenso de sus flores. Algunos autores creen que estos caracteres diferentes no son suficientes para otorgarle la categoría de subespecie.



Figura 6. Detalle del corimbo floral de *S. sediforme*. Colección mantenida en invernaderos de la Universidad Politécnica de Valencia.



Figura 7. Detalle del corimbo floral de *S. sediforme*.subs *dianium*. Colección mantenida en invernaderos de la Universidad Politécnica de Valencia.

1.5.2 Hábitat y distribución

El denominado *Sedum sediforme* fue descrito por primera en 1772 con el nombre de *Sempervivum sediforme* (Jacq.). Su presencia se ha constatado desde el nivel del mar hasta 2000 metros de altura y es considerada la de mayor tamaño dentro de las especies de su familia († Hart, 2002).

Distribuida por casi todo el territorio peninsular, debido a su adaptabilidad y las bajas exigencias edáficas y pluviométricas le hacen capaz de adaptarse a diversos nichos ecológicos. Por norma general al

igual que ocurre con otras especies pertenecientes a su género aparecen en lugares, con suelos pobres o vegetando en zonas rocosas, incluso en ocasiones sobre cubiertas o paredes. Pero, de hecho, su presencia es mayor en el área de las costas mediterráneas, caracterizada por su pluviometría estacional y temperaturas suaves en invierno y altas en temporada estival. De igual manera ocurre en la mayoría de los países bañados por este mar y con zonas de similares características, como pueden ser Francia, Grecia, Italia, Turquía o Israel (Flora ibérica, 2013).

Por lo general aparece compartiendo espacios con otras plantas silvestres de su mismo género y familia como son *Sedum album*, *Sedum dashyphyllum*, *Sedum acre*, *Sedum hirsutum*, *Sedum villosum*, o *Sedum alpestre*. Todas ellas habitan en zonas en las que los suelos no presentan modificaciones estructurales ni enmiendas de tipo agrícola para corrección de pH o salinidad. Esto indica que los terrenos con conformaciones edafo-estructurales naturales y los bordes de los ecosistemas agrícolas son una de sus zonas de preferencia.

1.5.3. Intereses del *Sedum sediforme* (Jacq). Pau. como ornamental, constructivo Gastronómico.

Sedum sediforme es considerada una de las plantas más interesantes para tanto la construcción de tejados verdes u otros elementos constructivos basados en el uso de las sinergias vegetales como elementos que reduzcan los insumos necesarios para mantener las condiciones de habitabilidad óptimas debido a tener un sistema radicular no agresivo y a la vez su capacidad para crecer en prácticamente cualquier tipo de sustrato (Durhman et al. 2007). Adicionando a todo lo descrito que, gracias a su metabolismo tipo CAM, sus necesidades hídricas son mínimas.

La vistosidad de los corimbos florales y su diversidad a la de tamaño, pigmentaciones de las hojas, patrones de crecimiento, revelan varios usos posibles como ornamental (Panayiotis A. Nektarios, 2015). Uno de ellos, sería el uso como flor cortada. Esto es debido a la vistosidad de los tallos florales y al elevado número de flores que estos presentan en sus corimbos. A lo anterior ha de añadirse la coloración de estos tallos desde blancos hasta amarillos intensos. Por otro lado, su adaptabilidad a jardines de tipo xerofítico le hace un candidato para formar parte de las rocallas, y espacios verdes que busquen un gasto mínimo de agua. Este aspecto es muy importante teniendo la desertización paulatina que están sufriendo algunas áreas terrestres debido al cambio climático.

Se han reportado pues, en diversas publicaciones usos alternativos o tradicionales del “raïm de pastor” (Joan Pellicer i Bataller, 1999). Uno de ellos es el uso medicinal: Antiinflamatorio bucal, gástrico y hepático, acidez de estómago, gastritis y úlcera, dolor de muelas, ictericia, heridas y afecciones de la piel. Estas afirmaciones populares fueron estudiadas en ensayos utilizando el extracto de la planta para comprobar el efecto anti-hemólisis u antiinflamatorio en ensayo tanto in vivo como in vitro, obteniendo resultados satisfactorios (Abderrahmane Baghiani, Hayat Trabsa, 2014). Existiendo también un uso culinario tradicional, normalmente como encurtido. Este consiste en el aliño de brotes de renuevo que produce la planta en primavera. Algunos cocineros de renombre como Quique Dacosta ya lo han usado para la elaboración de alguno de sus aperitivos. Atendiendo a estas pruebas bibliográficas se llevaron a cabo distintos estudios de composición nutricional. Siendo observados altos contenidos en antioxidantes (Abderrahmane Baghiani, Hayat Trabsa, 2014) (A. Ramajo et al, 2013) y Calcio, el cual se presentaba en cantidades mayores de lo normal (A. Ramajo et al, 2013). Si se unen como ya se ha mencionado la capacidad nutricional y terapéutica, se puede considerar al *S. sediforme* un alimento funcional.

2. Objetivos

2. Objetivos

El objetivo principal del presente trabajo ha sido el estudio y la evaluación de la variabilidad que presenta la *Sedum sediforme* en los distintos territorios de valencianos, así como de sus respectivas subespecies. Con este fin, se han realizado distintas actividades u objetivos parciales:

1. Establecimiento de una serie de descriptores de caracterización morfológica para *Sedum spp.*
2. Evaluación de la variabilidad morfológica en una colección de 107 poblaciones colectados de de *Sedum spp.* (88 de ellos de *S. sediforme*) de València.
3. Establecimiento de una escala de estados fenológicos para *Sedum spp.* y su utilización para determinar el tiempo de floración de la colección de poblaciones.
4. Evaluación del potencial como alimento funcional mediante el estudio de algunos parámetros de calidad.
5. Estudio de la regeneración utilizando esquejes de hoja en las especies de *Sedum* presentes en la colección.
6. Elaborar un protocolo eficaz de extracción de ADN en las distintas especies de *Sedum* presentes en la colección,
7. Validación de una colección de 8 marcadores microsátélites identificados en *Sedum alfredii* en la colección de *Sedum spp* caracterizada.

Mediante la ejecución de estas actividades se ha pretendido identificar materiales de *S. sediforme* que por sus características morfológicas sean potencialmente útiles como ornamentales o, teniendo en cuenta también parámetros de calidad nutricional interesantes para su consumo como hortaliza. Por último, la puesta a punto de la extracción de ADN, constituirá una herramienta de utilidad para la caracterización genómica y mejora genética de los materiales seleccionados.

3. Materiales y métodos

3.1. Material vegetal

El estudio se ha realizado a partir de una colección de 107 muestra de *Sedum spp.* procedentes de otras tantas poblaciones muestreadas en distintos puntos de la autonomía Valenciana y otras autonomías limítrofes. Cada muestra consistió en tallos herbáceos de una única planta de la población existente en cada localidad. A partir del material muestreado en cada población se procedió a su reproducción clonal. Cada réplica obtenida fue colocada en distintos ambientes para hacer un seguimiento de su ciclo biológico.

La prospección o colecta de las plantas en el campo se realizó en distintas fechas a lo largo del otoño (2016) e invierno (2016-2017). Según la bibliografía consultada, durante este periodo la planta se encuentra en parada vegetativa. Esto garantiza cierta uniformidad en cuanto al desarrollo fisiológico de las distintas entradas una vez realizadas las réplicas y puestas en cultivo. A consecuencia de ello aumentará la fiabilidad de los datos referidos a la morfología y desarrollo vegetativo de las réplicas. Además de la planta en cuestión que se pretendía estudiar, (*S. sedifforme*), se tomaron cuando se presentaron adyacentes a esta, muestra de poblaciones de otras especies del género *Sedum* como *S. album*, *S. dashyphyllum* y *S. acre*. Estas especies al encontrarse creciendo junto *S. sedifforme*, se consideró que nos podían proporcionar información sobre que distribución presentan asociadas a nuestra especie de estudio. A modo de control se introdujeron en el estudio muestras de poblaciones de *S. sedifforme* de Catalunya (veguería de Terres d'El Ebre (El Perelló) y veguería de Lleida (Torrebesses)), Castella – La Manxa (Albacete) y Murcia (Murcia).

Tabla 2. Listado de cada una de las entradas recolectadas.

número entrada	Origen	Código	Tipo de zona de recolección	Coordenadas	Fecha de recolección
1	Pobla de Vallbona	SS-POBLAVALLBONA-1	Zona seca	39° 34'54'' N 0° 30' 54'' O	01/10/2016
2	Sant Antoni de Benaixeve	SS-SANTANTONIBENAGEBER-1	Zona seca	39° 35'00'' N 0° 30' 45'' O	01/10/2016
3	Sant Antoni de Benaixeve	SS-SANTANTONIBENAGEBER-2	Zona seca	39° 35'00'' N 0° 30' 45'' O	01/10/2016
4	Ribesalbes	SS- RIBESALBES-1	Zona seca	39° 35'00'' N 0° 30' 45'' O	02/10/2016
5	Ribesalbes	SS- RIBESALBES-2	Zona húmeda	40° 01'29'' N 0° 16' 48'' O	02/10/2016
6	Ontinyent	SS- ONTINYENT-1	Zona seca	38° 50'50'' N 0° 35' 13'' O	05/10/2016
7	Turis	SS- TURIS-1	Zona semiseca	39° 23'13'' N 0° 42' 36'' O	12/10/2016
8	Alcala de Xivert	SS- ALCALADEXIVERT-1	Zona seca	40° 17'35'' N 0° 15' 02'' O	13/10/2016
9	Alcala de Xivert	SS- ALCALADEXIVERT-2	Zona seca	40° 17'23'' N 0° 15' 35'' O	13/10/2016
10	Agullent	SS- AGULLENT-1	Zona seca	38° 49'10'' N 0° 32' 57'' O	15/10/2016
11	Agullent	SS- AGULLENT-2	Zona seca	38° 49'08'' N 0° 32' 51'' O	15/10/2016
12	Agullent	SS- AGULLENT-3	Zona seca	38° 49'18'' N 0° 32' 11'' O	15/10/2016
13	Capelló	SS- CAMPELLÓ-1	Zona semiseca	38° 28'32'' N 0° 19' 11'' O	22/10/2016
14	Ibi	SS- IBI-1	Zona semiseca	38° 36'38'' N 0° 32' 55'' O	22/10/2016
15	Benicassim (Desierto de la Palmas)	SS- BENICASSIM-1	Zona seca	40° 04'56'' N 0° 02' 01'' O	22/10/2016
16	Castelló (Desierto de la Palmas)	SS- CASTELLÓ-1	Zona seca	40° 03'15'' N 0° 01' 00'' E	22/10/2016

* Abreviaturas de la especie en las denominaciones: SS- *Sedum sedifome* SA-*Sedum álbum* SD-*Sedum dasyphyllum* SA-*Sedum acre*

* Poblaciones en letra *cursiva*, corresponde a poblaciones de zonas no pertenecientes al territorio valenciano.

Tabla 2. Continuación Listado de cada una de las entradas recolectadas.

17	Benissoda	SS- BENISSODA-1	Zona húmeda	38° 49' 43" N 0° 31' 50" E	29/10/2016
18	Concertaina	SS- CONCERTAINA-1	Zona semiseca	38° 49' 43" N 0° 26' 89" O	31/10/2016
19	Picassent	SS- PICASENT-1	Zona semiseca	39° 22' 15" N 0° 27' 20" O	08/11/2016
20	Almenara	SS- ALMENARA-1	Zona húmeda	39° 46' 19" N 0° 13' 35" O	11/11/2016
21	Alberic	SS- ALBERI-1	Zona seca	39° 46' 19" N 0° 32' 10" O	15/11/2016
22	Biar	SS- BIAR-1	Zona seca	38° 39' 58" N 0° 48' 00" O	15/11/2016
23	Canyada	SS- CANYADA-1	Zona seca	38° 40' 28" N 0° 48' 25" O	15/11/2016
24	Banyeres de Mariola	SS- BANYERESDEMARIOLA-1	Zona semiseca	38° 43' 21" N 0° 42' 14" O	15/11/2016
25	Bocairent	SS- BOCAIRENT-1	Zona húmeda	38° 49' 45" N 0° 38' 13" O	15/11/2016
26	Ribera de Cabanes	SS- RIBAB-1	Zona seca	38° 40' 16" N 0° 12' 19" O	25/11/2016
27	Borriol	SS- BORRIO-1	Zona seca	40° 02' 52" N 0° 03' 20" E	25/11/2016
28	Cabanes	SS-CABANE-1	Zona húmeda	40° 08' 30" N 0° 02' 17" E	25/11/2016
29	Ciudad Real	SA-CIUREA-1	Zona seca	38° 44' 60" N 02° 52' 16" O	25/11/2016
30	Ciudad Real	SA-CIUREA-2	Zona seca	38° 44' 60" N 02° 52' 16" O	25/11/2016
31	Lliría	SS-LLIRIA-1	Zona semiseca	39° 38' 35" N 00° 35' 03" O	09/12/2016
32	Casinos	SS-CASINOS-1	Zona semiseca	39° 41' 50" N 0° 42' 50" O	09/12/2016
33	Casinos	SS-CASINOS-2	Zona semiseca	39° 41' 50" N 0° 42' 50" O	09/12/2016
34	Losa del Obispo	SS-LOSAOB-1	Zona semiseca	39° 41' 48" N 0° 52' 04" O	09/12/2016
35	Calles	SS-CALLES-1	Zona seca	39° 45' 34" N 0° 58' 02" O	09/12/2016
36	Chelva	SS-CHELVA-1	Zona seca	39° 45' 12" N 1° 00' 10" O	09/12/2016
37	Tuejar	SS-TUEJAR-1	Zona seca	39° 45' 12" N 1° 03' 18" O	09/12/2016
38	Titaguas	SS-TITAGUAS-1	Zona seca	39° 52' 13" N 1° 04' 30" O	09/12/2016
39	Aras de Olmos	SS-ARASOLMOS-1	Zona seca	39° 55' 20" N 1° 07' 45" O	09/12/2016
40	Aras de Olmos	SA-ARASOLM-1	Zona seca	39° 55' 20" N 1° 07' 45" O	09/12/2016
41	Aras de Olmos	SAC-ARASOLM-1	Zona seca	39° 55' 20" N 1° 07' 45" O	09/12/2016
42	Casas Bajas	SS-CASBAJ-1	Zona seca	40° 01' 31" N 1° 15' 35" O	09/12/2016
43	Casas Altas	SS-CASASALTAS-1	Zona semiseca	40° 02' 30" N 1° 15' 56" O	09/12/2016
44	Ademuç	SS-ADEMUÇ-1	Zona semiseca	40° 03' 32" N 1° 17' 18" O	09/12/2016
45	Ademuç	SA-ADEMUÇ-1	Zona semiseca	40° 03' 32" N 1° 17' 18" O	09/12/2016
46	Utiel	SS-UTIEL-1	Zona seca	39° 35' 14" N 1° 13' 26" O	09/12/2016
47	Requena	SS-REQUENA-1	Zona seca	39° 29' 51" N 1° 05' 35" O	09/12/2016
48	Siete Aguas	SS-SETAIGUES-1	Zona seca	39° 27' 38" N 0° 56' 58" O	09/12/2016
49	Gilet	SS-GILET-1	Zona seca	39° 40' 06" N 0° 20' 50" O	11/12/2016
50	Torres-Torres	SS-TORRESTORRES-1	Zona seca	39° 44' 20" N 0° 21' 05" O	11/12/2016

* Abreviaturas de la especie en las denominaciones: SS- *Sedum sedifome* SA-*Sedum álbum* SD-*Sedum dasyphyllum* SA-*Sedum acre*

* Poblaciones en letra *cursiva*, corresponde a poblaciones de zonas no pertenecientes al territorio valenciano.

Tabla 2. Continuación Listado de cada una de las entradas recolectadas.

51	Torres-Torres	SS-TORRESTORRES-2	Zona seca	39° 44' 20" N 0° 21' 05" O	11/12/2016
52	Castelnovo	SS-CALTELNOVO-1	Zona semiseca	39° 51' 22" N 0° 28' 16" O	11/12/2016
53	Navajas	SS-NAVAJAS-1	Zona semiseca	39° 52' 17" N 0° 30' 30" O	11/12/2016
54	Navajas	SS-NAVAJAS-2	Zona húmeda	39° 52' 17" N 0° 30' 00" O	11/12/2016
55	Almedijar	SS-ALMEDIJAR-1	Zona húmeda	39° 52' 11" N 0° 24' 35" O	22/12/2016
56	Aín	SS-AÍN-1	Zona semiseca	39° 53' 42" N 0° 20' 42" O	22/12/2016
57	Alcudía de Veo	SS-ALCUDIAVEO-1	Zona semiseca	39° 54' 54" N 0° 21' 16" O	22/12/2016
58	Alcudía de Veo	SS-ALCUDIAVEO-2	Zona semiseca	39° 54' 54" N 0° 21' 16" O	22/12/2016
59	Benitandus	SS-BENITANDUS-1	Zona húmeda	39° 55' 41" N 0° 20' 11" O	22/12/2016
60	Tales	SS-TALES-1	Zona semiseca	39° 59' 25" N 0° 18' 14" O	22/12/2016
61	Onda	SS-ONDA-1	Zona húmeda	39° 17' 15" N 0° 18' 14" O	22/12/2016
62	Espadilla	SS-ESPADILLA-1	Zona húmeda	40° 01' 31" N 0° 21' 18" O	22/12/2016
63	Toga	SS-TOGA-1	Zona semiseca	40° 02' 14" N 0° 21' 57" O	22/12/2016
64	Benlloch	SS-BENLLOC-1	Zona semiseca	40° 12' 22" N 0° 01' 48" E	22/12/2016
65	Vilanova D'Alcolea	SS-VILLALCO-1	Zona semiseca	40° 13' 45" N 0° 04' 07" E	29/12/2016
66	Torre D'en Domènech	SS-TORDOM-1	Zona seca	40° 15' 31" N 0° 04' 43" E	29/12/2016
67	Coves de Vinroma	SS-COVVIN-1	Zona seca	40° 18' 57" N 0° 07' 27" E	29/12/2016
68	Sant Mateu	SS-SANTMAT-1	Zona semiseca	40° 27' 55" N 0° 10' 54" E	29/12/2016
69	Sant Mateu	SS-SANTMAT-2	Zona semiseca	40° 27' 55" N 0° 10' 54" E	29/12/2016
70	Enroig	SS-ENROIG-1	Zona semiseca	40° 15' 31" N 0° 04' 43" E	29/12/2016
71	Enroig	SS-ENROIG-2	Zona semiseca	40° 15' 31" N 0° 04' 43" E	29/12/2016
72	Vallivana	SS-VALLIVA-1	Zona semiseca	40° 32' 22" N 0° 03' 17" E	29/12/2016
73	Vallivana	SA-VALLIVA-2	Zona semiseca	40° 32' 22" N 0° 03' 17" E	29/12/2016
74	Vallivana	SD-VALLIVA-3	Zona semiseca	40° 32' 22" N 0° 03' 17" E	29/12/2016
75	Morella	SS-MORELLA-1	Zona semiseca	40° 37' 18" N 0° 05' 56" O	29/12/2016
76	Morella	SA-MORELLA-1	Zona semiseca	40° 37' 18" N 0° 05' 56" O	29/12/2016
77	Gata de Gorgos	SS-GATAGO-1	Zona semiseca	38° 46' 05" N 0° 05' 52" E	08/01/2017
78	Gata de Gorgos	SS-GATAGO-2	Zona semiseca	38° 46' 05" N 0° 05' 52" E	08/01/2017
79	Calpe	SS-CALP-1	Zona semiseca	38° 40' 53" N 0° 02' 10" E	08/01/2017
80	Guardamar	SS-GUARDA-1	Zona semiseca	38° 05' 08" N 0° 39' 39" O	08/01/2017
81	Santa Pola	SS-SANTAPOL-1	Zona seca	38° 12' 22" N 0° 33' 30" O	08/01/2017
82	Canals	SS-CANALS-1	Zona húmeda	38° 56' 34" N 0° 33' 46" O	15/01/2017
83	Benicassim (Desierto de las Palmas)	SS-BENICASSIM-2	Zona seca	40° 04' 48" N 0° 01' 33" E	15/01/2017

* Abreviaturas de la especie en las denominaciones: SS- *Sedum sedifome* SA-*Sedum álbum* SD-*Sedum dasyphyllum* SA-*Sedum acre*

* Poblaciones en letra *cursiva*, corresponde a poblaciones de zonas no pertenecientes al territorio valenciano.

Tabla 2. Continuación Listado de cada una de las entradas recolectadas.

84	Agres	SS-AGRES-1	Zona semiseca	38° 46' 33" N 0° 30' 56" O	15/01/2017
85	Agres	SA-AGRES-1	Zona semiseca	38° 46' 33" N 0° 30' 56" O	15/01/2017
86	Agres	SD-AGRES-1	Zona semiseca	38° 46' 33" N 0° 30' 56" O	15/01/2017
87	<i>Murcia</i>	SS-MURCIA-1	Zona seca	37° 49' 55" N 1° 00' 59" O	22/01/2017
88	<i>Albacete</i>	SS-ALBACETE-1	Zona seca	38° 29' 30" N 2° 24' 29" O	22/01/2017
89	Villamarchante	SS-VILLAMARXANTE-1	Zona seca	38° 29' 30" N 2° 24' 29" O	05/02/2017
90	<i>Torrebesses</i>	SS-TORREBESSES-1	Zona semiseca	41° 25' 34" N 0° 35' 08" E	11/02/2017
91	<i>El Perelló (Tarragona)</i>	SS-ELPERELLÓ-1	Zona semiseca	40° 53' 13" N 0° 41' 28" E	11/02/2017
92	Castillo de Sagunto	SA-SAGUNT-1	Zona semiseca	39° 40' 32" N 0° 16' 39" O	25/02/2017
93	Castillo de Sagunto	SA-SAGUNT-2	Zona semiseca	39° 40' 32" N 0° 16' 39" O	25/02/2017
94	Castillo de Sagunto	SD-SAGUNT-1	Zona semiseca	39° 40' 32" N 0° 16' 39" O	25/02/2017
95	Castillo de Sagunto	SA-SAGUNT-3	Zona semiseca	39° 40' 32" N 0° 16' 39" O	25/02/2017
96	Castillo de Sagunto	SS-SAGUNT-1	Zona semiseca	39° 40' 32" N 0° 16' 39" O	25/02/2017
97	Castillo de Sagunto	SA-SAGUNT-2	Zona semiseca	39° 40' 32" N 0° 16' 39" O	25/02/2017
98	Castillo de Sagunto	SA-SAGUNT-3	Zona semiseca	39° 40' 32" N 0° 16' 39" O	25/02/2017
99	Castillo de Sagunto	SA-SAGUNT-4	Zona semiseca	39° 40' 32" N 0° 16' 39" O	25/02/2017
100	Castillo de Sagunto	SA-SAGUNT-5	Zona semiseca	39° 40' 32" N 0° 16' 39" O	25/02/2017
101	Castillo de Sagunto	SA-SAGUNT-6	Zona semiseca	39° 40' 32" N 0° 16' 39" O	25/02/2017
102	Castillo de Sagunto	SA-SAGUNT-7	Zona semiseca	39° 40' 32" N 0° 16' 39" O	25/02/2017
103	Sant Joan de Peñagolosa	SS-SANTJOANPEÑAGO-1	Zona semiseca	40° 15' 15" N 0° 22' 03" O	04/03/2017
104	Adzaneta	SS-ADZANETA-1	Zona semiseca	40° 15' 15" N 0° 22' 03" O	04/03/2017
105	Adzaneta	SS-ADZANETA-2	Zona semiseca	40° 15' 15" N 0° 22' 03" O	04/03/2017
106	Sant Joan de Peñagolosa	SA-SANTJOANPEÑAGO-1	Zona semiseca	40° 15' 15" N 0° 22' 03" O	04/03/2017
107	Guadalest	SS-GUADALEST-1	Zona semiseca	38° 40' 16" N 0° 12' 19" O	04/03/2017

* Abreviaturas de la especie en las denominaciones: SS- *Sedum sedifome* SA-*Sedum álbum* SD-*Sedum dasyphyllum* SA-*Sedum acre*

* Poblaciones en letra *cursiva*, corresponde a poblaciones de zonas no pertenecientes al territorio valenciano.

3.1.1 Obtención del Material Vegetal. Recolección *Sedum spp.*

Se realizó la colecta de muestras de *S. sediforme* con el objetivo de cubrir en lo posible las distintas zonas agroclimáticas de los distintos territorios valencianos demarcaciones forales del Reino de Valencia. Teníamos especial interés en prospectar la denominada área de la “Diania” donde se encuentra descrita la subespecie de *Sedum sediforme* denominada *dianium*.

El protocolo de recolección consistirá en recoger parte de la mata de la planta procedente de una determinada población de *Sedum*. Se tuvo especial cuidado en mantener la integridad del individuo prospectado en el caso de ser una población compuesta por un solo individuo. Posteriormente cada muestra fue introducida en bolsas etiquetadas con el lugar y la fecha de recolección y depositadas a la

mayor brevedad posible en un lugar refrigerado. Esto se realizó con el fin de que los individuos no sufran hasta la preparación de los esquejes.



Fig. 8. Esquejes de *S. sediforme*

3.1.2 Obtención de las Réplicas del Material vegetal. Sustrato, aporte hídrico y diferencias entre ambientes.

Una vez recogidas las muestras en campo, éstas fueron guardadas en cámara a 4°C y plantadas en un periodo no superior a 5 días. El material vegetal inicial de cada entrada se dividió en 4 partes lo más similares posibles. Cada una de ellas dio lugar a una réplica clonal de la planta original. Por lo tanto, en la medida de lo posible cada réplica constó de 2 o 3 esquejes, plantados en alveolos cuyas dimensiones fueron 7 x 7 x 8 cm. Estos se rellenaron previamente de sustrato (Neuhaus N3) y fueron humedecidos con un aporte aproximado de 10 cm³ de agua. Se mantuvieron en este recipiente durante un periodo de 2 a 3 semanas. Durante ese tiempo se situaron en zonas soleadas aportando la misma cantidad de agua inicial, 10 cm³, en un intervalo 7 u 8 días. Las plantas tras este periodo desarrollaron yemas adventicias y el sistema radicular suficiente para poder pasar los clones obtenidos con cepellón a maceta de 2 litros de capacidad. El sustrato que se elaboró para el mencionado trasplante tuvo las siguientes características: 2/3 de arena de playa y 1/3 de sustrato universal. Mediante este proceso, se obtuvo 3 réplicas de la colección en maceta y una en los alveolos, que se mantuvo como colección de plantas madres.



Fig. 9. Alveolo de plantas madre *S. sediforme*



Fig. 10. Maceta con réplica de *S. sediforme*

Cada una de las colecciones de réplicas fue colocada en un ambiente distinto, presentando cada uno de ellos condiciones climáticas distintas. Una réplica se ubicó en los invernaderos de la Universidad Politécnica de Valencia, con ambiente controlado (siempre en el rango de entre un mínimo 16°C y máximo de 27°C) y un aporte hídrico a cada maceta de entre 20 y 30 cm³ cada 7 días. La segunda réplica fue llevada a una explotación agraria en la Poble de Vallbona. En este caso se realizaron manteniendo las plantas en maceta riegos por inundación, dejando que la lámina de agua cubriera la base de la maceta entre 1 y 2 cm con una periodicidad semanal. Por lo tanto, estuvo sometida a inclemencias meteorológicas. La tercera réplica se mantuvo en una terraza urbana, simulando los denominado “jardines urbanos”, en los cuales ya se empieza a utilizar especies crasuláceas como la que nos ocupa en el presente trabajo. En esta réplica se utilizó aportes hídricos semanales mediante riego por aspersión.

3.2 Caracterización morfológica.

La ausencia de unos criterios unificados para la caracterización de los individuos de la especie a la que concierne este estudio, *S. Sediforme*, hizo necesario la adopción de una serie de caracteres basándose en claves dicotómicas botánicas (Flora ibérica, Plantas vasculares de la península ibérica e islas baleares, 2015) y descripciones de otras especies dentro de su género y familia (Lorenzo Gallo, 2012). Las evaluaciones de las plantas fueron realizadas de dos maneras distintas. Una evaluación inicial de las plantas inmediatamente posterior a su recolección, previo a la obtención de las réplicas. En este momento se hicieron mediciones de caracteres de hoja y tallo exclusivamente (Tabla 2). Posteriormente se diseñó una ficha de caracterización teniendo en cuenta otros caracteres que se estimó podrían ser discriminantes en la evaluación del potencial ornamental u hortícola de las poblaciones muestreadas. Así, adicionalmente a los caracteres utilizados en la evaluación preliminar se adicionaron otros relacionados la floración en su mayor parte (Tabla 3). La ficha de caracterización definitiva aparece en el Anexo I.

Tabla 3. Caracteres y códigos asignados para la evaluación Preliminar.

HOJA							TALLO
Longitud (mm)	Anchura hoja (mm)	Altura hoja (mm)	Apéndice de la hoja	Pigmentación de la hoja	Intensidad pigmentación	Sección de la hoja	Diámetro del tallo vegetativo (mm)
			1. Puntigudo 2. Puntigudo y Rosado 3. Circular 4. Circular y Rosado	0. Sin Pigmentación 1. Pigmentación haz 2. Pigmentación envés 3. Pigmentación haz y envés 4. Pigmentación punteada haz 5. Pigmentación punteada envés 6. Pigmentación punteada haz y envés	0. Sin Pigmentación 1. Baja 2. Normal 3. Alta	1. Plana 2. Plana/convexa 3. Elipsoide 4. Redonda	

Tabla 4. Caracteres añadidos a los Preliminares.

INFLORESCENCIA					
Altura del tallo (cm)	Número de ramificaciones	Número de flores por ramificación	Posición tallo inflorescencia		
			1. Erecta 2. Tumbada		
SEPALOS		PÉTALOS			
Número	Forma	Longitud (mm)	Color		
	1. Lanceolada 2. Intermedia 3. Triangular		1. Amarillo 2. Intermedio 3. Blanco		
CARPELOS	ESTAMBRES	FILAMENTO	ANTERA		BOTÓN FLORAL
Número	Número	Color	Número	Color	Forma
		1. Amarillo 2. Banco		1. Amarillo 2. Blanco 3. Marrón	1. Cilíndrica 2. Ovalada

3.2.1 Establecimiento de los estados fenológicos.

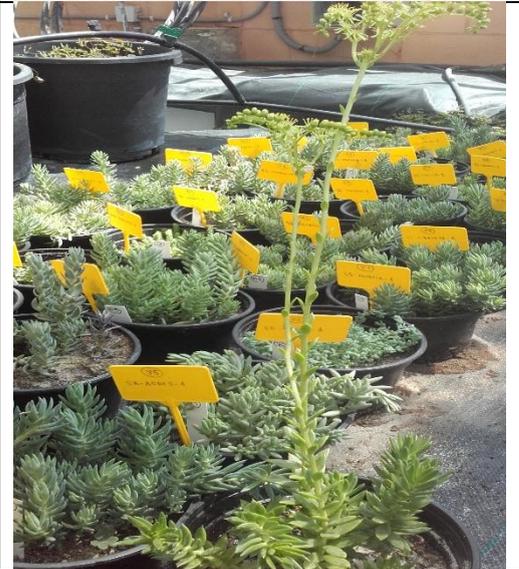
Al igual que ocurría con las fichas de evaluación fenotípica tampoco existía unos criterios establecidos para el seguimiento de los estados vegetativos de la planta. Existen trabajos en las cuales se indica que el *S.sediforme* sufre un periodo de parada vegetativa u letargo invernara (http://www.elicriso.it/es/como_cultivar/sedum/). Por lo tanto, no hay desarrollo de brotes durante este periodo, al no existir la multiplicación celular o estar ralentizada. Esto puede ser debido a la influencia del fotoperiodo menguante, teniendo en cuenta que por los datos obtenidos parece ser una especie de día largo en cuanto a los requerimientos de floración. Para proceder a la evolución del ciclo biológico en cada una de las poblaciones y determinar diferencias en el mismo se estableció una escala de Estados Fenológicos para *S. sediforme*. Esta escala se utilizó también el caso de las especies *S. album*, *S. dashyphyllum* y *S. acre* incluidas en el estudio. Apare la ficha de estados fenológicos en la tabla 5. En el anexo II se encuentra la ficha creada para el estudio de la colección.

Tabla 5. Descripción de los Estados Fenológicos.

ESTADO VEGETATIVO		DESCRIPCIÓN DEL ESTADIO VEGETATIVO	FOTO
A	CRECIMIENTO VEGETATIVO RALENTIZADO	Hace referencia al estado de reposo de la planta durante el periodo comprendido entre el fin del ciclo floral y la salida del letargo	

*imágenes del estadio A hasta H *S.sediforme*.

Tabla 5. Continuación. Descripción de los Estados Fenológicos.

B	CRECIMIENTO VEGETATIVO ACTIVO	Aparición de pequeñas yemas activas, que darán lugar a tallos posteriores	
C	ELONGACIÓN TALLOS	Aumento longitudinal de las yemas vegetativas aparecidas en el anterior estadio y en número de los tallos.	
D	DESARROLLO INFLORESCENCIA CON RAMIFICAICONES	Aparición de los tallos florales.	
E	BOTONES FLORALES	Desarrollo de los botones florales en el corimbo y aparición de las primeras flores.	

*imágenes del estadio A hasta H *S.sediforme*.

Tabla 5. Continuación. Descripción de los Estados Fenológicos.

F	PLENA FLORACIÓN	Apertura de más del 50% de los botones florales	
G	PETALOS CAÍDOS Y ULTIMAS FLORES ABIERTAS	Fructificación y caída de pétalos. Existiendo aún algunas flores abiertas.	
H	FIN DEL CICLO FLORAL Y COMIENZO DEL REPOSO.	Fructificación de todas las flores y caída de todos los pétalos.	

*imágenes del estadio A hasta H *S.sediforme*.

3.2.2. Evaluación del contenido en Vitamina C y polifenoles totales

Como se apuntó en la introducción resulta de interés la evaluación de ciertos compuestos de interés para la salud como los denominados antioxidantes presentes en *S. sediforme*, debido a su uso tradicional tanto en medicina como en alimentación.

Previamente a la evaluación tanto de la Vitamina C como de polifenoles totales, las distintas poblaciones evaluadas fueron agrupadas atendiendo a su longitud de hoja, tomando de cada uno de ellos muestras de 2 ejemplares representativos, uno con pigmentación en la hoja y otro sin ella. De esta manera y en función de esas variables se crearon 9 grupos, escogiendo 2 poblaciones de cada uno de ellos (1 pigmentado y otro no pigmentado, si era posible). En total se analizaron 22 poblaciones (Tabla 5), 18 *S.sediforme*, 2 *S.album*, 1 *S.acre* y 1 *S.dashyphyllum*.

La extracción de muestras para la evaluación del contenido en vitamina C y polifenoles totales se realizó mediante sometimiento de hojas de las plantas a 2 ciclos de liofilización (cada ciclo consta de 48 horas en una cámara de liofilización). Aunque en trabajos previos se cita que el porcentaje de materia seca en *S. sedifforme* oscila alrededor del 14% (Ana Belén Robles Cruz Y Julio Bonza López, 2011), pruebas realizadas en nuestro laboratorio (secado durante 82 horas a 77°C, peso constante) hemos podido determinar que oscila alrededor del 10% (Tabla 6). La cantidad de cada muestra en fresco por entrada recolectada fue de 15 gramos, que una vez liofilizada equivale a aproximadamente 1,5 gr. De materia seca. Posteriormente, esa cantidad de materia se trituró en un molino para café hasta convertirlo en partículas lo más pequeñas posible.

Tabla 6. Entradas seleccionadas para el análisis de los parámetros de calidad.

Número de entrada	Código	Número de entrada	Código
6	SS- ONTINYENT-1	51	SS-TORRESTORRES-2
14	SS- IBI-1	54	SS-NAVAJAS-2
17	SS- BENISSODA-1	63	SS-TOGA-1
22	SS- BIAR-1	67	SS-COVVIN-1
24	SS- BANYERESDEMARIOLA-1	69	SS-SANTMAT-2
25	SS- BOCAIRENT-1	77	SS-GATAGO-1
32	SS-CASINOS-1	79	SS-CALP-1
41	SAc-ARASOLM-1	86	SD-AGRES-1
45	SS-CASASALTAS-1	96	SS-SAGUNT-1
47	SA-ADEMUÇ-1	98	SA-SAGUNT-3
50	SS-TORRESTORRES-1	107	SS-GUADALEST-1

Tabla 7. Porcentaje de materia seca de *S. sedifforme*.

	Peso de las muestras en fresco	Peso de las muestras secas	Porcentaje de Materia Seca
Muestra 1	115,16	10,57	9.14
Muestra 2	82,83	6,73	8.12

3.2.2.1 Determinación del contenido en Vitamina C

Se usó una valoración tipo REDOX para determinar la cantidad de vitamina C presente en cada una de las muestras. De cada muestra se pesó 0,5 gramos del triturado obtenido previamente en una báscula de precisión. Se colocaron en un matraz aforado y se añadieron 30 ml de agua destilada. Una vez hecho este procedimiento en todas las muestras, se homogenizaron en un agitador a 200 rpm por un periodo de 15 minutos. Tras el preparado de la muestra en la se llenó un tubo de precipitado con 50 ml de agua destilada, que es la cantidad mínima que se necesita para la medición en la máquina de valoración redox (metrohm swiss 702 titrino). En agitación se le añadió 2 ml de ácido sulfúrico, seguidamente 5 ml de la disolución de la muestra, y por último 0,5 gr. de yoduro potásico. Este al reaccionar con el ácido ascórbico da lugar al yodato que combina con la cloramida T y el sensor (electrodo metrohm 6.0451.100) daba la cantidad de la misma presente en la muestra. Para calcular la cantidad de vitamina C por 100 gramos de muestra, ha de aplicarse la siguiente fórmula a los resultados emitidos por el aparato de medición:

$$mg \text{ Vit. C} / 100 \text{ g} = \left(\frac{\text{Molaridad Cloramida T} \times \text{ml Cloramida T} \times \text{Peso molecular Cloramida T}}{\text{ml de la muestra}} \right) \times \left(\frac{\text{ml enrasado}}{\text{peso de la muestra}} \right) \times 100$$

3.2.2.2 Determinación del contenido en Polifenoles totales

Los contenidos en polifenoles reductores se determinaron por el método de Folin-Ciocalteu mediante medida espectrofotométrica a la longitud de onda de 750 nm (MAPA,1994) y se expresan en mg de ácido cafeico por cada 100 ml de extracto.

Se partió de 1 ml de la muestra preparada para el análisis de vitamina C. En este caso la agitación se alargará 5 minutos más una vez retirada la parte para el análisis REDOX (vitamina C), sumando un total de 20 minutos de agitación.

Para la determinación de los polifenoles totales, había de crearse en primer lugar una recta patrón referencia. Para crear la recta patrón debíamos establecer el Volumen de ácido cafeico necesario para conseguir diluciones de 0, 2, 4, 6, 8 y 10 ppm, a partir de una disolución 50 ppm. Una vez determinada esta cantidad en un matraz aforado de 30 ml por dilución se llenaba con 15 ml de agua destilada. A continuación, se añadía la cantidad de ácido cafeico correspondiente previamente medido y 1,25 ml de Folin-Ciocalteu 2N. Se dejó reposar durante 3 minutos y seguidamente se adicionó 2,5 ml de NaOH al 6% y se enrasaba con agua destilada dejando reposar sin mover el matraz por espacio de 1 hora. Ha de hacerse hincapié en seguir estrictamente el orden de adición de los productos tal y como se indica, y una vez enrasado con agua no mover bajo ningún concepto el matraz durante esta fase.

La preparación de las muestras fue similar a la de las muestras utilizadas para la confección de la recta patrón, difiriendo en tan solo un paso. Añadir un 1 ml de muestra en lugar del volumen de ácido cafeico correspondiente por el tipo de disolución. Finalmente se realizó la medición a 725 nm en el espectrofotómetro (Schott Uviline 9400). En el caso de obtenerse absorbancias muy altas que se salen de la recta patrón durante las mediciones, ha de diluirse la muestra con agua destilada y realizar de nuevo la medición.

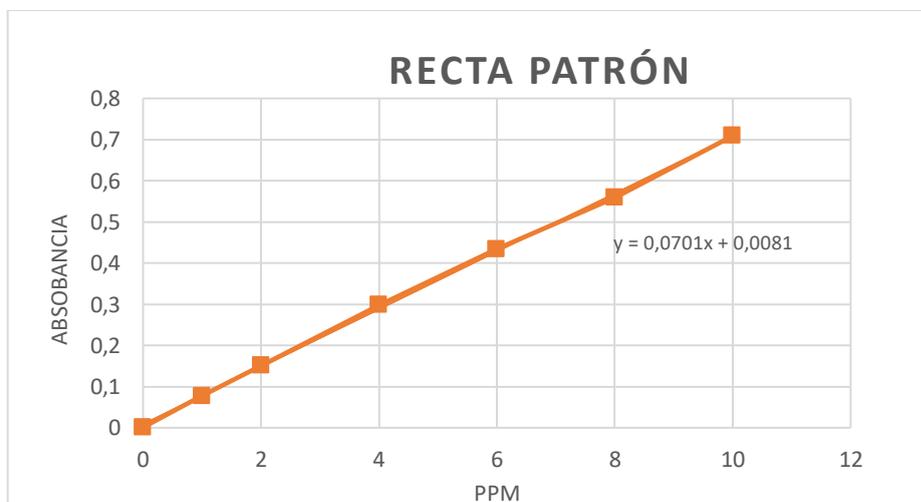


Fig. 11. Recta patrón del ácido cafeico obtenida a concentraciones 0 - 2 - 4 - 6 - 8 y 10 ppm.

3.3 Ensayo de reproducción por esqueje de hoja.

Tanto en mejora vegetal como en producción agraria industrial la facilidad de la multiplicación del material vegetal aporta una ventaja sustancial. Pudiendo diseñar experimentos y repeticiones de los mismos para obtener gran cantidad de individuos iguales que posean interés ornamental. Es sabido que existen distintos tipos de multiplicación asexual o vegetativa. El más extendido es el método de esquejado, que versa en la escisión de una parte de la planta en la que están presentes yemas adventicias. El carácter totipotencial de este tipo de yemas hace que puedan desarrollarse a partir de ellas, sistemas radiculares de plantas. En la familia *Crasulaceae* se ha comprobado su facilidad de multiplicación por esquejes, el

único inconveniente es la posible escasez de individuos de partida para realizar una gran cantidad de réplicas en un corto periodo de tiempo. Esta usencia de material vegetal hace necesaria la búsqueda un método de replicación más eficiente. En consecuencia, de todo lo expuesto, se dispuso comprobar la capacidad de reproducción por hoja, debido a que este método es muy eficaz en otras plantas crasas. Para poner obtener una visión comparativa el experimento se llevó a cabo con 4 especies: *S. sediforme*, *S. album*, *S. pachifitum*, (de los que no se tenía constancia previa de su capacidad) y *Graptopetalum paraguayensis* el cual presenta unos niveles de organogénesis muy elevados (Paul B. Green; Jeanne M. Lang, 1980).

El ensayo consistió en la elaboración de 15 macetas, de 7 x 7 x 8 cm rellenas de sustrato universal, por cada una de las especies. En cada una de las macetas correspondientes a *S. sediforme* y *S. album* se colocaron 2 hojas debido a su reducido tamaño y tan solo uno con *S. pachifitum* y *G. paraguayensis*. La extracción de las hojas utilizadas fue de tipo manual, consistiendo en retirar la hoja desde su inserción en el tallo. Esta parte será por la cual comenzará la regeneración de un nuevo individuo. Una vez colocadas las correspondientes hojas en sus macetas correspondiente (Figura 12) (15 por especie) se depositaron en una bandeja la cual se llenará aproximadamente con 1 cm de agua cada 5 días para mantener la humedad del sustrato necesaria. Las bandejas de cada una de las cuatro especies se introdujeron en una cámara climática durante un periodo de 30 días. Las características ambientales de esta fueron de una temperatura constante de 22°C con un 60% de humedad y un fotoperiodo de 16 horas de luz/8 horas de oscuridad. La medición de la evolución de cada hoja cada 5 días. El proceso se repitió en 4 ocasiones para así poder tener una idea más clara de las tendencias que pueden presentarse.



Fig. 12. Reproducción por hoja *G. paraguayensis*.



Fig. 13. Detalle de *G. paraguayensis*.

3.4. Puesta a punto del protocolo de extracción de ADN

En la actualidad una herramienta fundamental de la mejora vegetal es el uso de herramientas moleculares. Por lo tanto, es recomendable desarrollar un protocolo de extracción del ADN para cualquier especie que se desee estudiar. De tal manera que permita abordar tareas como la secuenciación entre otras muchas. En definitiva, es necesario elaborar un protocolo de extracción eficiente con el que obtener ADN de calidad y en una cantidad suficiente.

Partiendo del protocolo de extracción de ADN de tejido foliar fresco mediante CTAB desarrollado por (Doyle y Doyle, 1987), el cual ha sido modificado a lo largo del tiempo para la extracción en hojas frescas de berenjena (S. Vilanova, 2012) u otras hortícolas. A partir del mismo se modificaron diversos pasos en dicho protocolo, como son, la cantidad de muestra, forma de triturado, la cantidad de β -mercaptoetanol, o los propios componentes del CTAB (Tabla 7). El cuantificado se hizo de las muestras se realizó en un espectrofotómetro (Nanodrop ND-1000). Para las muestras se tomaron 2 hojas de *S. sediforme*. Las realizaciones de las pruebas de ajuste del método se realizaron con muestras cogidas en

distintos momentos. Las primeras muestras fueron tomadas inmediatamente tras la prospección de plantas en el campo, las segundas una vez que la planta ya está adaptada al cultivo. La diferenciación en la época de recolección de las muestras resulta singularmente importante ya que el ajuste fue satisfactorio en las correspondientes a otoño y con los mismos ajustes en primavera los resultados fueron distintos. Siendo usadas para la realización de todas las pruebas de otoño 3 poblaciones (SS-ONTINYENT-1; SS-BENICASSIM-1; SS-CANYADA-1) con diferencias en cuanto a su longitud de hoja con 5 repeticiones de cada uno.

Tabla 8. Pruebas de ajuste del protocolo de extracción ADN de *S. sediforme*. Elaboración Propia.

		AJUSTES RESPECTO AL PROTOCOLO ORIGINAL
MUESTRAS OTOÑO	β-mercaptoetanol	Aumento 10 veces desde 1,4 µl a 14µl
	Triturado de las muestras	tubos eppendorf de 1,5 ml y 2 ml
		Variación del número de bolitas para el triturado (2, 3 y 4)

3.5 Validación de marcadores microsatélites en *S. sediforme*

La existencia de una batería de marcadores microsatélites (Tabla8) en una especie cercana a *S. sediforme* como es *Sedum alfredii* (Hui-run Huang, 2008), generó la necesidad de la comprobación de si estos eran válidos para la especie a la que concierne nuestro estudio. Con el ADN obtenido de las extracciones fueron probados la batería de marcadores moleculares descritos en el estudio de *S. alfredii*. Estos marcadores polimórficos se crearon para seleccionar genotipos de *S. alfredii* que presentan la capacidad de acumular Zn y Cd en suelos contaminados, ya que se descubrió la capacidad de esta especie para la absorción de los mismos en suelos contaminados. Presentando un uso potencial como especie fitoremediadora en suelos que presentan altas concentraciones de estos elementos químicos.

La amplificación de los microsatélites y el genotipado se realizaron de acuerdo con el siguiente protocolo. Las PCR se realizaron en volúmenes de reacciones de 15 µl con las condiciones: 50 ng de ADN molde, 0,4 µM de cada cebador, 200 µM de dNTP, 1 x tampón Taq (100 mM Tris-HCl, pH 8,8, 2,0 mM MgCl₂, 200 mM (NH₄)₂SO₄, Tween 20 al 0,1%) y 0,5 U de Taq polimerasa (TaKaRa). Las condiciones de ciclación en un termociclador PTC-200 fueron 94°C durante 5 min de desnaturalización inicial, luego 35 ciclos de 94°C durante 30 s, 51-58°C (optimizado para cada lugar, Tabla 1) durante 40 s, 72° C durante 30 s, luego una extensión final de 72 ° C durante 10 min. Los amplicones se desnaturalizaron a 95°C durante 7 min, luego se separaron en geles de agarosa al 1,5% desnaturalizantes al 6% y se visualizaron mediante tinción de blue-red. Los alelos se identificaron por comparación con una escala de marcador de ADN de 100 pb.

Tabla 9. Características de los 8 marcadores de *Sedum alfredii* (Hui-run Huang, 2008).

Locus	Secuencia del Primer (5'-3')	Motivo repetido	Tamaño del alelo (bp)	T _a (°C)
SaH002	F: GACTAAGCAAGCCAGACTCC	(CCCTCT) ₅	217-233	58
	R: AGAGTTATCAGAGACTCCAAGC			
SaH021	F: CGAATGGAGGTTAGTTGATG	(GA) ₁₁	224-228	58
	R: GAGTCTGCTGAAGCTGTGTT			
SaH022	F: TGGCAATGTCTCCACCTGAAAT	(GA) ₁₀	159-171	53
	R: CGAGAGAACAATCGGAAAACA			

Tabla 9. Continuación. Características de los 8 marcadores de *Sedum alfredii* (Hui-run Huang, 2008).

SaH093	F: TTGGGTAGGTAAGGTAAGC	(TC) ₁₂	253–261	55,5
	R: GAGACAAAGGCAGAGCATC			
SaH095	F: CTCCATCATCGTCATCAAAC	(AG) ₁₁	217–229	58
	R: ATGTACGTGATCTCCAACG			
SaH096	F: CCTTCGCTTTTATCAAATCAT	(AG) ₁₃	233–265	56
	R: CGGCCATACCTTTATCTTCTC			
SaH110	F: TTACCAACTCCTCACCTTCC	(CT) ₁₂	236–240	51
	R: TCGGAGTAGGAAGCAATTAG			
SaH123	F: CGAGACTAACATAACAGTAGCGTAA	(GA) ₁₀	250–268	56
	R: CTCGGTCAAATGATCCAAA			

Tabla 10. Experimentos realizados para evaluar la presencia de los microsatélites en la población de *S. sediforme*.

	OBJETIVO	MUESTRAS USADAS	POBLACIONES USADAS
Experimento 1	Observar si existe amplificación de los marcadores (se usaron los 8 marcadores)	2 muestras de ADN genómico de cada población: una de ADN extraído en otoño y otra de ADN en primavera.	SS- ALCALADEXIVERT-2, SS- IBI-1, SS- BIAR-1, SS- CANYADA-1, SS- ALMENARA-1, SS- ALBERI-1 y SS- BENISSODA-1
Experimento 2	Evaluar si existe amplificación de los marcadores en las distintas especies que existen en la colección de <i>Sedum spp.</i> (todos los marcadores)	3 Muestras de <i>S. sediforme</i> (ADN genómico extraído en otoño)	SS-BOCAIRENT-1, SS-CASINOS-1, SS-TALES-1
		3 Muestras de <i>S. album</i> (ADN genómico extraído en otoño)	SA-ADEMUÇ-1, SA-MORELLA-1, SA-AGRES-1
		1 muestra de <i>S. acre</i> (ADN genómico extraído en otoño)	SAC-ARASDEOLMOS-1
		1 Muestra de <i>S. dashyphyllum</i> (ADN genómico extraído en otoño)	SD-AGRES-1
Experimento 3	En los experimentos anteriores, uno de los marcadores el SaH110, fue el único que arrojó resultados positivos. A consecuencia de ello se decidió aplicar dicho marcador a toda la colección de plantas.	Muestras de ADN genómico de todas las entradas de la colección de <i>S. sediforme</i> pertenecientes al territorio autonómico valenciano. Estas fueron extraídas durante el periodo primaveral.	88

4. Resultados y discusión

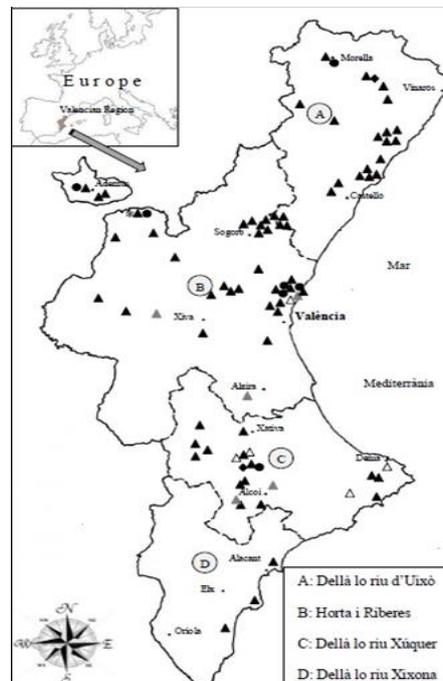
4.1 Caracterización del material vegetal.

La colección de poblaciones recolectadas fue catalogada en distintas especies y subespecies según las claves del tratado de Flora ibérica, Plantas vasculares de la península ibérica e islas baleares. Quedando agrupadas de la manera que se ve en la tabla 11.

Tabla 11. Clasificación botánica de las poblaciones de *Sedum spp.* de la colección

Especie	Número de poblaciones de la colección	Media longitud hoja	Media anchura hoja	Color pétalos flor	Sección transversal hoja
<i>S. sediforme</i> subsp. <i>sediforme</i>	83	1,60±0,29	0,41±0,08	Blanco	Plana convexa
<i>S. sediforme</i> intermedio	4	1,61±0,29	0,43±0,04	Intermedio entre blanco y amarillo	Plana convexa
<i>S. sediforme</i> subsp. <i>Dianium</i>	5	1,67±0,33	0,46±0,02	Amarillo	Plana convexa
<i>S. album</i>	11	1,52±0,34	0,24±0,06	Blanco	Circular
<i>S. dasyphyllum</i>	3	1,31±0,33	0,22±0,07	Blanco	Plana convexa
<i>S. acre</i>	1	0,46±0,00	0,21±0,00	Amarillo	Plana convexa

A partir de la determinación y/o comprobación de la especie botánica de cada población, se puede observar como la especie *S. sediforme* (88 poblaciones) se encuentra ampliamente distribuida por todos los territorios valencianos. Hemos podido identificar otras especies del género *Sedum* coexistiendo con *S. sediforme*. Este ha sido el caso de la especie *S. album*, encontrada en 8 localidades, y en 7 de estos casos mezcladas con los individuos de *S. sediforme*. Otra especie encontrada de forma adyacente a la del motivo del presente trabajo ha sido *S. dasyphyllum* (3 localidades) y *S. acre* (1 localidad). Estas poblaciones de otras especies se han incluido en los posteriores puntos del trabajo como controles comparativos.



▲ *S. sediforme* subsp. *sediforme* ▲ *S. sediforme* intermedio △ *S. sediforme* subsp. *dianium* ● *S. album* ◆ *S. dasyphyllum* * *S. acre*

Fig. 14. Distribución geográfica de las poblaciones de *Sedum spp.* de la colección dentro de los territorios forales históricos del antiguo reino de Valencia

4.1.1 Caracterización morfológica.

La colección de *S. sediforme* prospectada ha mostrado una gran variabilidad principalmente para los caracteres morfológicos de tallo y hoja (tabla 12). La mayor variación se ha observado en los caracteres longitud de hoja, anchura hoja, altura hoja, apéndice de la hoja, pigmentación de la hoja, intensidad pigmentación, sección de la hoja y diámetro del tallo vegetativo, siendo significativas las diferencias observadas dentro de la colección para los mismos.

Tabla 12. Caracteres significativos de la población de *S. sediforme*.

Carácter	AMBIENTE	Promedio (cm)	Desviación Estándar	Razón-F	Valor-P	Grupos Homogéneos prueba LSD
Longitud de hoja	Invernadero	1,62	0,28	17,99	0,002	A
	Jardín urbano	1,54	0,28			B
	Parcela	1,53	0,26			B
	Carácterización Previa	1,46	0,34			C
Anchura hoja	Invernadero	0,38	0,06	14,89	0,000	A
	Jardín urbano	0,40	0,08			B
	Parcela	0,40	0,07			B
	Carácterización Previa	0,45	0,09			C
Altura hoja	Invernadero	0,22	0,04	17,3	0,000	A
	Jardín urbano	0,23	0,04			A
	Parcela	0,24	0,05			B
	Carácterización Previa	0,26	0,04			C
Apéndice de la hoja	Invernadero	1,61	0,57	40,98	0,000	B
	Jardín urbano	1,82	0,41			BC
	Parcela	1,93	0,25			C
	Carácterización Previa	0,73	1,43			A
Pigmentación de la hoja	Invernadero	0,27	0,90	8,47	0,000	A
	Jardín urbano	0,66	1,16			B
	Parcela	1,16	1,53			C
	Carácterización Previa	0,61	1,10			AB
Intensidad pigmentación	Invernadero	0,19	0,63	73,8	0,000	A
	Jardín urbano	0,60	1,15			B
	Parcela	0,96	1,33			C
	Carácterización Previa	2,27	0,67			D
Sección de la hoja	Invernadero	2,29	0,60	24,14	0,000	BC
	Jardín urbano	2,19	0,65			B
	Parcela	2,41	0,60			C
	Carácterización Previa	1,69	0,59			A
Diámetro del tallo vegetativo	Invernadero	0,27	0,05	17,79	0,000	A
	Jardín urbano	0,29	0,05			B
	Parcela	0,29	0,05			B
	Carácterización Previa	0,32	0,06			C

4.1.1.1 Caracterización morfológica previa.

En base a la variabilidad observada se ha procedido a la agrupación de las poblaciones mediante un análisis de la medida de distancia o similitud (figura 15). Como era de esperar en la primera agrupación las 88 poblaciones de *S. sediforme* valencianas se dividen en 10 grupos, cuatro de ellos con al menos 20 individuos. El análisis de los miembros de estos grupos, en atención a su origen geográfico, no se sugiere una relación directa con los lugares en los que fueron prospectados.

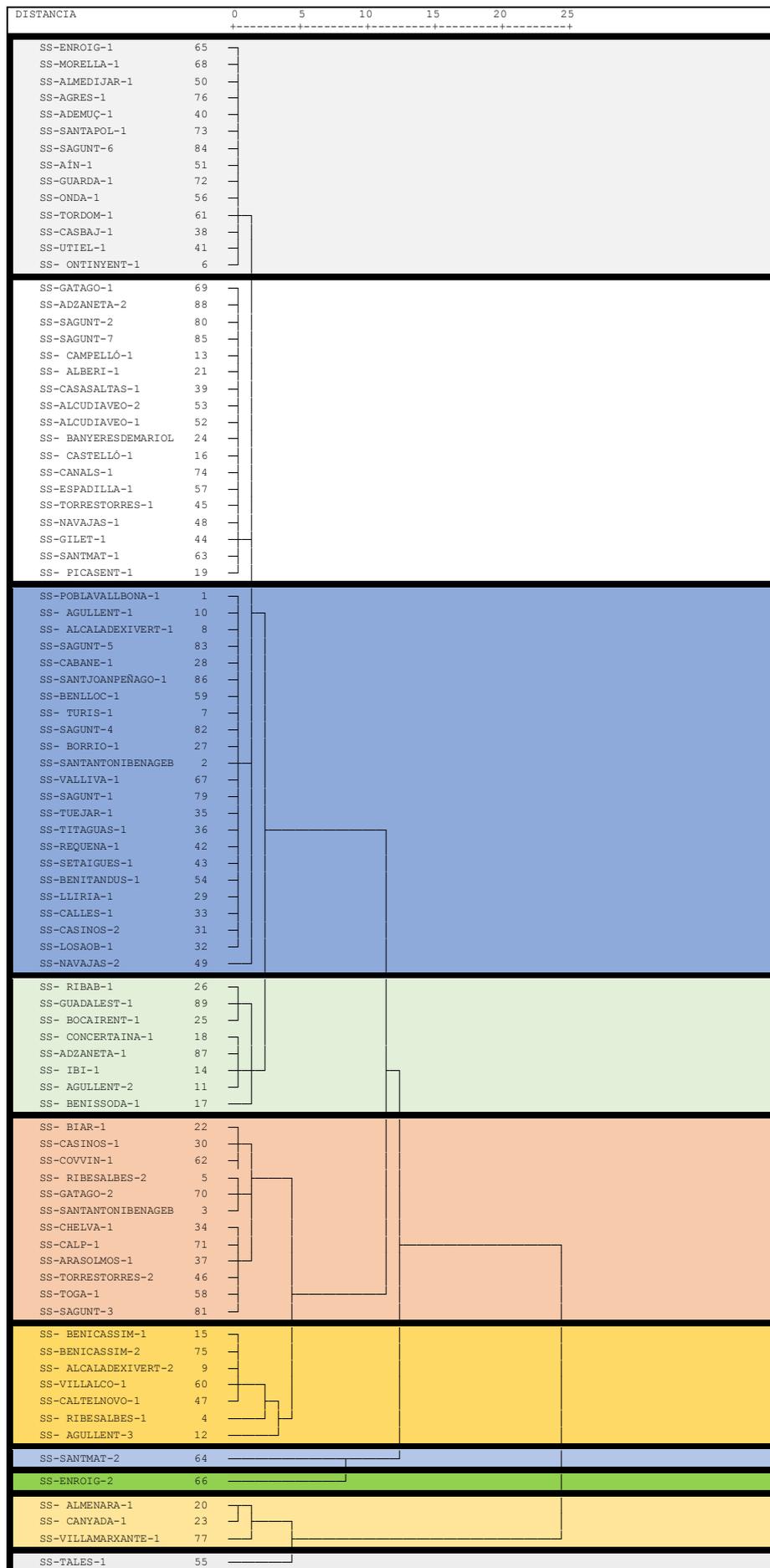


Fig. 15. Agrupación de poblaciones con los datos de la caracterización preliminar

4.1.1.2 Caracterización de las réplicas.

Se procedió a la agrupación de las poblaciones en los diferentes ambientes en los que posteriormente se han cultivado (figura 16, figura 17 y figura 18). En el ambiente de invernadero se observa una reducción de 10 grupos iniciales (caracterización previa) a un total de 6 grupos, y en 3 de ellos tan solo hay un miembro. En consecuencia, el cultivo en condiciones controladas hace que los caracteres morfológicos evaluados se homogeneicen entre las distintas poblaciones evaluadas. O lo que es lo mismo, que algunas de las diferencias encontradas entre poblaciones en estado silvestre eran debidas a diferencias en las zonas agroclimáticas en que se encontraban.

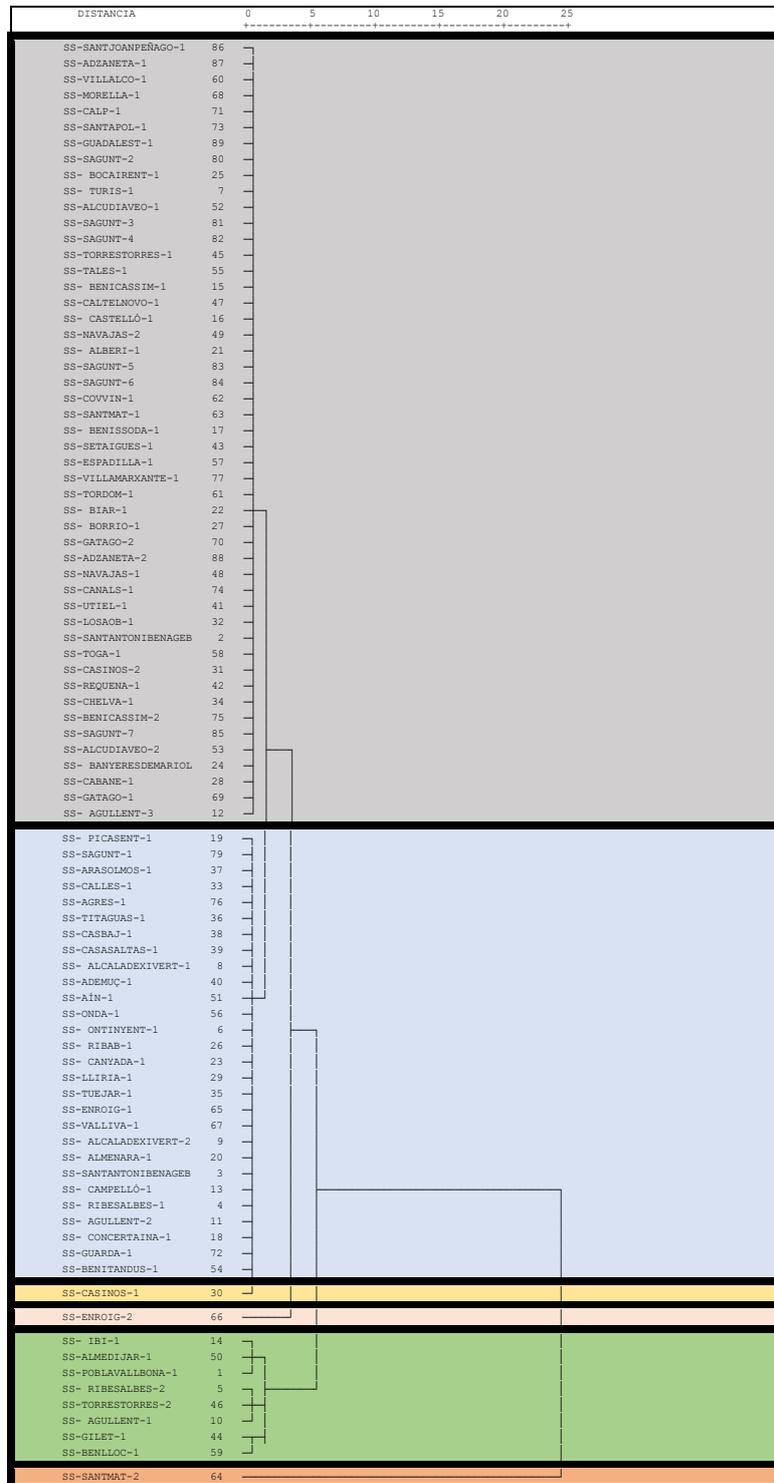


Fig. 16. Agrupación de poblaciones con los datos de la caracterización de la réplica de invernadero.

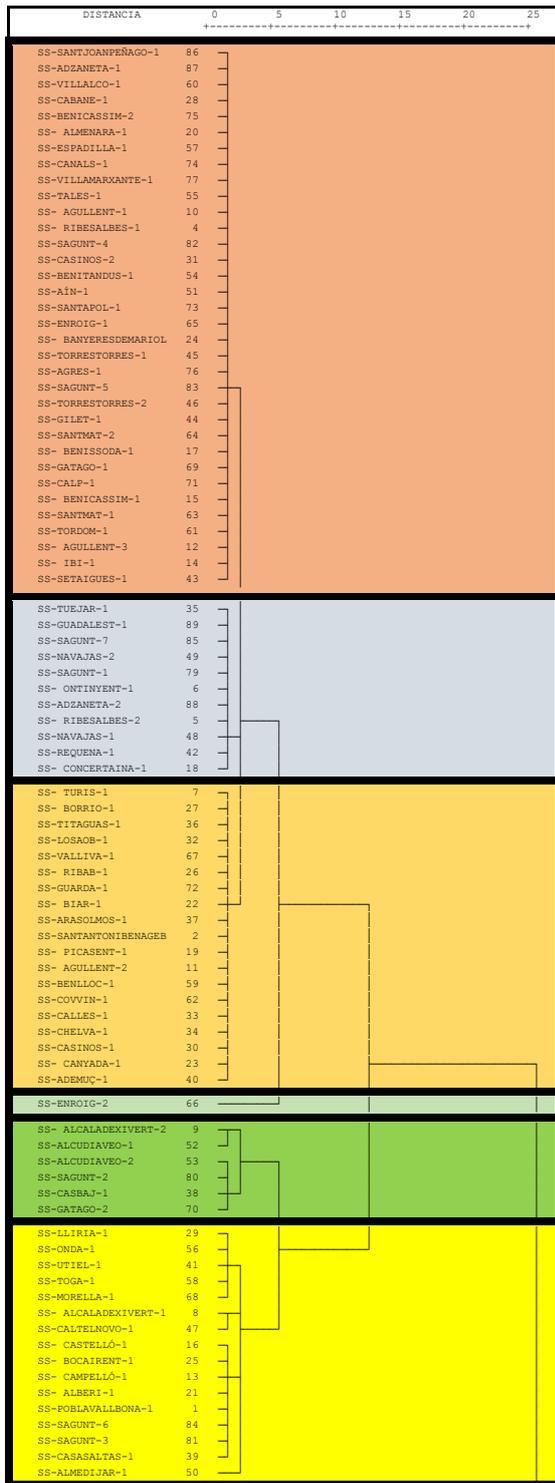


Fig. 17. Agrupación de poblaciones con los datos de la caracterización de la réplica en la parcela.

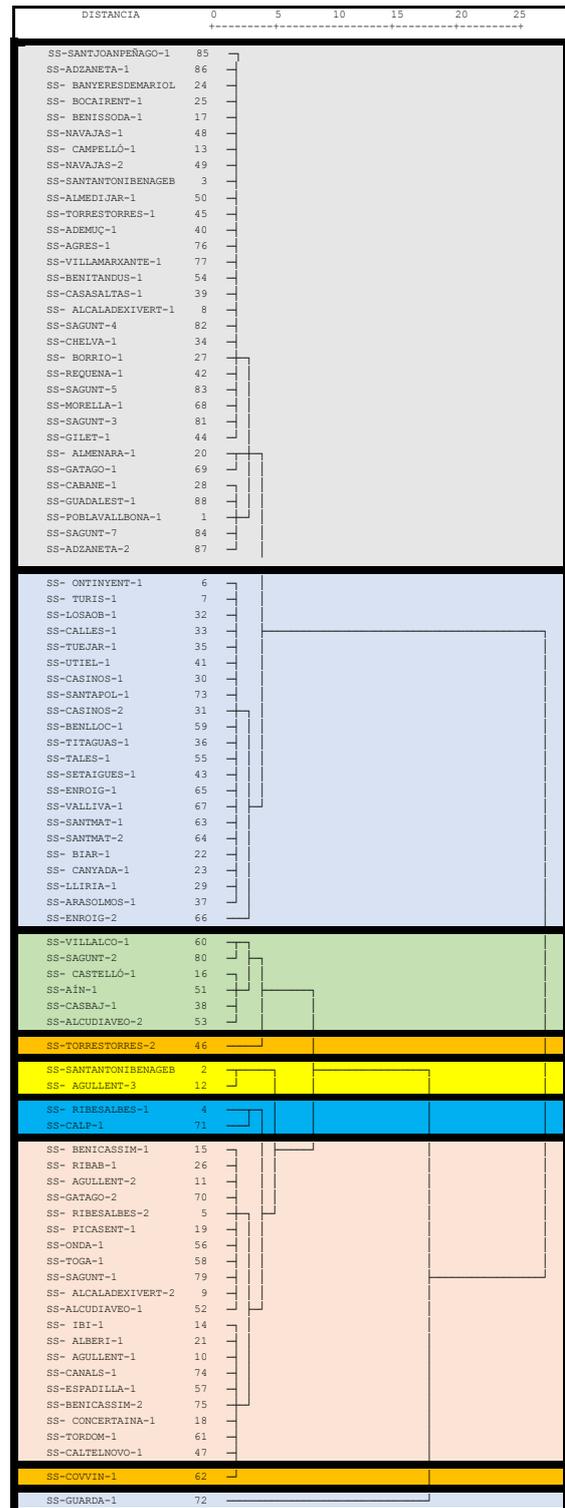


Fig. 18. Agrupación de poblaciones con los datos de la caracterización de la réplica de jardín urbano.

En las 2 repeticiones al aire libre, también se reducen el número total de grupos a 6 y 7, en la réplica de parcela (figura 4) y la de jardín urbano (figura 5) respectivamente. Pero la gran mayoría de las poblaciones se agrupan en 5 y 4 respectivamente. Esto unido a que algunos grupos coinciden parcialmente en su composición en ambos ambientes nos está indicando que las condiciones climáticas de los mismos son muy parecidas y distintas al ambiente de invernadero.

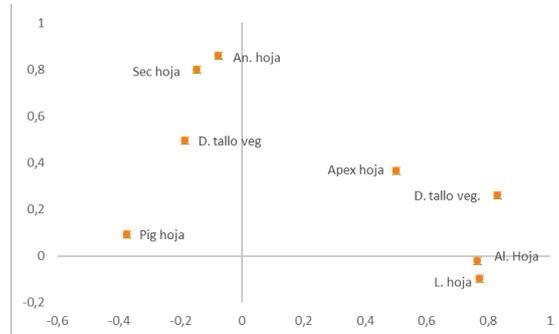


Fig. 19. ACP de la caracterización previa

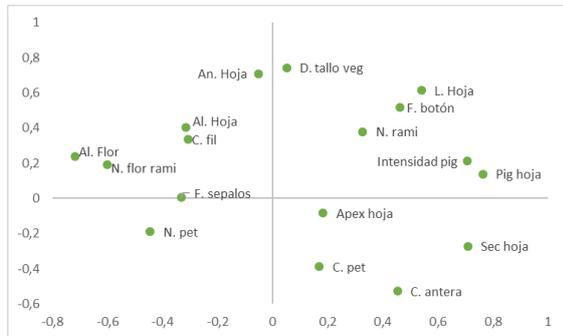


Fig. 20. ACP de la réplica de la Parcela

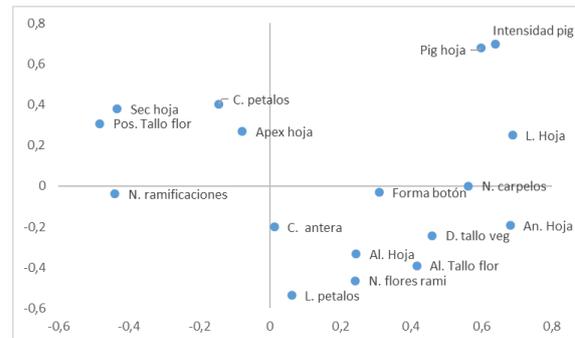


Fig. 21. ACP de la réplica de jardín urbano

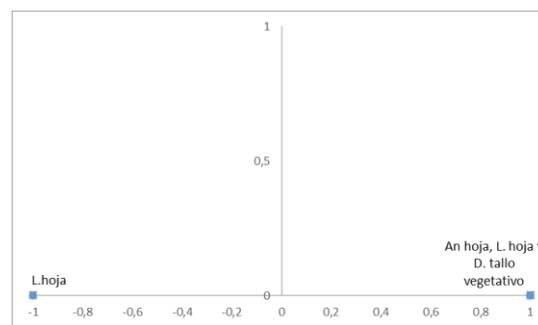


Fig. 22. ACP de la réplica de Invernadero

El análisis de componentes principales se realizó también en los 4 supuestos (caracterización previa y cada uno de los ambientes en que se situó una de las réplicas). Fue observado que los caracteres de hoja (longitud, anchura, altura y sección) explicaban muy bien la población de plantas silvestres (caracterización previa). En las réplicas al aire libre se mantienen esos caracteres explicativos relativos a las hojas, añadiendo la pigmentación e intensidad de las hojas y algunos otros relativos a la floración como son la altura del tallo floral y el número de flores por ramificación. Está similitud nos da a entender que ante un ambiente similar los genotipos evolucionan de forma parecida. Esto último se determina por el contraste que se observó en relación con el ambiente de invernadero. En este último con tan solo 4 caracteres podemos explicar la variación del 100% de la colección de poblaciones de *S. sediforme* de la autonomía valenciana.

Tabla 13. Matriz de correlaciones.

	Longitud de hoja	Anchura hoja	Altura hoja	Apéndice de la hoja	Pigmentación de la hoja	Intensidad pigmentación	Sección de la hoja	Diámetro del tallo vegetativo	Altura del tallo inflorescencia	Posición tallo inflorescencia	Número de ramificaciones	Número de flores por ramificación	Forma botón floral	Forma de los sepalos	Número de pétalos	Longitud pétalos (mm)	Color pétalos	Número de carpelos	Color del filamento	Color de la antera
Longitud de hoja	1	0,367	0,141	-0,007	0,014	-0,036	-0,121	0,309	-0,163	-0,056	-0,081	-0,054	0,142	-0,112	-0,099	0,009	-0,133	0,234	-0,137	0,027
Anchura hoja	0,367	1	0,558	-0,088	0,09	0,209	-0,3	0,493	0,04	-0,265	0,118	0,033	0,246	-0,017	-0,084	-0,093	-0,276	0,238	-0,101	-0,044
Altura hoja	0,141	0,558	1	-0,106	0,106	0,284	0,016	0,334	0,046	-0,004	0,247	0,288	-0,123	-0,102	0,064	0,036	-0,083	0,116	0,034	0,034
Apéndice de la hoja	-0,007	-0,088	-0,106	1	0,352	-0,213	0,28	-0,188	-0,058	0,123	0,198	-0,131	-0,099	0,059	-0,037	-0,072	-0,061	0,059	0,193	0,105
Pigmentación de la hoja	0,014	0,09	0,106	0,352	1	0,61	0,071	0,028	-0,065	-0,09	0,038	-0,122	0,287	-0,126	-0,231	-0,168	0,147	0,203	0,007	-0,029
Intensidad pigmentación	-0,036	0,209	0,284	-0,213	0,61	1	-0,199	0,213	-0,104	-0,045	0,064	-0,063	0,183	-0,113	-0,044	-0,219	0,054	0,253	-0,075	0,016
Sección de la hoja	-0,121	-0,3	0,016	0,28	0,071	-0,199	1	-0,226	-0,234	0,349	0,115	-0,157	-0,028	-0,033	-0,231	-0,221	0,282	-0,033	0,101	0,258
Diámetro del tallo vegetativo	0,309	0,493	0,334	-0,188	0,028	0,213	-0,226	1	0,022	-0,291	0,053	0,208	0,018	0,046	-0,029	-0,056	-0,049	0,349	-0,038	-0,007
Altura del tallo inflorescencia	-0,163	0,04	0,046	-0,058	-0,065	-0,104	-0,234	0,022	1	-0,14	0,017	0,505	0,295	0,137	0,154	0,381	-0,086	0,188	0,349	-0,301
Posición tallo inflorescencia	-0,056	-0,265	-0,004	0,123	-0,09	-0,045	0,349	-0,291	-0,14	1	0,124	-0,139	-0,012	-0,052	0,033	0,063	0,114	-0,052	0,162	-0,092
Número de ramificaciones	-0,081	0,118	0,247	0,198	0,038	0,064	0,115	0,053	0,017	0,124	1	0,041	0,159	-0,084	0,053	-0,247	-0,136	-0,084	0,15	-0,149
Número de flores por ramificación	-0,054	0,033	0,288	-0,131	-0,122	-0,063	-0,157	0,208	0,505	-0,139	0,041	1	-0,002	0,219	0,191	0,099	-0,204	0,154	0,068	-0,172
Forma botón floral	0,142	0,246	-0,123	-0,099	0,287	0,183	-0,028	0,018	0,295	-0,012	0,159	-0,002	1	-0,086	-0,247	0,027	0,113	-0,086	0,267	-0,152
Forma de los sepalos	-0,112	-0,017	-0,102	0,059	-0,126	-0,113	-0,033	0,046	0,137	-0,052	-0,084	0,219	-0,086	1	0,016	0,03	-0,088	-0,025	0,078	-0,044
Número de pétalos	-0,099	-0,084	0,064	-0,037	-0,231	-0,044	-0,231	-0,029	0,154	0,053	0,053	0,191	-0,247	0,016	1	-0,019	-0,064	0,016	-0,049	0,028
Longitud pétalos (mm)	0,009	-0,093	0,036	-0,072	-0,168	-0,219	-0,221	-0,056	0,381	0,063	-0,247	0,099	0,027	0,03	-0,019	1	-0,032	0,03	-0,095	0,054
Color pétalos	-0,133	-0,276	-0,083	-0,061	0,147	0,054	0,282	-0,049	-0,086	0,114	-0,136	-0,204	0,113	-0,088	-0,064	-0,032	1	-0,088	0,201	-0,044
Número de carpelos	0,234	0,238	0,116	0,059	0,203	0,253	-0,033	342(*)	0,188	-0,052	-0,084	0,154	-0,086	-0,025	0,016	0,03	-0,088	1	0,078	-0,044
Color del filamento	-0,137	-0,101	0,034	0,193	0,007	-0,075	0,101	-0,038	0,349	0,162	0,15	0,068	0,267	0,078	-0,049	-0,095	0,201	0,078	1	-0,571
Color de la antera	0,027	-0,044	0,034	0,105	-0,029	0,016	0,258	-0,007	-0,301	-0,092	-0,149	-0,172	-0,152	-0,044	0,028	0,054	-0,044	-0,044	-0,571	1

Como se relaciona un carácter con otro, lo recoge en la matriz de correlaciones de la tabla 13, observando pues que existe una interacción positiva entre la longitud de la hoja, con el diámetro del tallo vegetativo. De igual modo está relacionada la altura y la anchura de la hoja. Como era de esperar la pigmentación y la intensidad de pigmentación están muy unidas. En el caso de caracteres de inflorescencia la altura de la misma está ligado al número de flores por ramificación, de manera opuesta ocurre esto con el color de filamento y la antera cuya correlación es negativa.

4.1.2 Establecimiento de estados fenológicos y uso en el seguimiento del ciclo biológico en la colección de poblaciones de *S. sediforme*.

Utilizando los estados fenológicos establecidos previamente se realizó un seguimiento de las 107 poblaciones de *Sedum* spp. (92 de *S. sediforme*, 11 de *S. álbum*, 3 de *S. dasyphyllum* y 1 de *S. acre*). De dicha recolección de datos se extrajo que un total de 36 poblaciones florecieron, al menos en uno de los ambientes en los que fueron cultivados (tabla 4). De estas 36 poblaciones 31 pertenecen a *S. sediforme* València (autonomía) y 5 serán controles ya mencionados (poblaciones de *S. sediforme* no valencianas o poblaciones de otras especies). La existencia de poblaciones de *S. sediforme* que no florecieron puede ser debida a que los tallos que dan lugar a la floración tienen que poseer al menos una sabia (terminología de arboricultura), es decir, un ciclo de vegetación anual previo (Emilio Laguan, 2015). Por lo tanto, esto indicaría que no todos los tallos usados para la creación de los distintos clones tenían la misma edad. Al mismo tiempo se observa como el número de poblaciones en floración dentro de la colección de réplicas que se cultivó en invernadero es mucho menor, tan solo 6 de ellas subieron a flor, en contraposición con los dos ambientes al aire libre donde el número fue de 26 y 21 respectivamente.

En cuanto a la fecha y la duración de la floración se ha observado también variación. Las poblaciones que llegaron a florecer necesitaron un periodo aproximado de 60 días, para desarrollar las inflorescencias y completar el proceso de floración. Este proceso se da lugar desde principios de junio hasta final de Julio. La duración de la floración fue aproximadamente de 45 días, en aquellas que han completado todo el ciclo y han podido ser observadas en el periodo de toma de datos (finalizó el 1 de agosto). Existe pues una uniformidad en cuanto a la información referente a las épocas de floración con las de los ensayos (Flora ibérica, Plantas vasculares de la península ibérica e islas baleares, 2015).

Tabla 14. Colección de poblaciones que han llegado a floración. Características florales.

ECOTIPO	ALGUNA RÉPLICA EN FLOR	REPLICA	COLOR FLOR	Número de ramificaciones	Número de flores por ramificación	Número total de flores	Inicio Floración
SS-SANTANTONIBENAGEBER-1	FLORACIÓN	Jardín	Blanco	3	15	45	30/06/2017
SS- ALCALADEXIVERT-1	FLORACIÓN	Parcela	Blanco	3	12	35	30/06/2017
SS- ALCALADEXIVERT-2	FLORACIÓN	Jardín	Blanco	3	12	37	09/06/2017
SS- AGULLENT-3	FLORACIÓN	Jardín y Parcela	Amarillo	4	11	39	09/06/2017
SS- CAMPELLÓ-1	FLORACIÓN	Jardín	Blanco	3	12	36	09/06/2017
SS- CASTELLÓ-1	FLORACIÓN	Parcela	Blanco	3	8	24	28/07/2017
SS- BENISSODA-1	FLORACIÓN	Jardín y Parcela	Amarillo	4	20	69	30/06/2017
SS- CONCERTAINA-1	FLORACIÓN	Jardín y Parcela	Intermedio	3	16	48	23/06/2017
SS- ALBERI-1	FLORACIÓN	Jardín y Parcela	Intermedio	4	16	56	09/06/2017
SS- BIAR-1	FLORACIÓN	Jardín	Blanco	3	12	37	23/06/2017
SS- CANYADA-1	FLORACIÓN	Jardín	Intermedio	4	12	46	23/06/2017
SS- BANYERESDEMARIOLA-1	FLORACIÓN	Jardín	Blanco	4	27	106	30/06/2017
SA-CIUREA-2	FLORACIÓN	Parcela	Blanco	3	22	74	23/06/2017
SS-CASINOS-1	FLORACIÓN	Jardín	Blanco	4	12	49	30/06/2017
SS-SETAIGUES-1	FLORACIÓN	Jardín y Parcela	Intermedio	4	14	56	14/07/2017
SS-GILET-1	FLORACIÓN	Jardín	Blanco	4	24	96	09/06/2017
SS-TORRESTORRES-1	FLORACIÓN	Jardín	Blanco	3	12	36	09/06/2017
SS-NAVAJAS-1	FLORACIÓN	Jardín	Blanco	3	16	49	28/07/2017
SS-ALMEDIAR-1	FLORACIÓN	Jardín	Blanco	3	16	48	16/06/2017
SS-ALCUDIAVEO-1	FLORACIÓN	Jardín	Blanco	4	17	68	16/06/2017
SS-TALES-1	FLORACIÓN	Jardín	Blanco	3	10	31	16/06/2017
SS-ONDA-1	FLORACIÓN	Jardín y Parcela	Blanco	4	11	46	23/06/2017
SD-VALLIVA-3 (CONTROL)	FLORACIÓN	Invernadero y Pardela	Blanco	5	1	5	16/06/2017
SS-GATAGO-1	FLORACIÓN	Parcela	Amarillo	5	1	5	23/06/2017
SS-ELPERELLÓ-1 (CONTROL)	FLORACIÓN	Parcela	Blanco	3	32	96	21/07/2017
SA-SAGUNT-1 (CONTROL)	FLORACIÓN	Invernadero y Jardín	Blanco	5	13	63	02/06/2017
SD-SAGUNT-1 (CONTROL)	FLORACIÓN	Todas las replicas	Blanco	3	21	63	02/06/2017
SA-SAGUNT-3 (CONTROL)	FLORACIÓN	Todas las replicas	Blanco	3	16	48	02/06/2017
SS-SAGUNT-1	FLORACIÓN	Parcela	Blanco	3	15	45	23/06/2017
SS-SAGUNT-2	FLORACIÓN	Jardín y Parcela	Blanco	3	22	65	14/07/2017
SS-SAGUNT-3	FLORACIÓN	Jardín y Parcela	Blanco	2	18	35	09/06/2017
SS-SAGUNT-4	FLORACIÓN	Parcela	Intermedio	3	28	85	23/06/2017
SS-SAGUNT-5	FLORACIÓN	Parcela	Blanco	3	20	61	23/06/2017
SS-SAGUNT-6	FLORACIÓN	Parcela	Amarilla	3	12	35	23/06/2017
SS-SAGUNT-7	FLORACIÓN	Parcela	Blanco	3	20	61	14/07/2017
SS-GUADELEST-1	FLORACIÓN	Invernadero	Amarilla	3	12	35	30/06/2017

Lo más remarcable de los datos obtenidos es que existe tanto variación para la morfología floral (nº de ramificaciones, nº de flores por ramificación y color de las flores), así como en la precocidad y duración de la floración. Debido a que el número de inflorescencias obtenidas en algunas poblaciones ha sido muy bajo, no disponemos de información sobre la significación estadística de estas diferencias observadas. No obstante, los resultados obtenidos son muy interesantes al posibilitar, al menos en cuanto al color de la flor, la selección de materiales con distintos colores para su uso ornamental. También es interesante, en un futuro, y a partir de los materiales de la colección seleccionar poblaciones con distintos tiempos de floración para la posible creación de una variedad mezcla de poblaciones con un tiempo dilatado de floración. Estas variedades son muy adecuadas para jardines con un mínimo mantenimiento como los denominados “jardines urbanos” compuestos por especies crasas o suculentas.

Con respecto a este carácter es de destacar la presencia de formas de *S. sediforme* con flores de color amarillo (SS-AGULLENT-3 y SS-SAGUNT-7) fuera de la zona donde se ha citado la presencia de *S. sediforme* subsp. *dianium* (Emilio Laguan, 2015). Es decir, los resultados obtenidos en este trabajo permiten completar el área de distribución de esta subespecie. Además, cuando florezcan otras de las poblaciones de la colección podremos definir con una mayor exactitud el ámbito de distribución de la misma en los distintos territorios valencianos. Otra cosa remarcable es que, como ya indica la morfología floral de *S. sediforme*, esta especie debe de poseer un porcentaje importante de alogamia o incluso ser alogama estricta. En este sentido, se han identificado poblaciones con un color de flor intermedio entre blanco y amarillo (SS-CONCERTAINA-1, SS-ALBERI-1, SS-CANYADA-1, SS-SETAIGUES-1 y SS-SAGUNT-4). Incluso en poblaciones colectadas en una misma localidad como es el caso de las 7 poblaciones procedentes del Castell de Sagunt se ha observado variabilidad para longitud, anchura de la hoja y color de la flor. Esto sugiere, por una parte, que el control genético de este carácter podría ser de dominancia incompleta o aditivo, y por otra, que en estado silvestre posiblemente se cruzan *S. sediforme* subsp. *sediforme* con *S. sediforme* subsp. *dianium* generando formas intermedias no sólo para

el color de las flores sino para la morfología de las hojas. Así, *S. sediforme* subps *dianium* presenta flores amarillas y hojas más alargadas y anchas. Sin embargo, hemos podido identificar poblaciones de *S. sediforme* con hojas tipo *dianium* y flores blancas (SS-CAMPELLO-1, SS-CASTELLÓ-1, SS-GILET-1, SS-ONDA-1 y SS-SAGUNT-3), lo cual reforzaría la idea de que en estado silvestre se cruzan ambas subespecies o variedades. Esta situación podría apoyar las tesis de algunos autores a favor de la existencia de una única especie con variación para morfología de hoja y color de la (Flora ibérica, Plantas vasculares de la península ibérica e islas baleares, 2015).

Un último aspecto para tener en cuenta es el del crecimiento continuado de todas las poblaciones dentro de invernadero, ya que la mayoría de ellas se encuentran en estado C (101 poblaciones) (elongación de tallos) durante todo el periodo de cultivo, a excepción de los que suben a flor (6 poblaciones). Haría falta realizar más estudios para determinar si efectivamente el cultivo bajo invernadero permite producir tallos vegetativos de forma indefinida o este hecho (falta de floración) está causado o debido a que los tallos que se utilizaron para hacer la correspondiente réplica sólo tenían un año. La falta de floración también podría ser debida a la uniformidad en las condiciones climáticas del invernadero que hace que no exista estrés climático (bajadas o subidas bruscas de temperatura o humedad del suelo) que induzcan a la floración (L.P. Moreno, 2009). En el caso de confirmarse la primera opción podría ser interesante la producción de *Sedum sediforme* bajo invernadero para su uso como verdura, tanto para consumo como encurtido (comercializado por la empresa La Pericana de Muro, Cooperativa Valenciana) o como semiprocesado. Esto lo hace adecuado el cultivo como vegetal de consumo, atendiendo a su producción de tallos, elemento que se consume de forma continuada.



Fig. 23. Bote de “Raïmet de Pastor” encurtido.

4.1.3 Determinación de los perfiles de contenido en Vit. C.

El estudio de aquellas poblaciones seleccionadas de *S. sediforme* revela una amplia variabilidad en cuanto a la cantidad total de vitamina C por cada 100 gramos de materia fresca. Aquellas con mayor concentración han sido SS-CASINOS-1 y SS- BIAR-1. Sus concentraciones son muy similares a las del pimiento tipo Lamoyo, variedad MU-CA-3, 84 mg Vit.C /100 g materia fresca (A.M Fernandez-León, 2009), y por lo tanto teniendo en cuenta que la cantidad diaria recomendada de vitamina C se trata de 80 mg (FAO/OMS, 2002). se podrán cubrir con 90 gramos de *S.sediforme* consumidos en fresco. En cualquier caso, la inclusión de nuestro querido “Raïmet de Pastor” en la dieta mediterránea puede ser muy interesante teniendo en cuenta el contenido en vitamina C que hemos podido detectar.

Respecto a las poblaciones de *S. acre* el contenido en vitamina C es demasiado bajo para ser detectado. La población de *S. álbum* y de *S. dasyphyllum* muestran aproximadamente un 50% de contenido respecto a las poblaciones de *S. sediforme* con un mayor contenido.

Tabla 15. Contenido en vitamina C de las poblaciones evaluadas.

Número de entrada	Código	mg Vit.C/100 g m.seca	Longitud de hoja (cm)
41	SAC-ARASOLM-1	ND	0,50
86	SD-AGRES-1	37,90	0,54
17	SS- BENISSODA-1	18,95	0,55
67	SS-COVVIN-1	37,90	0,86
47	SA-ADEMUÇ-1	31,25	0,93
22	SS- BIAR-1	80,36	1,01
96	SS-SAGUNT-1	ND	1,07
69	SS-SANTMAT-2	39,89	1,13
32	SS-CASINOS-1	85,28	1,29
25	SS- BOCAIRENT-1	21,42	1,30
77	SS-GATAGO-1	6,57	1,36
63	SS-TOGA-1	40,08	1,39
24	SS- BANYERESDEMARIOLA-1	34,97	1,45
79	SS-CALP-1	24,23	1,50
51	SS-TORRESTORRES-2	24,92	1,60
45	SS-CASASALTAS-1	22,75	1,62
50	SS-TORRESTORRES-1	20,66	1,66
98	SA-SAGUNT-3	28,33	1,76
14	SS- IBI-1	75,71	1,95
107	SS-GUADALEST-1	18,95	2,08
6	SS- ONTINYENT-1	19,14	2,37
54	SS-NAVAJAS-2	28,33	2,40

4.1.4 Determinación del contenido en polifenoles totales.

El conjunto de poblaciones analizadas para el contenido en polifenoles presenta una gran variabilidad en su contenido. Atendiendo a que los grupos creados para el ensayo fueron por similitud de longitud de hoja, observamos que existen diferencias incluso en poblaciones con idéntica longitud. Esto se ha observado en el caso de SS-CASINOS-1 y SS-BOCAIRENT-1 (longitud de 1,29 y 1,30), o con las poblaciones SS-TORRESTORRES-2 y SS-CASASALTAS-1 (longitud de hoja 1,6 y 1,62). En cualquier caso, esta evaluación preliminar del contenido en polifenoles ha permitido detectar poblaciones como es el caso de SS-SAGUNT-1 con un nivel cercano a los 600 mg de ácido cafeico por 100 gramos de materia fresca. El contenido es similar a diversas bayas y frutillas especialmente fresas, moras, uvas, frambuesas, agraz y mortiño entre otros (Vasco et al., 2008; Gaviria et al., 2009; Capocasa et al., 2008).

Tabla 16. Contenido en polifenoles totales de las poblaciones analizadas.

Número de entrada	Código	mg ácido cafeico/100 g de materia fresca	Longitud de hoja (cm)
41	SAC-ARASOLM-1	36,89	0,50
86	SD-AGRES-1	362,98	0,54
17	SS- BENISSODA-1	154,05	0,55
67	SS-COVVIN-1	297,38	0,86
47	SA-ADEMUÇ-1	548,81	0,93
22	SS- BIAR-1	208,92	1,01
96	SS-SAGUNT-1	576,77	1,07
69	SS-SANTMAT-2	132,29	1,13
32	SS-CASINOS-1	223,89	1,29
25	SS- BOCAIRENT-1	110,54	1,30
77	SS-GATAGO-1	209,63	1,36
63	SS-TOGA-1	399,36	1,39
24	SS- °BANYERESDEMARIOLA-1	341,58	1,45
79	SS-CALP-1	332,69	1,50
51	SS-TORRESTORRES-2	350,14	1,60
45	SS-CASASALTAS-1	185,04	1,62
50	SS-TORRESTORRES-1	259,93	1,66
98	SA-SAGUNT-3	246,02	1,76
14	SS- IBI-1	291,65	1,95
107	SS-GUADALEST-1	134,25	2,08
6	SS- ONTINYENT-1	145,67	2,37
54	SS-NAVAJAS-2	147,63	2,40

De igual manera se realizaron análisis comparativos con las otras especies recolectadas. Se observó que las dos poblaciones de *S. album* varían notablemente en su contenido, al igual que ocurre con las muestras de *S. sedifforme*. No obstante, la población SA-ADEMUS-1 muestra niveles cercanos a 550 mg de ácido cafeico por 100 gramos de materia fresca. Este contenido es muy importante, pero hay que tener en cuenta que *S. album* posee tallos muy cortos y de hojas muy pequeñas. Esta morfología de planta no es muy adecuada para su introducción como hortaliza. Por el contrario *S. acre* posee un contenido muy bajo en términos absolutos.

4.2 Ensayo de reproducción por esqueje de hoja.

El estudio comparativo de la capacidad de regeneración de individuos a partir de hojas de las especies *S. sedifforme*, *S. álbum*, *S. pachyphytum* y *G. paraguayense* mostró porcentajes de regeneración, en esta última especie, comparables a los obtenidos en esta última especie por otros autores (Paul B. Green; Jeanne M. Lang, 1980). Atendiendo pues al resultado satisfactorio de la especie control, se deduce que las condiciones a las que se sometió a las muestras fueron correctas.

El porcentaje de regeneración medio en *S. sedifforme* es del 26,7%. A pesar de no ser un valor muy alto, es mayor que el del *S. album* (15%) y del de *S. pachyphytum* (6,7%). Los resultados obtenidos sugieren que *S. sedifforme* muestra la mejor capacidad de regeneración después del control *G. paraguayense*. Los resultados obtenidos con *S. pachyphytum* han sido aleatorios. Esto creemos que ha sido debido a que esta especie toleran muy mal las elevadas humedades relativas de las cámaras climáticas usadas. En general *S. album* muestra un comportamiento intermedio entre *S. sedifforme* y *S. pachyphytum*. Aunque la frecuencia de regeneración no ha sido muy alta, creemos que este método de reproducción puede en ocasiones ser complementaria al método de reproducción por esquejes, especialmente en aquellas ocasiones en que se dispone de muy poca cantidad de material inicial para establecer un cultivo.

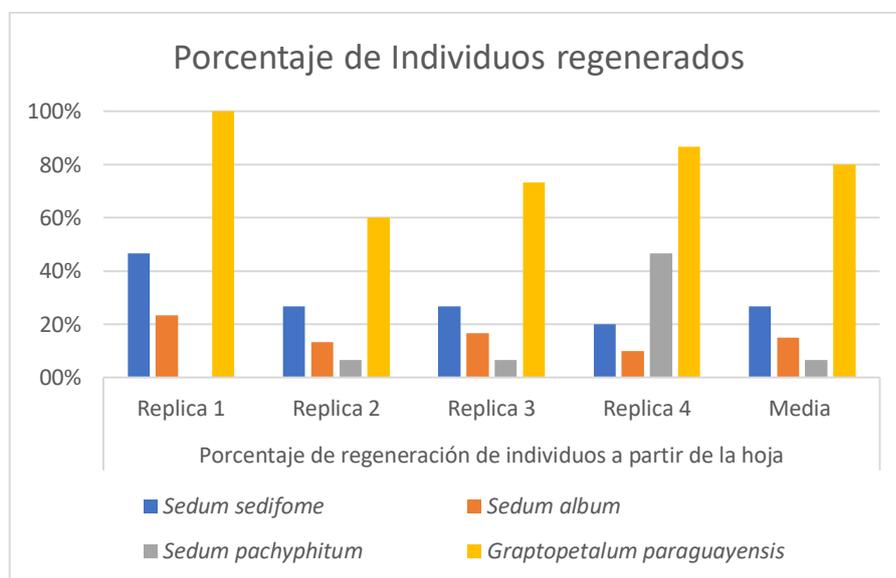


Fig. 24. Porcentaje de individuos regenerados a partir de hoja.

4.3 Puesta a punto del protocolo de extracción de ADN en *S. sediforme*.

Como fue indicado con anterioridad en el apartado de materiales y métodos la puesta a punto del protocolo de ADN consistió en dos fases. En la primera de ellas, se realizó con muestras de las plantas recolectadas en otoño antes de ponerlas en cultivo. Como se puede observar en la tabla 17 se probaron una serie de modificaciones sobre el protocolo base original (Doyle Doyle, 1987) A partir de las distintas opciones probadas (cantidad de β -mercaptoetanol, número de bolas de triturado y tamaño de los tubos de extracción), se observó tras la cuantificación que la combinación de ellos que mejor calidad y cantidad de ADN producía, era la de (14 β -mercaptoetanol, 4 bolas de triturado y 1,5 ml tubos de extracción).

Tabla 17. Evaluación de modificaciones del protocolo original de extracción de ADN y ajustado para *S. sediforme*.

MUESTRAS	PROTOCOLO ORIGINAL						PROTOCOLO AJUSTADO					
	β -mercaptoetanol	Número de bolas para triturado	Tubos eppendorf	ng/ul	260/280	260/230	β -mercaptoetanol	Número de bolas para triturado	Tubos eppendorf	ng/ul	260/280	260/230
SS-ONTINYENT-1	1,4 μ l	2	1,5 ml	58,82	1,94	0,99	14 μ l	2	1,5 ml	465,49	2,11	1,45
		2	2 ml	55,23	1,62	0,69		2	2 ml	535,92	1,51	0,78
		3	2 ml	55,9	1,71	0,88		2	2 ml	96,35	1,97	1,17
SS-BENICASSIM-1		3	1,5 ml	83,66	1,79	0,68		3	1,5 ml	252,78	2,04	1,38
		4	1,5 ml	52,69	1,52	0,61		3	1,5 ml	536,34	1,98	1,14
		4	1,5 ml	79,01	2,1	1,5		4	1,5 ml	320,57	2,1	1,68
SS-CANYADA-1		4	2 ml	72,02	1,68	1,2		4	1,5 ml	386,17	2,14	1,69
		4	2 ml	72,02	1,68	1,2		4	1,5 ml	347,33	2,17	1,94
		4	2 ml	72,02	1,68	1,2		4	2 ml	553,78	2,07	1,45

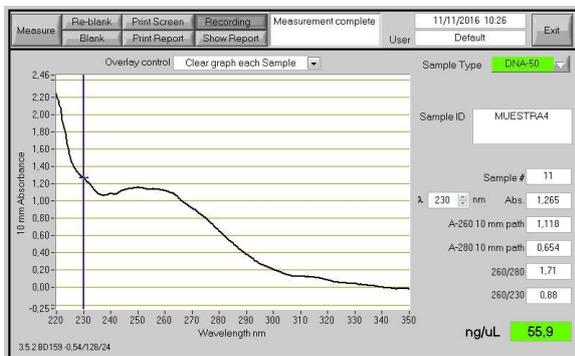


Fig. 25. Grafica calidad ADN. Protocolo original

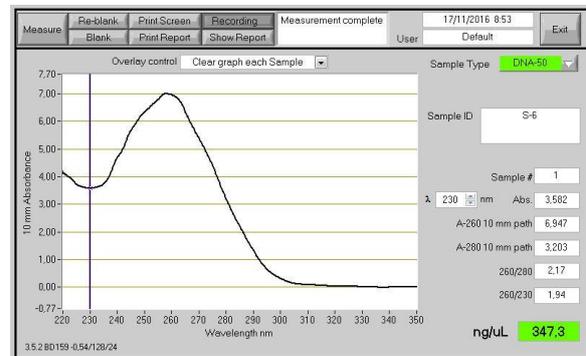


Fig. 26. Grafica calidad ADN. Protocolo ajustado

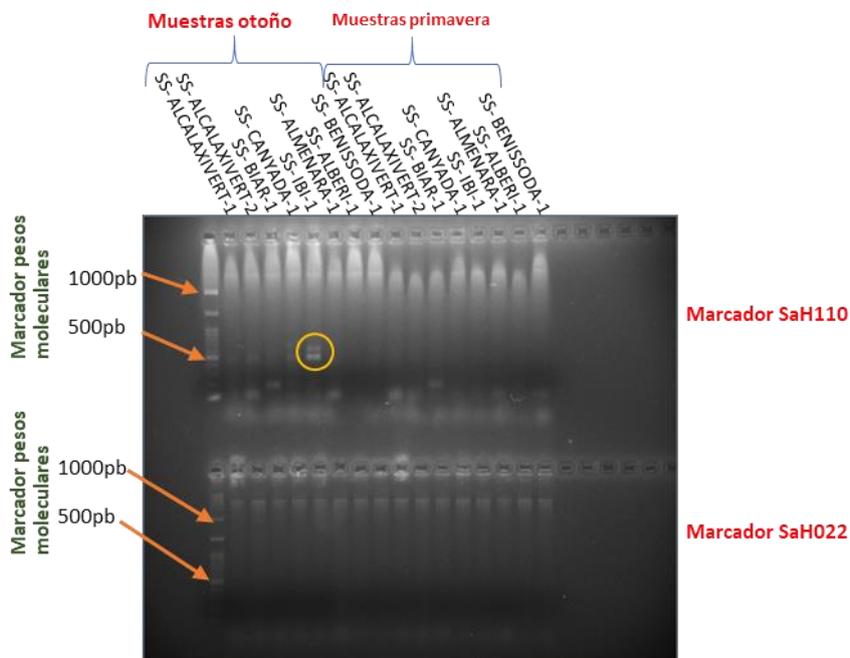
Tras determinar la combinación más óptima, se decidió hacer una evaluación de los ajustes elegidos, analizando 25 poblaciones de la colección de *S. sediforme* y una población de *S. album* a modo de control. Atendiendo a los resultados, más de la mitad de las muestras se ajustan a los parámetros de calidad del ADN (ratios aproximados de ADN aceptables: 260/280 aproximadamente con un valor de 1,9; 280/260 aproximadamente con un valor de 1,6).

Tabla 18. Comprobación de las variaciones del protocolo original de extracción de ADN y ajustado para *S. sediforme*.

ECOTIPO	ng/ul	260/280	260/230	ECOTIPO	ng/ul	260/280	260/230
SS- IBI-1	281,02	2,11	1,79	SS- ONTINYENT-1	395,57	1,98	1,44
SS- TURIS-1	275,31	1,88	0,88	SS-SANT ANT ONIBENAGEBER-1	245,58	2,11	1,71
SS- AGULLENT-3	395,58	1,99	1,29	SS-SANT ANT ONIBENAGEBER-2	250,58	2	1,6
SS- AGULLENT-2	246,78	2,1	1,83	SS-POBLAVALLBONA-1	231,75	2,05	1,7
SS- AGULLENT-1	599,12	2,13	1,79	SS- ALCALADEXIVERT-2	167,86	2,03	1,24
SS- CAMPELLÓ-1	242,63	2,04	1,6	SS- ALCALADEXIVERT-1	376,32	2	1,51
SS- PICASENT-1	599,12	2,03	1,18	SS- ALBERI-1	97,09	1,42	0,65
SS- BENISSODA-1	296,22	2,04	1,5	SS- BANYERESDEMARIOLA-1	188,79	1,84	0,68
SS- CONCERTAINA-1	197,43	1,96	0,69	SS- BIAR-1	149,97	2,01	0,57
SS- BENICASSIM-1	275,48	2,08	0,93	SS- ALMENARA-1	190,03	1,96	0,85
SS- CASTELLÓ-1	445,22	2,04	1,6	SS- CANYADA-1	131,9	1,81	0,61
SS-RIBESALBES-2	412,16	2,02	1,7	SS- BOCAIRENT-1	199,13	1,63	0,5
SS-RIBESALBES-1	440,22	2,03	1,43	SEDUM ALBUM	102,12	1,78	0,73

4.4 Validación de marcadores microsatélites en *S. sediforme*

El proceso de validación de los marcadores moleculares descritos para *S. alfredii* siguió 3 etapas como fue descrito en el apartado de materiales y métodos. El primer paso, denominado, experimento 1, permitía determinar si existía amplificación de ellos en distintas muestras de ADN, utilizando 8 poblaciones de *S. sediforme*. En este primer experimento se observó amplificación para tan solo un marcador, SaH110, y en tan solo en la población de SS-IBI-1 (figura 11). Pero como se puede observar el marcador no amplifica en la zona correcta, que debería ser alrededor de las 250 pb (Hui-run Huang, 2008)., sino que lo hace en la franja que corresponde al doble alrededor de 500 pb.

**Fig. 27.** Imagen del gel. Experimento 1.

En un segundo experimento se probó de nuevo todos los marcadores que se disponía. En esta ocasión fue probado en poblaciones de *S. sediforme*, *S. album*, *S. dasyphyllum* y *S. acre*. No existió amplificación alguna en la muestra representativa de las 4 especies de *Sedum spp.* que forman parte de la colección.

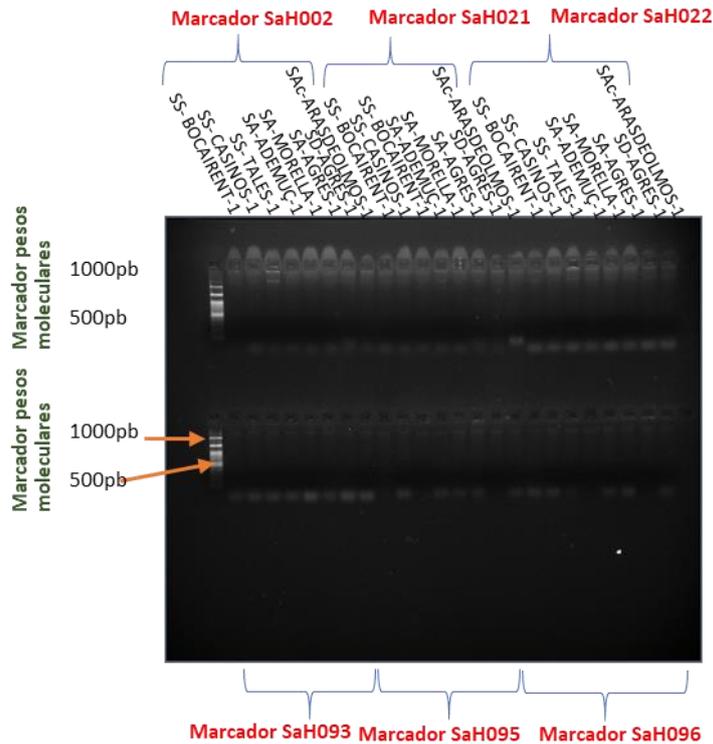


Fig. 28. Imagen del gel. Experimento 2.

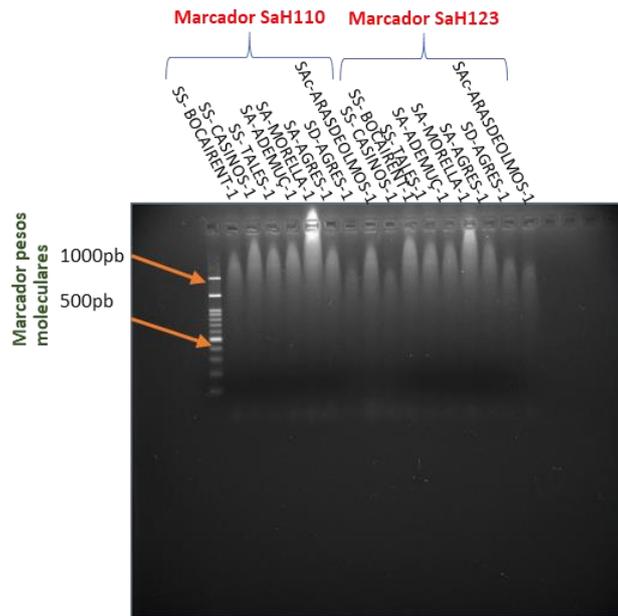


Fig. 29. Imagen del gel. Experimento 2.

En el tercer experimento, en el cual se probó el marcador que amplificaba en la población de *S. sediforme* con código SS-IBI-1, en las 88 poblaciones de la autonomía valenciana, no se consiguió amplificación. Una explicación a la falta de amplificación es que la mayoría de extracciones de ADN se realizaron cuando las poblaciones estaban ya aclimatadas en fase de crecimiento vegetativo. Así hemos podido observar que la cantidad y calidad del ADN extraído en plantas en crecimiento disminuye drásticamente, posiblemente debido a la gran cantidad de polifenoles en hoja. Es necesario ajustar el protocolo de extracción de ADN en estas condiciones para poder evaluar el único marcador que amplifica.

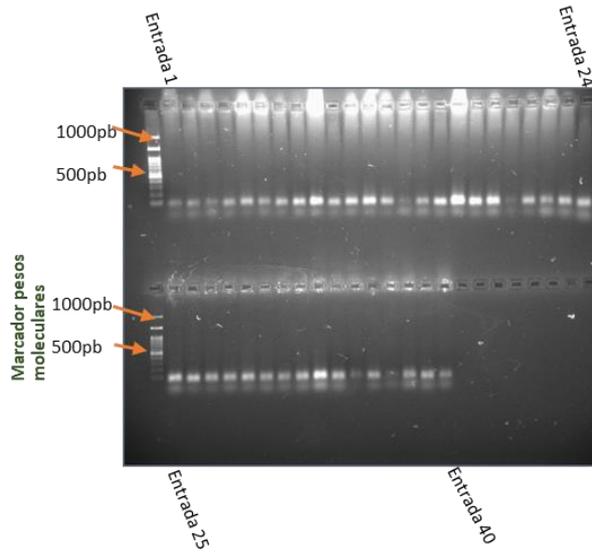


Fig. 30. Imagen del gel. Experimento 3.

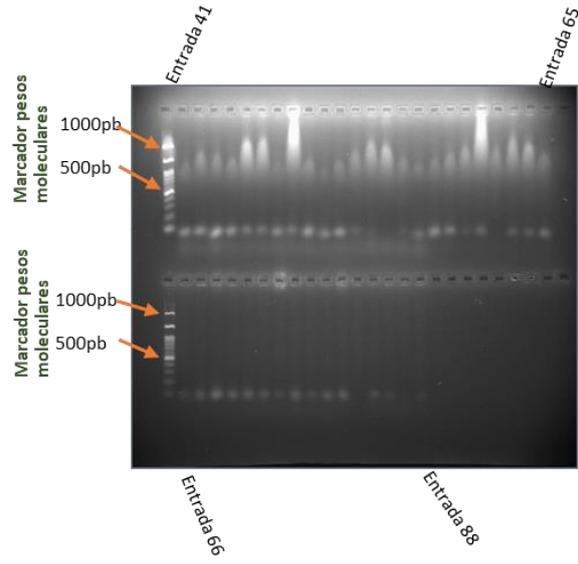


Fig. 31. Imagen del gel. Experimento 3.

5. Conclusiones

5. Conclusiones

Se ha recopilado una colección de 92 poblaciones de *S. sediforme*, 11 de *S. álbum*, 3 de *S. dasyphyllum* y 1 de *S. acre*, a partir de una serie 25 expediciones de colecta realizadas por los distintos territorios de la autonomía valenciana y otras limítrofes. La caracterización morfológica de la citada colección, previa a su aclimatación y aclimatada en tres ambientes, ha permitido determinar que existe para el “Raïmet de Pastor”, una gran variabilidad principalmente para los caracteres morfológicos de tallo y hoja. La mayor variación se ha observado en los caracteres longitud de hoja, anchura de hoja, altura de hoja, forma del apéndice de la hoja, pigmentación de la hoja, intensidad de pigmentación, sección de la hoja y diámetro del tallo vegetativo; siendo significativas las diferencias observadas dentro de la colección para los mismos.

El estudio de la variabilidad que presentan las 88 poblaciones de *S. sediforme* valencianas ha permitido su agrupación mediante un análisis de la medida de distancia o similitud en 10 grupos, cuatro de ellos con al menos 20 individuos. El análisis de los miembros de estos grupos, en atención a su origen geográfico, no se sugiere una relación directa con los lugares en los que fueron prospectados. Este análisis de agrupación de las poblaciones en los diferentes ambientes de aclimatación en los que posteriormente se han cultivado, indica una reducción de 10 grupos iniciales (caracterización previa) a un total de 6 grupos (invernadero), 7 (jardín) y 6 (parcela). En consecuencia, el cultivo en condiciones controladas hace que los caracteres morfológicos evaluados se homogeneicen entre las distintas poblaciones evaluadas. O lo que es lo mismo, que algunas de las diferencias encontradas entre poblaciones en estado silvestre han sido debidas a diferencias en las zonas agroclimáticas en que se encontraban.

Se ha establecido una escala de estados fenológicos para el *S. sediforme*. A partir de la utilización de dicha escala se ha podido determinar que sólo una parte de las poblaciones han florecido en el año posterior a su colecta (31 de 89). La existencia de poblaciones de *S. sediforme* que no florecieron puede ser debida a que los tallos necesitan más de un ciclo vegetativo para florecer. Esto indicaría que no todos los tallos usados para la creación de los distintos clones tenían la misma edad.

En la colección de poblaciones evaluada existe tanto variación para la morfología floral (nº de ramificaciones, nº de flores por ramificación y color de las flores), así como en la precocidad y duración de la floración. Los resultados obtenidos son muy interesantes al posibilitar, al menos en cuanto al color de la flor, la selección de materiales con distintos colores para su uso ornamental. También es interesante seleccionar poblaciones con distintos tiempos de floración para la posible creación de una variedad mezcla de poblaciones con un tiempo dilatado de floración. Es de destacar la presencia de formas de *S. sediforme* con flores de color amarillo fuera de la zona donde se ha citado la presencia de *S. sediforme* subps. *danium*. Los resultados obtenidos en este trabajo permiten y permitirán en un futuro completar el área de distribución de esta subespecie.

La variabilidad observada para la especie *S. sediforme*, incluso entra las poblaciones muestreadas en ciertas localidades, sugiere la naturaleza alógama de esta especie. En este sentido, se han identificado poblaciones con un color de flor intermedio entre blanco y amarillo (SS-CONCERTAINA-1, SS-ALBERI-1, SS-CANYADA-1, SS-SETAIGUES-1 y SS-SAGUNT-4). Esto sugiere, por una parte, que el control genético de este carácter podría ser de dominancia

incompleta o aditivo, y por otra, que en estado silvestre posiblemente se cruzan *S. sediforme* subps. *sediforme* (flores blancas) con *S. sediforme* subps. *dianium* (flores amarillas), generándose formas intermedias no sólo para el color de las flores sino para la morfología de las hojas. Así, *S. sediforme* subps *dianium* presenta flores amarillas y hojas más alargadas y anchas. Sin embargo, hemos podido identificar poblaciones de *S. sediforme* con hojas tipo *dianium* y flores blancas (SS-CAMPELLO-1, SS-CASTELLÓ-1, SS-GILET-1, SS-ONDA-1 y SS-SAGUNT-3), lo cual reforzaría la idea de que en estado silvestre se cruzan ambas subespecies o variedades.

El hecho de que las poblaciones de *S. sediforme* muestren un crecimiento vegetativo prolongado en cultivo bajo invernadero hace interesante la producción en este sistema verdura, tanto para consumo como encurtido o como semiprocesado. Unido esto a que en alguna de las poblaciones poseen unos 80 mg de vitamina C por cada 100 gramos de materia fresca puede considerarse como complementación de una dieta mediterránea saludable. Reforzándose este aspecto tras evaluación de las poblaciones colectadas para el contenido en polifenoles y la identificación de poblaciones muy interesantes como es el caso de SS-SAGUNT-1 con un nivel cercano a los 600 mg de ácido cafeico por 100 gramos de materia fresca.

En cuanto al porcentaje de regeneración medio en *S. sediforme* es del 26,7%. Aunque esta frecuencia de regeneración no ha sido muy alta, creemos que este método de reproducción puede en ocasiones ser complementaria al método de reproducción por esquejes, especialmente en aquellas ocasiones en que se dispone de muy poca cantidad de material inicial para establecer un cultivo.

A partir de las distintas opciones probadas de protocolos para la extracción de ADN en *S. sediforme* (cantidad de β -mercaptoetanol, número de bolas de triturado y tamaño de los tubos de extracción), se observó tras la cuantificación que la combinación de ellos que mejor calidad y cantidad de ADN producía, era la de (14 β -mercaptoetanol, 4 número de bolas de triturado y 1,5 ml tubos de extracción).

Para finalizar se trabajó con una colección de marcadores microsátélites procedentes de la especie *S. alfredii* amplificando únicamente uno de los ellos en la colección de poblaciones de *Sedum spp.* Además, es difícil conseguir amplificación de este marcador en todas las poblaciones. Es por tanto necesario optimizar el protocolo de amplificación y disponer de otros marcadores alternativos para poder abordar una caracterización a nivel molecular de la colección de poblaciones de *S. sediforme*.

6. Bibliografia

Abbo, S.; van-Oss, R.P.; Gopher, A.; Saranga, Y.; Ofner, I.; Peleg, Z. 2014. Plant domestication versus crop evolution: a conceptual framework for cereals and grain legumes. *Trends in Plant Science*, 19: 351 - 360.

A.M. Fernández-León; M. Lozano; M.C. Ayuso; M. J. Bernabé. 2009. Actividad antioxidante y Vitamina C en variedades tradicionales de pimiento bajo condiciones de cultivo ecológico.

Abduselam Ertas; Mehmet Boğa; Mustafa Abdullah Yılmaz; Yeter Yeşil; Nesrin Haşimi; Meryem Şeyda Kaya; Hamdi Temel; Ufuk Kolak. 2014. Chemical Compositions by Using LC-MS/MS and GC-MS and Biological Activities of *Sedum sediforme* (Jacq.) Pau. *J. Agric. Food Chem.* 62 (20), pp 4601–4609.

Ana Romojaro, M Ángeles Botella, Concepción Obón & M Teresa Pretel. 2013. Nutritional and antioxidant properties of wild edible plants and their use as potential ingredients in the modern diet. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* Volume 64.

Atlas Climático ibérico. Temperatura aire y precipitación. 1971 – 2000. Aemet. Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Edita: Agencia Estatal de Meteorología Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino Instituto de Meteorologia de Portugal. NIPO: 784-11-002-5 ISBN: 978-84-7837-079-5 Depósito Legal: M-11.237-2011

Carlos Gaviria Montoya; Clara Ochoa Ospina; Nelly Sánchez mesa; Clara Medina Cano; Mario Lobo Arias; Paula Galeano García; Ana Mosquera Martínez; Angélica Tamayo Tenorio; Yazmín Lopera Pérez; Benjamín Rojano. 2009. actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de frutos de mortiño (*Vaccinium meridionale* SW). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8 (6), 519 – 528

Castroviejo, S. (coord. gen.). 1986-2012. *Flora iberica* 1-8, 10-15, 17-18, 21. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid.

Cultivo de *Sedum sediforme*, http://www.elicriso.it/es/como_cultivar/sedum/

Daniel Guillot Ortiz; Emilio Laguna Lumbreras. 2014. *Sedum sediforme* subsp. *dianium*, an endemic Mediterranean succulent with a restricted distribution. *Acta Succulenta* 3(1).

Elizabeth Moreno¹; Blanca L. Ortiz¹; Luz P. Restrepo. 2014. Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de pulpa de seis frutas tropicales. *Rev. Colomb. Quim.* 43 (3), 41-48.

FLORA MONTIBERICA. Publicación periódica especializada en trabajos sobre la flora del Sistema Ibérico. Vol. 60 Valencia, V-2015

Francisca Vicente; Angela Basilio; Gonzalo Platas; Javier Collado; Gerald F. Bills; Antonio Gonzalez Del Val; Jesús Martín; José R. Tormo; Guy H. Harris; Deborah L. Zink; Michael Justice; Jennifer Nielsen Kahn; Fernando Pelaéz. 2009. Distribution of the antifungal agents sordarins across filamentous fungi. *Micological research* II3. 754-770.

Francisco José Alcaraz Ariza. 2013. Formas vitales, estratificación y fenología. *Geobotánica, Tema* 8.

González Gutiérrez, J.M. 2004. Biodiversidad agrícola y erosión genética. En: Cobos Aguirre, F.J.; Ortega, F. (eds.). 2004. Especies exóticas invasoras en Andalucía. Pp. 159-167. Talleres provinciales 2004-2006. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía. Andalucía, España.

Hayat Trabsa; Sabah Boumarfegue; Abderrahmane Baghiani; Naoual Boussoualim; Imane Krache; Seddik Khennouf; Lekhmici Arrar. 2014. Anti-Haemolytic, Antioxidant and Xanthine Oxidase inhibitory Effect of *Sedum Sediforme* Shoot Extracts. *International Journal of Indigenous Medicinal*

Plants, ISSN:2051-4263, Vol.47

Hui-run Huang; Wen-Sheng Shu; Zhi-Bin Mao; Xue-Jun Ge. 2008. Development of eight polymorphic microsatellites for a Zn/ Cd hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance (*Crassulaceae*). *Molecular Ecology Resources* 8, 1049–1051

Ileana Echevarría-Machado, Lucila A. Sánchez-Cach, Cecilia Hernández-Zepeda, Renata Rivera-Madrid, and Oscar A. Moreno-Valenzuela. 2005 A Simple and Efficient Method for Isolation of DNA in High Mucilaginous Plant Tissues. *Molecular Biotechnology*. Vol 31: 129 – 135

J. Hugo Cota-Sánchez; Kirsten Remarchuk; Kumary Ubayasena. 2006. Ready-to-Use DNA Extracted with a CTAB Method Adapted for Herbarium Specimens and Mucilaginous Plant Tissue. *Plant Molecular Biology Reporter* 24: 161–167

Jaime Prohens; Isabel Andújar; Santiago Vilanova; Mariola Plazas; Pietro Gramazio; Rafael Prohens; Francisco J. Herraiz; Antonio M. De Ron. 2014. Swedish coffee (*Astragalus boeticus* L.), a neglected coffee substitute with a past and a potential future. January, *Genetic Resources and Crop Evolution* Volume 61, Issue 1, pp 287–297

Javier Blasco-Zumeta. FLORA DE LA RIBERA BAJA DEL EBRO. FAMILIA CRASSULACEAE. <http://www.riberabaja.es/medio-ambiente/flora.dot>.

José Honorato Piera Alberola. *Plantas silvestres y setas comestibles del Valle de Ayora-Cofrentes*. Edita: Grupo Acción Local Valle Ayora-Cofrentes. Impresión: Rotodomenech, S.L. (Valencia) ISBN-13: 978-84-611-3162-4 ISBN-10: 84-611-3162-2

Liz Patricia Moreno F. 2009. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Colombiana* 27(2), 179-191.

Lorenzo Gallo. 2012. Natural hybrids in *Sedum* series *Rupestria* Berger (*Crassulaceae*): a review of taxonomy and nomenclature. *Forum Geobotanicum* 6:1-13

M. C. Sánchez-Mata; R. D. Cabrera Loera; P. Morales; V. Fernández-Ruiz; M. Cámara; C. Díez Marqués; M. Pardo-de-Santayana; J. Tardío. 2012 Wild vegetables of the Mediterranean area as valuable sources of bioactive compounds. *Genet Resour Crop Evol* 59:431–443

Manuel Santana; Antonio J. serrato Recio; A. Juan Sánchez-Raya; José Ángel Traverso; Eduardo Pagano; Ana Chueca. 2010. Plantas autóctonas C4 y CAM del Mediterráneo español: identificación y análisis. C4 y CAM. *Características generales y uso en programas de desarrollo de tierras áridas y semiáridas: Homenaje del doctor Julio López Gorgé*. 73-84

Meyer, R.S.; DuVal, A.E.; Jensen, H.R. 2012. Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. *New Phytologist*, 196: 29 - 48.

Miguel Urrestarazu; Silvia Burés.2009. Aplicación de cultivos sin suelo en arquitectura. Con colaboraciones multidisciplinares se están desarrollando jardines hidropónicos para edificios emblemáticos. *Horticultura internacional*. 12 - 15.

O Gendaram, YH Choi, YS Kim, SY Ryu - Nat. Prod. Sci. 2011. Anti-oxidative and antibacterial constituents from *Sedum hybridum*. *Natural Product Sciences* 17(4).

Panayiotis A. Nektarios; Nikolaos Ntoulas; Efthimia Nydrioni; Iro Kokkinou; Eleftheria; MariaBali; Ioannis Amountzias. 2015. Drought stress response of *Sedum sediforme* grown in extensive green roof systems with different substrate types and Depth. *Scientia Horticulturae* Volume 181, 2 January Pages 52-61.

Pérez latorre, A. V.; Cabezudo, B. 2009. Ecomorfología y Fenomorfología: datos fundamentales para el conocimiento de las adaptaciones y la fenología de la vegetación mediterránea. *5º Congreso Forestal Español*.

Raigón, M.D.; Prohens, J.; Muñoz-Falcón, J.E.; Nuez, F. 2008. Comparison of eggplant landraces and commercial varieties for fruit content of phenolics, minerals, dry matter and protein. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21: 370 - 376.

RHS Plant Trials and Awards. Herbaceous Sedums Christopher Whitehouse Keeper of the RHS Herbarium Wisley Bulletin Number 20 December 2007

Roeland C.H.J. van Ham; Henk 't Hart; Ted H.M. Mes; Johannes M. Sandbrink. 1992 Clone Bank and Physical Map of *Sedum album* (Crassulaceae) Chloroplast DNA. *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol. 20, No. 3, pp. 243-253.

Roeland C.H.J. van Ham; Henk 't Hart; Ted H.M. Mes; Johannes M. Sandbrink. 1994. Molecular evolution of noncoding regions of the chloroplast genome in the Crassulaceae and related species. *Current Genetics* 25:558-566

Santiago Castroviejo; Rosa Calvo. 1981. Datos Citotaxológicos en *Sedum* serie *Rupestria* Berger. *Anales Jard. Bot. Madrid* 38(1):37-50

7. Anejo I

8. Anejo II

ESTADOS FENOLÓGICO

A: CRECIMIENTO VEGETATIVO RALENTIZADO

B: CRECIMIENTO VEGETATIVO ACTIVO

C: ELONGACIÓN TALLOS

D: DESARROLLO INFLORESCENCIA CON RAMIFICAICONES

E: BOTONES FLORALES

F: PLENA FLORACIÓN

G: PETALOS CAÍDOS Y ULTIMAS FLORES ABIERTAS

H: FIN DEL CICLO FLORAL Y COMIENZO DEL REPOSO.

ESTADIO FENOLÓGICO COLECCIÓN**fecha:**

23		46		69		92			
22		45		68		91			
21		44		67		90			
20		43		66		89			
19		42		65		88			
18		41		64		87			
17		40		63		86			
16		39		62		85			
15		38		61		84		107	
14		37		60		83		106	
13		36		59		82		105	
12		35		58		81		104	
11		34		57		80		103	
10		33		56		79		102	
9		32		55		78		101	
8		31		54		77		100	
7		30		53		76		99	
6		29		52		75		98	
5		28		51		74		97	
4		27		50		73		96	
3		26		49		72		95	
2		25		48		71		94	
1		24		47		70		93	