

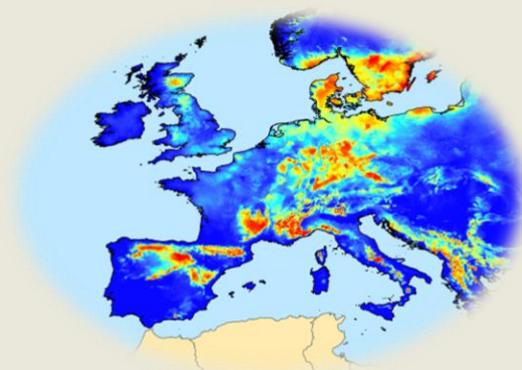


**VNiVERSIDAD
D SALAMANCA**

CAMPUS OF INTERNATIONAL EXCELLENCE



**ENSAYOS DE MEJORA
GERMINATIVA Y MODELOS DE
NICHOS ECOLÓGICOS PARA
ESPECIES DE FLORA
AMENAZADA EN CASTILLA Y
LEÓN, ESPAÑA**



TESIS DOCTORAL

Karoline Aparecida Felix Ribeiro

Salamanca, 2018

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA Y FISIOLÓGIA VEGETAL
INSTITUTO HISPANOLUSO DE INVESTIGACIONES AGRARIAS (CIALE)



**ENSAYOS DE MEJORA GERMINATIVA Y MODELOS DE
NICHOS ECOLÓGICOS PARA ESPECIES DE FLORA
AMENAZADA EN CASTILLA Y LEÓN, ESPAÑA**



TESIS DOCTORAL
KAROLINE APARECIDA FELIX RIBEIRO
SALAMANCA, MARZO DE 2018

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA Y FISIOLOGÍA VEGETAL
INSTITUTO HISPANOLUSO DE INVESTIGACIONES AGRARIAS (CIALE)



**ENSAYOS DE MEJORA GERMINATIVA Y MODELOS DE
NICHOS ECOLÓGICOS PARA ESPECIES DE FLORA
AMENAZADA EN CASTILLA Y LEÓN, ESPAÑA**

Tesis Doctoral presentada por la Licenciada en Biología **KAROLINE APARECIDA FELIX RIBEIRO**, en cumplimiento de los requisitos para el título de **Doctora en Biología** de la Universidad de Salamanca

Vº Bº del Director

Vº Bº del Director

José Sánchez Sánchez

José Ángel Sánchez Agudo

SALAMANCA

MARZO DE 2018

Cita recomendada:

RIBEIRO, K.A.F. 2018. *Ensayos de mejora germinativa y modelos de nicho ecológico para especies de flora amenazada en Castilla y León, España*. Tesis doctoral. Universidad de Salamanca. 202 pp.



D. José Sánchez Sánchez, profesor Titular del Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal, Director del CIALE e Investigador Responsable del Grupo de Palinología y Conservación Vegetal de la Universidad de Salamanca, y D. José Ángel Sánchez Agudo, profesor Contratado Doctor del Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal de la Universidad de Salamanca

INFORMAN:

En calidad de directores de la Memoria de Tesis Doctoral cuyo título es: *ENSAYOS DE MEJORA GERMINATIVA Y MODELOS DE NICHOS ECOLÓGICOS PARA ESPECIES DE FLORA AMENAZADA EN CASTILLA Y LEÓN, ESPAÑA*, realizada por la Licenciada en Biología D^a Karoline Aparecida Felix Ribeiro, consideran finalizado el trabajo y autorizan la presentación, a fin de que pueda ser juzgada por el Tribunal correspondiente. Y para que así conste, firmamos el presente informe en Salamanca, a 16 de marzo de 2018.

D. José Sánchez Sánchez

D. José Ángel Sánchez Agudo

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer de todo mi corazón a todas las personas que han colaborado en el desarrollo de esta Tesis Doctoral.

Expreso mi infinita gratitud a los Directores de la misma, José Sánchez Sánchez y José Ángel Sánchez Agudo; por la disponibilidad, confianza y apoyo desde el principio. Por todas las sugerencias, ideas y críticas, esenciales en la ejecución de esta investigación.

A todos los amigos y compañeros del Grupo de Palinología y Conservación Vegetal del CIALE: Chenco, Abel, Sergio, Cristina, Alfredo, María y en especial a Silvia, Estefanía, David y Ester. Por la valiosa ayuda en todas las fases de desarrollo del trabajo. Por la paciencia sobre todo en el principio, y también por los momentos felices y de relajación que hemos compartido en el Laboratorio 8. Con especial cariño agradezco a Silvia y su pareja Luis, por habernos recibido en aquel 19 de marzo de 2014 y por toda la ayuda en el comienzo de este reto.

Agradezco al equipo del Real Jardín Botánico Juan Carlos I, en especial al director Rosendo Elvira y a la subdirectora Inmaculada Porras, por la aceptación, disponibilidad y conocimientos adquiridos en mi estancia de investigación. También al colega y amigo Miguel por haberme recibido en su casa para la realización de esta estancia.

Presento también mis agradecimientos a todos los profesores del Máster en Biología y Conservación de la Biodiversidad y del Departamento de Botánica de la Universidad de Salamanca, por los conocimientos que he adquirido en el curso y a lo largo del desarrollo de la tesis. A Juan Carlos Sánchez Iglesias por toda la ayuda en los trámites administrativos.

Gracias a la Guardería Medio Ambiental y a la Delegación Territorial del Medio Ambiente de la Junta de Castilla y León de Ávila por las colaboraciones en ese estudio. Por las informaciones sobre las poblaciones de *Astragalus devevae*, por el aporte en el reforzamiento poblacional en la fase de plantación y vigilancia.

Agradeço de maneira especial a minha família. Primeiramente aos meus pais, Sérgio e Nena, pelo amor, cuidado, e porque desde pequena me ensinaram a respeitar a vida em suas diferentes formas e a amá-la. As minhas irmãs, por todo amor, carinho e amizade: Daiane, Daniela e em especial a Karine, que compartilha comigo o amor pela biologia e pela ciência, e que foi a principal responsável em encorajar-me a realizar este estudo. A Daiane também pela ajuda na edição de fotos. Muito obrigada a vocês pelo apoio e incentivo incondicionais, e que apesar da distância estiveram sempre presentes.

Ao Cristian, que aceitou viver comigo esse desafio tão engrandecedor e gratificante. Obrigada pelo amor, carinho, apoio; pela paciência e compreensão nos momentos mais difíceis; por estar ao meu lado sempre. Pela ajuda indispensável e por todas as contribuições em diversos aspectos desta Tese Doutoral.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa de estudos tornando possível a realização desta Tese.

Una vez más, me gustaría expresar mis sinceros agradecimientos a todos aquellos que colaboraron en la realización de este trabajo. Por contribuir en mi crecimiento profesional y también personal; Por los agradables momentos vividos en estos cuatro años en España. ¡Gracias!

Dedico, com muito carinho

Aos meus pais

A Kari e ao Cris

ÍNDICE GENERAL

RESÚMEN Y ESTRUCTURA DE LA TESIS	11
1. INTRODUCCIÓN	15
1.1 LA PROBLEMÁTICA AMBIENTAL ACTUAL	15
1.2 ESTRATEGIAS DE CONSERVACIÓN	18
2. JUSTIFICACIÓN, ESPECIES Y OBJETIVOS	31
2.1 JUSTIFICACIÓN	31
2.2 ESPECIES	34
2.3 HIPÓTESIS	48
2.4 OBJETIVOS	48
ANEXO	51
3. ENSAYOS DE MEJORA GERMINATIVA Y DE VIABILIDAD DE SEMILLAS DE ESPECIES DE INTERÉS DE LA FLORA DE CASTILLA Y LEÓN	57
3.1 INTRODUCCIÓN	57
3.2 MATERIAL Y MÉTODOS.....	59
3.3 RESULTADOS	72
3.4 DISCUSIÓN	83
3.5 ENSAYOS DE REFORZAMIENTO POBLACIONAL DE <i>A. devesae</i>	94
ANEXO	105
4. APLICACIÓN DE LOS MODELOS DE NICHOS ECOLÓGICOS EN LA OPTIMIZACIÓN DEL MUESTREO DE ESPECIES RARAS; DOS EJEMPLOS: <i>Astragalus devesae</i> y <i>Tephroseria coincy</i>	111
4.1 INTRODUCCIÓN	111
4.2 MATERIAL Y MÉTODOS.....	113
4.3 RESULTADOS	123
4.4 DISCUSIÓN	135
ANEXOS.....	139
5. APLICACIÓN DE MODELOS DE NICHOS ECOLÓGICOS PARA LA CONSERVACIÓN DE ESPECIES AMENAZADAS TENIENDO EN CUENTA LOS ESCENARIOS FUTUROS DE CAMBIO CLIMÁTICO; TRES EJEMPLOS: <i>Isatis platyloba</i>, <i>Rhaphonticum exaltatum</i> y <i>Succisella microcephala</i>	145
5.1 INTRODUCCIÓN	145
5.2 MATERIAL Y MÉTODOS.....	148

5.3 RESULTADOS	153
5.4 DISCUSIÓN.....	161
ANEXO.....	167
CONSIDERACIONES FINALES	171
REFERENCIAS	175

RESÚMEN Y ESTRUCTURA DE LA TESIS

El presente trabajo doctoral se inscribe en el ámbito de los estudios de Biología de Conservación, aplicados en concreto a varias especies vegetales consideradas de interés en el territorio geográfico de Castilla y León (catalogadas en las categorías de “En peligro de extinción (EN)” o “Vulnerable (VU)”, según el Decreto 63/2007, de 14 de junio, “por el que se crean el Catálogo de Flora Protegida de Castilla y León y la figura de protección denominada Microrreserva de Flora”). Las especies son: *Astragalus deveesae* Talavera, A. González & G. López (Fabaceae, EN), *Isatis platyloba* Link ex Steud. (Brassicaceae, VU), *Rhaponticum exaltatum* (Cutanda ex Willk.) Greuter (Compositae, VU), *Tephrosia coincy* (Rouy) Holub (Compositae, EN), *Succisella microcephala* (Willk.) G. Beck (Dipsacaceae, VU) y *Veronica chamaepithyoides* Lam. (Plantaginaceae, EN).

Hemos aplicado distintas metodologías teórico-prácticas de esta rama del conocimiento con el objetivo de, por una parte, documentar aspectos relacionados con los requerimientos germinativos hasta el momento poco conocidos de estas especies, que además, en el caso de una de ellas nos han permitido obtener plántulas suficientes como para poder realizar un ensayo de reforzamiento poblacional. Por otra, generar modelos de nicho ecológico de esas mismas especies a tiempo presente y en escenarios futuros de cambio climático, utilizando los resultados obtenidos para diferentes fines, desde tratar de localizar nuevas poblaciones, a identificar lugares potencialmente idóneos para albergar nuevas poblaciones experimentales, o también, para evaluar la capacidad de las actuales áreas protegidas para mantener las poblaciones de estas especies en el futuro.

La organización de la tesis es como sigue:

En el **capítulo 1** (Introducción), hacemos un breve recorrido bibliográfico sobre la Biología de la Conservación en general y sobre las distintas metodologías que aplicamos en este trabajo, incluyendo la conservación *in situ* y *ex situ*, técnicas bioinformáticas y aspectos legales de la conservación de la biodiversidad.

En el **capítulo 2** (Justificación y objetivos), nos centramos en las especies estudiadas, haciendo una breve descripción de cada una de ellas, ofreciendo un panorama actualizado del estado de conservación y amenazas a que están sujetas las poblaciones visitadas, con base en las observaciones de campo. Los objetivos específicos de los capítulos posteriores y algunas hipótesis también son presentados aquí.

En el **capítulo 3** (Ensayos de mejora germinativa), hemos comparado las respuestas germinativas de semillas de las especies seleccionadas para este estudio (*A. devesae*, *I. platyloba*, *R. exaltatum*, *S. microcephala* y *V. chamaepithyoides*), con diferentes tratamientos de germinación y de viabilidad recomendados en bibliografía. Finalmente, describimos un reforzamiento poblacional experimental realizado para *A. devesae*, gracias a la obtención de plantas a partir de los ensayos germinativos.

En el **capítulo 4** (Modelos predictivos de nicho ecológico a tiempo presente), hemos generado modelos en diferentes ámbitos geográficos y con distintas escalas de resolución para *A. devesae* y *T. coincy*. Los resultados para *A. devesae* tuvieron una aplicación práctica, con la búsqueda de nuevas poblaciones en áreas consideradas de mayor idoneidad de hábitat. Para ambas especies se sugieren varias acciones de restauración de poblaciones a partir de los resultados alcanzados.

En el **capítulo 5** (Modelos predictivos de nicho ecológico a tiempo futuro), hemos evaluado el riesgo de extinción por un lado, y por otro, la capacidad de las Áreas Protegidas en mantener poblaciones de *I. platyloba*, *R. exaltatum* y *S. microcephala*, en distintos escenarios climáticos futuros. Se busca con los resultados presentados, apoyar la creación de nuevas Áreas Protegidas de cara a la protección de esas especies teniendo en cuenta el cambio climático.

Con los resultados de los capítulos 3 y 5 se han generado tres artículos de los que dos han sido enviados para su publicación en revistas científicas. Hemos elaborado además un cuarto artículo científico a partir de un trabajo que no forma parte de esta tesis, pero que fue realizado en el mismo contexto de la conservación *ex situ* y ensayos germinativos. Finalmente, he colaborado como coautora en un artículo científico realizado en el ámbito de la bioinformática y modelizaciones predictivas, con especies de la flora amenazada en Castilla y León. Los títulos de los artículos mencionados son:

- 1) *Essays to save a Spanish endemism Astragalus devesae* Talavera, A. González & G. López (Fabaceae) from extinction (capítulo 3; en revisión).
- 2) *How effective are the protected areas to preserve endangered plant species in a climate change scenario? The case of three Iberian endemisms* (capítulo 5; en revisión).
- 3) *Germination and reintroduction tests of an Iberian endemism: Veronica chamaepithyoides* Lam. (Plantaginaceae) (capítulo 3; en edición para ser enviado).
- 4) *Seed germination of Carex lainzii* Luceño, E. Rico & T. Romero: an endemic Spanish endangered species (estudio independiente; en revisión).
- 5) *Living on the edge: do central and marginal populations of plants differ in habitat suitability?* (coautoría; en revisión).

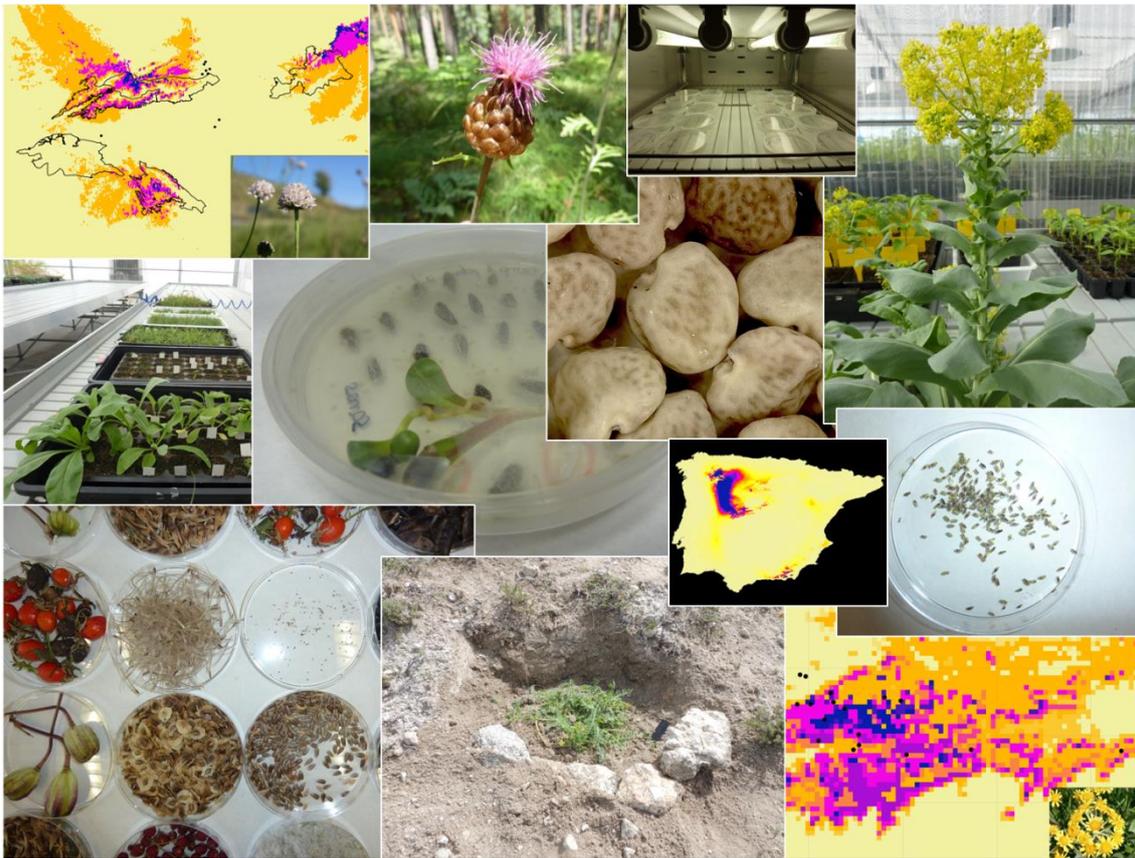


UNIVERSIDAD
DE SALAMANCA

CAMPUS OF INTERNATIONAL EXCELLENCE

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN



1. INTRODUCCIÓN

1.1 LA PROBLEMÁTICA AMBIENTAL ACTUAL

De forma sencilla, podemos definir biodiversidad como la variedad de la vida, en todas sus múltiples manifestaciones. Es un concepto unificador, amplio, que abarca todas las formas, niveles y combinaciones de variación natural, en todas las jerarquías de organización biológica (Gaston & Spicer, 2004). En el Convenio Internacional sobre la Diversidad Biológica (CBD), se establece una definición bastante más desarrollada y formal, que establece que “Diversidad biológica” es la variabilidad entre los organismos vivos de todas las fuentes, incluidas, entre otras, ecosistemas terrestres, marinos y otros ecosistemas acuáticos, así como los complejos ecológicos de los que forman parte; ello incluye la diversidad dentro de las especies, entre las especies y de los ecosistemas (Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2010).

Es evidente que el alto valor intrínseco de la biodiversidad es motivo para que su conservación tenga un respaldo ético, pero además, al proporcionar servicios ecosistémicos al ser humano, se instituye como un valor social y económico inmensurable. Como ejemplos claros de las contribuciones generadas por el funcionamiento de los ecosistemas tenemos, entre otros: la purificación del aire y el agua a través de los ciclos biogeoquímicos; la descomposición de los desechos; control de plagas y enfermedades; la generación y renovación de la fertilidad del suelo y la polinización y dispersión de semillas. Además, y desde un punto de vista antropocéntrico, miles de especies poseen sustancias químicas de potencial uso farmacéutico para la medicina (McNeely, Miller, Reid, Mittermeier, & Werner, 1990; MEA, 2005; Prance, 2000; Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2000; Sekercioglu, 2010).

Como es bien conocido, las actividades humanas han destruido o alterado fuertemente los hábitats naturales a lo largo y ancho del planeta y están amenazando seriamente la biodiversidad mundial (Balmford & Bond, 2005; MEA, 2005). Este proceso no es nuevo, ha estado en curso con mayor o menor intensidad desde hace miles de años, pero se ha acelerado a una velocidad sin precedentes en las últimas décadas (Balmford & Bond, 2005; Laurance, 2010). A nivel mundial, la agricultura industrial intensiva es la mayor causa de destrucción del hábitat, pero otras actividades humanas asociadas a la superpoblación y al uso insostenible de recursos, como la minería o la pesca de arrastre, la introducción de especies invasoras, los incendios forestales, los vertidos industriales, la expansión urbana, etc., también

destruyen o degradan gravemente los hábitats provocando la pérdida de su biodiversidad (Brashares et al., 2004; Butchart, 2008; Coleman & Williams, 2002; Davis, 2009; Dulvy, Sadovy, & Reynolds, 2003; Laurance, 2010; Peres et al., 2003; Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2010; M. C. Wilson et al., 2016).

De entre todos los biomas del planeta, son los forestales los que se han visto más especialmente afectados por la actividad humana, viéndose reducida su área a la mitad en los últimos tres siglos. Así, veinticinco naciones han perdido prácticamente toda su cobertura forestal y otras 29, más del 90% de la misma (MEA, 2005). La destrucción y la fragmentación de hábitats y las nuevas formas de uso de la tierra están estrechamente entrelazadas en un proceso general de cambio de paisaje. Los procesos físicos alterados (por ejemplo, los flujos de viento y agua) y los impactos del uso humano del suelo tienen una profunda influencia en los ecosistemas y su biota asociada (Laurance, 2010; Laurance et al., 2002; Sekercioglu et al., 2002; Specht, Pinto, Albuquerque, Tabarelli, & Melo, 2015). Las diferencias en la vulnerabilidad de las especies al cambio del paisaje alteran la estructura de las comunidades y modifican las interacciones entre las especies. Como consecuencia, las poblaciones de plantas y animales son destruidas o desplazadas (Bennett & Saunders, 2010). Uno de los efectos directos de esta alarmante situación es el aumento del número de especies extinguidas o consideradas con algún grado de amenaza. Según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN), de 2008 a 2012 se produjeron 869 extinciones registradas, con 290 especies adicionales que se enumeraron como “posiblemente extintas”. Además, se incluyeron 3246 especies en peligro crítico; 4770 como en peligro de extinción; casi 9000 como vulnerables; y 3796 casi amenazadas. También en ese periodo, 5570 especies se declararon como sin datos suficientes, mientras que 17675 especies fueron consideradas de preocupación menor (ver Buechley & Sekercioglu, 2013). En síntesis, de todas las especies evaluadas a escala global, el 38% se encuentran en alguna de las categorías asociadas a un peligro inminente de extinción: en peligro crítico, en peligro, o vulnerable- (Buechley & Sekercioglu, 2013; Vié, Hilton-Taylor, & Stuart, 2009). Son cifras que cuantifican la pérdida de vida en el planeta, poniendo en marcha el cronómetro hasta la sexta gran extinción.

Por otra parte, un nuevo problema que ha ido ganando importancia en las últimas décadas, viene a empeorar esta situación: el cambio climático. Consecuencia secundaria del conjunto de actividades humanas, de esa sobreexplotación de los recursos, el cambio climático afectará de manera aún más drástica la biodiversidad en las próximas décadas. Según el IPCC (*Intergovernmental Panel on Climate Change*), las temperaturas promedio han

aumentado en 0.85 °C en el último siglo y se predice que continuarán aumentando en un mínimo de 0.3 °C-1.7 °C hasta un máximo de 2.6°C-4.8°C en 2100 (Stocker et al., 2013). Ya se están percibiendo los efectos negativos de este cambio en los ecosistemas, en las especies y en la biodiversidad en general (Hansen et al., 2001; por ejemplo Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2010). Algunas especies han desplazado sus rangos de distribución hacia los polos y/o a altitudes más altas, aunque otras especies no lo han hecho (Hijioka et al., 2014). También hay pruebas de que se han producido extinciones locales en los márgenes climáticos de los rangos de algunas especies (Buse, Boch, Hilgers, & Griebeler, 2015). Es por tanto bastante unánime la opinión en el ámbito científico de que el cambio climático jugará un papel cada vez más importante en el impulso de esas extinciones (por ejemplo Buechley & Sekercioglu, 2013; R. Engler et al., 2011; Thuiller, Lavorel, Araújo, Sykes, & Prentice, 2005), y se estima que como consecuencia de ello, de un 15 a un 37% de las especies desaparecerán en los próximos 50 años, dependiendo del escenario climático que se materialice. Son especialmente vulnerables a esta situación las especies que tienen hábitats especializados, las que tienen tolerancias ambientales estrechas, las que dependen de interacciones con otras especies, o las que tienen una capacidad de dispersión limitada (R. Engler et al., 2009; Pearson, 2006; Thomas et al., 2004).

La Península Ibérica constituye la región más occidental del continente europeo, prácticamente en contacto con el africano. Los acontecimientos paleobiogeográficos asociados a esta particular ubicación explican en gran medida el variado origen de su flora y fauna (MAGRAMA, 2014), que por su alta diversidad ha sido incluido en uno de los *hotspot* de la Cuenca Mediterránea (Mittermeier, Myers, Mittermeier, & Robles, 1999; Myers, 2003; Myers, Mittermeier, Mittermeier, da Fonseca, & Kent, 2000). Además, este territorio ha constituido de forma recurrente un refugio para las especies de clima templado durante las glaciaciones pasadas (Taberlet, Fumagalli, Wust-Saucy, & Cosson, 1998), lo que explica el gran número de especies endémicas (Delibes-Mateos, Ferreras, & Villafuerte, 2008). Por otro lado, la variada diversidad biogeográfica de este territorio, -con cuatro regiones representadas, (Mediterránea, Atlántica, Alpina, Macaronésica) favorece la existencia de numerosos hábitats que albergan una gran variedad de tipos de vegetación, a la que se asocia una variedad de comunidades de fauna.

Finalmente, otro de los principales artífices del paisaje biótico de la Península Ibérica es la población humana que con su secular actividad agrícola y ganadera ha cincelado el enorme mosaico de hábitats que caracteriza este territorio, generando innumerables nichos

ecológicos en todos los ambientes existentes, esteparios, montanos, costeros, etc. Sin embargo, desde la industrialización, la alteración tanto de los hábitats naturales como de los agroecosistemas ha sido brutal e incesante (por ejemplo Symeonakis, Calvo-Cases, & Arnau-Rosalen, 2007), provocando que la situación de amenaza a la biodiversidad ibérica sea similar al de otros países. El deterioro ha ido aumentando significativamente en las últimas décadas, de forma que en la actualidad un 40-60% de las especies evaluadas están incluidas en alguna categoría de amenaza. En el caso de la fauna, supone un 31% de las especies o subespecies, que incluye el 34% de los anfibios, el 32% de los reptiles, el 54% de los peces continentales, el 20% de los mamíferos y el 25% de las aves reproductoras. Para la flora, alrededor de 1200 de las especies vasculares (15% de las 7500 existentes aproximadamente) están amenazadas, encuadradas en las categorías de “En Peligro Crítico”, “En Peligro” o “Vulnerables” según los criterios de la IUCN (MAGRAMA, 2014; Moreno, 2011; Moreno Saiz, Lozano, Gómez, & Baudet, 2015).

Estos datos son extremadamente preocupantes, visto que, como ya se ha comentado, el territorio ibérico está incluido en un punto caliente de biodiversidad y, en el caso específico de España, es uno de los países con mayor biodiversidad en la Unión Europea (MAGRAMA, 2014). Para la flora, específicamente, la situación es aún más alarmante, ya que este país tiene el mayor número de plantas vasculares entre los países europeos y mediterráneos, y una tasa de endemismo de entre el 20-25% (MAGRAMA, 2014; Moreno Saiz et al., 2015). Un gran número de esas especies están amenazadas a consecuencia de los procesos antrópicos ya mencionados, y por ello han sido recogidas en listas rojas a nivel nacional y autonómico, destacando la que surge como resultado del proyecto Atlas de la Flora Amenazada del Ministerio de Medio Ambiente (Moreno, 2008, 2011; vv.aa, 2000).

1.2 ESTRATEGIAS DE CONSERVACIÓN

1.2.1 Normativas Legales

Teniendo en cuenta este fatídico contexto actual de deterioro ambiental, se hace necesario desarrollar y ejecutar de forma urgente, estrategias de conservación eficaces y que traten de frenar, o al menos minimizar la pérdida de biodiversidad. El Convenio sobre la Diversidad Biológica firmado por 150 naciones en la Conferencia de las Naciones Unidas “Sobre el Ambiente y el Desarrollo”, en Río de Janeiro del 3 al 14 de junio de 1992, representa la primera iniciativa a escala planetaria para la conservación de la biodiversidad y

define las líneas directrices para la elaboración de estrategias comunes para la protección de fauna, flora y hábitats, introduciendo de un modo implícito conceptos como por ejemplo el de conservación *in situ* y *ex situ* (C. Williams, Davis, & Cheyne, 2003).

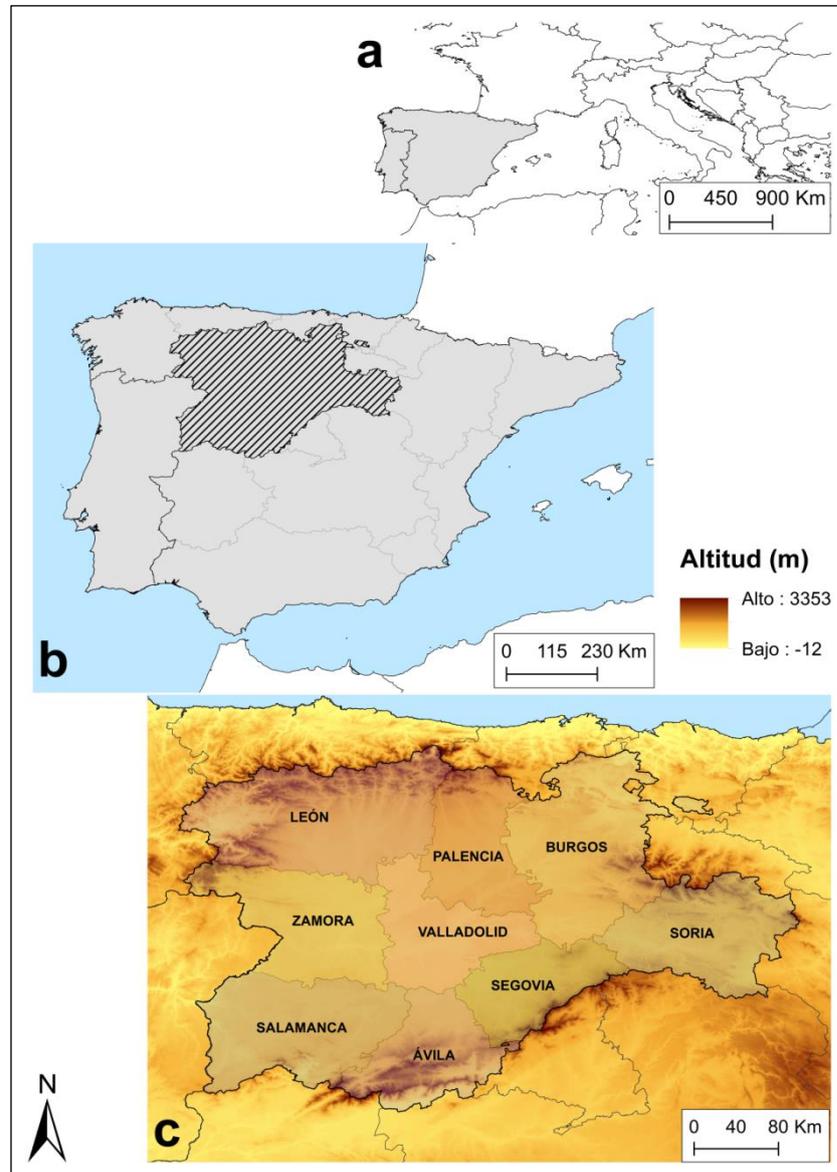


Figura 1. A) Ubicación de la Península Ibérica en Europa; B) Comunidad Autónoma Española de Castilla y León y; C) Identificación de las nueve provincias Castellano-leonesas.

Aunque no representan una forma explícita de protección, Listas Rojas elaboradas por la IUCN también constituyen un elemento fundamental para la conservación de la biodiversidad. Además, la inclusión de un determinado taxón en una lista suele proporcionar una gran cantidad de datos relevantes para establecer las medidas de protección más adecuadas. En función de la información disponible, un taxón puede ser incluido en alguna de las siguientes categorías (IUCN, 1994, 2001): Extinto (EX); Extinto en estado silvestre (EW);

En peligro crítico (CR); En peligro (EN); Vulnerable (VU); Casi amenazado (NT); Preocupación menor (LC); Datos insuficientes (DD); No evaluado (NE).

En el territorio Europeo, la Convención de Berna (1979) fue la primera desarrollada específicamente para la conservación de la flora, la fauna silvestre y los hábitats naturales de este continente. Tuvo también como objetivo crucial promover la cooperación europea en el ámbito de la biodiversidad, con normativas traspuestas por los estados miembros que garantizan la conservación de aquellos hábitats y especies, que de forma consensuada se ha valorado que son de interés y/o vulnerables a escala europea. El Comité Permanente de la Convención de Berna continúa adoptando resoluciones y recomendaciones asociadas que apoyan y apuntalan los artículos de la Convención (Sharrock & Jones, 2009). Pero es la Directiva Hábitat de 1992 (European Commission, 2000) la que marca un antes y un después en la conservación de la biodiversidad en Europa. Surge con la intención de preservar la mayor parte de los valores naturales de interés del continente, identificando alrededor de 200 hábitats, 200 especies de fauna y más de 500 de flora que requerían tomar medidas de protección especial para su conservación, siendo la más relevante la creación de la Red Natura 2000, un conjunto de áreas protegidas que protege a gran parte de esos hábitats y especies. Esta Red es probablemente la medida de política supranacional más ambiciosa en el mundo para preservar la biodiversidad, a través de la regulación del uso de la tierra y los recursos (MAGRAMA, 2014; Sharrock & Jones, 2009).

En España, la Ley 42/2007, de 13 de diciembre, del Patrimonio Natural y de la Biodiversidad recoge las normas y recomendaciones que organismos oficiales e instituciones ambientales internacionales han ido estableciendo en los últimos años, como el Convenio sobre Diversidad Biológica, a la vez que transpone la normativa comunitaria. Esta ley regula el Plan Estratégico del Patrimonio Natural y de la Biodiversidad, aprobado por el Real Decreto 1247/2011 y establece el Inventario Español del Patrimonio Natural y de la Biodiversidad, el Listado de Especies Silvestres en Régimen de Protección Especial y el Catálogo Español de Especies Amenazadas y el Catálogo español de especies exóticas invasoras (MAGRAMA, 2014).

El plan Estratégico constituye el instrumento fundamental para la conservación y el uso sostenible de la diversidad biológica, estableciendo ocho metas que incluyen 39 objetivos y un conjunto de acciones para su cumplimiento. Entre esas metas están por ejemplo: “Disponer de los mejores conocimientos para la conservación y uso sostenible de la biodiversidad y los servicios de los ecosistemas” (Meta 1) y, “Proteger, conservar y restaurar

la naturaleza en España y reducir sus principales amenazas” (Meta 2). En cuanto a la designación de áreas protegidas, la Ley 42/2007 crea, junto con las figuras de protección terrestre, la figura de Área Marina Protegida como una de las categorías de Espacios Naturales Protegidos (ENP) (MAGRAMA, 2014). La Comisión Estatal para el Patrimonio Natural y la Biodiversidad se crea como órgano consultivo y de cooperación entre el Estado y las comunidades autónomas (autoridades regionales), con el fin de asegurar una gestión más eficiente en el proceso de toma de decisiones en materia de conservación de la biodiversidad. Por otra parte, la Ley 42/2007 crea también el Consejo Estatal para el Patrimonio Natural y la Biodiversidad como órgano de participación pública en el ámbito de la conservación y el uso sostenible del patrimonio natural y la biodiversidad, para garantizar la participación de las organizaciones profesionales, científicas, empresariales, sindicales y ecologistas más representativas. (MAGRAMA, 2014).

En España, las distintas administraciones autonómicas, además de asumir la normativa Europea y nacional, tienen capacidad para definir estrategias específicas para conservar aquellas especies y hábitats que consideran que son merecedoras de ellas. En Castilla y León, por ejemplo, el DECRETO 63/2007 de 14 de junio crea el “Catálogo de Flora Protegida de Castilla y León y la figura de protección denominada Microrreserva de Flora” (BOCYL, 2007). El Decreto está compuesto de un listado de las especies protegidas por categorías de amenazada, y propuestas de Microrreservas para poblaciones específicas de algunas de las especies más amenazadas (BOCYL, 2007). Este decreto crea un paraguas legal que permite garantizar la conservación de la rica biodiversidad de esta región ibérica, una de las más ricas de Europa y que en el caso de la flora silvestre contiene cerca de 3300 especies, cerca de un 60% de las especies ibéricas (Lizana & Rodríguez, 2013).

1.2.2 Conservación de flora *in situ* y *ex situ*

Un programa del Convenio de la Diversidad Biológica (CBD) es la Estrategia Global para la Conservación de Plantas (GSPC). La GSPC proporciona el marco adecuado para generar un enfoque coordinado internacionalmente para la conservación de plantas, que puede ser adoptado e implementado por una variedad de instituciones (Wise et al., 2009). El objetivo final de la GSPC es detener la continua disminución de la diversidad vegetal y para ello define 16 objetivos -metas- (Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2002). En la actualidad estamos en la segunda fase de la GSPC: los objetivos revisados para el período 2011-2020 se ratificaron en la 10ª Conferencia de las Partes en Nagoya en 2010 (Secretariat

of the Convention on Biological Diversity, 2011). La Meta 7 supone que el 75% de las especies amenazadas del mundo estén conservadas *in situ*. La Meta 8 de la GSPC es la conservación *ex situ* de al menos el 75% de las especies de plantas amenazadas, con al menos el 20% disponible para los programas de recuperación y restauración. Es un objetivo potencialmente alcanzable, aunque todavía estamos lejos de lograrlo (Corlett, 2016; Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2011). De hecho, en el trabajo reciente de Muñoz-Rodríguez, Munt & Moreno Saiz (2016), los autores estimaron que el 44,62% de las 1609 especies de flora amenazadas en España tienen al menos una población protegida legalmente *in situ*, por lo que no cumple todavía con el umbral del 75% definido por la meta 7 del GSPC.

La máxima prioridad es conservar las especies en su hábitat natural (*in situ*), donde pueden experimentar todas las interacciones con otros organismos y donde el proceso natural de la evolución puede continuar, tornándose así, la manera de conservar más eficaz y eficiente (Conway, 1988; Guerrant, Fiedler, Havens, & Maunder, 2004). Por otro lado, la conservación *in situ* requiere un monitoreo a nivel de especie para asegurar que las poblaciones de especies amenazadas persistan dentro de las áreas protegidas. Si se detectan disminuciones, se pueden considerar intervenciones apropiadas, como el manejo del hábitat, el control de especies invasoras, la prevención de la sobreexplotación y / o la traslocación a nuevas localizaciones. El ideal sería que cada especie amenazada tuviera un plan de manejo especial (Heywood, 2016), lo que supone un logro todavía más difícil.

En ese sentido, a fin de complementar los esfuerzos *in situ* para conservar la biodiversidad vegetal, surge la conservación *ex situ*, que se está volviendo cada vez más importante, hasta el punto de ser ya considerada esencial para cualquier programa de conservación global (Conway, 1988; Guerrant et al., 2004). Como ya se ha dicho, su relevancia ha ganado reconocimiento internacional con su inclusión en el artículo 9 del Convenio sobre Diversidad Biológica y en el objetivo 8 de la Estrategia Global para la Conservación Vegetal (Sarasan et al., 2006; Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2002, 2011).

Los métodos de conservación *ex situ* implican la recolección de muestras representativas de la variabilidad genética de una especie y su mantenimiento fuera de las condiciones naturales a las que la especie se ha adaptado. Algunas ventajas que ofrecen estos métodos son: un control directo sobre el material, fácil acceso y mayor disponibilidad (Frankham, 2010; Hoban & Schlarbaum, 2014; McGowan, Traylor-Holzer, & Leus, 2017;

Reid & Miller, 1989). Los programas de conservación *ex situ* se complementan con la conservación *in situ* mediante el almacenamiento a largo plazo del germoplasma representativo de las poblaciones, lo que permite una mejor comprensión de la anatomía, las características fisiológicas y bioquímicas del material almacenado. Además, posibilita el uso del material en programas educativos, programas de mejora genética de especies cultivadas y planes de reforestación, reforzamiento, reintroducción o introducción (Bacchetta et al., 2008; Broadhurst et al., 2008; McGowan et al., 2017; McNeely et al., 1990; Redford et al., 2011).

Como “Germoplasma” puede ser definido cualquier material capaz de transmitir los caracteres hereditarios de un organismo, de una generación a otra (Witt, 1985). Al hablar de germoplasma vegetal, puede aludirse a distintas estructuras vegetales (esporas, tejidos o partes de plantas) y, de especial modo, a las semillas (Bacchetta et al., 2008). El interés de los Bancos de Germoplasma hasta hace pocos años se centraba casi exclusivamente en la conservación de variedades agronómicas. El actual objetivo de los bancos de semillas de preservar plantas silvestres raras o en riesgo de extinción es consecuencia de los acuerdos y obligaciones adoptados en el convenio de Diversidad Biológica (Bacchetta et al., 2008; Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2000). En este sentido, los Bancos de Germoplasma especializados en la conservación de plantas silvestres juegan un papel clave y fundamental en las políticas de conservación de la biodiversidad. Representan una herramienta práctica para la preservación *ex situ*, ya sea en la prevención de acciones de amenaza, o en el desarrollo de tareas urgentes enfocadas a la prevención de la extinción o declive de poblaciones o especies. Son generalmente en estas instituciones donde se llevan a cabo ensayos germinativos que tienen como objeto elaborar protocolos específicos para cada taxón, que permitan obtener plántulas de forma eficaz. Este aspecto es de fundamental relevancia en la planificación y desarrollo de acciones de conservación *in situ* (en proyectos de recuperación de hábitats y de poblaciones) ya que así se consigue un óptimo aprovechamiento de las semillas disponibles (Bacchetta et al., 2008; Broadhurst et al., 2008; Cochrane, Crawford, & Monks, 2007; Iriondo Alegría, 2001; McGowan et al., 2017).

Existe una extensa bibliografía sobre los requerimientos germinativos de especies raras y/o amenazadas (por ejemplo Andreou et al., 2011; Coelho, Gonçalves, González-Benito, & Romano, 2012; De Vitis et al., 2014; Del Vecchio, Mattana, Acosta, & Bacchetta, 2012; Hmeljevski et al., 2014; Kato & Kadono, 2011; Shen, Wang, & Ma, 2010; Strandby Andersen, Prado Córdova, Bräuner Nielsen, & Kollmann, 2008; Van der Walt & Witkowski, 2017), que en España, tienen como ejemplos, los estudios de: Martínez-Fernández, Martínez-

García, & Garcia, (2014) y Ramos, Rincón & Vázquez (2010) con la especie *Astragalus ginez-lopezii* Talavera, Podlech, Devesa & Vázq. Pardo. Para *Delphinium fissum* subsp. *sordidum* (Cuatrec.) Amich, E. Rico & J. Sánchez, los de Herranz, Ferrandis, & Martínez-Duro (2010), o los de Narbona, Delgado, Encina, Miguez, & Buide (2013) con *Carex helodes* Link. También Navarro & Guitián (2003) han examinado la germinación y la supervivencia de plántulas de *Petrocoptis grandiflora* Rothm. y *Petrocoptis viscosa* Rothm., y Pérez-García (2008) la germinación de ocho endemismos de las islas Canarias, por citar algunos más.

1.2.3 Los Bancos de Germoplasma en Europa y España

Afortunadamente, Europa tiene una red bien organizada para la conservación *ex situ* de semillas de especies de plantas, que es ENSCONET (la Red Europea de Conservación de Semillas Nativas), que involucra a 19 institutos de 12 países europeos. Para el Mediterráneo occidental, GENMEDOC, proporciona una red interregional de bancos de semillas. Además, se han creado algunas redes nacionales *ex situ*, como REDBAG (Red Española de Bancos de Germoplasma de Plantas Silvestres), y RIBES (*Rete Italiana Bache dei Germoplasma per la coservazione ex situ della flora Spontanea Italiana*), la red italiana de bancos de semillas para la conservación *ex situ* de especies de plantas silvestres (Heywood & Culham, 2009).

ENSCONET ha desarrollado una base de datos de plantas en colecciones de bancos de semillas en instituciones participantes, que incluyen registros de aproximadamente 40000 accesiones, correspondientes a más de 9000 especies, y que se almacenan en 27 instituciones de toda Europa (Heywood & Culham, 2009).

Un grupo de instituciones (que abarcan cinco de las seis regiones biogeográficas de Europa) dirigidas por el *Royal Botanic Gardens Kew*, ha establecido una red para coordinar y mejorar sus actividades en el marco del Sexto Programa Marco de Investigación de la Unión Europea (UE) (Heywood & Culham, 2009). El *Millennium Seed Bank*, del *Royal Botanic Gardens Kew* en Wakehurst Place (Reino Unido) es el banco de semillas más grande del mundo para plantas silvestres. Su objetivo es recolectar y conservar el 10% de la flora portadora de semillas del mundo, y ya posee semillas de muchas especies europeas, incluidas prácticamente todas las especies de plantas nativas del Reino Unido (Heywood & Culham, 2009).

En España, el Banco de Germoplasma César Gómez-Campo (Universidad Politécnica de Madrid – UPM), creado en 1966 por el profesor del mismo nombre, fue el primero en el mundo que se especializó en flora silvestre. Desde entonces este banco ha

enviado muestras de semillas a numerosos investigadores, y un elevado número de trabajos en distintos países han sido posibles gracias a la existencia del material vegetal almacenado por Gómez-Campo. También gracias a su labor en el ámbito de la conservación vegetal, se pudo, por ejemplo, salvar una especie extinta (*Diploaxis siettiana* Maire) que fue regenerada a partir de semillas que habían sido previamente recolectadas y conservadas por él. El Banco de Germoplasma Vegetal de la UPM conserva actualmente más de 300 especies y subespecies amenazadas en España, que representan casi el 24% de la flora amenazada (González-Benito, Ortiz-Marcide, & Martínez-Laborde, n.d.).

En Castilla-León, el Banco de Germoplasma de la Universidad de Salamanca (BG-USAL), ubicado en el Instituto Hispanoluso de Investigaciones Agrarias (CIALE), es el único en este territorio dedicado a la conservación y gestión de semillas pertenecientes a especies de flora en peligro de extinción. Además, es la primera sede a nivel nacional en la conservación de esporas y micelio de hongos de interés.

1.2.4 Sistemas de Información Geográfica (SIG) y Modelos de Nicho Ecológico (MNE) como herramientas para la conservación

Los Sistemas de Información Geográfica (SIG) son herramientas de *software* bien establecidas que combinan tecnologías cartográficas y bases de datos, y tienen una gran utilidad práctica en la conservación de la biodiversidad. Estos sistemas de información, capturan, almacenan, gestionan y muestran múltiples conjuntos de datos georreferenciados, tales como ciudades, carreteras, ríos, edificios, distribuciones de especies, etc. Los análisis espaciales y mapas pueden descubrir patrones complejos, señalar problemas, y revelar las conexiones que pueden mejorar significativamente la gestión de sistemas complejos utilizando múltiples criterios (Supatimusro, Areerachakul, & Poomsripanon, 2013).

La teledetección proporciona actualmente de forma rutinaria a los ecólogos información sobre la Tierra y su entorno a escalas que varían de la local a la global. Junto con los avances asociados en instalaciones computacionales y herramientas especializadas, como los métodos para el análisis espacial (por ejemplo Austin, 2007; Osborne, Foody, & Suárez-Seoane, 2007), los científicos cuentan ahora con grandes cantidades de datos correspondientes a grandes áreas y con herramientas que reconocen su espacio de estudio. Las oportunidades que ofrece esta integración hacen que el área de superposición entre la ecología y la ciencia de la información geográfica sea un nicho atractivo para la investigación constituyendo el núcleo de la nueva informática ecológica “ecoinformática” (Foody, 2007).

Los SIG se han convertido en unas herramientas generalizadas y populares en ecología, y cada vez más se han empleado en estudios direccionados a la conservación. Conforme a los resultados obtenidos por Nowatzki, Cordeiro Santos & Vedor de Paula (2010), el uso de los SIG ha demostrado ser un método eficiente para la delimitación de las Áreas de Preservación Permanente (APP). Jaarsma et al. (2007) aplicaron el enfoque SIG para estimar el riesgo de mortalidad que plantean las carreteras sobre animales silvestres, lo que debería ayudar a tomar decisiones de planificación en relación con el tráfico y la conservación de la vida silvestre. Mekuriaw et al. (2017) estudiaron cuencas hidrográficas en base a la morfometría de drenaje, el uso de la tierra y cobertura terrestre usando técnicas de SIG para la delineación y priorización para planes de conservación. Estos son algunos pocos ejemplos de las aplicaciones más relevantes del uso de SIG en ecología, pero las posibilidades aún no tienen límite si se tienen en cuenta las nuevas implementaciones con metodologías del ámbito de los modelos predictivos y las bases de datos geoespaciales. El aumento de la disponibilidad de datos de ocurrencia a gran escala (p. ej. GBIF [www.gbif.org], SpeciesLink [www.splink.org.br]) y de datos ambientales (p. ej. WorldClim [www.worldclim.org], SoilGrids [www.soilgrids.org]) asociados con el desarrollo de numerosas herramientas computacionales y estadísticas para almacenar, gestionar y compartir estos datos ha proporcionado el surgimiento de modelos estadísticos que vinculan los datos de ocurrencia de especies con la información ambiental espacial que finalmente se utilizan para predecir las distribuciones de las especies en el espacio y el tiempo (Anderson, Lew, & Peterson, 2003; Elith et al., 2006; J. O. Engler et al., 2017). Estos modelos aparecen citados en la literatura con una gran variedad de nombres: Modelos de Distribución de Especies, Modelos Predictivos del Hábitat, Modelos de Nicho Ecológico (este último adoptado a lo largo de esta tesis) (J. O. Engler et al., 2017; Guisan & Thuiller, 2005; Guisan & Zimmermann, 2000; Sillero, 2011), etc. Los resultados de estos modelos son conocidos como mapas de distribución potencial o mapas de idoneidad de hábitat (Guisan & Thuiller, 2005; Guisan & Zimmermann, 2000). Este método supone un importante avance en el campo de la biología analítica que tiene aplicaciones en muchos campos, incluidos la conservación y la gestión ambiental (Phillips, Anderson, & Schapire, 2006a).

La generación de MNE es un proceso computacionalmente complejo, que necesita gran variedad de datos, técnicas y paquetes de software. Sin embargo, todos los métodos comparten en gran medida un conjunto de principios similares (Guisan & Zimmermann, 2000): (1) captura y preparación de la muestra de presencia (la etapa más importante para

obtener resultados fiables; Jiménez-Valverde, Lira-Noriega, Peterson, & Soberón, 2010); (2) preparación y selección de las variables ambientales (por ejemplo reducción de la autocorrelación espacial); (3) selección y parametrización de algoritmos de modelado; (4) calibración del modelo (también llamado de entrenamiento); (5) proyección al espacio geográfico y; (6) análisis, interpretación de los resultados y aplicación. Dependiendo de la calibración del modelo, las salidas podrán ser interpretadas en probabilidades de presencia/ausencia o áreas idóneas/no idóneas para la ocurrencia de la especie.

Los MNE y los mapas de idoneidad del hábitat son herramientas cada vez más utilizadas para comprender la ecología y la distribución de especies y también para apoyar su conservación (Guisan et al., 2013; Guisan & Thuiller, 2005). El reflejo de ello es un crecimiento exponencial en el número de publicaciones que incorporan esta metodología en los últimos años (Guisan et al., 2013). Para ejemplificar de manera breve, los MNE se utilizan para: evaluar los efectos de los cambios ambientales y del uso de la tierra en la riqueza y distribución de especies (por ejemplo Breiner, Guisan, Bergamini, & Nobis, 2015; Vogeler et al., 2014); investigar los requisitos específicos de hábitat de las especies (por ejemplo Vierling et al., 2011); como base para la selección de sitios prioritarios en el manejo de conservación de especies (Domínguez-Vega, Monroy-Vilchis, Balderas-Valdivia, Gienger, & Ariano-Sánchez, 2012; A. P. Giorgi et al., 2014; Joshi, Charles, Ravikanth, & Aravind, 2017; Lessmann, Muñoz, & Bonaccorso, 2014; Sachser et al., 2017) o evaluar el riesgo potencial por la introducción de especies invasoras (Barbet-Massin et al., 2013; Bosch & al., 2014; Padalia, Srivastava, & Kushwaha, 2014). Estos modelos también se han aplicado con éxito para localizar nuevas poblaciones de especies raras y amenazadas (Buirá, 2016; Guisan et al., 2006; Lomba et al., 2010; Siqueira, Durigan, de Marco Júnior, & Peterson, 2009), evaluar los efectos potenciales del cambio global en la distribución de especies (Araújo, Alagador, Cabeza, Nogués-Bravo, & Thuiller, 2011; Cuyckens, Christie, Domic, Malizia, & Renison, 2016; Garzón, de Dios, & Ollero, 2008; Keshtkar & Voigt, 2016; Koo et al., 2017; Reina-Rodríguez, Rubiano, Castro Llanos, & Otero, 2016; Rus, Ramírez-Rodríguez, Amich, & Melendo-Luque, 2017; Sillero & Carretero, 2013; Thuiller et al., 2005); para inferir el riesgo de extinción de especies (por ejemplo Benito, Martínez-Ortega, Muñoz, Lorite, & Peñas, 2009) y determinar lugares óptimos para la reintroducción de especies amenazadas (Hirzel et al., 2004; McShea et al., 2005). También se han evaluado los cambios en el uso del suelo, ya que pueden afectar la biodiversidad y los servicios del ecosistema (por ejemplo Reidsma, Tekelenburg, van den Berg, & Alkemade, 2006).



VNIVERSIDAD
D SALAMANCA

CAMPUS OF INTERNATIONAL EXCELLENCE

CAPÍTULO II

JUSTIFICACIÓN, ESPECIES Y OBJETIVOS



2. JUSTIFICACIÓN, ESPECIES Y OBJETIVOS

2.1 JUSTIFICACIÓN

Tal como ya se ha comentado en la introducción, la situación actual de deterioro ambiental global está provocando una alarmante pérdida de biodiversidad en los hábitats de todos los continentes y océanos, situación de la que no es ajeno el territorio de la Península Ibérica, gran parte de cuya rica vida silvestre está siendo sometida a numerosas amenazas que la sitúan a las puertas de la extinción. En este contexto tan pesimista, este trabajo pretende investigar herramientas que puedan servir tanto para eliminar/mitigar algunas de esas amenazas, como para favorecer la viabilidad de poblaciones en peligro, en concreto de flora silvestre. Con este fin se han desarrollado varias metodologías en el ámbito de la conservación *ex situ*, como son: ensayos de mejora germinativa, producción de plantones y pruebas de viabilidad de semillas. También se han llevado a cabo experimentos en el campo de la bioinformática con la intención de obtener una mejor comprensión de los patrones de distribución de las especies a través de los MNE. Estos modelos han sido planteados con diferentes objetivos según la especie estudiada, como puede ser el conocer la evolución de las poblaciones teniendo en cuenta las previsiones de cambio climático a tiempo futuro. Los distintos enfoques que han sido considerados para este trabajo tratan de crear una urdimbre metodológica en la que se entretaja la conservación *in situ*, la *ex situ* y los modelos de nicho ecológico, de tal forma que el conjunto sea más potente que sus componentes por separado de cara a la conservación de especies amenazadas. Nuestro territorio de estudio es la comunidad autónoma de Castilla y León, una de las más extensas de Europa y con una enorme diversidad florística, aunque con un gran número de especies amenazadas. Ello ha justificado la creación de un decreto específico de conservación de flora, que es el DECRETO 63/2007 de 14 de junio, “por el que se crean el Catálogo de Flora Protegida de Castilla y León y la figura de protección denominada Microrreserva de Flora” (BOCYL, 2007). Este Decreto fue redactado siguiendo cuatro directrices básicas:

- ✚ Procurar la mayor eficiencia en las medidas de protección propuestas centrando el mayor esfuerzo de actuación en un reducido grupo de especies muy amenazadas y, en particular, en aquellas que sean endemismos exclusivos o tengan una proporción importante de su área de distribución natural incluida en Castilla y León.

- ✚ Establecer la suficiente tutela administrativa sobre un número mayor de especies que por su rareza o escasez, su dependencia de hábitats asimismo escasos o en regresión, o su singular papel ecológico o paisajístico requieran que las Administraciones Públicas velen por minimizar los impactos que diversas actuaciones puedan ocasionarles, degradando o disminuyendo sus poblaciones.
- ✚ Establecer los controles necesarios para que el aprovechamiento o recolección selectiva de determinadas especies silvestres no suponga un riesgo para la supervivencia de sus poblaciones, de modo que sea posible su uso sostenible.
- ✚ Garantizar el cumplimiento de las obligaciones dispuestas en los artículos 26.1 y 2 y 27.a) de la Ley 4/1989, de 27 de marzo, mediante la protección de los enclaves del territorio con poblaciones del máximo interés para la conservación de la flora más amenazada o escasa (BOCYL, 2007).

Además, el decreto dispone de tres capítulos, el primero detalla todo lo que se refiere al “Catálogo de Flora Protegida de Castilla y León”, el segundo a las “Microrreservas de Flora” y el tercero a “Autorizaciones e Infracciones”. Por último dispone de las listas por categorías de las especies protegidas: (I) catalogadas en “En Peligro de Extinción”, compuesta por 17 especies de 11 familias botánicas; (II) catalogadas en “Vulnerables”, compuesta por 48 especies de 26 familias botánicas; (III) catalogadas en “De atención preferente”, compuesta por 232 especies de 64 familias botánicas; y (IV) catalogadas en “Con aprovechamiento regulado”, compuesta por seis especies de cinco familias botánicas (BOCYL, 2007).

Uno de los principales criterios seguidos para la selección de especies del presente estudio ha sido que estuvieran incluidos en este mencionado decreto de Flora, ya que eso nos garantiza un paraguas legal de cara a controlar las poblaciones, además de disponer ya de una información previa sobre su distribución, estado de conservación y potenciales amenazas. Otra razón para la elección de especies ha sido la ausencia de estudios previos publicados o en marcha en el ámbito de la conservación vegetal *ex situ*, de ensayos de mejora germinativa, o bien de Modelos de Nicho Ecológico (MNE). Por último, las especies fueron seleccionadas por la presencia de poblaciones importantes, es decir, con un gran número de efectivos, en las proximidades de Salamanca y con facilidad de acceso, que por último se han concretado por la disponibilidad de semillas en campo en las temporadas 2015 y/o 2016.

Las especies seleccionadas teniendo en cuenta los criterios anteriores son:

- ✓ *Astragalus devesae* Talavera, A. González & G. López;
- ✓ *Isatis platyloba* Link ex Steud.;
- ✓ *Rhaponticum exaltatum* (Cutanda ex Willk.) Greuter;
- ✓ *Tephrosieris coincyi* (Rouy) Holub;
- ✓ *Succisella microcephala* (Willk.) G. Beck;
- ✓ *Veronica chamaepithyoides* Lam.;

Para *Tephrosieris coincyi* solo fueron desarrollados MNEs ya que de esta especie habían sido publicados su requerimientos germinativos (Martínez-García, Guerrero-García, & Pérez-García, 2012). En el caso de *Veronica chamaepithyoides* Lam. ocurre al contrario, ya que se hicieron ensayos de mejora germinativa pero no se elaboraron modelos de nicho ecológico al contar solo con datos precisos de dos poblaciones (una de las cuales puede considerarse extinta). La Tabla 1 sintetiza los estudios llevados a cabo para cada una de las especies.

Tabla 1. Estudios llevados a cabo para cada una de las especies seleccionadas.

Especies	Ensayos de mejora germinativa	MNEs a tiempo presente	MNEs a tiempo futuro	Reforzamiento poblacional experimental
<i>A. devesae</i>	x	X		x
<i>I. platyloba</i>	x		X	
<i>R. exaltatum</i>	x		X	
<i>T. coincyi</i>		X		
<i>S. microcephala</i>	x		X	
<i>V. chamaepithyoides</i>	x			

En un primer momento consideramos otras especies, también presentes en el Decreto 63/2007, como posibles candidatas para su incorporación en este trabajo, como por ejemplo *Eryngium viviparum* J. Gay, *Hohenackeria polyodon* Coss. & Durieu, *Prunus lusitanica* L. y *Luronium natans* (L.) Raf., pero la ausencia de semillas o incluso de ejemplares vivos en las poblaciones, en algunos casos, imposibilitó su inclusión. Por otra parte y visto *a posteriori*, el hecho de que las especies finalmente seleccionadas difieran grandemente en sus hábitos de vida y características ecológicas ha supuesto un valor añadido a este estudio, ya que podrían esperarse diferentes respuestas tanto en los ensayos germinativos como en los MNE, lo que sin duda enriquece las discusiones, comparaciones y conclusiones.

Es importante reseñar que otras especies en peligro de extinción de Castilla y León están siendo estudiadas por nuestro grupo de investigación de “Palinología y Conservación

Vegetal” en el Banco de Germoplasma de la USAL en el CIALE, en tesis y proyectos paralelos, como el Proyecto TRAGSATEC “Asistencia Técnica para la recolección de germoplasma y Desarrollo de Protocolos de Manejo *Ex Situ* de plantas protegidas de España”, gracias a los cuales se ha realizado la recolección de germoplasma, el estudio germinativo y el cultivo de cuatro especies de flora amenazada: *Antirrhinum lopesianum* Rothm. (en Peligro de Extinción); *Santolina semidentata* Rothm.(con Atención Preferente); *Thymelaea broteriana* Cout. (Vulnerable) y *Veronica micrantha* Hoffmans. & Link. (Vulnerable).

Esperamos que los resultados de este trabajo sirvan como base para poder llevar a cabo planes de acción eficaces para la protección de las especies estudiadas, de las que aportamos a continuación una breve descripción:

2.2 ESPECIES

2.2.1 *Astragalus devesae* Talavera, A. González & G. López

- **Familia:** Fabaceae
- **Biotipo:** Hemicriptófito con tallos principales postrados
- **Descripción morfológica:** Hierba perenne. Indumento formado por pelos simples, blancos. Tallos de 10-32 cm, inflorescencias de 17-22 cm, de color amarillo pálido. Fruto de tipo legumbre, de 24-31 mm. Semilla de 2,2-2,5 x 2,5-3,1 mm, reniforme (Figuras 1 y 2) (Teresa, Muñoz, & Gómez, 2009a).

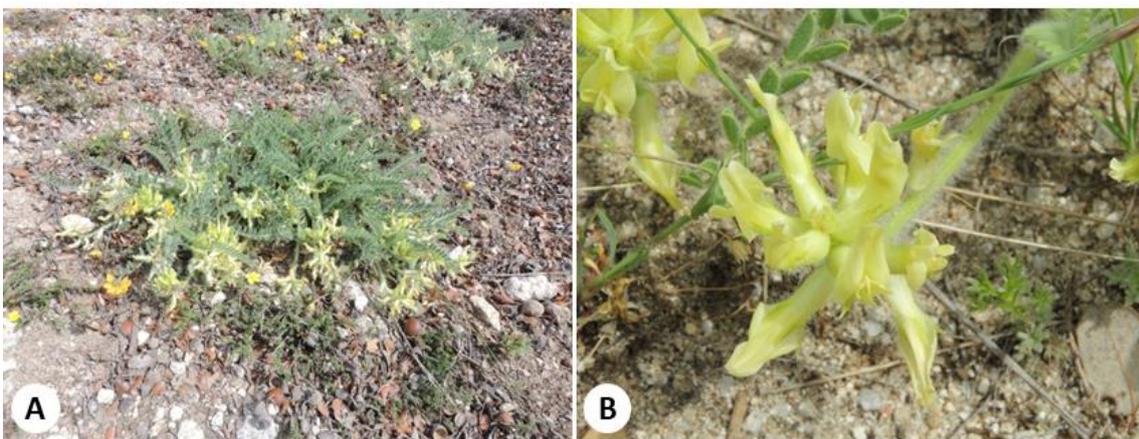


Figura 1. A) Ejemplar de *A. devesae* en Padiernos (Provincia de Ávila). B) Flor de *A. devesae*.

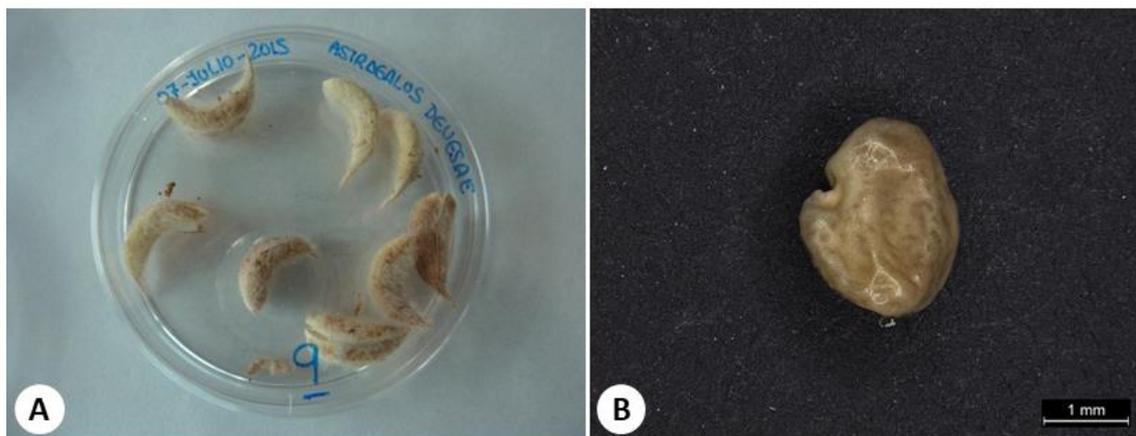


Figura 2. A) Frutos de *A. devesae*. B) Semilla de *A. devesae*.

- **Biología:** Especie monoica, posiblemente alógama. Su floración se produce entre mayo y junio, y su fructificación entre junio y julio. La polinización es entomófila, presumiblemente generalista. Los frutos caen y se abren cerca de la planta madre (Carrión et al., 2007). La observación de hormigas en el interior de los frutos de *A. devesae* permite sospechar que estos insectos contribuyen a la dispersión de las semillas. Dado el bajo número de individuos en sus escasas poblaciones, es probable que su diversidad genética sea muy baja (Martínez, Valcárcel, Fiz, & Vargas, 2004).
- **Distribución:** Su distribución conocida se reduce a tres poblaciones en el centro peninsular, dentro del territorio de Castilla y León (Figura 3). Las tres poblaciones conocidas de la especie se encuentran en la provincia de Ávila, en los municipios de Padiernos, Collado del Mirón y Ávila. La población de Padiernos es la más extensa, con aproximadamente 7700 m², mientras que la de Collado del Mirón es extremadamente reducida, con sólo 304 m² de área de ocupación (Teresa et al., 2009a). Datos sobre la población de Ávila, hallada en el año de 2015, con la ayuda de la Guardería Medio Ambiental de la Junta de Castilla y León de la provincia de Ávila, están siendo presentados con exclusividad en ese trabajo. Nuestro equipo llevó a cabo la caracterización del hábitat y ensayos germinativos con semillas de esa población (más detalles en el capítulo 3). La población está ubicada en una finca privada, con un área total de ocupación de la especie de aproximadamente 5170 m². Según nuestro censo llevado a cabo en 2016, la población cuenta con 234 individuos. La población se encuentra en los prados de una dehesa de encinas que son pastoreados por el ganado. Presenta las siguientes especies acompañantes: *Astragalus alopecuroides* L., *Eryngium campestre* L., *Carthamus lanatus* L., *Agrostis castellana* Boiss. y Reut, *Cytisus multiflorus* (L'Hér.) Sweet y *Thymus mastichina* L. La presión causada por el pastoreo en esta población es baja, por lo que su daño potencial es

inapreciable. Por todo ello, y teniendo en cuenta el elevado número de individuos y su buen estado general, puede afirmarse que el estado de conservación y protección de la población de *A. devesae* en Ávila es adecuado.

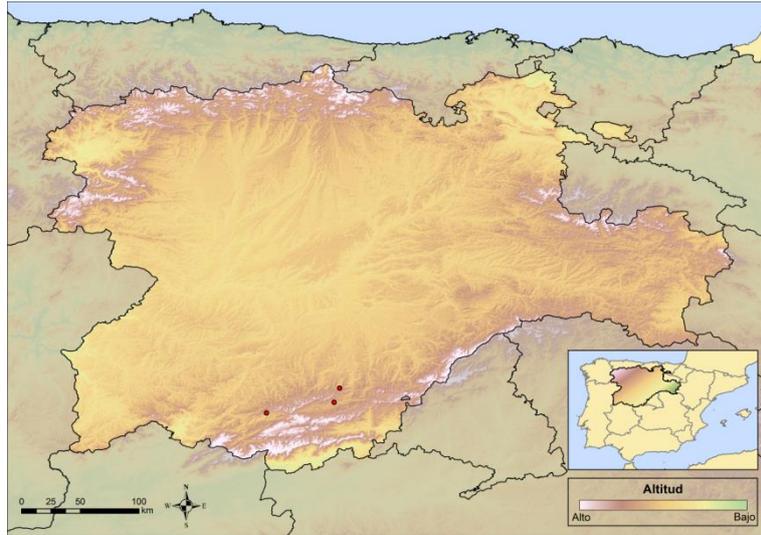


Figura 3. Distribución de *A. devesae* en Castilla y León.

- **Ecología:** Las poblaciones de Padiernos y Ávila se asientan sobre sustratos mixtos de arenas calizas (resultantes de afloramientos brechoides) y arenas silíceas de la matriz granítica de la sierra de Ávila, en un rango altitudinal entre los 1140 y los 1160 m, aproximadamente (Anexos A1 y 2). La población de Collado del Mirón aparece sobre arenas graníticas ácidas, a unos 1180 m, en pastizales junto a *Lavandula stoechas* L., *Stipa gigantea* Link, *Lupinus hispanicus* Boiss. & Reut., *Plantago holosteum* Scop., entre otras (Teresa et al., 2009a) (Anexo A3). En Padiernos, *A. devesae* forma parte del matorral de sustitución del encinar. En ambos casos, las poblaciones se encuentran en el piso de vegetación supramediterráneo, con bioclima mediterráneo pluviestacional-oceánico, y ombroclima seco (Rivas-Martínez, Rivas-Sáenz, & Penas-Merino, 2011).
- **Estado de Conservación y Áreas Protegidas:** Nuestros recuentos realizados en las visitas para la colecta de semillas en los años de 2015 y 2016 identificaron poco más de 200 ejemplares en la población de Ávila, alrededor de 300 ejemplares en la población de Padiernos, y escasos 6 individuos en la población de Collado del Mirón en 2016, que en abril de 2017 se reducían a solo un ejemplar. El estado de conservación en la población de Padiernos puede ser considerado satisfactorio ya que el número de individuos permanece estable desde los últimos censos realizados en 2008 (Teresa et al., 2009a). Además, con la publicación del Decreto 63/2007 de 14 de junio (BOCYL, 2007), y la propuesta de creación de la Microrreserva de Flora del Encinar de los Terreros (Teresa et al., 2009a; Teresa, Muñoz, & Gómez, 2009b), se eliminaron los factores de amenaza que generaban más impacto en esta población, principalmente la presencia de un vertedero y un circuito de *motocross* (Teresa et al., 2009b). Pero por otro lado, hemos constatado la presencia de

Iris germanica L., una especie invasora en las proximidades de las subpoblaciones de *A. devesae*, que podría suponer una amenaza si sigue aumentando su densidad. Además, en las excursiones de 2015 fue observada una nueva zona de vertidos en el entorno de la población. La grave situación de la población de Collado del Mirón en 2017 se debe al hecho de que en los mismos terrenos donde se asienta, se han llevado a cabo actividades de extracción de áridos con maquinaria agrícola, provocando la eliminación de más del 90% de los efectivos, en relación con el último censo que realizamos en 2016. Pero para nuestra sorpresa, en una nueva visita en octubre de 2017, hemos observado seis nuevos ejemplares, lo cual muestra que el banco de semillas de la especie está activo (más información en el Capítulo 3).

2.2.2 *Isatis platyloba* Link ex Steud.

- **Familia:** Brassicaceae
- **Sinónimos:** *Isatis glauca sensu* Cout.; *Isatis lusitanica sensu* Brot.
- **Biotipo:** Terófito erecto
- **Descripción morfológica:** Hierba anual, ocasionalmente bienal. Tallos hasta de 100 cm, erectos. Flores en racimos ebracteados, agrupados en inflorescencias paniculiformes. Fruto 8-14 × 6-10 mm, en silícula indehiscente. Semilla oblonga, lisa; cotiledones incumbentes (Figura 4) (Galán, 1993; Muñoz-Centeno, Delgado-Sánchez, López-González, Rojas-Andrés, & Rico-Hernández, 2009).
- **Biología:** *Isatis platyloba* es hermafrodita y posiblemente alógama. Florece desde marzo hasta junio y fructifica desde junio hasta julio. La polinización es entomófila generalista y la dispersión de la diáspora es anemócora, alada. No se conoce reproducción asexual en esta planta (Muñoz-Centeno et al., 2009).

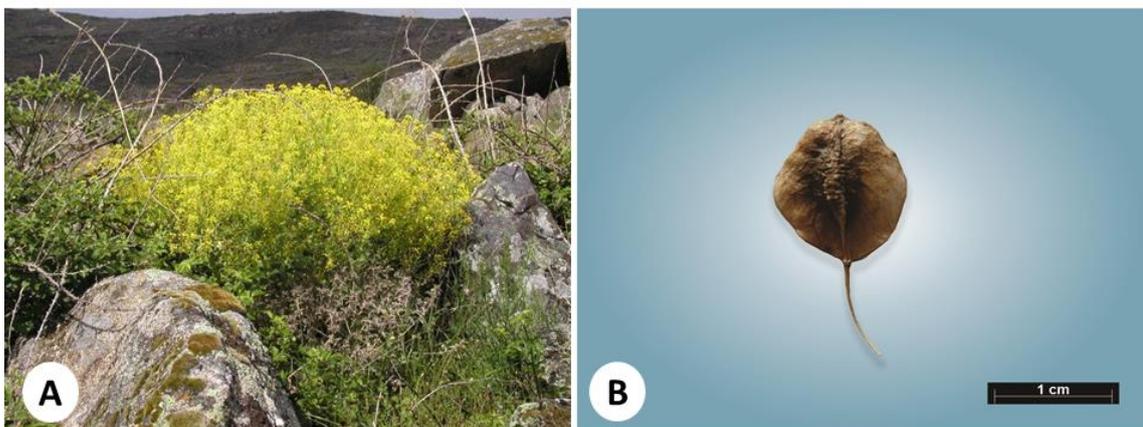
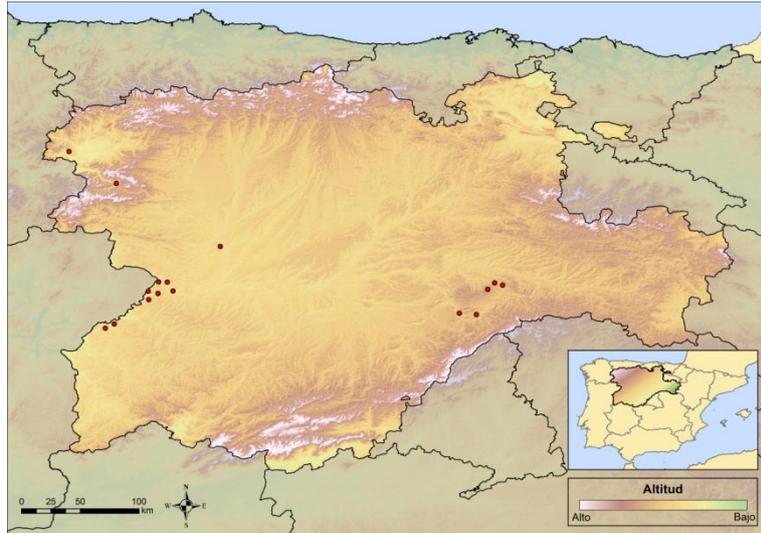


Figura 4. A) Ejemplares de *I. platyloba* en floración (de: Muñoz-Centeno et al., 2009). B) Fruto de *I. platyloba*.

Figura 5. Distribución de *I. platyloba* en Castilla y León.



- **Distribución:** Endémica del noroeste de la Península Ibérica. En Portugal aparece en Trás-os-Montes y Alto Douro y en España se distribuye por las Arribes del Duero y las cuencas medias de los ríos Sil, Riaza y Duratón. En Castilla y León, *Isatis platyloba* ha sido citada de las Arribes del Duero y zonas próximas, tanto a en la provincia de Salamanca como en la de Zamora, puntualmente en los cañones de la cuenca media de los ríos Duratón y Riaza en la provincia de Segovia (Figura 5) (Muñoz-Centeno et al., 2009).
- **Ecología:** Se encuentra en herbazales y lugares ruderalizados, entre roquedos y cortados muy abruptos, con un microclima térmico y soleado. Suelen ser zonas visitadas por aves rupícolas cuyas deyecciones aportan abundante materia orgánica. El rango altitudinal en el que se encuentra es de 400 a 970 m (Muñoz-Centeno et al., 2009). Las poblaciones encontradas se ubican entre los pisos bioclimáticos supramediterráneo inferior y mesomediterráneo, con inviernos frescos y ombroclima seco (Rivas-Martínez et al., 2011).
- **Estado de Conservación y Áreas protegidas:** Según Muñoz-Centeno et al. (2009), en sus dos poblaciones más importantes por su estado de conservación y abundancia de ejemplares, se censaron en 2009, aproximadamente, 100 individuos en la población del Mirador de Hocecilla (cañón del río Riaza - Segovia); y en la en la población de Pereña (Salamanca) se llegaron a censar, en 2002 alrededor de 500 individuos, en 2004 aproximadamente 200 individuos, y finalmente en 2009, menos de 50 individuos. Nuestras visitas a esas poblaciones confirman esta preocupante situación, ya que en 2015 se contabilizaron en Pereña menos de 10 individuos, y en 2016 no se encontró ningún ejemplar maduro. En el mirador de Hocecilla, en 2015 se observó un solo individuo, y en 2016 contamos aproximadamente 20 individuos. Es importante destacar que nuestras visitas no tenían el propósito inicial de censar las poblaciones, y sí de coleccionar semillas para pruebas germinativas, por lo que, quizás, se pasaron por alto individuos ubicados en zonas de difícil acceso. En cualquier caso aunque es evidente la gran fluctuación en el

número de individuos de esas poblaciones, no se ha observado ningún tipo de amenaza inmediata en las poblaciones visitadas, lo que puede estar justificado tanto por la inaccesibilidad de los sitios donde crecen, como por encontrarse gran parte de ellas en espacios protegidos: las salmantinas en el Parque Natural de Arribes del Duero y las segovianas en los Parques Naturales de las Hoces de los ríos Duratón y Riaza.

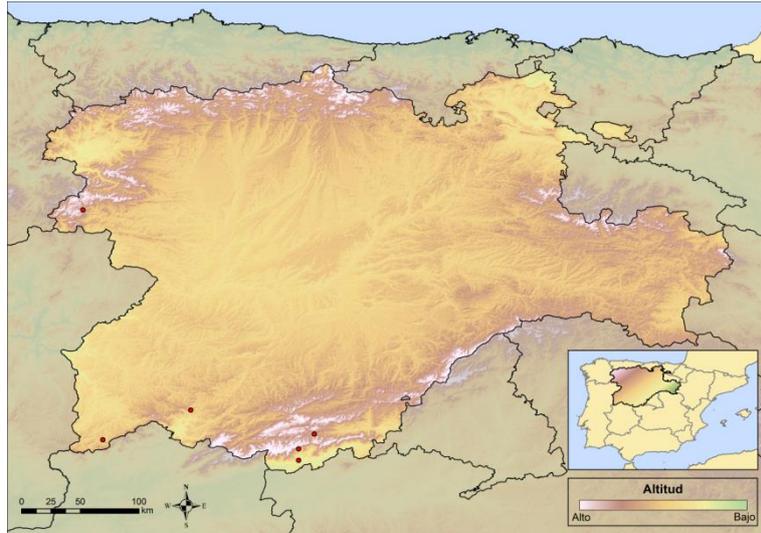
2.2.3 *Rhaponticum exaltatum* (Cutanda ex Willk.) Greuter

- **Familia:** Compositae
- **Sinónimos:** *Leuzea exaltata* Cutanda ex Willk.; *Leuzea rhaponticoides* Graells, Mem.; *Centaurea rhaponticoides* (Graells) Cout.; *Stemmacantha exaltata* (Cutanda ex Willk.) Dittrich.
- **Biotipo:** Hemicriptófito erecto (con tallos principales erectos o ascendentes).
- **Descripción morfológica:** Planta perenne, con un rizoma tuberoso, engrosado y más o menos vertical, tallo de 100-150 cm. Capítulos discoideos, homógamos, solitarios; involucre 6-8 cm de diámetro. Receptáculo con largos mechones de pelos blanquecinos entre las flores. Flósculos purpúreo-violáceos. Cipselas ca. 4,5 mm, ovoideas, de color marrón, lisos. Vilano de pelos plumosos, hasta 13mm, de un blanco marfileño, soldados entre sí en la base (Figura 6) (Rojo & Fernández-González, 2009).
- **Biología:** Es una especie hermafrodita que florece y fructifica entre la segunda quincena de junio y agosto. Presenta polinización entomófila, siendo los polinizadores observados pequeños insectos del grupo de los lepidópteros e himenópteros. La dispersión de las semillas es anemócora, favorecida por el vilano, que triplica la longitud de las cipselas y es plumoso; probablemente sólo garantiza distancias de dispersión cortas, puesto que el fruto es bastante pesado (Rojo & Fernández-González, 2009).



Figura 6. A) Capítulo de *R. exaltatum* con inflorescencia seca en Hoyocasero. B) Fruto de *R. exaltatum* con detalle en su vilano de pelos plumosos.

Figura 7. Distribución de *R. exaltatum* en Castilla y León.



- Distribución:** Planta endémica del centro y noroccidente ibérico. En España se conoce en el Sistema Central centro-occidental, desde la Sierra de Gredos hasta la Sierra de Gata, y también en Montes de Toledo y en los Montes de León. En Castilla y León se conocen varias localidades en la Sierra de Gredos, Sierra de la Paramera, La Serrota, Pinar de Hoyocasero, Sierra de Béjar, LIC Quilamas (Sierra de Peña de Francia), El Rebollar (Sierra de Gata), Valle del Tiétar, Valle del Cuerpo de Hombre y en un área disyunta perteneciente a Sanabria, en los Montes de León. En casi todas las localidades castellanoleonesas conocidas tiene poblaciones con muy pocos ejemplares, a excepción de las de los territorios abulenses, y en especial la del Pinar de Hoyocasero, localidad clásica del taxón (Figura 7) (Rojo & Fernández-González, 2009).
- Ecología:** Sotobosques, linderos y claros de bosques caducifolios con preferencia por melojares y castañares o de coníferas; las mejores poblaciones se hallan en pinares naturales de *Pinus sylvestris* L., con sotobosque dominado por el cerrillo (*Festuca elegans* subsp. *merinoi* (Pau) Fuente & Ortuñez). Planta silicícola, que vive en Castilla y León en el piso supramediterráneo subhúmedo (Rivas-Martínez et al., 2011). Su rango altitudinal es de 1000-1600 m (Anexo A4) (Rojo & Fernández-González, 2009).
- Estado de Conservación y Áreas protegidas:** La población más importante, teniendo en cuenta la abundancia poblacional, corresponde a la localidad del Pinar de Hoyocasero, en la que Rojo & Fernández González (2009) estimaron más de 200.000 individuos. Sin embargo, contrastando las observaciones de estos autores, en las que no hacen mención a presencia de afección alguna en la planta, en nuestras visitas a esta población en los años 2015 y 2016 constatamos una depredación severa por parte de polillas (ver Capítulo 3 – Recolección de Semillas). La parte de la planta atacada era exclusivamente el fruto, depredando las semillas todavía inmaduras (Anexos A5 y 6). En las dos temporadas de análisis llevadas a cabo, más de dos tercios de los capítulos colectados para la obtención de

semillas estaban en mal estado por esta circunstancia. Según los entomólogos consultados, el predador era una larva de alguna especie del género *Homoeosoma* (Pyralidae: Phycitinae). Las larvas de este género se alimentan habitualmente de semillas de asteráceas e incluso algunas especies (*H. nebulella*) se consideran importantes plagas de cultivos de girasoles dentro de la UE (Faucheux, 1991). Esta población está incluida en el Área protegida llamada Parque del Pinar de Hoyocasero, lo que en principio garantiza la ausencia de potenciales amenazas de origen antrópico (dado el carácter forestal del hábitat en que se desarrolla, podría convertirla en víctima potencial de incendios, porque suelen ser frecuentes en pinares. Así, en el verano de 2017 se produjo uno de gran intensidad en las proximidades pero que finalmente pudo ser controlado antes de llegar a afectar al Pinar de Hoyocasero).

2.2.4 *Tephroseris coincyi* (Rouy) Holub

- **Familia:** Compositae
- **Sinónimos:** *Cineraria coincyi* (Rouy) Willk.; *Senecio coincyi* Rouy
- **Biotipo:** Geófito rizomatoso
- **Descripción morfológica:** Herbácea bienal o perenne de hasta 1,70 m de altura. Flores en capítulos de 25-35 mm de diámetro, agrupados en corimbos laxos, largamente pedunculados. El fruto es un aquenio fusiforme estriado longitudinalmente de entre 3 y 6 mm de largo y de menos de 1 mm de diámetro. Está dotado de un vilano para su dispersión por el viento (Anexo A7 y Figura 8) (García, García, Mijarra, Molino, & Mateos, 2009).

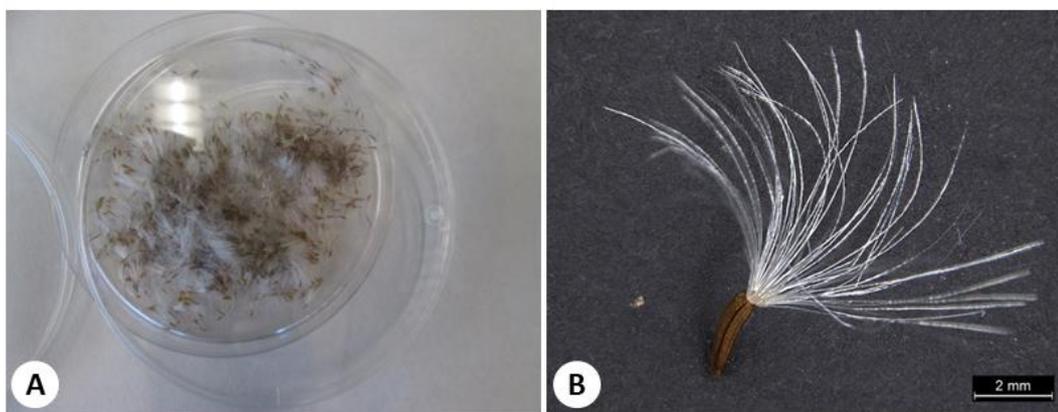


Figura 8. A) Frutos de *T. coincyi*. B) Fruto de *T. coincyi* con su vilano.

- **Biología:** Es una especie monoica; las plantas florecen desde mediados de mayo a finales de junio, pero al ser una especie que vive en una amplia banda altitudinal se puede apreciar una importante diferencia fenológica – de hasta varias semanas – entre las fechas de

floración-fructificación de las poblaciones que viven en las partes más bajas y/o térmicas y las que se localizan a mayores altitudes. La polinización la realizan diversos insectos de los órdenes Himenoptera, Lepidoptera, Diptera y Coleoptera. Por lo tanto, parece que se trata de una especie entomófila generalista. La fructificación se produce desde finales de junio hasta julio-agosto (García et al., 2009).

- **Distribución:** Considerada endémica de las sierras de Villafranca y de Gredos hasta haber sido reencontrada en el cañón del río Tera cerca del lago de Sanabria (Galende, Zamora) (Bariego, Benítez, Buira, del Egido, & Rodríguez, 2015). En Castilla y León existe representación de la especie en los municipios (todos en la provincia de Ávila): Avellaneda, Santiago del Collado, Piedrahita, Navalperal de Tormes, San Juan de Gredos, San Martín de la Vega del Alberche, Navarredonda de Gredos, San Martín del Pimpollar, Piedralaves y El Tiemblo (Figura 9) (García et al., 2009).

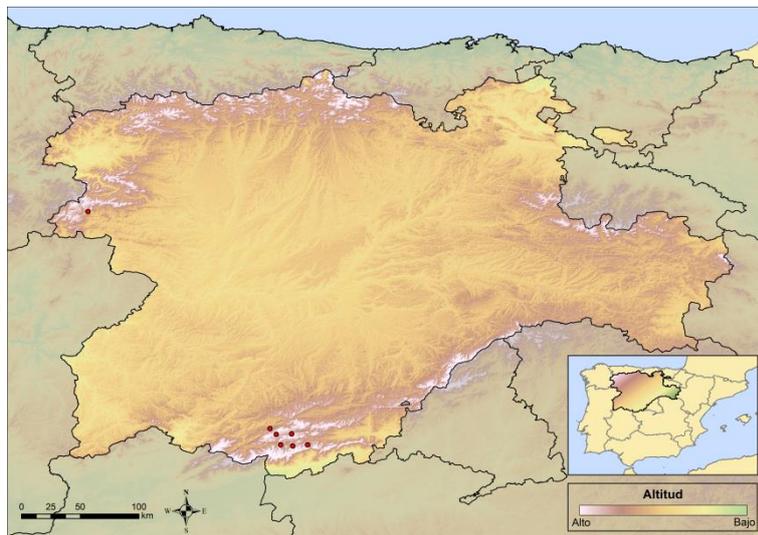


Figura 9. Distribución de *T. coincy* en Castilla y León.

- **Ecología:** La mayor parte de sus poblaciones se encuentran en una banda altitudinal entre los 1500 y los 1800 m. El hábitat natural primario (preantrópico) de *T. coincy* son lugares permanentemente húmedos de media-alta montaña como los márgenes de arroyos encajonados y sombríos, de difícil acceso, los nacimientos de pequeños regatos, turberas y prados encharcados (García et al., 2009).
- **Estado de Conservación y Áreas protegidas:** El proceso de abandono del tradicional sistema de aprovechamiento de los prados de siega puede suponer un riesgo para la pervivencia de algunas poblaciones de la especie. En la actualidad una buena parte de sus efectivos viven en estos antiguos herbazales ya que es una especie muy ligada a medios permanentemente húmedos. La falta de mantenimiento de los sistemas de riego necesarios

para la persistencia de estos herbazales conlleva una reducción de la superficie encharcada o permanentemente húmeda (García et al., 2009). Dos de sus poblaciones están dentro del Parque Regional y LIC de la Sierra de Gredos y una tercera en la Reserva Natural y LIC Valle de Iruelas. Las tres localidades no confirmadas se encuentran en sendos LICs: Sierra de la Paramera y Serrota, Pinar de Hoyocasero, y Lago de Sanabria y alrededores (García, Álvarez, Rubiales, García-Amorena, & García, 2008; García et al., 2009).

2.2.5 *Succisella microcephala* (Willk.) G. Beck

- **Familia:** Dipsacaceae
- **Sinónimos:** *Succisa microcephala* Willk.
- **Biotipo:** Hemicriptófito erecto (con tallos principales erectos o ascendentes)
- **Descripción morfológica:** Planta herbácea perenne, con tallos de 40-115 cm, erectos o ascendente-erectos. Fruto en aquenio, que queda encerrado en el involuclero. Semillas algo aplanadas, débilmente foveoladas, apiculadas, de color pardo (Figura 10) (Pérez-Badia & Fernández-González, 2009).

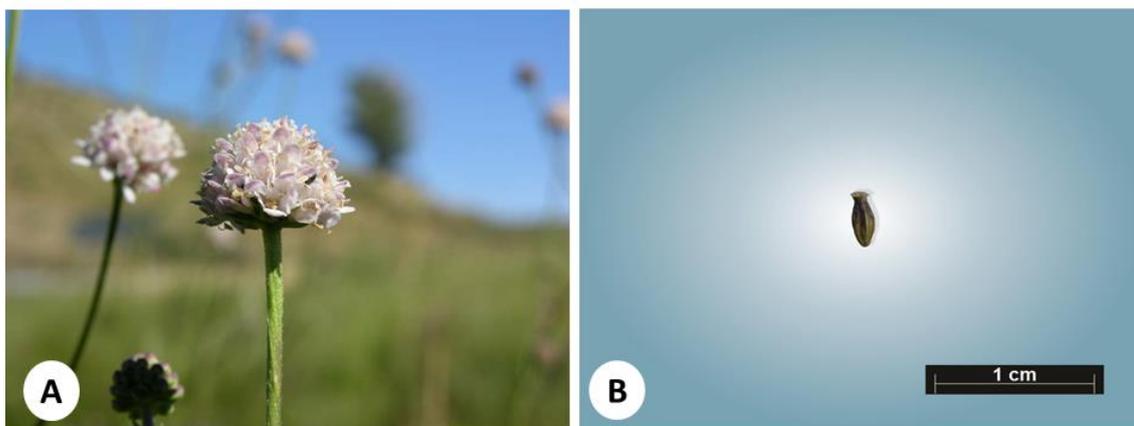


Figura 10. A) Capítulos florales de *S. microcephala* (de: Pérez-Badia & Fernández-González, 2009). B) Fruto de *S. microcephala*.

- **Biología:** Tiene una activa multiplicación vegetativa mediante rizomas relativamente delgados, con entrenudos elongados, que se ramifican para producir vástagos ascendentes que dan origen a rosetas y tallos floríferos. Es una especie hermafrodita. Florece y fructifica tardíamente, entre los meses de agosto y septiembre (octubre). Las flores son visitadas por insectos variados, no muy abundantes en la época de final de verano en la que florece la planta (Pérez-Badia & Fernández-González, 2009).
- **Ecología:** Las localidades de esta especie en Castilla y León se hallan en el piso bioclimático supramediterráneo, entre 1250 y 1500 m, con la excepción de la referencia de

Poyales del Hoyo, que juntamente con las otras localidades conocidas de Cáceres y Ciudad Real se hallarían en el piso mesomediterráneo (Rivas-Martínez et al., 2011). Se trata de una planta silicícola que crece en diversos tipos de prados higrófilos más o menos pastoreados. Ocupa suelos permanentemente húmedos, que apenas experimentan desecación superficial estival, y a menudo se ubica en las inmediaciones de flujos de agua, colonizando incluso suelo denudado por la corriente. En algunos de los sitios que ocupa debe soportar episodios invernales o primaverales de inundación (Pérez-Badia & Fernández-González, 2009).

- **Distribución:** Es una especie endémica del centro-oeste de la Península Ibérica: provincias de Ávila, Cáceres y Ciudad Real. En Castilla y León se conocen 5 núcleos poblacionales en la provincia de Ávila (Figura 14) (Pérez-Badia & Fernández-González, 2009).

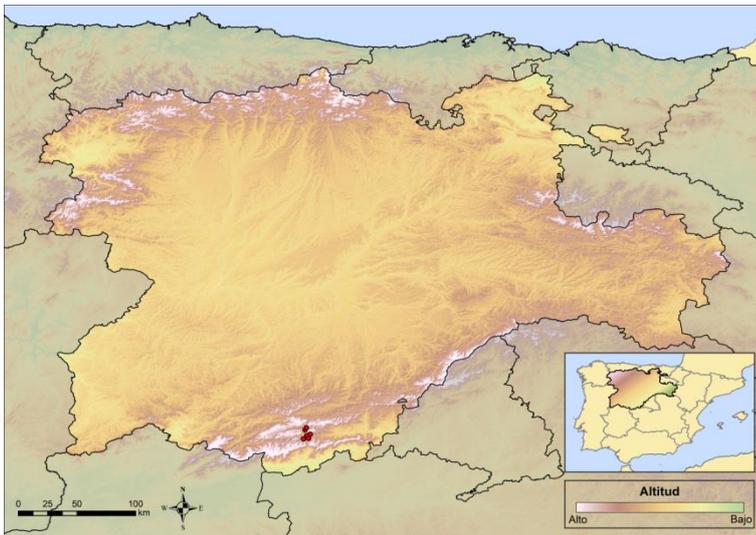


Figura 11. Distribución de *S. microcephala* en Castilla y León.

- **Estado de Conservación y Áreas protegidas:** Hemos observado actividades de sobrepastoreo como factor importante de amenaza en las poblaciones visitadas, lo cual reduce sus posibilidades de reproducción de semilla, según

Pérez-Badia & Fernández-González (2009) (Anexo A8). Algunas de las poblaciones se encuentran en el Parque Regional de la Sierra de Gredos, o en la Reserva Fluvial de los Sotos del río Guadyrbas y arenales del Baldío de Velada, pero los autores Amich & Bernardos (2008) garantizan que eso no parece representar ninguna garantía adicional de protección para esas poblaciones.

2.2.6 *Veronica chamaepithyoides* Lam.

- **Familia:** Plantaginaceae
- **Sinónimos:** *Veronica digitata* Vahl
- **Biotipo:** Terófito erecto

- **Descripción morfológica:** Hierba anual con tallos (1,5)3-16(24) cm, erectos o ascendentes. Flores ligeramente zigomorfas. Cápsula 3,5-6 x 3-3,5 mm, de longitud mayor que la anchura, comprimida, obdeltoide. Semillas 1,1-1,4 x 0,6-0,8 mm, c. 10-20 por cápsula, ± planas, ovales, alveolado-verrugosas, amarillo claras (Martínez-Ortega, Sánchez-Agudo, & Rico, 2009; Sánchez-Agudo & Rico, 2009).
- **Biología:** Es una especie hermafrodita y probablemente alógama. Sus periodos de floración y fructificación dependen en gran medida de la meteorología, y cubre el periodo que va desde abril a julio. El síndrome floral de esta especie indica una posible polinización entomófila generalista que emplearía como vectores a insectos de pequeño tamaño. En cuanto a la dispersión de las semillas es de tipo barócora, puesto que la cápsula no dispone de mecanismos autónomos de lanzamiento o que faciliten su transporte y las semillas carecen de eleosoma (Figuras 12 y 13) (Sánchez-Agudo & Rico, 2009).



Figura 12. Ejemplar de *V. chamaepithyoides* en floración (de: Sánchez-Agudo & Rico, 2009).

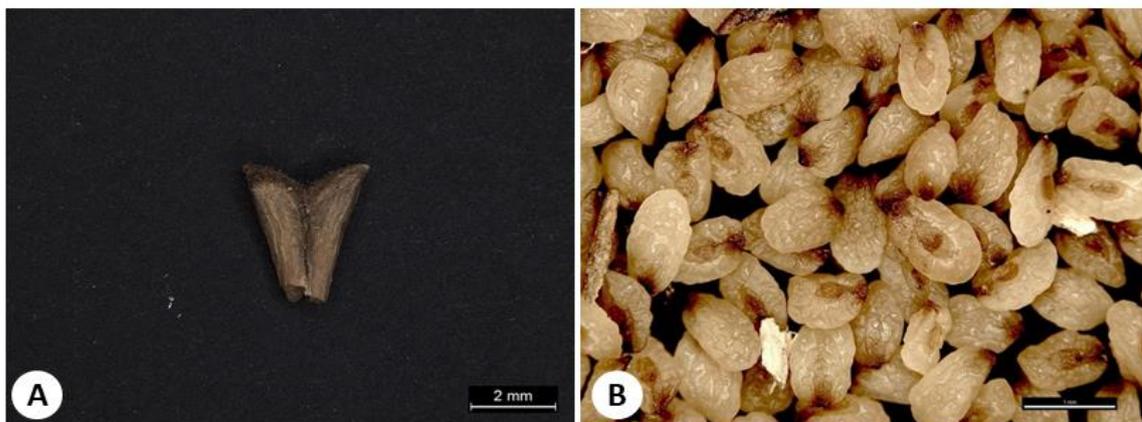


Figura 13. A) Cápsula de *V. chamaepithyoides*. B) Frutos de pequeño tamaño (~1 mm).

- **Distribución:** Endémica del centro de la Península Ibérica, con solo una población viva conocida en Guadalajara. En Castilla y León, se conocía una agonizante población ubicada

en San Miguel de Bernuy (Segovia) (Figura 14), pero no ha vuelto a ser detectado ningún individuo en ella en los últimos 10 años. En Valladolid había una cita antigua de 1852 pero nunca volvió a ser detectada. Más tarde, una población que tuvo su origen en los intentos de reintroducción que llevaron a cabo Sánchez-Agudo (2008) en el año 2006 no se pudo considerar consolidada, ya que en el año 2010 se observaron apenas dos individuos de muy pequeño tamaño, y en los años anteriores el número de ejemplares nunca llegó a superar los cinco.

- **Ecología:** La población de San Miguel de Bernuy se asentaba en los márgenes pisoteados y pedregosos de un camino rural, sobre substrato arenoso-margoso. Presentaba un elevado grado de nitrificación de origen animal, ya que es lugar de paso habitual de rebaños de ovejas que pastorean la vegetación existente. La altitud es de 831 m. En Guadalajara vive sobre los suelos margoso-arcillosos, removidos de los bordes de un cultivo de secano y de los taludes bajos que lo delimitan. La altitud es de 989 m (Sánchez Agudo and Rico, 2009).
- **Estado de Conservación y Áreas protegidas:** A pesar de que se trata de una planta anual con las habituales fluctuaciones entre un año y otro (por las condiciones meteorológicas), se hace patente que las perspectivas de viabilidad de esta población son escasas (Sánchez-Agudo & Rico, 2009). El uso de pesticidas, aunque no se tiene una constancia directa de ello, puede ser una de las razones de la reducción histórica de las poblaciones de esta especie según Sánchez-Agudo & Rico (2009). Talaván et al. (2008) enfatizan la importancia de delimitar las poblaciones con vallado (aunque quizás una protección estricta puede producir problemas de competencia con otras especies), y reintroducirla en campos próximos.

La tabla 2, sintetiza la distribución, endemismos, características biológicas y grado de amenaza bajo distintas normativas. La Figura del Anexo A9 sintetiza las distribuciones en la Península Ibérica de las especies objeto de estudio.

Figura 14. Distribución de *V. chamaepithyoides* en Castilla y León. La cruz indica el intento fallado de reintroducción.

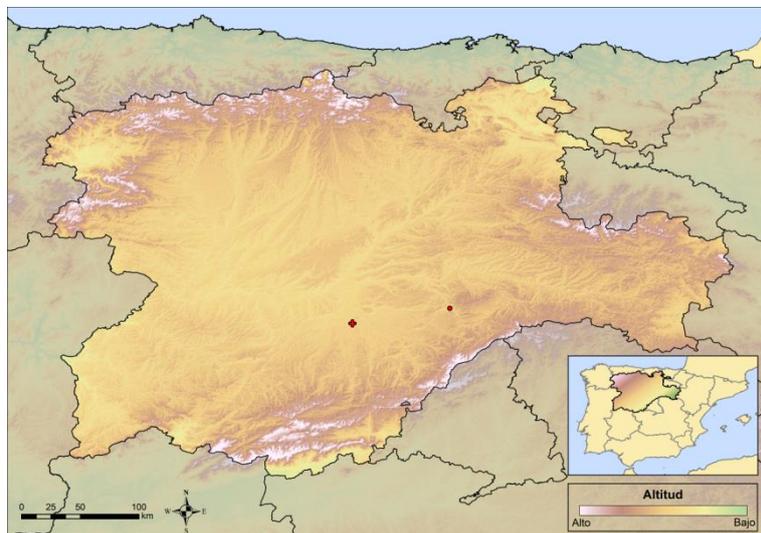


Tabla 2. Síntesis de la distribución, características biológicas y grado de amenaza bajo distintas normativas y ámbitos geográficos de las especies objeto de estudio.

ESPECIES	<i>A. devesae</i>	<i>I. platyloba</i>	<i>R. exaltatum</i>	<i>T. coincyi</i>	<i>S. microcephala</i>	<i>V. chamaepithyoides</i>
Biotipo	Hemicriptófito	Terófito anual	Hemicriptófito erecto	Geófito rizomatoso	Hemicriptófito erecto	Terófito erecto
Reproducción	Posiblemente Alógama	Alógama	Alógama	¿Desconocida?	Alógama	Posiblemente Alógama
Expresión Sexual	Monoica	Hermafrodita	Hermafrodita	Hermafrodita	Hermafrodita	Hermafrodita
Características de los Frutos	Fruto de tipo legumbre, Cimbiforme	Fruto en silícula indehiscente, de suborbicular-oblonga a ovalada	Cipselas ovoideas, de color marrón, lisos; vilano de pelos plumosos	Aquenio fusiforme estriado	Aquenio, que queda encerrado en el involucrelo	Cápsula obdeltoide
Hábitat	Sustratos mixtos de arenas calizas y arenas silíceas de la matriz granítica de la sierra de Ávila	Repisas algo ruderalizadas, en roquedos y cortados extraplomados	Sotobosques, linderos y claros de bosques caducifolios	Márgenes de arroyos, turberas y prados de siega en suelos ácidos con humedad permanente	Planta silicícola que crece en diversos tipos de prados higrófilos	Substrato arenoso-margoso. En Guadalajara vive sobre los suelos margoso-arcillosos
Distribución España y CyL	Endemismo de la Península Ibérica. Las poblaciones conocidas de la especie se encuentran en Ávila	Arribes del Duero y las cuencas de los ríos Sil, Rianza y Duratón	Endemismo ibérico central y noroccidental	Endémica de España; se encuentra en la provincia de Ávila, Sierra de Villafranca y Sierra de Gredos	Endémica del centro-oeste de la Península Ibérica: (Ávila, Cáceres, Ciudad Real)	Endémica del centro de la Península Ibérica, con solo dos poblaciones vivas conocidas en Segovia y Guadalajara
Amenaza Decreto CyL	EN	VU	VU	EN	VU	EN
Criterios IUCN para España	CR B2ab(iii) + C2a(ii)	VU B2ac(iv); C2b	VU D2	VU B1ab(i,ii,iii,iv)+2ab(i,ii,iii,iv)	VU	CR B1ab(ii,iv)c(iv)+2ab(ii,i)c(iv); C2a(i)b; D; E
Floración	V-VI	III-V	VI-VII	VI-VII	VIII-IX	V-VI
Fructificación	VI-VII	VI- VII	VII-VIII	VII-VIII	VIII-X	V-VI
Polinización	Entom. generalista	Entomófila	Entomófila	Entomófila generalista	Entomófila	Entom. generalista
Dispersión	Los frutos caen y se abren cerca de la planta madre	Anemócora Alada	Anemócora	Anemócora frutos con vilano	Simple barocoria	Simple barocoria
Referencias	(Teresa et al., 2009a)	(Muñoz-Centeno et al., 2009)	(Rojo & Fernández-González, 2009)	(García et al., 2008, 2009)	(Pérez-Badia & Fernández-González, 2009)	(Sánchez-Agudo, 2008; Sánchez-Agudo & Rico, 2009)

2.3 HIPÓTESIS

Ensayos de germinación y viabilidad: basados en el conocimiento previo a través de datos empíricos, conjuntamente con revisiones bibliográficas, se espera *a priori* que haya diferencias en las tasas germinativas según los protocolos probados para cada especie. Además, por tratarse de especies con distintos hábitos, formas de vida y ecología, se espera que cada una responda de manera distinta. En el caso de encontrarse diferencias en las tasas germinativas, la previsión es que tratamientos con hormonas vegetales puedan ofrecer los mejores resultados comparados con los tratamientos controles.

Modelos de nicho ecológico a tiempo presente: el uso de los modelos generados para realizar búsquedas de nuevas poblaciones en localidades señaladas como de mayor idoneidad de hábitat permitirá plantear algunas interrogantes (ej.: si no encontramos, ¿se debe a limitaciones en la dispersión de la especie estudiada? ¿Faltan conexiones ecológicas y preservadas que permitan flujo biológico de esas áreas con las poblaciones existentes?, ¿hay otras variables no consideradas que sean más importantes en la distribución de la especie?).

Modelos de nicho ecológico a tiempo futuro: según información y consulta bibliográfica, se espera – a nivel global – que las especies silvestres en peligro de extinción se vean especialmente afectadas por el cambio climático. Si los modelos alcanzan un buen poder predictivo (ver metodología), ello nos permitiría discutir con cierto rigor las posibles situaciones de amenaza que pueden darse para cada especie teniendo en cuenta esos escenarios futuros, relacionando los resultados con la biología y ecología de cada una de ellas.

2.4 OBJETIVOS

2.4.1 Viabilidad y germinación de semillas

Objetivo general:

- ✓ Conocer y evaluar las respuestas germinativas de semillas procedentes de poblaciones castellanoleonesas de cuatro especies en peligro de extinción (*A. devesae*, *I. platyloba*, *R. exaltatum*, *S. microcephala* y *V. chamaepithyoides*), sometidas a diferentes ensayos de germinación. A la vez, analizar la calidad de las semillas y su viabilidad. Con todo ello se pretende generar protocolos eficaces de

germinación de las especies estudiadas, poniendo el foco en su aplicación práctica en futuros planes de conservación *in situ*.

Objetivos específicos:

- ✓ Determinar variaciones interpoblacionales de la especie en peligro crítico de extinción *A. devesae*, con respecto a sus respuestas germinativas, aplicando protocolos de germinación ya conocidos para esta especie;
- ✓ Evaluar la viabilidad de semillas almacenadas a largo plazo de *V. chamaepithyoides*, además de comparar sus respuestas germinativas en diferentes tratamientos. También, documentar la tasa de supervivencia de las plantas obtenidas de estos ensayos tras su desarrollo y mantenimiento en invernadero.
- ✓ Comparar resultados alcanzados en los diferentes tratamientos probados para *I. platyloba*, *R. exaltatum* y *S. microcephala*, además de comparar los resultados alcanzados en dos años de recolección de semillas, para las dos primeras especies.

2.4.2 Reforzamiento poblacional experimental

Objetivo general:

- ✓ Llevar a cabo un reforzamiento poblacional experimental de *A. devesae*, a partir de plantas generadas en los ensayos germinativos. Además, evaluar el éxito del reforzamiento a través de su seguimiento por un período de dos años.

2.4.3 Modelos de Nicho Ecológico – muestreo de especies raras

Objetivo general:

- ✓ Generar modelos de nicho ecológico actual de dos endemismos castellanoleoneses: *A. devesae* y *T. coinnyi*, de cara a contribuir a las posibles acciones de conservación *in situ*.

Objetivos específicos:

- ✓ Realizar búsquedas de nuevas poblaciones de *A. devesae* en localidades con altos valores de idoneidad de hábitat, a partir de los modelos generados en diferentes escalas de resolución.

- ✓ Comparar el poder predictivo y la validez de las distribuciones potenciales de los modelos regenerados en diferentes escalas geográficas para *T. coincy* (Castilla y León y Sistema Central); y, a partir de ellos, sugerir nuevas áreas potenciales para la realización de introducciones experimentales.

2.4.4 Modelos de Nicho Ecológico – futuros escenarios

Objetivo general:

- ✓ Generar modelos de nicho ecológico a tiempo futuro en diferentes escenarios del cambio climático de tres endemismos ibéricos: *I. platyloba*, *S. microcephala* y *R. exaltatum*, para evaluar posibles riesgos en su estado de conservación en un futuro a medio plazo.

Objetivos específicos:

- ✓ Comparar, mediante la aplicación de los MNE, la distribución actual y futura en diferentes escenarios del cambio climático de las tres especies estudiadas;
- ✓ Evaluar la capacidad de las reservas naturales para proteger poblaciones de las especies amenazadas en un contexto de cambio climático.

ANEXO

A. Figuras y mapas de distribución de las especies estudiadas.



A1. Vista general del hábitat de *A. devesae* en Padiernos.



A5. Imagen de microscopio de un fruto de *R. exaltatum* depredado.



A2. Aspecto general del área de *A. devesae* en Collado del Mirón (Ávila).



A6. Parásitos del género *Homoeosoma* colectados en los capítulos de *R. exaltatum*.



A3. Vista general del hábitat de la población de *A. devesae* en Ávila.



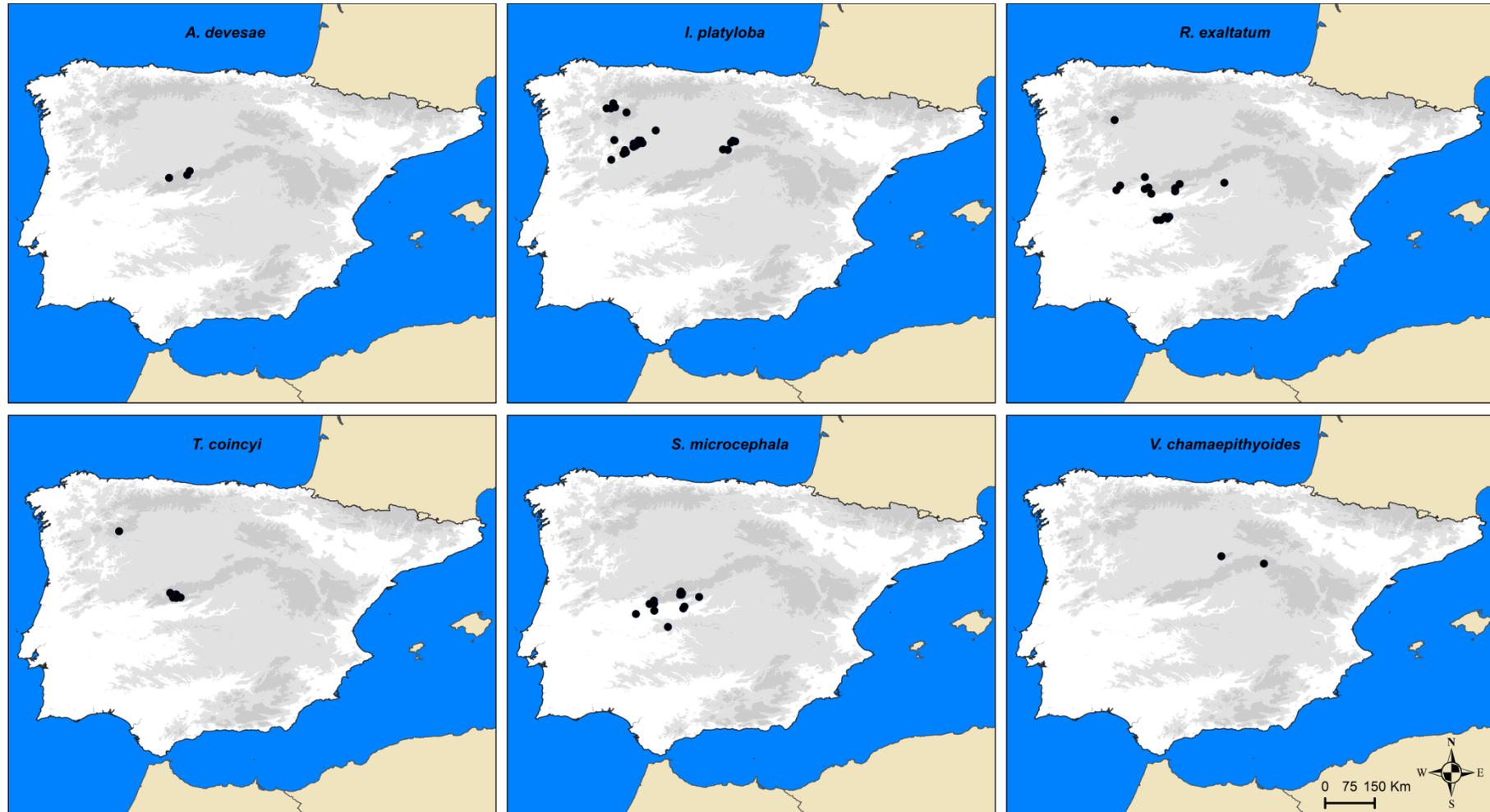
A7. Ejemplares de *T. coincyi* en floración, Piedrahita (de: García et al., 2009).



A4. Hábitat de *R. exaltatum* en el Pinar de Hoyocasero.



A8. Hábitat de *S. microcephala* en San Martín del Pimpollar afectado por el sobrepastoreo.



A9. Distribución en la Península Ibérica de las especies objeto de estudio.



**UNIVERSIDAD
DE SALAMANCA**

CAMPUS OF INTERNATIONAL EXCELLENCE

CAPÍTULO III

ENSAYOS DE MEJORA GERMINATIVA Y VIABILIDAD DE SEMILLAS DE ESPECIES DE INTERÉS DE LA FLORA DE CASTILLA Y LEÓN



3. ENSAYOS DE MEJORA GERMINATIVA Y DE VIABILIDAD DE SEMILLAS DE ESPECIES DE INTERÉS DE LA FLORA DE CASTILLA Y LEÓN

3.1 INTRODUCCIÓN

La germinación y el establecimiento de plántulas son las etapas cruciales en el ciclo de vida de una planta porque son importantes en la determinación de su éxito reproductivo (Baskin & Baskin, 1998; Fenner & Thompson, 2005; Khurana & Singh, 2001). Las características del hábitat de las especies de plantas siempre influyen fuertemente en la probabilidad de germinación, especialmente cuando tienen hábitats restringidos y específicos (Baskin & Baskin, 1987; Jusaitis, Polomka, & Sorensen, 2004). Otros factores claves influyen en la germinación de las semillas, incluida la luz, la temperatura, la disponibilidad de nitrógeno y la acción de hormonas vegetales internas como por ejemplo la giberelina (GA) (Albert, Iriondo, & Pérez-García, 2002; Atia, Debez, Barhoumi, Smaoui, & Abdelly, 2009; Baskin & Baskin, 1984; Dissanayake, George, & Gupta, 2010; Noronha, Andersson, & Milberg, 1997; Shen, Wu, Yang, Wang, & Sun, 2015).

Las vías de señalización de la hormona vegetal GA pueden estimular la germinación de la semilla a través del "debilitamiento del endospermo" y la "expansión de la célula del embrión" (Miransari & Smith, 2014). La escarificación química (uso del H₂SO₄, que ablanda o consume parcialmente los tegumentos (Bacchetta et al., 2008; ISTA, 2004a)) es indicada por diferentes instituciones para especies con semillas con tegumentos seminales o endocarpos muy duros e impermeables. También la estratificación en frío se ha utilizado ampliamente para romper la latencia y maximizar el porcentaje y la tasa de germinación de semillas (ISTA, 2004a). Según Karssen et al. (1989) y Bewley & Black (1994), el aumento en la concentración de GA durante la estratificación en frío puede inducir la germinación de la semilla latentes en muchas especies. Finalmente, es un hecho conocido que la presencia de nutrientes incluyendo compuestos nitrogenados incrementan la germinación (Del Vecchio et al., 2012). El efecto positivo de KNO₃ en la germinación de la semilla se ha relacionado con un efecto osmótico que mejora el consumo de agua y oxígeno por parte del embrión y un efecto nutricional sobre la síntesis de proteínas (Gallart, Verdú, & Mas, 2008).

Es importante recordar que las semillas pueden ser clasificadas en dos categorías principales: i) ortodoxas: aquellas tolerantes a la deshidratación y que pueden ser sometidas a bajos valores de humedad y temperatura (Bacchetta et al., 2008; Hong, Ellis, & Linington, 1998). Pertenecen a este grupo la mayor parte de las semillas de climas templados y

mediterráneos (Bacchetta et al., 2008; Hong et al., 1998); y ii) recalcitrantes: aquellas sensibles a la deshidratación, con altos niveles de humedad en el momento de la diseminación y por lo tanto tienden a germinar en poco tiempo (Bacchetta et al., 2008). Después de haber alcanzado la madurez morfológica, las semillas ortodoxas se encuentran en un estado de vida latente. Para el retorno a la vida activa, y que las semillas alcancen la madurez fisiológica, es necesario que las condiciones externas sean favorables (Bacchetta et al., 2008).

Respecto a la clasificación de los tipos de dormición, en la clasificación de Nikolaeva (1969) se consideran dos grandes grupos: de tipo endógeno (cuando la ausencia de germinación está provocada únicamente por el embrión); y de tipo exógeno (cuando participan algunas estructuras relacionadas, como endocarpos leñosos, tegumentos seminales, etc). Pero los estudios de Baskin & Baskin (2003, 2004) resaltan además que pueden haber diferentes combinaciones de dormición endógena y exógena. Si existen varias causas y combinaciones que provocan la dormición, son necesarios pretratamientos específicos para cada una de ellas cuando tratamos de realizar experimentos *ex situ*.

Como es ya conocido, la Península Ibérica es una de las regiones biológicas más biodiversas del mundo (Lozano et al., 1996; Reyjol et al., 2007), y por ello es especialmente vulnerable al proceso de extinción de sus especies silvestres debido a la crisis ambiental global (Fontaine et al., 2007; E. O. Wilson, 1988). Por lo tanto, los trabajos en el ámbito de la conservación vegetal *ex situ*, que buscan conocer los requerimientos germinativos de las especies vegetales, sobre todo las amenazadas, son un requisito previo para el diseño de prácticas de conservación eficaz. Es en este sentido en que se direcciona el trabajo expuesto en este capítulo, con el estudio de los requisitos para la germinación *ex situ* de semillas de varias especies de flora amenazada de España.

Como ya comentado en el Capítulo 2, partimos de un listado preliminar de potenciales especies de interés para la ejecución de ese estudio, pero la disponibilidad de semillas en campo o *ex situ* (*Veronica chamaepithyoides* Lam.) determinó que finalmente acabáramos seleccionando las siguientes: *Astragalus devevae* Talavera, A. González & G. López; *Isatis platyloba* Link ex Steud.; *Rhaponticum exaltatum* (Cutanda ex Willk.) Greuter; *Succisella microcephala* (Willk.) G. Beck; y *Veronica chamaepithyoides* Lam. Todas ellas son endemismos ibéricos, en peligro de extinción (Lista Roja de Flora Vasculare Española; Moreno, 2008, 2011) y recogidas en el Decreto 63/2007, de 14 de junio, por el que se crean el Catálogo de Flora Protegida de Castilla y León, con las categorías de “En Peligro” o “Vulnerable”, con poblaciones importantes en esta misma comunidad. Para el caso de *I.*

platyloba, *R. exaltatum* y *S. microcephala* se trata de los primeros estudios de este tipo, mientras que para *V. chamaepithyoides* se trata de un nuevo aporte que complementa a los ya realizados por Sánchez-Agudo (2008).

3.2 MATERIAL Y MÉTODOS

3.2.1 Recolección de Semillas

La programación de la recolección de frutos y/o semillas en campo fue planteada según el período de fructificación de cada especie. Las campañas tuvieron lugar en dos años consecutivos 2015 y 2016, con el fin de poder hacer comparaciones en las respuestas germinativas entre semillas de años diferentes. Con el mismo objetivo y cuando fue posible, se trató de conseguir semillas de poblaciones diferentes (Tabla 1), cuya selección estuvo basada en un conjunto de factores, pero fundamentalmente el que se tratara de poblaciones con un gran número de efectivos que produjeran un gran número de semillas, con el fin de garantizar una mayor diversidad genética y que la recolección de material para nuestro estudio no socavara en demasía su viabilidad.

La recolección de frutos/semillas para cada especie y población se realizó de forma manual, procurando que estuvieran maduros y en buenas condiciones. La cantidad extraída estuvo siempre por debajo del porcentaje aconsejado en la bibliografía para evitar daños en las poblaciones (no recoger más del 20% de las semillas disponibles el día), criterio fundamental en el caso de especies amenazadas que se trabaja de campo (Bacchetta et al., 2008). Cuando la disponibilidad era suficiente se recolectó el material adecuado para los ensayos, preservándolo en pequeñas bolsas de papel aireadas, individualmente para cada ejemplar. Con el objetivo de conseguir la mayor diversidad genética en el muestreo se trató de coleccionar semillas del mayor número posible de individuos, recorriendo por completo la población.

Nuestro procedimiento de muestreo sigue lo indicado por Bacchetta et al. (2008) que, en resumen, recomiendan: 1) muestrear aproximadamente el 50% de los individuos de cada población; 2) muestrear los individuos aleatoriamente; y 3) muestrear una cantidad de semillas de cada planta que asegure una buena representatividad. Además, tal como se indicó antes, como se trata de especies en peligro de extinción, según los mismos autores se debe estar seguro que la recolección no va a perjudicar de ningún modo la viabilidad de las poblaciones. En la Tabla 1 se especifica el cronograma de salidas de campo llevadas a cabo

para cada especie en ambas temporadas. En la secuencia, tenemos la descripción de las salidas de campo para cada especie.

Tabla 1. Fechas y poblaciones visitadas para la recolección de semillas de cada una de las especies estudiadas, en los años 2015 y 2016.

Fecha	Especie(s)	Poblaciones visitadas
2015		
07/07/2015	<i>Astragalus devesae</i>	Ávila (Ávila)
08/07/2015	<i>Astragalus devesae</i>	Padiernos (Ávila)
06/08/2015	<i>Isatis platyloba</i>	Hoces del Río Riaza - Mirador de Hocecilla (Segovia)
		Hoces del Río Duratón - Sepúlveda (Segovia)
11/08/2015	<i>Rhaponticum exaltatum</i>	Hoyocasero (Ávila)
12/08/2015	<i>Isatis platyloba</i>	Pereña (Salamanca)
29/08/2015	<i>Rhaponticum exaltatum</i>	Hoyocasero (Ávila)
	<i>Succisella microcephala</i>	San Martin del Pimpollar – subpobl. I (Ávila)
		San Martin del Pimpollar – subpobl. II (Ávila)*
2016		
01/06/2016	<i>Astragalus devesae</i>	Collado del Mirón (Ávila)
28/06/2016	<i>Isatis platyloba</i>	Pereña (Salamanca)*
01/07/2016	<i>Isatis platyloba</i>	Hoces del Río Riaza - Mirador de Hocecilla (Segovia)
		Hoces del Río Duratón - Sepúlveda (Segovia)
22/07/2016	<i>Rhaponticum exaltatum</i>	Hoyocasero (Ávila)

* Sin semillas disponibles para la recolección.

Astragalus devesae

- **07/07/2015 – Ávila.** En esta población (Figura 1) recién descubierta por la Guardería Medio Ambiental de la JCyL se llevó a cabo, la primera salida de campo para la recolección de semillas. Fueron colectados diversos frutos de 20 individuos, encontrados maduros y en buen estado (Anexo A1), que en total sumaron aproximadamente 600 semillas.
- **08/07/2015 – Ávila, Padiernos.** En esta población se recogieron 325 semillas de siete ejemplares, aunque fueron observados muchos más en diversas fases de desarrollo (Anexos A2 y 3).
- **01/06/2016 – Ávila, Collado del Mirón.** Se observaron sólo cuatro ejemplares de los cuales fueron recogidos aproximadamente 325 semillas en total (Anexos A4 y 5).

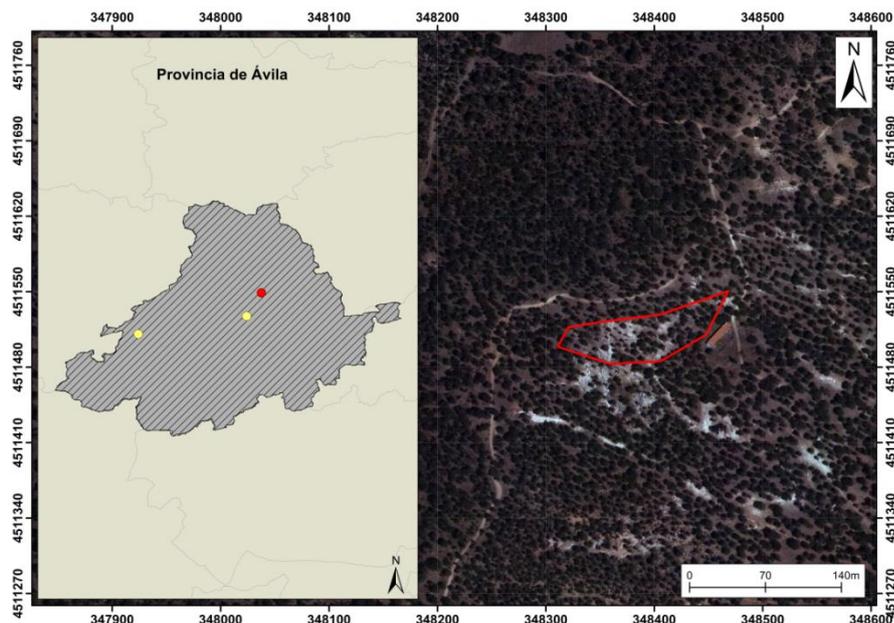


Figura 1. Ubicación y área de ocupación de la población de *A. devesae* en el municipio de Ávila (Ávila).

Isatis platyloba

- **06/08/2015 – Segovia, Hoces del Río Riaza, Mirador de Hocecilla.** Población con solo un individuo (Anexos A6 y 7), del que se colectaron 20 frutos.
Segovia, Sepúlveda, Hoces del río Duratón. Población con 10 ejemplares (Anexos A8 y 9), de los que sólo de cuatro fue posible la recolección de frutos. Además se recogieron frutos del suelo que todavía presentaban buenas condiciones para los posteriores tratamientos germinativos. En total, fueron recogidos de esta población 220 frutos.
- **12/08/2015 – Salamanca, Pereña.** En las proximidades de Nuestra Señora del Castillo (Anexo A10). se observaron seis individuos, pero solo de cuatro fue posible la recolección de frutos. De estos fueron recolectados aproximadamente 175 frutos. Debido a lo tardío de la fecha, se observaron muchos frutos ya en el suelo, de los que colectamos. 755. En total conseguimos 930 frutos.
- **28/06/2016 – Salamanca, Pereña.** No se localizaron ejemplares adultos, solo uno joven y sin frutos (Anexo A11), por lo que no fue posible conseguir semillas.
- **01/07/2016 – Segovia, Hoces del río Riaza, Mirador de la Hocecilla.** Aproximadamente con 10 individuos, adultos y con frutos, sin embargo de cuatro no fue posible la recolección por su inaccesibilidad. Del resto se colectaron aproximadamente 385 frutos.
Segovia, Sepúlveda, Hoces del río Duratón. Contamos aproximadamente 15 individuos, de los cuales, siete estaban fructificados y de los que conseguimos aproximadamente 415 frutos. Se logró al final un total de 800 frutos para esa especie en ese año de 2016.

- **Plantas crecidas en el invernadero.** De las pocas semillas (12, de distintas poblaciones) que germinaron en el año 2015 de *I. platyloba*, se desarrollaron plantas que sobrevivieron en el invernadero y que produjeron muchas semillas en la temporada posterior (Anexo A12). En agosto de 2016, una vez maduras, fueron colectadas 800 con el objetivo de comparar su tasa de germinación con las colectadas en campo, repitiendo los mismos tratamientos (ver ensayos de mejora germinativa).

Rhaponticum exaltatum

- **11/08/2015 – Ávila, Hoyocasero, Pinar de Hoyocasero.** Se recolectaron 425 frutos de 25 ejemplares, que aún en buen estado de madurez, presentaban un grave problema de depredación de semillas por insectos (Anexos A13 y 14). En laboratorio, del total de frutos recolectados, solo 125 (30%) estaban sanos y el resto estaban dañados por los insectos (Anexo A15).
- **29/08/2015 – Ávila, Hoyocasero, Pinar de Hoyocasero.** Dado el bajo número de semillas sanas colectadas en la anterior visita a esta población, se decidió volver para conseguir un mayor número que nos permitieran llevar a cabo los ensayos previstos. En esta ocasión se consiguieron más 270 frutos sanos.
- **22/07/2016 - Ávila, Hoyocasero, Pinar de Hoyocasero.** En esta campaña, se consiguieron 500 frutos sanos de 19 ejemplares, aunque al igual que en las veces anteriores se detectó una elevada afección por insectos.

Succisella microcephala

- **23/10/2015 – Ávila, San Martín del Pimpollar.** Para esta localidad había dos citas de dos localidades próximas. De la primera (Anexo A16), conseguimos localizar ocho individuos maduros de los que se recolectamos 180 semillas (Anexo A17). En la segunda subpoblación (San Martín de Pimpollar – II) (Anexo A18), probablemente a consecuencia del sobrepastoreo (Anexo A19), no encontramos ejemplar alguno.

Veronica chamaepithyoides

- **07/2004 – Guadalajara, Alcolea de las Peñas.** Las semillas de esta especie habían sido colectadas gracias a un trabajo de tesis doctoral (Sánchez Agudo, 2008) y habían estado almacenadas en el Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal de la Universidad de Salamanca desde que fueran recolectadas. Las semillas habían estado mantenidas en bolsas

de papel, en oscuridad y temperatura ambiente por el periodo de siete años. En noviembre de 2015 fueron mantenidas en temperatura y luz ambiente por tres meses antes de las pruebas. El objetivo de este experimento se centró en verificar la viabilidad de las semillas tras años de almacenamiento en un ambiente no controlado, ya que el protocolo óptimo de germinación para esta especie ya era conocido y su porcentaje de germinación es alto (Sánchez-Agudo, 2008).

3.2.2 Protocolos de Germinación

A fin de encontrar potenciales protocolos que fueran compatibles con los materiales y equipamientos presentes en el Banco de Germoplasma de la Universidad de Salamanca, se realizó en primer lugar una exhaustiva búsqueda de bibliografía direccionada a estudios de conservación y germinación de semillas *ex situ*, de especies vegetales en general y de géneros y especies de nuestro estudio en particular. En este último caso, por tratarse de especies silvestres de distribución restringida, apenas localizamos trabajos previos, ni siquiera para otras especies del género al que se adscribían. Sólo para dos de las especies, *Astragalus devevae* y *Veronica chamaepithyoides*, conocíamos los tratamientos óptimos para su germinación, gracias a que habían sido realizados por el propio BG-USAL (Sánchez Agudo, Duran, Rodríguez de la Cruz, Reyes, & Sáchez, 2011; Sánchez Duran, Sánchez Agudo, Rodríguez de la Cruz, Reyes, & Sáchez, 2011; Talaván et al., 2008). Para el caso de *A. devevae* los mejores resultados (69% de éxito de germinación) fueron conseguidos con un tratamiento de 60 minutos en Ácido Sulfúrico (H_2SO_4 al 95%) en cámara germinativa a la temperatura de 22/10 °C, con 12 horas de luz a temperatura caliente y 12 horas de oscuridad a temperatura fría. Sánchez-Agudo (2008) ensayó para *Veronica chamaepithyoides* diferentes temperaturas y ciclos de luz/oscuridad, sin tratamiento previo, y logró hasta un 100% de semillas germinadas en cámara con en ciclos de 12 horas de luz a 14 °C y 12 horas de oscuridad a 18 °C. Dado el elevado éxito de germinación con los tratamientos propuestos para estas dos especies, los hemos incorporado a nuestra metodología, teniendo para ellas como objetivo el analizar diferencias de tasas germinativas entre poblaciones para *Astragalus devevae* y estudiar la viabilidad de las semillas de *Veronica chamaepithyoides* tras años de almacenamiento en un ambiente no controlado.

Para las otras tres especies de las que se carece de información sobre sus requerimientos germinativos, se optó por probar los protocolos base recomendados por ISTA (ISTA, 2004a). Por diversas razones (latencia fisiológica, dureza de la semilla, sustancias

inhibidoras, etc.) un número considerable de semillas necesitan una o dos combinaciones de los tratamientos recomendados para que se pueda obtener una germinación completa (ISTA, 2004a, 2004b).

Entre algunos de los protocolos están:

- ✓ Estratificación en frío;
- ✓ Precaentamiento;
- ✓ Nitrato potásico (KNO₃) al 0,2%;
- ✓ Ácido giberélico (GA) al 0,05 o 0,02%;
- ✓ Ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 95%.

La utilización de hormonas vegetales y otras sustancias químicas en experimentos con germinación de semillas en laboratorio está avalada por una extensa bibliografía que ha confirmado que el uso de estos químicos, como las giberelinas (GA) y el nitrato potásico (KNO₃), inducen y/o mejoran las respuestas germinativas de diversas especies (por ejemplo Atia et al., 2009; Del Vecchio et al., 2012; Dissanayake et al., 2010; Duclos, Altobello, & Taylor, 2014; Eremrena & Mensah, 2016; Grzesik et al., 2017; Hugo, Saayman-Du Toit, & Reinhardt, 2014; Ruttanaruangboworn, Chanprasert, Tobunluepop, & Onwimol, 2017; Shen et al., 2015).

En relación a las temperaturas y ciclos de luz/oscuridad adoptados en nuestros ensayos, Bacchetta et al. (2008) afirman que la temperatura de 22/10 °C es la que induce los mejores resultados germinativos para especies mediterráneas. La segunda temperatura que hemos seleccionado (27/15 °C) se basó en resultados previos realizados para diversas especies mediterráneas e amenazadas de extinción en Castilla y León, en el propio Banco de Germoplasma de la USAL (datos no publicados). Además, por ser la temperatura adoptada para las pruebas con *Astragalus devevae*, fue una manera de optimizar el uso del número de cámaras germinativas para los ensayos de todas las especies consideradas para ese estudio. Tras la lectura y recopilación de toda esta documentación se elaboró el plan con los tratamientos probados para las semillas de cada una de las especies estudiadas que se puede observar en la tabla de síntesis (Tabla 2):

Tabla 2. Tabla de síntesis de número de semillas recolectadas, tratamientos germinativos elegidos y de viabilidad realizados, para cada una de las especies estudiadas. [Estratificación fría a 5 °C en cámara oscura durante 2 meses; Temperatura I: 22/10 °C con 12 horas de luz en la temperatura caliente /12 horas de oscuridad en la temperatura fría; Temperatura II: 27/15 °C con 12 horas de luz en la temperatura caliente /12 horas de oscuridad en la temperatura fría; Temperatura III*: (Cambio de temperatura para las pruebas con *V. chamaepithyoides*): 18/14 °C con 12 horas de luz en la temperatura caliente /12 horas de oscuridad en la temperatura fría; KNO₃ (nitrato potásico): Concentración de 0,2%; GA (ácido giberélico): Concentraciones de 0,02% (250 ppm) y 0,05% (500 ppm). Siempre que no hay especificación de la concentración utilizada, se trata de 0,02% (ISTA, 2004b); H₂SO₄ (ácido sulfúrico): Concentración de 95%].

2015							
Especie	Población	Nº de semillas colectadas	Nº Total de Semillas	Test de Viabilidad	Ensayos germinativos		Nº de semillas probadas
					Temp. I	Temp. II	
<i>Astragalus devesae</i>	Monsalupe (Av)	600	600	-	-	H ₂ SO ₄ 60'	300
<i>Astragalus devesae</i>	Padiernos (Av)	325	325	-	-	H ₂ SO ₄ 60'	300
<i>Isatis platyloba</i>	Hoces del Río Riaza (Sg)	20	1170	100	Control	Control	200 (100 x t ^a)
	Hoces del Río Duratón (Sg)	220			KNO ₃ (0,2%) 24h	KNO ₃ (0,2%) 24h	200 (100 x t ^a)
	Pereña (Sa)	930			GA a 0,05% 24h	GA a 0,05% 24h	200 (100 x t ^a)
					Estratificación fría	Estratificación fría	200 (100 x t ^a)
<i>Rhaponticum exaltatum</i>	Hoyocasero (Av)	395	395	50	Control	-	50
					KNO ₃ (0,2%) 24h	-	50
					GA a 0,05% 24h	-	50
					Estratificación fría	-	50
					H ₂ SO ₄ por 60'	-	50
<i>Succisella microcephala</i>	San Martín del Pimpollar (Av)	180	180	-	Control	Control	160 (80 x t ^a)
2016							
<i>Veronica chamaepithyoides</i>	Semillas almacenadas (Gu)	1000	1000	-	Control (*Cambio t ^a)	-	200
					GA 0,02% (*Cambio t ^a)	-	200
					GA 0,05% (*Cambio t ^a)	-	200
<i>Astragalus devesae</i>	Collado del Mirón (Av)	400	325	-	-	H ₂ SO ₄ 60'	300
<i>Isatis platyloba</i>	Hoces del Río Riaza (Sg)	385	800	-	Control	Control	200 (100 x t ^a)
	Hoces del Río Duratón (Sg)	415			KNO ₃ (0,2%) 24h	KNO ₃ (0,2%) 24h	200 (100 x t ^a)

<i>Isatis platyloba</i>	Semillas Invernadero	800	800	-	GA a 0,05% 24h	GA a 0,05% 24h	200 (100 x t ^a)
					Estratificación fría	Estratificación fría	200 (100 x t ^a)
					Control	Control	200 (100 x t ^a)
					KNO ₃ (0,2%) 24h	KNO ₃ (0,2%) 24h	200 (100 x t ^a)
					GA a 0,05% 24h	GA a 0,05% 24h	200 (100 x t ^a)
					Estratificación fría	Estratificación fría	200 (100 x t ^a)
<i>Rhaponticum exaltatum</i>	Hoyocasero (Av)	400	400	-	Control	-	80
					H ₂ SO ₄ 45'	-	80
					H ₂ SO ₄ 45' + GA 24 h	-	80
					H ₂ SO ₄ 45' + KNO ₃ 24 h	-	80
					Estratificación fría + H ₂ SO ₄ 45'	-	80

Salvo en el caso de *A. devesae*, en el que el objetivo era comparar tasas germinativas entre poblaciones, en el resto se llevó a cabo la mezcla de las semillas de las poblaciones visitadas en la misma temporada para iniciar los tratamientos germinativos (importante resaltar que los objetivos de los análisis estadísticos se centraron finalmente en comparar tratamientos y entre años de muestreo).

3.2.3 Test de Viabilidad

Hemos aplicado el Test de Tetrazolio para el análisis de la viabilidad de semillas de *I. platyloba* (100 semillas) y *R. exaltatum* (50 semillas). Esta prueba nos revela una serie de aspectos esenciales para conocer no solamente la calidad del lote, sino que también puede servir de guía para identificar otros factores que pueden estar afectando a las semillas entre ellos la dormición, que suele ser la causa de una menor germinación, pero que no debe confundirse con mala calidad (ISTA, 2003; Ruiz, 2009).

El Test de Tetrazolio tiene una serie de ventajas, entre ellas podemos destacar:

- Rápida determinación de la viabilidad del lote de semillas, importante para la toma de decisiones rápidas en la industria de semillas.
- Adecuada evaluación de la capacidad germinativa potencial, especialmente para lotes con elevada cantidad de semillas dormidas.
- Guía en el control de calidad de semillas que deben ser guardadas de un año para otro, conocido como “*carry over*”, puede llegar a detectar deterioro aún antes que el poder germinativo.
- Útil para estudiar la biología de las semillas y procesos de deterioro.

En los embriones de las semillas diferencia los tejidos vivos de los muertos sobre la base de la actividad de enzimas deshidrogenasas (enzimas de la respiración). Al ser hidratadas las semillas, la actividad de las deshidrogenasas se incrementa, resultando en la liberación de iones hidrógeno, lo que reduce a la solución de tetrazolio (TZ) (2,3,5- triphenil tetrazolum chloride), incoloro, a formazán, de color rojo. El formazán tiñe a las células vivas de color rojo, en tanto que las muertas permanecen sin colorear. La viabilidad de las semillas se determina en función del patrón de tinción del embrión y la intensidad de la coloración. Que una semilla sea viable, nos indica que es capaz de germinar y producir una plántula normal, sin embargo podría estar dormida, y en ese caso no germinaría inmediatamente (ISTA, 2003).

El procedimiento del análisis recomendado por ISTA (2003) y también llevado a cabo con nuestras semillas se especifica en los pasos a seguir:

1. Hidratación: las semillas fueron separadas, depositadas en botes pequeños de vidrio anteriormente esterilizados, y embebidas en agua destilada para iniciar la actividad de las enzimas deshidrogenasas. Además así se ablandan los tejidos, y es más fácil cortarlos. Las semillas se quedaron sumergidas en agua durante 24 horas a $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2. Corte: para permitir el contacto del TZ con los tejidos del embrión. ISTA (2003) se sugiere que, para el corte de las semillas, se realice una incisión en el área cotiledonar opuesta al embrión (1/3), de manera que se permita la penetración del TZ sin dañar el embrión.

3. Tinción: se sumergieron las semillas en la solución de TZ al 1% por un cierto período de tiempo; nosotros adoptamos el tiempo de 24 horas (ISTA, 2003). Durante este tiempo los tejidos vivos se tiñen, mientras que los muertos no.

4. Evaluación: en base al patrón de tinción e intensidad. Ruiz (2009) resalta que el analista debe estar familiarizado con la anatomía de la semilla de la especie que está evaluando.

No realizamos el Test con las especies *S. microcephala* y *V. chamaepithyoides* debido a que poseen semillas de muy pequeño tamaño, siendo imposible llevar a cabo de manera eficaz ese procedimiento. Además, para *S. microcephala* el número de semillas disponibles era bastante limitado y se optó para utilizarlas en las pruebas germinativas. Tampoco pudimos someter a este test las semillas de *Astragalus devevae*, en este caso por su dura cubierta, que impide sacar el embrión completamente y sin daños.

La prueba de viabilidad solo fue llevada a cabo una sola vez en la primera de las anualidades debido a su bajo éxito, al quedar la totalidad de las semillas testadas, teñidas de forma heterogénea, impidiendo obtener conclusiones claras. A pesar de ello este análisis nos permitió evaluar la calidad de los lotes para las diferentes especies, verificando el número de semillas vacías y podridas.

3.2.4 Ensayos Germinativos

Las semillas colectadas en cada una de las salidas de campo fueron llevadas al laboratorio en el mismo día, e inmediatamente puestas en placas Petri (90x14 mm) -una placa para cada lote de semillas colectadas de cada ejemplar- y dejadas por 30 días no cerradas por completo, a temperatura ambiente. Este período, denominado cuarentena, es recomendado por Bacchetta et al. (2008) con el objetivo de valorar el estado fitosanitario del material y también para homogeneizar la madurez de todas las muestras (*Post-maduración*).

Al completar el tiempo de post-maduración, se siguieron los siguientes pasos:

1. Para cada especie se seleccionaron aleatoriamente de los lotes el número total de semillas necesarias para todos los tratamientos que se iban a ensayar, y se dispusieron separadamente en botes pequeños de vidrio o matraces (esterilizados previamente), lo que varió de acuerdo con el número y tamaño de las semillas o frutos de cada especie. Cada recipiente fue identificado de acuerdo con cada protocolo adoptado.
2. Las semillas sometidas a estratificación fría fueron puestas en placas Petri, identificadas, cerradas con parafilm y mantenidas en una cámara oscura a 5°C por 2 meses.
3. Las semillas fueron esterilizadas con NaClO (Hipoclorito de Sodio al 10%) depositado con una pipeta en cada bote y agitado levemente durante un minuto y realizando después tres lavados con agua destilada.
4. Los tratamientos correspondientes al KNO₃, GA y H₂SO₄, fueron realizados secuencialmente, depositando con una pipeta las soluciones previamente preparadas y esterilizadas, y se mantuvieron durante los tiempos correspondientes (24 horas para GA y KNO₃ para todas las especies, 60 minutos para H₂SO₄ para *A. devesae* y 45 minutos para *R. exaltatum*).
5. Las semillas sin tratamientos previos (control), fueron sembradas en placas Petri (90x14 mm) previamente preparadas con agar 1% esterilizado. Las semillas fueron introducidas en el agar con ayuda de una pinza, se aplicó en spray el antifúngico *Captan* en una concentración de 2,5% en agua destilada, para evitar contaminaciones, y al final se sellaron lateralmente las placas con Parafilm. El número de semillas o frutos por placa, y número total de réplicas para cada especie varió de acuerdo con el tamaño de la semilla o fruto y número total utilizado para cada tratamiento. Esta información está sintetizada en la tabla 3.
6. Para las semillas con tratamiento de H₂SO₄, tras el tiempo transcurrido, se realizaron 5 lavados con agua destilada, y se siguió el mismo procedimiento del ítem anterior.
7. Las placas se depositaron en las cámaras de germinación previamente programadas con las temperaturas y alternancias de luz y oscuridad ya comentadas en la tabla 2 (Anexo 20).
8. Al día siguiente se hizo este mismo procedimiento del punto 5 con las semillas extraídas directamente de las soluciones de KNO₃ y GA.

9. El control y conteo de las semillas se realizó los lunes, miércoles y viernes durante 62 días. Las semillas fueron consideradas germinadas en el momento de producirse la rotura del tegumento y el alargamiento visible de la radícula (Côme, 1970).
10. Por último, transcurrido el tiempo de dos meses para las semillas mantenidas en estratificación fría, se siguieron los mismos procedimientos especificados en los puntos 3, 5 y 7.
11. Importante señalar que, para *I. platyloba*, en los experimentos germinativos de la temporada 2016, se realizó la separación y debida identificación de la población a la cual se refería cada grupo de frutos por placa Petri – mitad de la población de Hoces del Río Riaza y Hoces del Río Duratón. Ello fue posible ya que se colectó un número equiparable de frutos de las dos poblaciones visitadas, y en el mismo día, lo que posibilitó la realización de los experimentos en conjunto. El objetivo fue hacer una comparación de las tasas germinativas por población.

Tabla 3. Tabla de síntesis de procedimientos metodológicos para los ensayos germinativos de cada una de las especies estudiadas, en los años de 2015 y 2016.

2015					
Especie	Nº de protocolos probados	Nº total de réplicas (placas) por tratamiento	Nº semillas por placa (réplica)	Nº total de semillas por tratamiento	Nº total de semillas utilizadas
<i>Astragalus devesae</i> (Ávila)	1	10	30	300	300
<i>Astragalus devesae</i> (Padiernos)	1	10	30	300	300
<i>Isatis platyloba</i>	8	5	20	100	800
<i>Rhaponticum exaltatum</i>	5	2	25	50	250
<i>Succisella microcephala</i>	2	4	20	80	160
2016					
<i>Veronica chamaepithyoides</i>	3	10	20	200	600
<i>Astragalus devesae</i> (Collado)	1	10	30	300	300
<i>Isatis platyloba</i> (campo)	8	5	20	100	800
<i>Isatis platyloba</i> (invernadero)	8	5	20	100	800
<i>Rhaponticum exaltatum</i>	5	4	20	80	320

3.2.5 Mantenimiento en Invernadero

Tras la finalización de las pruebas germinativas y la observación y conteo por el tiempo determinado, las plántulas sanas desarrolladas en agar de las placas fueron extraídas y trasplantadas en tierra, llevadas al Invernadero del CIALE para la continuación de su desarrollo y crecimiento.

El objetivo del mantenimiento de las plantas en el invernadero varió según las especies:

- *Astragalus devesae* (**Temporada 2015**) – Una parte de las plantas obtenidas (Figura 2A) fueron utilizadas para un reforzamiento poblacional experimental, en la población de Padiernos, Ávila (detalles ver **apartado 3.5**).
- *Isatis platyloba* (**Temporada 2015**) – Las pocas plantas logradas fueron mantenidas en el invernadero por un período de un año, hasta el verano del año siguiente. La producción de numerosos frutos (Figura 2B) permitió realizar pruebas germinativas comparables con los frutos recolectados en campo.



Figura 2. A) Plantas de *A. devesae* logradas de los ensayos germinativos de 2015; B) Plantas de *I. platyloba* logradas de los ensayos del año de 2015 con frutos en el verano de 2016.

- *Veronica chamaepithyoides* (**Temporada 2016**) – Debido al gran número de plantas obtenidas en los tres tratamientos probados para esa especie (Anexo A20), se realizó un análisis de supervivencia a través de un conteo de plantas vivas tras tres meses de su mantenimiento en el invernadero. Además, después de seis meses tras haber sido trasplantadas en tierra, se observó que las plantas supervivientes producían un gran número de semillas (aproximadamente 400.000). Estas fueron utilizadas para la renovación de los lotes de semillas en el Banco de Germoplasma del CIALE.

3.2.6 Análisis estadísticos

Para todos los tratamientos de germinación, el porcentaje de germinación final (GP) y el tiempo medio de germinación (MGT) fueron obtenidos mediante las siguientes fórmulas:

✓ Porcentaje de germinación (%) = (semillas germinadas / número total de semillas en la muestra) x 100;

✓ Tiempo medio de germinación (MGT) = $\sum t_i n_i / \sum n_i$;

donde t_i es el número de día i desde el comienzo de la prueba, y n_i es el número de semillas germinadas en el día i .

Se utilizó un análisis de varianza *t Student* (o la prueba *U de Mann-Whitney* cuando los datos no presentaron normalidad) para probar el efecto de los factores 1) Temporada, 2) Temperatura, y 3) Población; y un análisis de varianza GLM univariado (*Generalized Lineal Model*) para el efecto Tratamiento (más de dos categorías), ambos para el GP y MGT, siempre cuando fuera posible dependiendo de la especie y los ensayos llevados a cabo para cada una de ellas. Una vez que los análisis GLM mostraron significación, las diferencias menos significativas (LSD) se calcularon al nivel de probabilidad 0,05 para comparar las medias (factores con más de dos niveles, o sea, en nuestro caso el factor tratamiento). GP y MGT se consideraron como variables dependientes. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando R - The R Project for Statistical Computing, versión 3.2.2 (R Development Core Team, 2016). El nivel crítico de significación fue $P = 0,05$ en todas las pruebas. La tabla 4 especifica los análisis comparativos llevados a cabo por especie:

Tabla 4. Análisis estadísticos comparativos llevados a cabo para cada especie.

Especie	Temporadas	Temperaturas	Tratamientos	Poblaciones
<i>A. devesae</i>				x
<i>I. platyloba</i>	x	x	x	
<i>R. exaltatum</i>			x	
<i>V. chamaepithyoides</i>			x	
<i>S. microcephala</i>		x		

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Viabilidad de Semillas

Tal como se comentó previamente, el análisis de viabilidad de las semillas a través del test de tetrazolio fue llevado a cabo para *I. platyloba* (100 semillas) y *R. exaltatum* (50 semillas) en la temporada de 2015. Los resultados se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Resultados del test de viabilidad mediante Tetrazolio.

Especie	Número de semillas				
	Viables	No viables	Podridas	Vacías	Total
<i>I. platyloba</i>	48	33	9	10	100
<i>R. exaltatum</i>	48	0	0	2	50

Es preciso volver a mencionar la circunstancia de que en estas pruebas, los resultados en relación a las categorías “viable” y “no viable” pueden ser subjetivas, ya que después de un tiempo en solución de tetrazolio, los embriones presentaban una gradación de tonos rojizos,

con lo que no era posible determinar con seguridad su viabilidad. En cualquier caso, sin necesidad de recurrir a este método, el bajo número de semillas vacías y deterioradas de *R. exaltatum* daban constancia de una potencial alta calidad de las semillas para esa especie (Figura 3AB). En el lado opuesto, las semillas de *I. platyloba* presentaron mala calidad, ya que menos de la mitad de las semillas fueron consideradas viables (48%) y casi un 20% de las semillas estaban deterioradas o vacías (Figura 4).

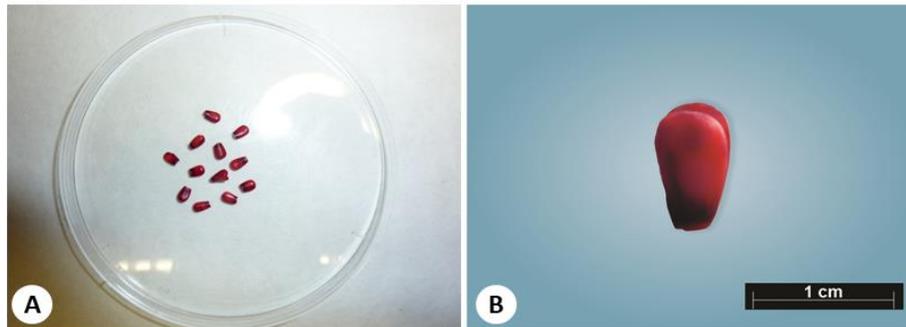


Figura 3. A) Semillas de *R. exaltatum* consideradas viables en el test de tetrazolio. En (B) es posible observar los diferentes tonos de rojo de la semilla.



Figura 4. Semillas de *I. platyloba* analizadas tras el test de tetrazolio. La primera categorizada como defectuosa, la segunda no viable y la tercera viable.

3.3.2 Germinación de Semillas

Astragalus devesae Talavera, A. González & G. López

Con respecto a la población de Collado del Mirón, aunque las semillas parecían sanas y estar en condiciones óptimas de maduración, ninguna de ellas germinó. Por esta razón, esta población fue excluida de los análisis estadísticos. Para las dos poblaciones restantes, Padiernos y Ávila, se encontraron diferencias significativas ($P = 1,06E^{-08}$) con respecto a los porcentajes finales de germinación observados (73% y 25,66%,

respectivamente) (Tabla 6 y Figura 5). Además, hubo diferencias ($P > 0,01$) entre los valores de MGT de las dos poblaciones, lo que indicó que las semillas de la población de Ávila, a pesar del bajo porcentaje, germinaron ligeramente antes (Figuras 5 y 6). Las plántulas que se utilizaron para el experimento de reintroducción en Padiernos que se detallará en el apartado 3.5 se obtuvieron a partir de estas pruebas de germinación.

Tabla 6. Porcentaje final de germinación y tiempo medio de germinación (MGT, días) de semillas escarificadas con H_2SO_4 de las dos poblaciones de *A. devesae* (Padiernos y Ávila). Resultados después de 30 días de incubación a $22/10\text{ }^\circ\text{C}$.

Población	Germinación (% \pm SE)	MGT (días \pm SE)			
Padiernos	73 \pm 8,95	8,94 \pm 1,58			
Ávila	25,66 \pm 10,42	6,48 \pm 2,84			
t Tabla / U Tabla	t	df	p	W	P
Población	9,8902	18	1,06E⁻⁰⁸***	82	0,01469**

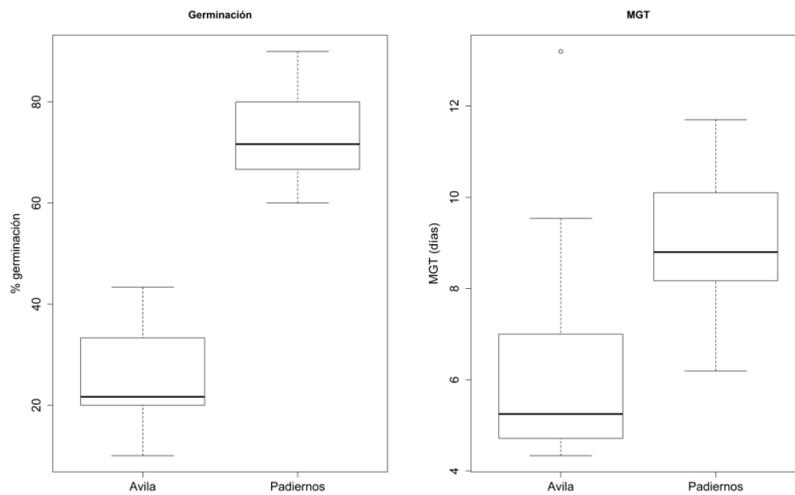


Figura 51. Tasas de germinación y MGT (promedio, DE) para *A. devesae*. Comparación entre poblaciones después del tratamiento con H_2SO_4 durante 60 minutos.

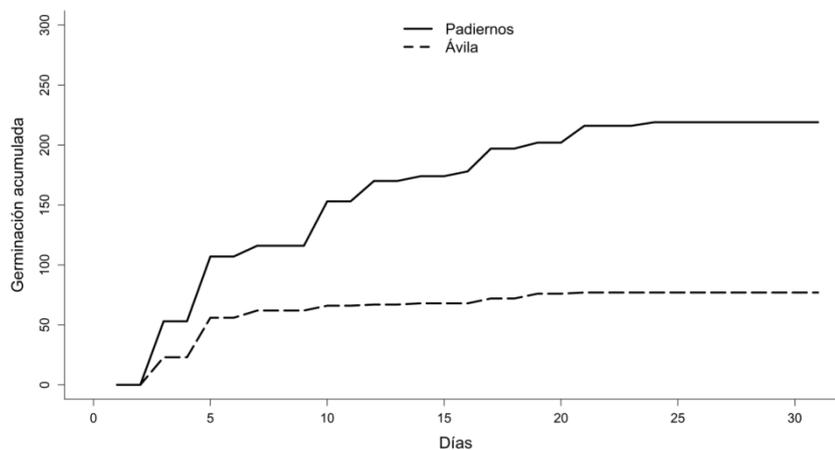


Figura 6. Germinación a lo largo del tiempo de observación para *A. devesae*. Comparación entre poblaciones después del tratamiento con H_2SO_4 durante 60 minutos.

Al final del período de monitoreo de 30 días, durante el cual las placas se controlaron para determinar la germinación, la presencia de contaminación fúngica fue bastante evidente en las semillas procedentes de las poblaciones de Padiernos y Ávila. Sin embargo, las placas de la población Collado del Mirón, a pesar de la falta de germinación, no estaban contaminadas. Se necesitan más estudios para rechazar la posibilidad de problemas con el procedimiento para llevar a cabo la prueba de germinación y para evaluar las causas y los efectos de los hongos en las semillas de cada población estudiada.

Finalmente, tras los malos resultados con ausencia total de germinación de las semillas de la población de Collado del Mirón, se realizó una salida de campo en mayo de 2017 para la recolección de semillas con las que poder conseguir plantas para realizar reforzamientos poblacionales. Sin embargo, y para nuestra sorpresa, encontramos una única planta y todavía sin semillas, lo que se debió a la remoción con maquinaria de gran parte del terreno sobre el que se asentaba la población (Anexo 22). Este hecho provocó la eliminación de más del 90% de la población en relación con el último censo realizado por nosotros en 2016.

***Isatis platyloba* Link ex Steud.**

Las pruebas germinativas llevadas a cabo con semillas de *I. platyloba* no fueron exitosas (Figuras 7 y 8). La máxima tasa germinativa encontrada fue en el tratamiento con KNO_3 , que resultó en un bajo porcentaje germinativo del 5,25%. Además, las pocas semillas germinadas tardaron en hacerlo, con un valor de MGT de 36 hasta 43 días (Tabla 7 y Figura 9). Cuando comparamos estadísticamente el potencial germinativo entre años, hay diferencias significativas ($p = 0,02947$), con un mejor resultado alcanzado en 2016 (4,75%) (Tabla 7a y Figura 7). Para el MGT no hubo diferencias significativas. En el caso de los demás análisis realizados no se encontró ninguna diferencia significativa, tanto para la tasa germinativa como para el MGT.

Tras encontrar variaciones de germinación entre años, se comparó estadísticamente el efecto temperatura de las tasas germinativas para cada año de forma separada, pero no constatamos diferencias (Tabla 7 y Figura 10). No fue posible realizar comparaciones estadísticas entre tratamientos para cada año, por la limitación del número de semillas y gran número de réplicas de resultado “cero”.

Tabla 7. Porcentaje final de germinación y tiempo medio de germinación (MGT, días) de semillas de *I. platyloba* y resultados estadísticos de diferentes comparaciones. Resultados después de 61 días bajo un fotoperíodo de luz de 12 horas.

(a)				
Años	Germinación (% ± SE)		MGT (días ± SE)	
2015	2,5 ± 4,52		43,73 ± 9,56	
2016	4,75 ± 5,42		36,93 ± 15,90	
U Tabla	W	p	W	p
Años	596,5	2,95E⁻⁰²*	652,5	1,19E ⁻⁰¹
(b)				
Temperatura	Germinación (% ± SE)		MGT (días ± SE)	
22/10 °C	4,37 ± 5,68		39,56 ± 15,20	
27/15 °C	2,87 ± 4,36		36,33 ± 13,08	
U Tabla	W	p	W	p
Temperatura	912,5	2,30E ⁻⁰¹	902	2,81E ⁻⁰¹
(c)				
Tratamientos	Germinación (% ± SE)		MGT (días ± SE)	
Controle	3,75 ± 4,83		-	
GA	2,75 ± 4,43		-	
KNO₃	5,25 ± 6,17		-	
Estratificación fría	2,75 ± 4,72		-	
glm Tabla	z value	p	z value	p
Tratamientos	-12,331	2,16E ⁻⁰¹	-	-
(d)				
Temperatura	Germinación 2015 (% ± SE)		Germinación 2016 (% ± SE)	
22/10 °C	4 ± 5,75		4,75 ± 5,72	
27/15 °C	1 ± 2,05		4,75 ± 5,25	
U Tabla	W	p	W	p
Temperatura	258	5,95E ⁻⁰²	196,5	9,31E ⁻⁰¹

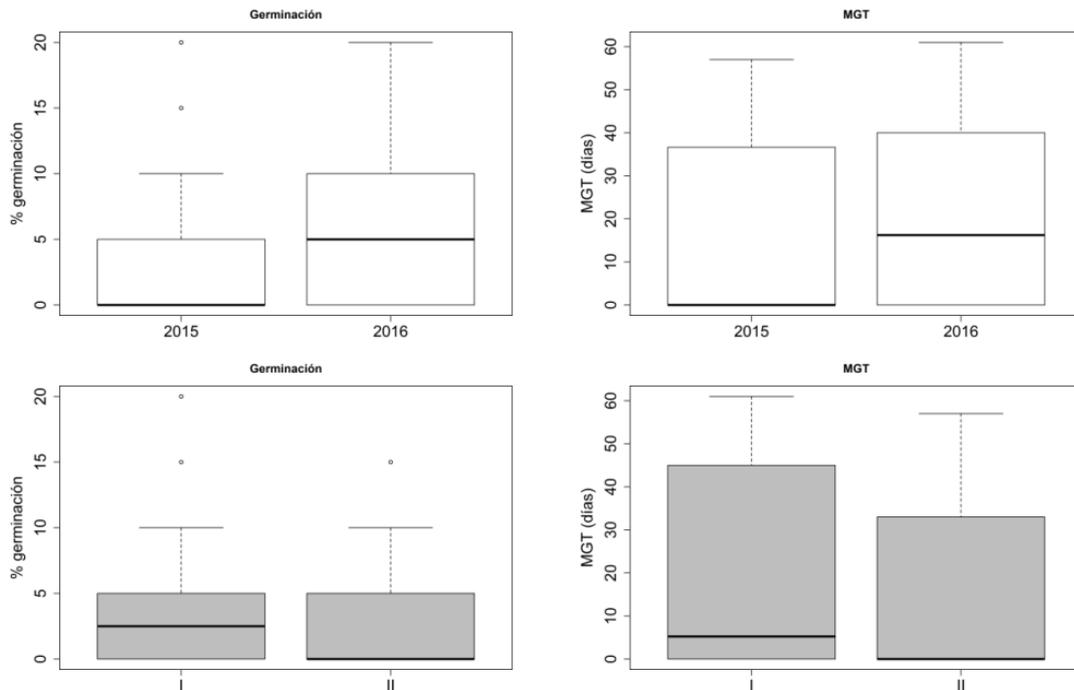


Figura 7. Tasas de germinación y MGT (promedio, DE) para *I. platyloba*. Comparación entre años (cajas blancas) y entre temperaturas (cajas grises).

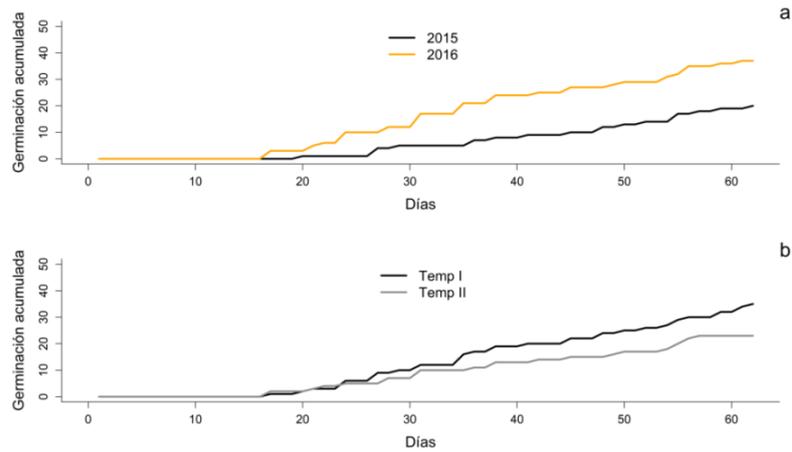


Figura 8. Germinación a lo largo del tiempo de observación para *I. platyloba*. Comparación entre años (a) y entre temperaturas (b).

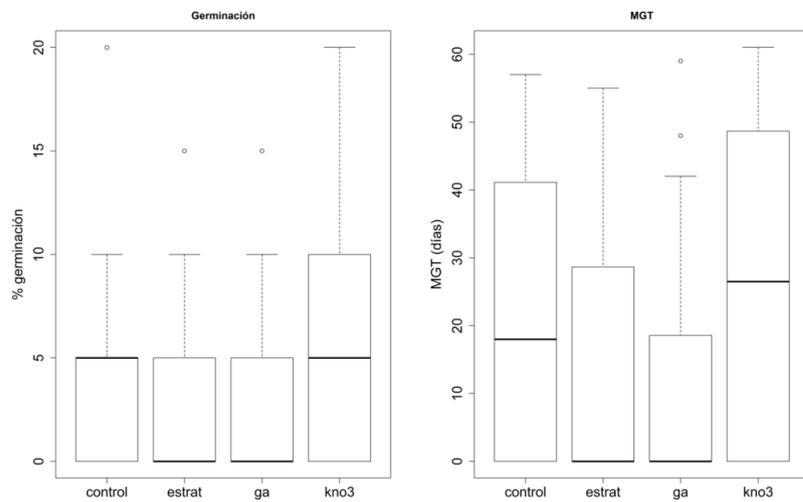


Figura 9. Tasas de germinación y MGT (promedio, DE) de cada tratamiento probado para *I. platyloba*.

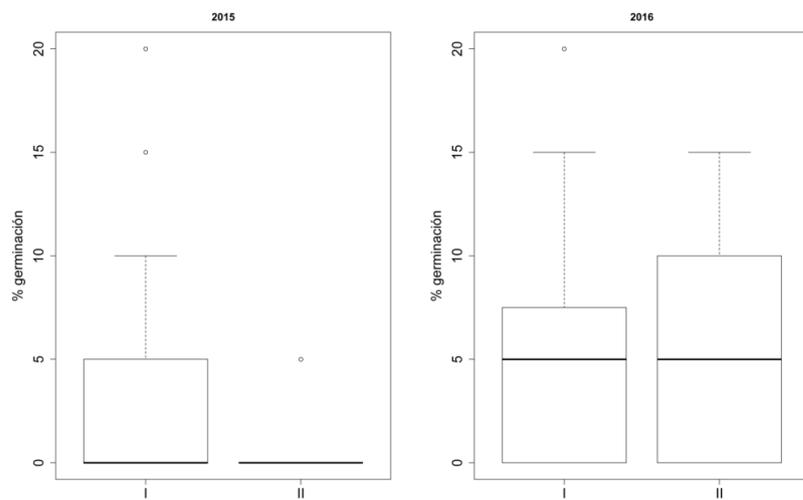


Figura 10. Tasas de germinación (promedio, DE) para *I. platyloba*. Comparación entre temperaturas (I = 22/10 °C; II = 27/15 °C) para cada año (2015 y 2016).

Los resultados para los todos los ensayos llevados a cabo con las semillas producidas en el invernadero del CIALE en 2016 no pudieron ser consideradas para los análisis estadísticos, ya que no germinó ninguna de las 800 semillas tratadas. A través del marcaje en las placas se observó que todas las semillas germinadas en el año 2016 (oriundas de las colectas de campo) fueron de la población de Hoces del Río Riaza. Por último destacar que hemos observado gran contaminación fúngica en las placas también para esa especie, sin distinción de tratamiento o temperatura, como se puede ver ejemplo en la Figura 11. Los resultados del presente estudio para esta especie auguran un mal futuro para la conservación y mantenimiento de sus poblaciones, sobre todo de la de las Hoces del Río Duratón.



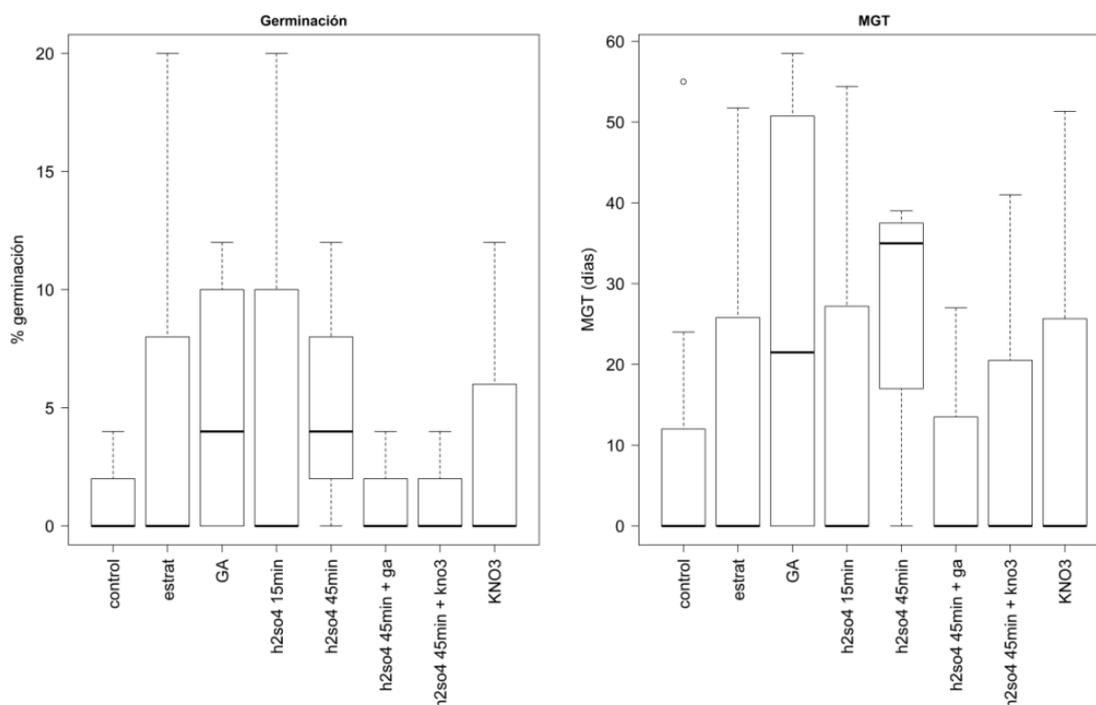
Figura 8. Placa con frutos de *I. platyloba* al final del período de observación, año de 2016. Se observa alta contaminación fúngica.

***Rhaponticum exaltatum* (Cutanda ex Willk.) Greuter**

A pesar de la aparente buena calidad y viabilidad de sus semillas a través del test de Tetrazolio llevado a cabo en 2015, los resultados de las pruebas germinativas fueron muy negativos. La más alta tasa germinativa fue lograda en el tratamiento de estratificación fría (5 °C) por dos meses en oscuridad. En segundo lugar se alcanzó una tasa del 5% de germinación en los restantes tres tratamientos (la Tabla 8 y Figura 9 presentan los resultados promedios para la tasa germinativa y el MGT de todos los tratamientos probados para *R. exaltatum*). La presencia de una alta cantidad de resultados nulos en las réplicas y el número bajo de repeticiones no permitió ningún análisis estadístico fiable.

Tabla 8. Porcentaje final de germinación y tiempo medio de germinación (MGT, días) de semillas de *R. exaltatum* en diferentes tratamientos y años. Resultados después de 61 días de incubación a 22/10 °C.

2015			2016		
Tratamiento	Germinación (%)	MGT	Tratamiento	Germinación (%)	MGT
Controle	1	55	Controle	1	24
GA	5	50,75	H ₂ SO ₄ 45 min	5	36,33
KNO ₃	3	51,33	H ₂ SO ₄ 45 min + GA	1	27
Estrat. Fría	9	51,67	H ₂ SO ₄ 45 min + KNO ₃	1	41
H ₂ SO ₄ 15 min	5	54,4	Estrat. Fría	0	0

**Figura 9.** Tasas de germinación y MGT (promedio, DE) para *R. exaltatum*. Comparación entre tratamientos con temperatura de 22/10 °C.

También, las semillas de *R. exaltatum* necesitaron un largo período para germinar, con un promedio de 48,73 de MGT, entre los cuatro tratamientos con los mejores resultados (Tabla 8; Figura 10). Además tampoco logramos la supervivencia de las plántulas tras el trasplante en tierra y mantenimiento en invernadero. Los resultados son preocupantes visto que los experimentos fueron llevados a cabo con semillas de la población más importante de la especie, que abarca el 90% de sus efectivos. Además, fueron utilizados los frutos considerados sanos (aproximadamente 30% de todos los recolectados), es decir, los que no presentaban depredación por insectos. Finalmente, también se observó una elevada contaminación fúngica en las placas para esa especie.

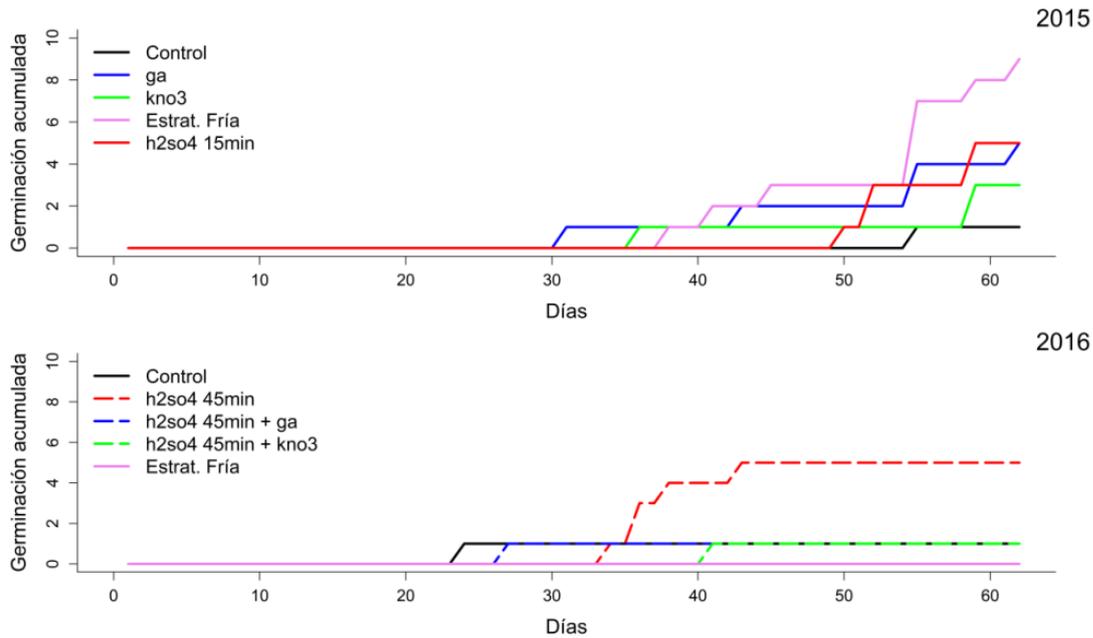


Figura 11. Germinación a lo largo del tiempo de observación para *R. exaltatum*. Comparación entre tratamientos con temperatura de 22/10 °C.

Succisella microcephala (Willk.) G. Beck

Los resultados de los dos ensayos (distintas temperaturas) mostraron que, en general, las semillas de esta especie no presentan dormición, ya que tuvieron buenas tasas germinativas (más de 50%) sin la realización de tratamientos previos (Tabla 9 y Figura 11). No hubo diferencias significativas para la tasa germinativa ni tampoco para el MGT ($p = 3,43$ y 1,20 respectivamente) (Tabla 9 y Figuras 12 y 13).

Tabla 9. Porcentaje final de germinación y tiempo medio de germinación (MGT, días) de semillas de *S. microcephala* en dos diferentes temperaturas. Resultados después de 61 días bajo un fotoperíodo de luz de 12 h.

Temperatura	Germinación (% ± SE)			MGT (días ± SE)		
22/10 °C	62,5 ± 21,01			24,57 ± 2,05		
27/15 °C	51,25 ± 7,5			22,14 ± 1,71		
t Tabla	t	df	p	t	df	P
Temperatura	1,0284	6	3,43E ⁻⁰¹	1,812	6	1,20E ⁻⁰¹

Con estos resultados, bastantes satisfactorios, en esta primera aproximación al conocimiento de los requerimientos germinativos de *S. microcephala*, se optó por no recolectar más semillas y llevar a cabo nuevas pruebas en 2016.

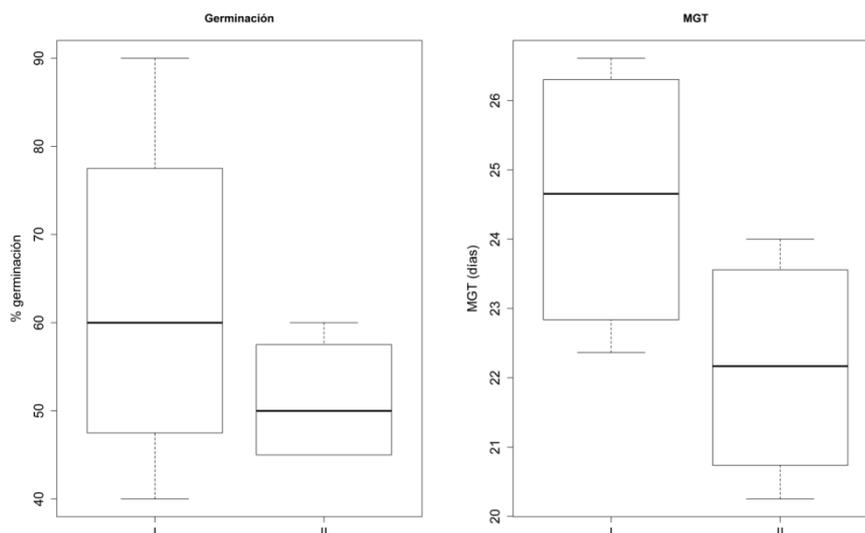


Figura 12. A) Tasa de germinación y MGT (promedio, DE) para *S. microcephala*. Comparación entre tratamientos con dos temperaturas distintas.

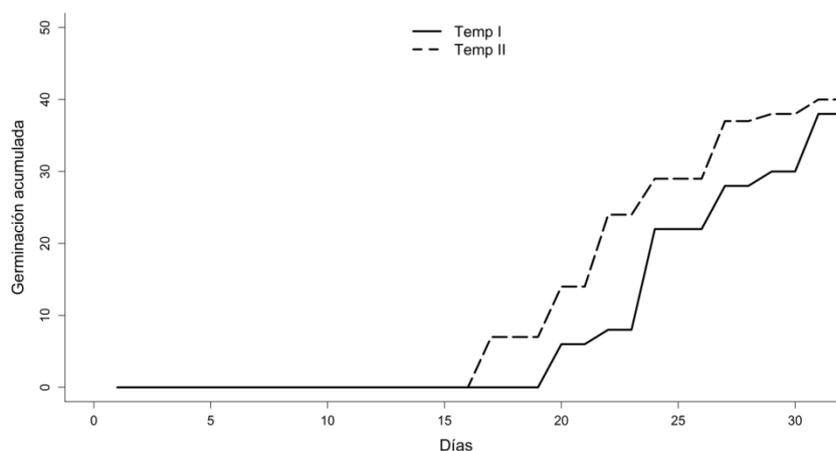


Figura 13. Germinación a lo largo del tiempo de observación para *S. microcephala*. Comparación entre tratamientos con dos temperaturas distintas.

***Veronica chamaepithyoides* Lam.**

Con este trabajo hemos constatado que las semillas de *V. chamaepithyoides* presentan alta viabilidad incluso después de nueve años mantenidas bajo condiciones no controladas. Los resultados de los tratamientos descritos anteriormente mostraron que la tasa máxima de germinación (84%) se logró con el tratamiento GA a 250 ppm durante 24 horas en cámara de germinación, a una temperatura de 18/14 °C, con 12 horas de luz a alta temperatura y 12 horas de oscuridad a baja temperatura (Tabla 10 y Figura 14). Se encontraron diferencias significativas ($p < 4,24e^{-10}$) para los porcentajes finales de la germinación logrados. El tratamiento control (73% de tasa germinativa) difirió del tratamiento de GA a 250 ppm ($P =$

0,00798), pero no del tratamiento con GA a 500 ppm (75,5% de germinación) (Tabla 10). También hubo diferencias ($p > 2e^{-16}$) entre los tratamientos para los valores de MGT obtenidos (Figura 15). Se constató que el tratamiento con GA a 250 ppm era más eficiente en la germinación de las semillas de *V. chamaepithyoides* y también las semillas germinaban antes.

Tabla 10. Porcentaje final de germinación y tiempo medio de germinación (MGT, días) de semillas de *V. chamaepithyoides* en diferentes tratamientos (Población de Guadalajara, año 2016). Resultados después de 30 días de incubación a 18/14 °C.

Tratamiento	Germinación (% ± SE)		MGT (días ± SE)	
Control	73 ± 6,32		18,03 ± 2,04	
GA 250 ppm	84 ± 9,06		14,48 ± 1,11	
GA 500 ppm	75,5 ± 9,84		15,74 ± 1,54	
glm Tabla	z value	p	z value	P
Tratamiento	6,245	***	38,849	***
LSD Tabla	z value	p	z value	P
Control x GA 250 ppm	2,653	0,0217*	4,994	***
Control x GA 500 ppm	0,572	0,835	3,118	**
GA 250 x GA 500 ppm	-2,102	0,0891	-1,911	0,1353

** $p < 0,01$

*** $p < 0,001$

Por otro lado, hubo una mayor mortalidad entre las plantas tratadas con GA (más del 80%) después de ser transferidas al suelo y mantenidas en el invernadero durante tres meses, mientras que las plantas que recibieron el tratamiento control fueron más resistentes (Tabla 11). Son necesarios nuevos estudios para comprender el efecto negativo del GA en el desarrollo de las plantas de esa especie en fase siguiente a la germinación.

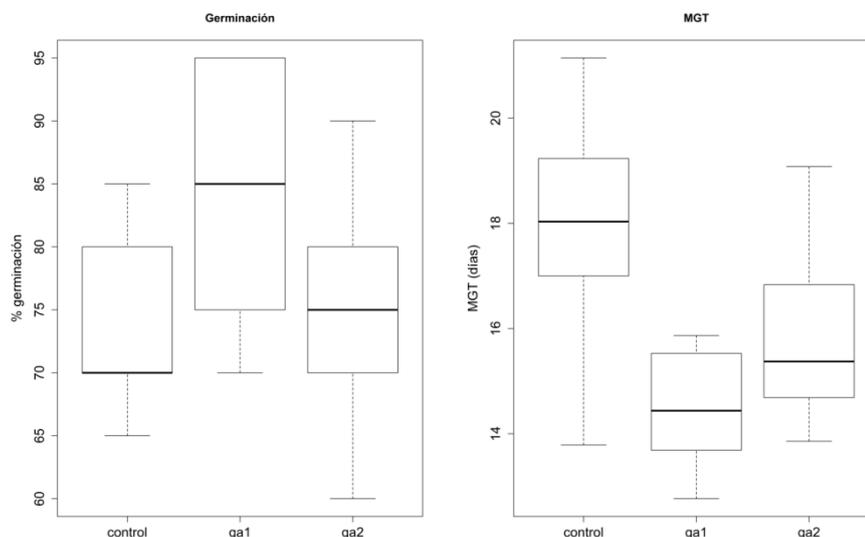


Figura 14. Tasa de germinación y MGT (promedio, DE) para *V. chamaepithyoides*. Comparación entre tratamientos con GA en diferentes concentraciones y control.

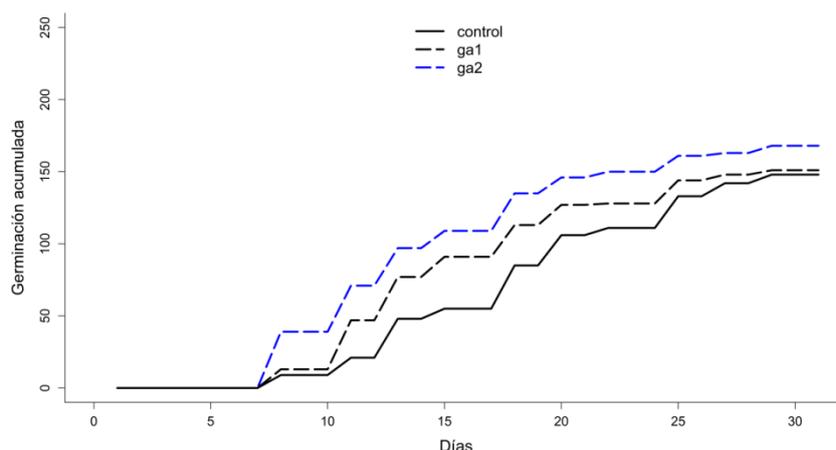


Figura 15. Germinación a lo largo del tiempo de observación para *V. chamaepithyoides*. Comparación entre tratamientos con GA en diferentes concentraciones y control.

Tabla 11. Número de plantas vivas y tasa de mortalidad de plántulas de *V. chamaepithyoides* observadas después de tres meses (plantas obtenidas en los ensayos germinativos realizados en 2016).

Tratamiento	Mudas obtenidas	Supervivencia de plantas (nº)	% de mortalidad
Control	146	110	24,7
GA 250 ppm	168	20	88,1
GA 500 ppm	151	32	78,8

3.4 DISCUSIÓN

3.4.1 *Astragalus devesae* Talavera, A. González & G. López

La capa impermeable de semillas provoca la latencia física de muchas especies de Fabaceae (Baskin & Baskin, 1998, 2004; Kimura & Islam, 2012; Patanè & Gresta, 2006; Pérez-García, 2009). Una de las técnicas de laboratorio para superar esta latencia es utilizar la escarificación mecánica, que es responsable de crear cicatrices físicas en la superficie de la semilla para aumentar la absorción de agua (ISTA, 2004b; Kimura & Islam, 2012). A diferencia de nuestros resultados previos, Martínez-Fernández, Martínez-García & García (2014) lograron una tasa de germinación de hasta 99% al aplicar esta técnica a *A. gineslopezii*, que es una de las especies más cercanas a *A. devesae*. Del mismo modo, los tratamientos de escarificación también proporcionaron los mejores resultados para *A. nitidiflorus* (Carrión et al., 2007). Patanè & Gresta (2006) observaron que la escarificación mecánica con papel de lija era el mejor tratamiento para romper la latencia física de las semillas de *A. hamosus* L. (el porcentaje de germinación de semillas no escarificadas era inferior al 10%, mientras que el 100% de las semillas escarificadas germinaron). La efectividad de la escarificación del papel de lija también se mencionó para *A. sinicus* L. por

Kim et al. (2008). En el estudio realizado por Ramos, Rincón & Vásquez (2010) para *A. gines-lopezii*, se aplicaron dos tratamientos de escarificación (tratamientos físicos y químicos con 96% de ácido sulfúrico), así como un tercer protocolo sin tratamiento previo y diferentes regímenes de luz (fotoperíodo y oscuridad). Los resultados mostrados contradicen los de Martínez-Fernández et al. (2014) y el nuestro, ya que estos autores encontraron que las semillas no escarificadas tenían los porcentajes más altos de germinación (80%) y las escarificadas con ácido sulfúrico tenían la tasa de germinación más baja (2,5%). Podría ser que el régimen de luz y las condiciones de temperatura aplicadas en este caso fueran factores más determinantes para la germinación de la semilla que los tratamientos de escarificación adoptados.

La latencia física de las semillas implica que no todas las semillas maduras producidas por la misma planta germinan al mismo tiempo (Baskin & Baskin, 1998). Como resultado, disminuye el riesgo de que un evento extremo dañe la generación completa de nuevas plántulas. Por lo tanto, la latencia física es una característica adaptativa que ha sido desarrollada por numerosas especies y se ha generalizado en varias familias de plantas a lo largo de su evolución (Cistaceae, Leguminosae o Malvaceae) (Baskin & Baskin, 1998). A pesar del alto potencial de germinación observado en este estudio en las semillas de la población de Padiernos (73%), el número de individuos en esta población está disminuyendo. Antes de este estudio, el censo realizado en esta población por Martínez et al. (2004) contó 478 individuos en 2004. En 2008, Teresa et al. (2009a) contaron 311, revelando una disminución del 35% en el número de plantas individuales. Por otra parte, Teresa et al. (2009a) asocian la circulación de vehículos de motocross dentro del área de ocupación exacta de *A. devesae* como la principal amenaza para esta población. Sin embargo, el cierre de este circuito en 2008 y la implementación de una Microrreserva (Teresa et al., 2009b) para la protección de *A. devesae* parecen haber sido buenas estrategias para la protección y el mantenimiento de esta especie, ya que en nuestro estudio se contaron 317 individuos, un número similar al de 2009.

En muchos casos, las semillas con protección impermeable tienen una vida más larga en condiciones naturales y se acumulan en los bancos de semillas del suelo (Baskin & Baskin, 2000). Esta relación entre la semilla dura y la dinámica del banco de semillas ha sido reportada para diferentes leguminosas anuales (Russi, Cocks, & Roberts, 1992; Zeng, Cocks, & Kailis, 2005). Esta hipótesis podría explicar la baja tasa de germinación de las semillas encontradas en la población de Ávila (25,6%) y la diferencia significativa observada en la

MGT entre las dos poblaciones. La misma diferencia en las tasas de germinación entre poblaciones fue encontrada por Martínez-Fernández et al. (Martinez-Fernandez et al., 2014) en su trabajo con *A. gines-lopezii*. Sin embargo, para la MGT, estos autores no encontraron diferencias significativas entre las poblaciones, un hallazgo que difiere de nuestros resultados. Se requieren más estudios sobre la mejora de la germinación utilizando las semillas producidas a lo largo de varios años para aclarar estos problemas.

En relación con los resultados obtenidos con respecto a las semillas de la población de Collado del Mirón (ausencia de germinación), varios estudios con diferentes especies confirman un potencial de germinación de semillas reducido en poblaciones pequeñas y aisladas (Bellusci, Pellegrino, & Musacchio, 2009; Buza, Young, & Thrall, 2000; Menges, 1991; Sletvold, Grindeland, Zu, & Ågren, 2012). Este es el caso de esta pequeña población, ubicada aproximadamente a 65 km de distancia de las otras dos poblaciones conocidas. El hecho de que solo se haya observado un espécimen (mayo 2016) destaca la necesidad de implementar medidas legales para proteger a esta población, que ha sufrido mucho debido a la remoción mecánica del suelo en el que se encuentra esta especie. Quizás la existencia de un banco de semillas podría permitir su supervivencia; de hecho, en una última visita a la población en octubre de 2017, hemos encontrado seis ejemplares jóvenes (más detalles **apartado 3.5**). Sin embargo, debido a la baja variabilidad genética es muy probable que esta población se extinguirá, una circunstancia común a otras especies (Buza et al., 2000; Ellstrand & Elam, 1993; Luijten et al., 2000; Newman & Pilson, 1997; Ouborg & Van Treuren, 1994; Raijmann et al., 1994; Zoro Bi, Maquet, & Baudoin, 2003). La depresión endogámica puede haber sido la principal causa de la declinación de la población de Collado del Mirón, que hoy es aún más notoria. Teresa et al. (2009a) señalaron que esta población era tan pequeña que cualquier pequeña perturbación podría llevar a su rápida desaparición, una afirmación que se ha verificado en este estudio; aunque la perturbación en este caso ha sido a mayor escala.

En conclusión, además de otras medidas para la protección de *A. devesae*, son necesarios nuevos estudios sobre biología reproductiva y variabilidad genética de esta especie. En este trabajo doctoral también se ha elaborado un modelo de nicho ecológico (MNE) para buscar nuevas poblaciones, cuyos resultados se presentan en el Capítulo siguiente.

La principal contribución de este estudio para esta especie es el diseño de un método de germinación eficiente que permite la producción de plántulas para reforzar las poblaciones existentes.

3.4.2 *Rhaponticum exaltatum* (Cutanda ex Willk.) Greuter e *Isatis platyloba* Link ex Steud.

Para las dos especies *R. exaltatum* y *I. platyloba* los resultados de las pruebas germinativas no tuvieron éxito, con poco más del 5% como mejor resultado para *I. platyloba* y un 9% para *R. exaltatum*. Los resultados contrastan con la primera aproximación de la viabilidad de las semillas llevada a cabo para las dos especies en 2015 (ver apartado 3.3.1), donde más de 90% de las semillas de *R. exaltatum* fueron consideradas viables y para *I. platyloba* 48%. Sí que es cierto que para *I. platyloba* el número de semillas vacías o con embrión malgrado también fue bastante alto, sumando casi un 20% las dos categorías.

Una justificación posible para *I. platyloba* podría ser que al tratarse de una especie con poblaciones reducidas y con gran oscilación en el número de individuos de un año a otro, las presiones que la amenazan reflejan un impacto más pronunciado en la reproducción de la especie. La existencia de esas grandes fluctuaciones en el número de individuos maduros en las poblaciones de esta planta ya era conocida (Delgado Sánchez & Santos Vicente, 2002; González-Talaván, Bernardos-Hernández, Sánchez-Agudo, & Amich-García, 2004). Muñoz-Centeno et al. (2009) censaron en la población de Pereña alrededor de 500 individuos en 2002, 100 en 2004 y menos de 50 en 2009. Nosotros hemos encontrado en esa población seis ejemplares en 2015, y ningún adulto en 2016, con lo que podemos concluir que aún con grandes fluctuaciones la tendencia general desde hace 15 años es a reducirse paulatinamente el número de individuos. Además, puede estar ocurriendo una depresión endogámica por el bajo número de individuos y la imposibilidad de flujo génico por la distancia entre las principales poblaciones. Sus poblaciones están bastante alejadas entre sí, en algún caso a más de 200 km, como las segovianas de las restantes (Muñoz-Centeno et al., 2009).

Poblaciones de pequeño tamaño y aisladas son características típicas de muchas especies en peligro de extinción, haciéndolos más propensos a la baja diversidad genética, que a su vez puede reducir la capacidad reproductiva (Frankham, Briscoe, & Ballou, 2002). Sletvold, Grindeland, Zu & Agren (2012), al trabajar con la orquídea *Gymnadenia conopsea* (L.) R.Br. y Bellusci, Pellegrino & Musacchio (2009) al trabajar con las especies de orquídeas *Serapias vomeracea* (Burm. fil.) Briq., *S. cordigera* L. y *S. parviflora* Parl., encontraron una alta correlación de depresión endogámica con una baja producción de semillas, semillas sin embrión y baja germinación de semillas. El hecho de que en los ensayos de 2016 de las pocas semillas germinadas ninguna haya sido de la población de Segovia (aislada y más lejana de las demás) puede apoyar aún más esa hipótesis. Pero es necesario que se haga una

investigación más a fondo en este ámbito con *I. platyloba* para tener conclusiones más concretas, tanto un seguimiento de las poblaciones a lo largo de los años para documentar la calidad de las semillas como estudios moleculares detallados de la variabilidad genética.

Para *R. exaltatum*, los resultados arrojan aún más dudas. Las semillas analizadas fueron recolectadas de la población más importante y que abarca 90% de los efectivos para la especie, el Pinar de Hoyocasero. Según Rojo & Fernández-González (2009), en un censo realizado en 2008 constató que esa población puede llegar a tener 20000 ejemplares. Además, en el test de tetrazolio que llevamos a cabo, el 96% podrían ser consideradas viables, y apenas dos semillas del total de 50 estaban vacías. Hemos probado ocho tratamientos distintos entre los dos años de estudio, desde el control hasta la combinación del uso de H₂SO₄ con GA y KNO₃, pero ninguno nos ha dado resultados satisfactorios. El uso de H₂SO₄, en diversos tratamientos sigue la indicación de ISTA (2004a), que considera un buen método para romper la latencia de semillas con un tegumento muy duro. A pesar de que eliminamos para los ensayos germinativos las semillas depredadas por los insectos que observamos en las recolecciones de semillas (ver más en el apartado 3.2.1 y en el Capítulo 2), es posible que sea uno de los factores responsables de la incapacidad germinativa de las semillas, pero son necesarios más estudios para comprobar cualquier hipótesis.

Por otra parte, nuestros resultados contrastan con varios estudios que observaron como un factor importante para promover y/o incrementar las tasas germinativas de diversas especies, la aplicación de compuestos nitrogenados como el KNO₃ y hormonas vegetales como la GA (Atia et al., 2009; Dissanayake et al., 2010; Duclos et al., 2014; Gallart et al., 2008; Hu, Huang, & Wang, 2012; Hugo et al., 2014; Luna & Moreno, 2009; Ruttanaruangboworn et al., 2017; Shen et al., 2015; Shim, Moon, Jang, Raymer, & Kim, 2008). Del mismo modo, la estratificación en frío se ha utilizado ampliamente para romper la latencia y maximizar el porcentaje y la tasa de germinación de semillas (ISTA, 2004b) y diversos estudios han mostrado su efectividad (Brändel, 2005; Grzesik et al., 2017; Kettenring & Galatowitsch, 2007; Mohammad Esmaili, Sattarian, Bonis, & Bouzillé, 2012; Schütz & Rave, 1999). La estratificación en frío y humedad es considerada la forma más importante para romper la dormición en semillas de plantas anuales y perennes de verano en las regiones templadas según Baskin & Baskin (1987) y Probert (1992), ya que representa un mecanismo necesario para garantizar que la germinación se produzca en primavera o principios del verano (Probert, 1992), pero en nuestro estudio para *R. exaltatum* y *I. platyloba* esta técnica tampoco se mostró efectiva.

Con base en los resultados, destacamos la importancia de que se realicen nuevos ensayos germinativos para las dos especies, incluyendo otros tratamientos y el análisis de otras poblaciones no visitadas en ese estudio, ya que es posible encontrar distintos comportamientos como lo vimos para *A. devesae*. Para *I. platyloba* es imprescindible también un seguimiento de sus poblaciones, ya que el número de efectivos parece que va disminuyendo. Nuevos estudios de viabilidad de semillas y la inclusión en Bancos de Germoplasma se hacen necesarios; y un estudio detallado para comprender las causas y efectos de los parásitos en las semillas de *R. exaltatum* es urgente.

3.4.3 *Succisella microcephala* (Willk.) G. Beck

Esta primera aproximación al conocimiento de los requerimientos germinativos de *S. microcephala*, con un resultado de más del 50% de semillas germinadas sin el uso de tratamiento previos, nos hace concluir que, así como para *V. chamaepithyoides*, la capacidad germinativa no parece ser una barrera para el éxito reproductivo de la especie. Es posible que otros factores, sobre todo en relación al uso del suelo del hábitat de sus poblaciones, como ya se comentado en el Capítulo 2, condicionen su situación de amenaza.

Succisella microcephala se comporta como una especie silicícola, higrófila y dependiente del pastoreo como factor que atenúa su exclusión competitiva por otras especies en los medios que habita. Sus marcados requerimientos hídricos actúan reduciendo la superficie de hábitat disponible, que además, por tratarse de un hábitat con buen abastecimiento hídrico, favorece la dinámica sucesional de la vegetación. Sin embargo, el sobrepastoreo reduce sus posibilidades de reproducción por semilla (Pérez-Badia & Fernández-González, 2009). Aunque dispone aparentemente de buenos mecanismos de multiplicación vegetativa, es posible que bajo condiciones de pastoreo intensivo pueda ser desplazada también por otras especies más competitivas en tales situaciones (Pérez-Badia & Fernández-González, 2009).

Como estudio comparativo tenemos principalmente el de Isselstein, Tallowin & Smith (2002), que han trabajado con *Succisa pratensis* Moench, una especie afín que ha sido bastante estudiada en Gran Bretaña (Hooftman, van Kleunen, & Diemer, 2003; Isselstein et al., 2002; Roem, Klees, & Berendse, 2002; Vergeer, Rengelink, Copal, & Ouborg, 2003) y que convive con *S. microcephala* en algunos casos. Isselstein et al. (2002) han probado la hipótesis de que la incapacidad para proporcionar condiciones específicas para el reclutamiento de plántulas parece ser un factor importante que limita el establecimiento de

especies de prados en los sitios de restauración. Para eso, los autores utilizaron praderas de comunidades de *Cirsio-Molinietum* y pastizales pastoreados dominados por gramíneas, y sembraron semillas de *S. pratensis* en tratamientos que incluían irrigación o no riego, presencia o ausencia de vegetación existente, y presencia o ausencia de perturbación del suelo.

La germinación fue mayor en la pradera que en el pasto. El sitio de la pradera era menos susceptible a la sequía, proporcionaba más luz al entorno de la semilla y mostraba una variación más fuerte día-noche en la humedad relativa en comparación con el pastizal pastoreado. La perturbación del suelo fue el principal factor que incrementó la germinación. También la remoción del dosel de vegetación mejoró la germinación en *S. pratensis*. Pero por otro lado, la supervivencia de las plántulas fue mayor en el sitio de la pradera que en los pastizales. La presencia de dosel fue el principal factor que redujo la supervivencia de las plántulas. Las principales conclusiones de los autores fueron que las condiciones que afectan la supervivencia de las plántulas son diferentes de las que afectan la germinación de la semilla, y que los “sitios seguros” para el reclutamiento de plántulas no estaban presentes en el pastoreo.

La provisión de sitios seguros para el reclutamiento de plántulas son esenciales para la restauración exitosa de las comunidades de pastizales seminaturales (Isselstein et al., 2002), y se demostró la necesidad de una condición específica de las características del sitio en las dos etapas (germinación y supervivencia de plántulas). Si *S. microcephala* comparte los mismos requerimientos, el pastoreo intensivo puede estar dificultando la dinámica del ciclo reproductivo de la especie, sobre todo en la fase de mantenimiento y supervivencia de las plántulas, restringiendo el área de las poblaciones y limitando el incremento en su número de efectivos. Tal afirmación está apoyada por nuestros resultados previos que demostraron buena capacidad germinativa de las semillas *ex situ*.

Como conclusión, destacamos que es importante realizar censos periódicos de la especie en los diversos tipos de hábitats que ocupa y también desarrollar estudios sobre la dinámica de sus poblaciones. Las campañas deben incluir, cuando sea posible, la recolección de semillas para la inclusión en bancos de germoplasma, como también es sugerido por Pérez-Badia & Fernández-González (2009). También se ve imprescindible la declaración de una Microrreserva en un lugar con poblaciones adecuadas de la especie y en el que sea posible regular la ganadería. El éxito de nuestros ensayos germinativos y supervivencia de las plantas a través de su mantenimiento en invernadero señalan la posibilidad de ser llevar a cabo

reforzamientos e introducciones experimentales para tratar de disminuir su condición de rareza y amenaza.

3.4.4 *Veronica chamaepithyoides* Lam.

Los estudios previos llevados a cabo por Sánchez-Agudo (2008) en 2007 con la misma especie dieron resultados distintos a los nuestros. Este autor observó que las semillas que recibieron vernalización artificial durante menos de un mes, no germinaron, mientras que aquellas sometidas a períodos más largos de frío germinaron a tasas superiores al 80%, lo cual le llevó a concluir que la semilla requería vernalización para germinar. Sin embargo, podría ser posible que el almacenamiento de las semillas durante nueve años a temperatura ambiente en la oscuridad pueda haber roto la latencia sin deteriorar la calidad de la semilla. La conclusión más importante extraída de nuestro estudio, aunque también resaltado por Sánchez-Agudo (2008) es que la viabilidad de las semillas de *V. chamaepithyoides* es muy alta, lo que descarta como causa de su extinción la incapacidad de reproducción de la especie.

Con respecto a otras especies de *Veronica*, algunos estudios han mostrado resultados diferentes del nuestro. En el estudio de Hájková & Krecule (Hájková & Krecule, 1972), se observaron diferentes resultados para *Veronica dillenii* Crantz, donde se logró un 100% de germinación cuando se aplicó GA (100 mg / l) a 23 °C en oscuridad constante. Fernández González, Juan Rodríguez & Pastor Días (1995), que llevaron a cabo pruebas de germinación con las semillas de 11 especies *Veronica* del suroeste de España, observaron que estas especies tenían diferentes requisitos. Algunas especies alcanzaron altos porcentajes de germinación (más del 80%) a una temperatura de 22 °C y un régimen de 12 horas de luz / 12 horas de oscuridad, mientras que otras especies tuvieron bajos porcentajes de germinación (menos del 20%). Otros requerimientos con aumento significativo en el porcentaje de germinación en oscuridad constante también fueron observados.

La diversidad de hábitats ocupados por especies de este género explica los diferentes requisitos de germinación descritos y verificados en el trabajo de Fernández González et al. (1995). Estudios comparativos de un número de especies en un hábitat determinado han demostrado que los patrones de germinación se deben, en parte, a las características del hábitat y en parte a las características de historia de vida, incluyendo las formas de vida (Baskin & Baskin, 1971; Washitani & Masuda, 1990). Finalmente, resultado semejante al nuestro puede ser encontrado en el estudio de Noronha, Andersson & Milberg (1997), donde

la estratificación en frío disminuyó la capacidad de germinación de las semillas de *Veronica agrestis* L. y donde el tratamiento de control tuvo una tasa de germinación del 89%.

La mayoría de las especies del género *Veronica*, en condiciones naturales, germinan durante el otoño, presentando semillas maduras al comienzo de la primavera para las especies más efímeras, y al final de la primavera o principios del verano para las que tienen el ciclo más largo (Fernández González et al., 1995). Entre las llamadas especies anuales de invierno, es necesario distinguir las obligatorias y las facultativas (Baskin & Baskin, 1987). Las anuales obligatorias de invierno tienen un ciclo anual de latencia / no latencia (Baskin & Baskin, 1984), mientras que las especies facultativas tienen un ciclo anual de latencia / no latencia condicional (Baskin & Baskin, 1981). Se puede concluir que *V. chamaepithyoides* tiene el ciclo normal de una especie facultativa anual de invierno que germina en otoño, pero también puede germinar en la primavera si las condiciones son favorables, o incluso no germinar si las condiciones son desfavorables.

Por otro lado, se observaron altas tasas de germinación en los tres tratamientos probados, incluida la alta viabilidad de las semillas que germinaron (más del 80%) después de ser almacenadas durante más de nueve años. Esto indica que las condiciones climáticas y también el uso antrópico del suelo tienen un gran efecto en el crecimiento y el establecimiento anual de las plántulas de esta especie. Sánchez-Agudo y Rico (2009) destacan que, de acuerdo con las características ecológicas del hábitat de las poblaciones, para que las plantas se desarrollen, existe una cierta dependencia de la actividad agrícola (movimiento de suelos, nitrificación, períodos de barbecho, etc.), pero señalan que por otro lado parece que algunos de los factores asociados con esta actividad (herbicidas, pesticidas) también presentan un efecto negativo.

Finalmente, como ya se mencionó, las plantas tratadas inicialmente con GA fueron más débiles y más sensibles, y resultaron en un nivel mucho más alto de mortalidad en comparación con el tratamiento control después de mantenerse en el invernadero durante tres meses. Ningún otro estudio directamente asociado con el uso de GA y el desarrollo de plantas más débiles se encontró en la literatura. Por lo tanto, se necesitan nuevas pruebas con *V. chamaepithyoides* y otras especies del mismo género para probar la hipótesis. Además, dado que el tratamiento control utilizado en este estudio proporcionó buenos resultados, está claro que este protocolo es el que debería usarse para el mantenimiento de plantas vivas *ex situ* y para el refuerzo o la reintroducción de nuevas poblaciones. Por último, cabe destacar que de las plantas que lograron sobrevivir en el invernadero, después de un año se recolectaron un

total de 290,000 semillas y actualmente se almacenan en el Banco de Germoplasma de la Universidad de Salamanca (BG-USAL) ubicado en el CIALE. Este resultado destaca la importancia de un enfoque práctico aplicado *in situ* y *ex situ* junto con la conservación a largo plazo del material vivo y viable, que se centra en la preservación de la variabilidad genética.

Implicaciones con respecto a la conservación: En este punto, vale la pena mencionar que las dos poblaciones vivas de esta especie están ubicadas fuera de los límites de las reservas o parques nacionales o regionales, y solo la población –extinta- de San Miguel de Bernuy tendría protección legal gracias a su condición de planta amenazada incluida en el decreto legal del Gobierno Regional de Castilla y León (Decreto 63/2007 de 14 de junio), aunque con muy poco efecto real. Como medidas de protección *in situ*, la situación ideal sería convencer al propietario de la tierra de no utilizar sustancias químicas, lo que podría ser bastante difícil de asimilar para el agricultor, especialmente si se considera que esto favorecería el desarrollo de una "mala hierba" no deseada. Los resultados presentados por nosotros destacan la alta viabilidad de las semillas con la posibilidad de conservación a largo plazo y, un protocolo óptimo germinación con una alta tasa de supervivencia de las plantas (tratamiento control), confirman el éxito en la conservación *ex situ* de esa especie. Sugerimos que acciones que busquen complementar la conversión *in situ* sean llevadas a cabo, como planes de reintroducciones y reforzamientos poblaciones, como hemos hecho para *A. devesae*.

3.4.5 Discusión general

Los ensayos de germinación persiguen dos objetivos principales: en primer lugar, la elaboración de un protocolo de conservación eficaz para cada taxón, que permita reproducir la planta en un laboratorio o jardín botánico. Este aspecto resulta de especial interés para la elaboración de planes de reintroducción o reforzamientos poblacionales, ya que así se consigue un óptimo aprovechamiento de las semillas disponibles. En segundo lugar, los ensayos de germinación resultan esenciales para controlar la calidad de los lotes de semillas conservados, pues nos permiten conocer la viabilidad de las semillas a lo largo del proceso de conservación (Bacchetta et al., 2008; Clemente et al., 2017).

Los resultados de los ensayos de germinación realizados en nuestro estudio han sido satisfactorios para tres de las especies: *A. devesae*, *V. chamaepithyoides* y *S. microcephala*. En la primera destaca la alta variabilidad interpoblacional y alta tasa de germinación de las semillas de las poblaciones más importantes, sobre todo Padiernos; En *V. chamaepithyoides* pudimos comprobar que sus semillas mantiene una alta viabilidad a largo plazo; y por último,

S. microcephala presentó resultados satisfactorios de germinación en dos temperaturas distintas y sin el uso de tratamientos previos.

Los resultados nos indican que la germinación óptima de esas especies ocurre a temperaturas frías (14 °C o 20/10 °C alternos), como se constató anteriormente para varias especies en la Península Ibérica (por ejemplo Clemente et al., 2017; Cross et al., 2017; Escudero, Carnes, & Pérez-García, 1997; Panuccio et al., 2017). Bacchetta et al. (2008) también describió temperaturas próximas de 20 °C como las más idóneas para la germinación de especies mediterráneas. Esta estrategia indica una asociación de la germinación con las temperaturas de otoño y el comienzo de las lluvias, cuando la disponibilidad de agua es mayor, asegura el establecimiento de plántulas. Lo mismo está ampliamente descrito para especies mediterráneas (Carta, Bedini, Müller, & Probert, 2013; Clemente et al., 2017; Giménez-Benavides, Escudero, & Pérez-García, 2005). De hecho, está bien documentado que la temperatura (y también la luz) son factores claves que influyen en la latencia y germinación de las semillas (Baskin & Baskin, 1984, 1998; Del Vecchio et al., 2012).

Ello sugiere que la mayor parte de las semillas de *V. chamaepithyoides* y *S. microcephala* en el momento de la dispersión (finales de verano y otoño; Pérez-Badia & Fernández-González, 2009; Sánchez-Agudo & Rico, 2009), no presentan latencia y podrían germinar directamente. Además no constatamos latencia exógena del tipo física (sensu Baskin & Baskin, 2003), ya que esas especies presentan altas tasas de germinación sin el uso de tratamientos previos, si bien, el uso de GA ha mejorado los porcentajes germinativos de *V. chamaepithyoides*. Otros estudios indicaron que el tratamiento con GA mejoran la germinación independientemente de si las semillas estaban latentes o no (Cerabolini, Andreis, Ceriani, Pierce, & Raimondi, 2004; Herranz et al., 2010). Por otro lado, Baskin & Baskin (1998) y Chen, Chien, Baskin & Baskin (2010) sugieren que en muchas especies silvestres, las semillas no germinarán hasta la liberación de latencia después de la dispersión, incluso cuando se las somete a condiciones óptimas de temperatura. Es el caso de *A. devesae* hemos constatado la latencia exógena del tipo física (sensu Baskin & Baskin, 2003), algo descrito previamente para diversas especies de la misma familia (Baskin & Baskin, 1998).

En la situación opuesta en cuanto a tasas satisfactorias de germinación, tenemos a *I. platyloba* y *R. exaltatum*, para las cuales no se alcanzaron los valores de germinación esperados, probablemente por no haber acertado con el tratamiento adecuado ya que, a priori, la calidad de sus semillas parecía buena. Si ello es cierto, puede existir una interacción compleja entre temperatura, las hormonas vegetales y otros factores ambientales en la

regulación de la dormición y la germinación de las semillas de esas especies. Baskin & Baskin (2004) resaltan que pueden haber diferentes combinaciones de latencia endógena y exógena. Si existen varias causas y combinaciones que provocan la latencia, son necesarios pretratamientos específicos para cada una de ellas cuando tratamos de realizar experimentos *ex situ*. Pero quizás también otros aspectos relacionados con la variabilidad genética o la contaminación fúngica pueden estar afectando la viabilidad de las semillas de esas especies, pero harían falta estudios específicos para comprobarlo.

Esperamos que este estudio sirva para alentar a los investigadores responsables por los Bancos de Germoplasma para que sus datos de germinación sean ampliamente accesibles, facilitando a la comunidad científica su uso como información de referencia para diseñar nuevos estudios y plantear estrategias de conservación viables. Algunos autores (por ejemplo Clemente et al., 2017) destacan algunas limitaciones inherentes a los procedimientos de germinación aplicados en los bancos de semillas, sobre todo con especies amenazadas (poder estadístico limitado debido a los bajos tamaños de muestreo y/o pocas réplicas). Estas restricciones pueden impedir la publicación de parte de los datos en revistas revisadas por pares. Sin embargo, tales datos aún pueden estar disponibles, por ejemplo en informes o en las bases de datos *online* de las redes de los Bancos de Germoplasma.

3.5 ENSAYOS DE REFORZAMIENTO POBLACIONAL DE *A. devesae*

3.5.1 Introducción

Las técnicas de restauración y reforzamientos de poblaciones se han convertido en herramientas ampliamente utilizadas para la conservación de plantas amenazadas en los últimos veinte años (Escudero-Alcántara & Iriondo-Alegría, 2003; Fraga & Arguimbau, 2000; Godefroid et al., 2011; Heywood & Iriondo-Alegría, 2003; IUCN, 2013). El valor de las (re)introducciones de especies ha sido resaltado en tratados y legislaciones internacionales, incluyendo el Convenio sobre Diversidad Biológica, el Convenio de Berna, la Estrategia Global para la Conservación de Plantas, la Estrategia Europea para la Conservación de Plantas y la Directiva europea 92/43/CEE relativa al hábitat (revisión de Godefroid et al., 2011).

Según las definiciones de la IUCN (2013), reintroducción es un término general que describe la recolocación controlada de material vegetal en un área ecológica natural o gestionada. También se define como el manejo de una planta en un área en la que

antiguamente se produjo, pero en la que ahora se ha extinguido o se cree que se ha extinguido (también llamado restablecimiento). El reforzamiento es un esfuerzo por aumentar el tamaño de la población o la diversidad al agregar individuos a una población existente. La introducción (también llamada traslocación) es la transferencia de material de una parte a otra del rango existente de una especie, pero en un sitio en el que nunca se supo que estuviera.

El Grupo de Especialistas en Reintroducción de la Comisión de Supervivencia de Especies de la IUCN (2013) ha desarrollado pautas para permitir que dichas acciones puedan alcanzar los objetivos de conservación. En líneas generales, idealmente se requiere un conocimiento profundo de la biología de las especies involucradas (por ejemplo, su forma de crecimiento, fertilidad y germinación) incluyendo sus características ecológicas (por ejemplo requisitos de hábitat, mecanismos de dispersión, relaciones simbióticas, plagas y enfermedades) y el estado de conservación de las poblaciones silvestres (Escudero-Alcántara & Iriondo-Alegría, 2003; Guerrant & Pavlik, 1998; IUCN, 2013).

Es importante señalar que estas técnicas han sido objeto de cierto debate debido a la existencia de algunos riesgos, como una alteración de las proporciones alélicas en el genoma entre poblaciones o procesos que aumentan la depresión endogámica (Escudero-Alcántara & Iriondo-Alegría, 2003), por lo tanto es imprescindible usar semillas o plantas de la misma población en el caso de reforzamientos. Además, hay muchos casos en que las reintroducciones no alcanzan los objetivos deseados por diversas razones, incluida la falta de conocimiento sobre la biología de la especie en cuestión (Godefroid et al., 2011). Paradójicamente, no tomar medidas en casos críticos puede representar un riesgo igual o mayor (la extinción de una especie en el peor de los casos) en comparación con los intentos de restauración (Maunder, 1992). Las introducciones son recomendables para las especies que tienen sólo una población, y/o que están al borde de la extinción, especialmente si hay amenazas inminentes (Escudero-Alcántara & Iriondo-Alegría, 2003).

Tenemos constancia de la existencia de ensayos de reintroducciones y traslocaciones para la creación de nuevas poblaciones de plantas amenazadas en España (Ferrer Gallego et al., 2017; Fraga & Arguimbau, 2000; Rita & Cursach, 2013; Sainz-Ollero & Hernandez-Bermejo, 1979), pero por lo general, en pocos casos se ha observado éxito en las primeras etapas de evaluación de las nuevas poblaciones; no solo porque pueda haberse dado un fracaso en el proceso de aclimatación sino porque habitualmente pocos estudios publican sus resultados más allá de los pasos iniciales. Eso también se aplica a estudios experimentales de reforzamientos poblacionales, casi inexistentes en la bibliografía. Además,

gran parte de la experiencia adquirida en España permanece sin publicar, como en el resto del mundo (Godefroid et al., 2011). Aunque constituyen interesantes lecciones sobre las metodologías de germinación *in vitro*, muchos trabajos no muestran realmente su aplicación práctica en el campo visando sacar del declive poblaciones de especies amenazadas.

El género *Astragalus* L. (Fabaceae) es uno de los géneros más grandes de plantas vasculares puesto que está compuesto por 2500-3000 taxones con más de 250 secciones y (Maassoumi, 1998; Podlech, 1986). En la Península tiene uno de sus centros de diversificación, con nada menos que 42 especies, de las que nueve son endémicas (Martinez-Fernandez et al., 2014; Podlech, 1999). Entre estas últimas están *Astragalus gines-lopezii* Talavera, Podlech, Devesa & Vázquez Pardo, endemismo pacense *A. nitidiflorus* Mun. & Pau, endemismo murciano, y *A. devesae* Talavera, A. González y G. López, endemismo avulense (Martinez-Fernandez et al., 2014), que conjuntamente constituyen la sección denominada *Platyglottis*.

Todas ellas fueron consideradas inicialmente como una misma especie, *A. nitidiflorus* (Vázquez, Devesa Alcaraz, & Domínguez Vilches, 1991), pero estudios morfológicos detallados las llevaron a su categoría actual (Talavera & Salgueiro, 1999). En particular, *A. devesae* se distingue por presentar estípulas libres entre sí, todos los pelos blancos y cáliz ventricoso, frente a las estípulas soldadas, pelos blancos y negros y cáliz tubuloso de *A. gines-lopezii* y *A. nitidiflorus*. Además, los frutos de *A. devesae* son mayores (Talavera & Salgueiro, 1999). Sus áreas de distribución son siempre muy restringidas y en todos los casos las poblaciones conocidas son pequeñas.

En relación a nuestros ensayos germinativos con *A. devesae* detallados anteriormente, es importante destacar que, a pesar del alto potencial germinativo observado en las semillas de la población de Padiernos en nuestros ensayos (73%), es notable el decrecimiento del número de individuos de esta población entre los años de 2004 y 2008. Previos a nuestro trabajo, los censos realizados en esa población fueron los de Martínez et al. (2004), que contabilizaron 478 individuos en 2004 y de Teresa et al. (2009a) que en 2008 contabilizaron 311, es decir, un descenso del 35% en el número de efectivos. Teresa et al. (2009a) asocia ese evento a la principal amenazada de esa población hasta 2008: el paso de vehículos de motocross en el circuito ubicado exactamente en el área de ocupación de *A. devesae*. Por otro lado, su cierre oficial en 2008 y la implementación de una Microrreserva (Teresa et al., 2009b) para la protección de *A. devesae* parecen haber sido buenas estrategias para la protección y el mantenimiento del número de sus efectivos, ya que en nuestras visitas

en 2015 fueron contabilizados 317 ejemplares, es decir, número similar al de 2009 lo que señala que la población está en equilibrio.

Los autores citados también resaltaron en sus estudios la importancia de medidas de gestión y conservación aconsejables para esa especie, como por ejemplo: 1) recolección de semillas de ambas poblaciones para su inclusión en bancos de germoplasma; 2) realización de experimentos de germinación y cultivo de la planta; 3) conservación *ex situ* y futuros proyectos de reforzamiento de las poblaciones (para ampliar el área de la población de Padiernos) o reintroducción (en caso de extinción de la población de Collado del Mirón) y 4) puesta en marcha de estudios que permitan profundizar en la biología de la especie de cara a su conservación: biología reproductiva, polinizadores, dispersión de semillas, preferencias edáficas, depredación, parásitos, diversidad genética, etc. Por lo tanto, nuestro estudio contempla esas iniciativas y viabiliza conocimiento valioso sobre esa especie castellanoleonesa y en peligro crítico de extinción.

3.5.2 Material y Métodos

De las plantas logradas en los ensayos germinativos de la población de Padiernos de 2015, desarrolladas en el invernadero del CIALE, 70 fueron empleadas para un reforzamiento poblacional experimental que se llevó a cabo en dos fases: **Fase 1:** en la primavera de 2016, donde se establecieron tres núcleos (I, II y III); y la **Fase 2:** en la primavera de 2017, donde se establecieron otros cuatro núcleos más (IV, V, VI y VII) (Figura 16). Una descripción de cada uno de ellos en cuanto a algunas características topográficas se muestra en la tabla 12. Los datos fueron extraídos en ArcGIS® Desktop 10 versión 10.0 (ESRI, 2015) a partir de capas derivadas del Modelo Digital de Elevación (MDE). En cada uno de los núcleos se plantaron 10 ejemplares, que fueron marcados y etiquetados.



Figura 16. Banderas rojas representan los tres núcleos poblacionales experimentados en la fase I y en azul los cuatro núcleos de la fase II. Padiernos, Ávila.

Tabla 12. Descripción de características topográficas de los siete núcleos poblacionales del reforzamiento poblacional experimental, Padiernos, Ávila.

Núcleo	Orientación	Pendiente	Altitud (m)
I	Suroeste	6,37°	1155
II	Este	12,75°	1154
III	Oeste	14,43°	1155
IV	Este	4,52°	1157
V	Suroeste	8,29°	1160
VI	Este	15,43°	1156
VII	Sureste	14,03°	1167

Tras la ejecución de la fase 1, se realizaron cuatro visitas de campo en diferentes momentos (junio, julio [periodo seco en Ávila durante el cual también se regaron ligeramente las plantas]; noviembre de 2016; y por último en febrero de 2017) para evaluar la tasa de supervivencia de las plantas por núcleo. Para la evaluación del establecimiento de las plantas de la fase 2, se llevaron a cabo dos salidas de campo, en julio de 2017 y octubre de 2017. En la población de Collado del Mirón no fueron plantados reforzamientos por la falta de semillas germinadas de esta población; tampoco en la población de Ávila por ubicarse en una finca privada, lo que dificultaba notablemente la realización de este ensayo.

3.5.3 Resultados y Discusión

En la tabla 13, se muestra el número de ejemplares muertos y la tasa de supervivencia por núcleo y día de evaluación de las fases 1 y 2. En la figura 17 tenemos por fecha de visita la tasa de supervivencia por fase. Se observa que el periodo crítico para el establecimiento de *A. devesae* en la fase 1 fue durante el verano, donde se observó una tasa de mortalidad del 60% en el núcleo II y del 30% en el núcleo I. El fracaso del establecimiento de las plantas en el núcleo II (apenas 10% de supervivencia final) fue asociado a la presencia de conejos (*Oryctolagus cuniculus* L.) y jabalíes (*Sus scrofa* L.), ya que se observó que los ejemplares habían sido levantados por la acción de dichas especies en ese núcleo, además de encontrarse el suelo bastante removido (Figura 18). Los núcleos I y III presentan un aspecto general más parecido a los de las dos subpoblaciones naturales de *A. devesae*. La tasa final de supervivencia en esa primera fase fue de 70% en el núcleo I, 10% en el núcleo II y 80% en el núcleo III. En conjunto, la tasa total de supervivencia fue del 53,3%.

En la fase 2, apenas un núcleo (VI) presentó baja tasa de supervivencia, siendo observadas seis plantas muertas ya en la primera visita de evaluación, en julio de 2017. Desafortunadamente, en la segunda y última visita de evaluación ese núcleo no presentó ninguna planta viva. El hecho también fue asociado a la presencia de animales silvestres, ya que el suelo estaba bastante removido al igual que las piedras (Figura 19). En los demás

núcleos de esa fase, la tasa de supervivencia fue satisfactoria, con una media de 93% en la primera visita y 50% en la segunda (Tabla 13 y Figura 17). En la primera visita para evaluar la tasa de supervivencia de la fase 2, en julio de 2017, también fueron observados ejemplares de los núcleos I y III de la fase I ya con flores (Figura 20), con lo cual confirma el éxito de nuestro reforzamiento experimental.

Tabla 13. Número de plantas muertas y tasa de supervivencia observada para *A. devesae* por fecha en cada uno de los tres núcleos de reforzamiento poblacional realizados en la población de Padiernos (núcleo n = 10).

Fecha	Núcleo	Nº plantas muertas	Tasa supervivencia (%)
Fase 1			
14/06/2016	I	0	100
	II	0	100
	III	0	100
07/07/2016	I	0	100
	II	2	80
	III	0	100
09/11/2016	I	3	70
	II	8	20
	III	2	80
20/02/2017	I	3	70
	II	9	10
	III	2	80
Fase 2			
14/07/2017	IV	0	100
	V	0	100
	VI	6	40
	VII	2	80
25/10/2017	IV	6	40
	V	5	50
	VI	10	0
	VII	4	60

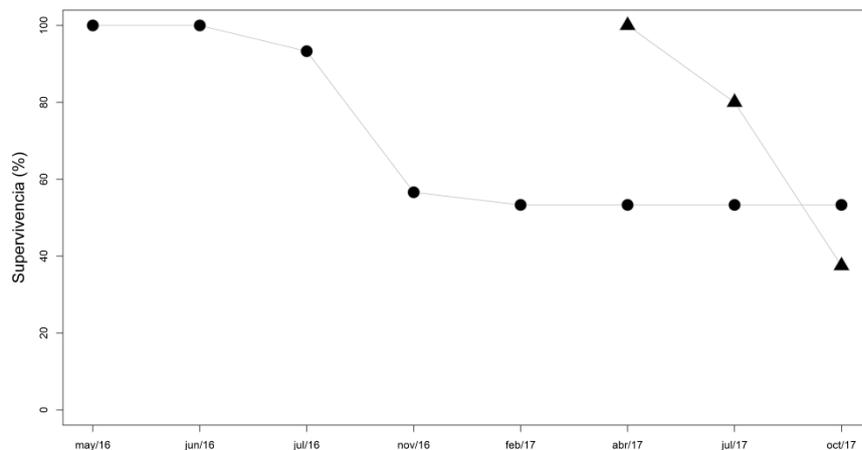


Figura 17. Tasas de supervivencia por fecha de evaluación (días de ejecución incluidos). Fase 1 (círculos) n=30 y Fase 2 (triángulos) n=40.

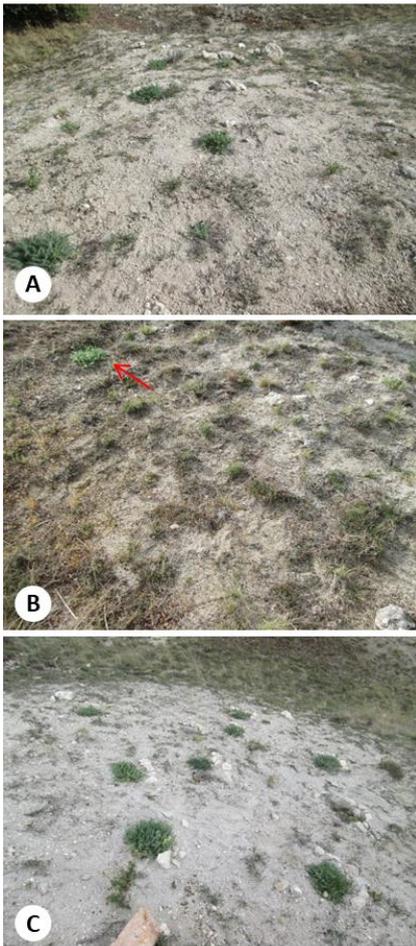


Figura 18. Vista general de los tres núcleos (fase 1) en la última visita (a = I; b = II [flecha apunta al único ejemplar superviviente], c = III).

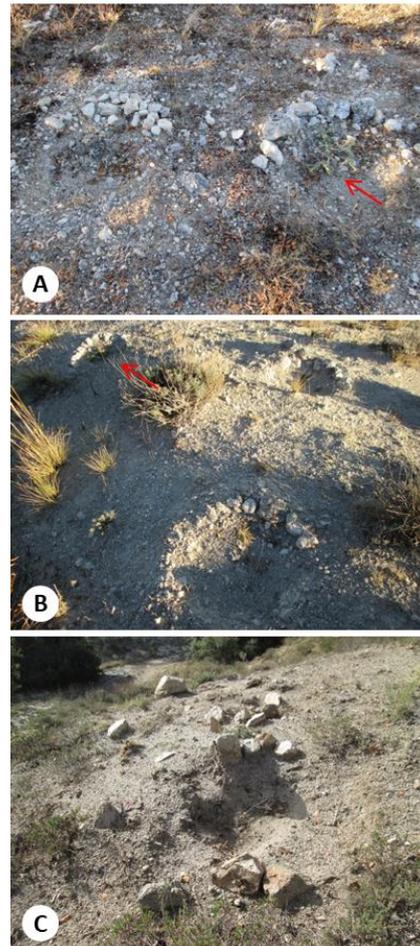


Figura 19. A y B) Núcleos (fase 2) con ejemplares vivos [flechas] y muertos. C) Núcleo VI con el suelo removido por animales silvestres (25-10-2017).



Figura 20. Ejemplar del núcleo III (fase 1) de *A. devesae* en floración en julio de 2017, tras un año de su establecimiento. Padiernos, Ávila.

Los datos preliminares aquí presentados para este primer experimento de reforzamiento para *A. devesae* pueden considerarse exitosos según criterios de (Godefroid et al., 2011). Alrededor del 50% de las plantas cultivadas sobrevivieron hasta más de un año

después de la siembra, y se observó en la última visita plantas en floración. La capacidad de los trasplantes para florecer y dar fruto es una medida cualitativa clave sobre el destino final de las restauraciones poblacionales (Menges, 2008; Rita & Cursach, 2013; Tyndall & Groller, 2006). El reclutamiento se considera el parámetro más confiable que indica el éxito de una restauración poblacional porque refleja los procesos del ciclo de vida, incluyendo supervivencia y vigor de la planta, producción de flores, polinización, y la presencia de áreas adecuadas para establecer nuevas plántulas (Godefroid et al., 2011; Guerrant & Pavlik, 1998).

El monitoreo de las tasas de supervivencia presentadas en este trabajo, junto con los datos de floración registrados nos llevan a pensar que algunos núcleos de reforzamiento presentan potencial real de persistir con el tiempo. Por lo tanto, podemos concluir que, al menos a corto plazo, el reforzamiento ha sido un triunfo. No obstante, algunos autores (Escudero-Alcántara & Iriondo-Alegría, 2003; Godefroid et al., 2011; Guerrant & Kaye, 2007) consideran que para comprobar el éxito real de una restauración, deben realizarse monitoreos a largo plazo (hasta 10 años). En la revisión de Godefroid et al. (2011), en la que evalúan numerosos trabajos de restauración, solo consideran exitosas aquellas en las que se comprueba la viabilidad de los trasplantes durante al menos 4 años, algo que, Guerrant & Kaye (2007), tampoco parece ser suficiente para indicar una tendencia a largo plazo.

Como estudios comparativos llevados a cabo en España en los últimos años y que también lograron éxito, destacamos los de Rita & Cursach (2013), que contabilizaron alrededor del 50% de supervivencia tras cuatro años de monitoreo en acciones de reforzamiento e introducciones de *Apium bermejoi* L. Llorens, planta estolonífera endémica de Menorca (Islas Baleares), de la que se conoce una sola localidad en el medio natural y está considerada en Peligro Crítico de Extinción (según criterios IUCN). Ferrer-Gallego et al. (2017) han llevado a cabo cinco experiencias de traslocación en la provincia de Alicante para la especie amenazada *Narcissus perezlarae* Font Quer. De un total de casi 9 mil ejemplares introducidos se ha registrado una tasa de supervivencia del 28,4% en la última evaluación.

Por otro lado, hay otras experiencias no exitosas. Uno de los casos más notables es el de *Lysimachia minoricensis* JJ Rodr., una planta endémica de la isla de Menorca que se extinguió en la naturaleza y que, desde la década de 1960 hasta la actualidad, ha sido reintroducida e introducida sucesivamente, pero con poco éxito (Fraga & Arguimbau, 2000; Valdés, 2011), muy probablemente debido a un conocimiento pobre de los requerimientos ecológicos de esta especie y su baja diversidad genética *ex situ* (Ibáñez, Calero, Mayol, & Rosselló, 1999).

Sainz-Ollero & Hernández-Bermejo (1979) han puesto en práctica reintroducciones en España con varias especies endémicas en peligro de extinción: *Vella pseudocytisus* L., *Silene hifacensis* Rouy, *Hutera rupestris* Porta, *Antirrhinum charidemi* Lange y *Artemisia granatensis* Boiss. A excepción de los ensayos para *A. granatensis*, para las demás especies la tasa de supervivencia de las nuevas poblaciones fue baja. Lo mismo que ocurre en nuestro experimento, los autores han destacado la presencia de animales silvestres sobre todo los conejos, como una limitación importante para el desarrollo y supervivencia de los ejemplares en las nuevas poblaciones.

Además del efecto negativo de los animales en el mantenimiento de los trasplantes, es posible que otros factores hayan influenciado en la mortalidad de las plantas. Una observación interesante es que los tres núcleos con los peores resultados en el establecimiento de las plantas y que presentaron la totalidad o casi totalidad de plantas muertas en las últimas visitas (núcleos II, IV y VI), son los sitios elegidos que están orientados hacia el este (Tabla B1). Es posible que los cambios en la disponibilidad hídrica, intensidad de luz solar y tiempo de exposición pudieran haber influido también en la dificultad de aclimatación de esas plantas en esas localidades. El hecho de que la población natural de *A. devesae* en Padiernos esté dividida en dos subpoblaciones, de ubicación y tamaños estrictos, además lejanas entre sí, indica que el reclutamiento de individuos de esa especie está condicionado por microhábitats.

Desafortunadamente, no logramos plantas a partir de los ensayos germinativos llevados a cabo con semillas de la escasa población de Collado del Mirón, y por tanto un reforzamiento en esa población no fue posible. Aquí cabría plantear cuales son las medidas de conservación más adecuadas para esa población, si realizar un reforzamiento con plantas de las otras dos poblaciones, o bien plantear un área protegida para evitar las amenazas inminentes por la extracción de áridos. La presencia de un banco de semillas del suelo activo como vimos en la última visita a la población (octubre de 2017), con la observación de seis nuevos ejemplares tras la eliminación de casi el 100% de los efectivos sugiere que la población a pesar de agonizante, puede seguir creciendo y reestablecerse. Un banco de semillas viables a largo plazo (dispersas incluso años anteriores a los ensayos germinativos) puede ser la explicación de la germinación observada en campo.

Otras medidas posibles para *A. devesae* serían nuevas introducciones (en zonas potencialmente idóneas) o más recomendable, reintroducciones en localidades donde había sido citada, como es el caso del municipio de Muñogalindo, para el que existe una recolección de G. López & E. Valdés en 1975- (Talavera & Salgueiro, 1999), pero no ha vuelto a ser

localizada allí en las últimas décadas. Además nuestros Modelos de Nicho Ecológico (MNE) para la especie teniendo en cuenta variables bioclimáticas nos indican Muñogalindo como una zona de alta idoneidad para la presencia de la especie (ver Capítulo 4).

Es preciso destacar que la fase crucial en este tipo de ensayos de reintroducción es la elaboración de un protocolo de germinación para cada taxón que permita obtener con eficacia plantas en laboratorio (Bacchetta et al., 2008; Conway, 1988). Así, el presente trabajo, que se inició entre los años 2009 y 2011, fue posible gracias a la elaboración de un protocolo óptimo de germinación para la especie, y posteriormente, entre los años de 2015 y 2017, con la germinación *in vitro* y obtención de plantas en invernadero. Se trata pues, de un caso práctico de evaluación del esfuerzo requerido para llevar a cabo estudios de conservación *ex situ* aplicados y complementarios a la conservación *in situ*.

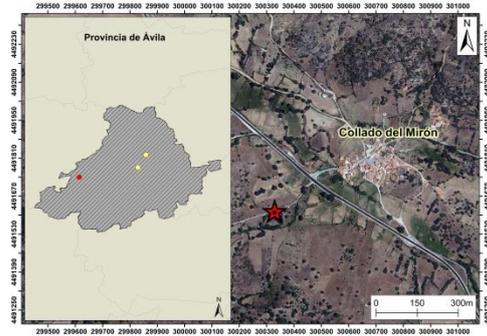
En conclusión, además de las medidas para la protección de *A. devesae* que ya han sido sugeridas, son necesarios más estudios sobre su biología reproductiva y variabilidad genética. Está claro que nuevos esfuerzos de restauraciones poblacionales tienen que estar acompañados por la protección de los núcleos mediante vallados, ya que las actividades de animales silvestres parecen desempeñar un efecto negativo importante. Consideramos urgente la necesidad de llevar a cabo medidas de protección *in situ* para la población de Collado del Mirón, fundamentalmente la implementación de un área de protección legal, además de desarrollar nuevos intentos de germinación *ex situ*.

ANEXO

A. Especies y localización de las poblaciones estudiadas en los ensayos germinativos.



A1. Ejemplar con frutos maduros de *A. devesae*, población de Ávila.



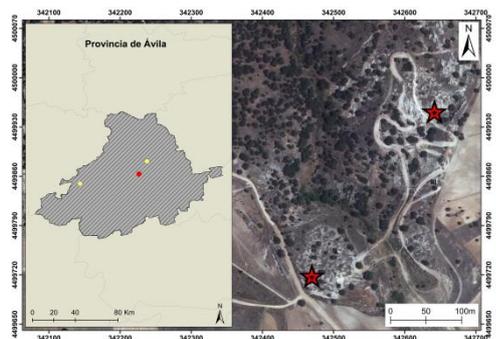
A4. Ortofoto de la población de *A. devesae* en Collado del Mirón (Ávila).



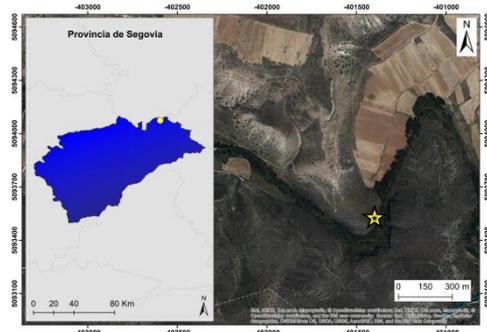
A2. Ejemplar de *A. devesae* en floración, de Padiernos (Ávila).



A5. Ejemplar de *A. devesae* en la pequeña población de Collado del Mirón.



A3. Ortofoto de la población de *A. devesae* en Padiernos (Ávila).



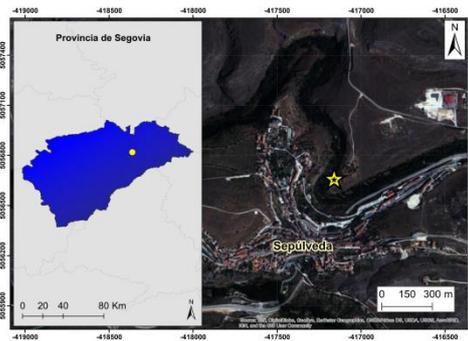
A6. Imagen de satélite de la población de *I. platyloba* en el Mirador de Hocecilla.



A7. Recolección de frutos de *I. platyloba* del único ejemplar observado en Hoces del Río Riaza.



A11. Único ejemplar de *I. platyloba* observado en Pereña (Salamanca) en 2016.



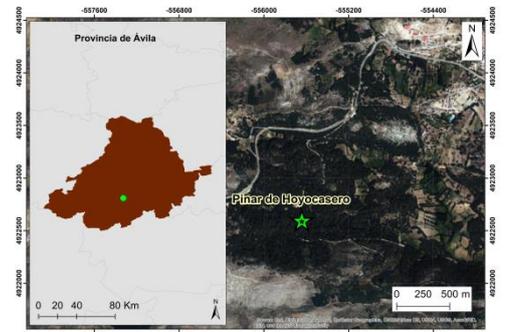
A8. Imagen de satélite de la población de *I. platyloba* en los cañones del Río Duratón (Sepúlveda).



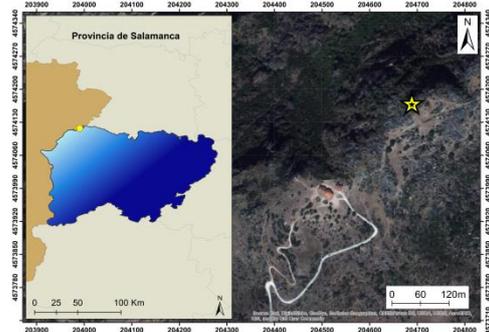
A12. Plantas de *I. platyloba* con gran número de frutos en el Invernadero del CIALE.



A9. Aspecto general de la población de *I. platyloba* en Hoces del Río Duratón.



A13 Imagen de satélite de la población de *R. exaltatum* en el Pinar de Hoyocasero (Ávila).



A10. Imagen de satélite de la población de *I. platyloba* en el Parque Natural Arribes del Duero.



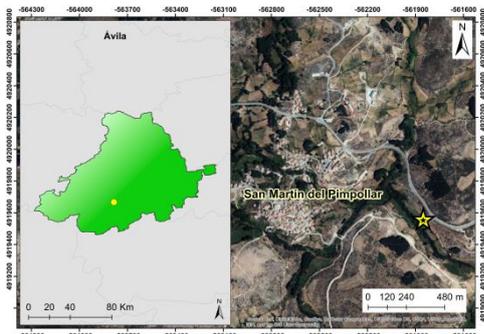
A14. Detalle de la flor de un ejemplar de *R. exaltatum* en Hoyocasero (Ávila).



A15. Frutos con insectos encontrados en *R. exaltatum*.



A19. Suelo revuelto en la subpoblación II de *S. microcephala*, en San Martín del Pimpollar (Ávila).



A16. Imagen de satélite de la subpoblación I de *S. microcephala* en San Martín del Pimpollar (Ávila).



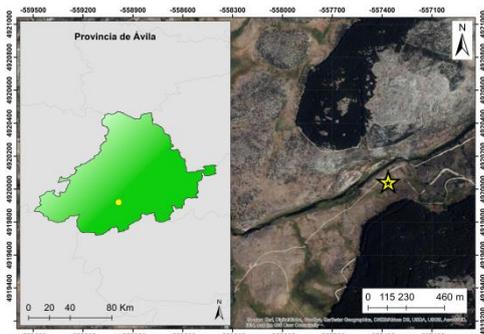
A20. Cámara de germinación con placas con frutos de *I. platyloba* y *R. exaltatum*.



A17. Ejemplar de *S. microcephala* con frutos. Subpoblación I de San Martín del Pimpollar.



A21. Plántulas de *V. chamaepithyoides* mantenidas en invernadero para análisis de supervivencia.



A18. Imagen de satélite de la subpoblación II de *S. microcephala* en San Martín del Pimpollar (Ávila).



A22. Población de *A. devesae* en Collado del Mirón después de la extracción de áridos (mayo de 2017).



UNIVERSIDAD
DE SALAMANCA

CAMPUS OF INTERNATIONAL EXCELLENCE

CAPÍTULO IV

**APLICACIÓN DE LOS MODELOS DE NICHO ECOLÓGICO
EN LA OPTIMIZACIÓN DEL MUESTREO DE ESPECIES
RARAS; DOS EJEMPLOS: *Astragalus deveesae* y *Tephroseris
coincyi***



4. APLICACIÓN DE LOS MODELOS DE NICHOS ECOLÓGICOS EN LA OPTIMIZACIÓN DEL MUESTREO DE ESPECIES RARAS; DOS EJEMPLOS:

Astragalus devesae* y *Tephrosieris coincy

4.1 INTRODUCCIÓN

Las especies raras o poco abundantes son especialmente sensibles a la extinción, por lo que requieren con mayor urgencia estudios para comprender los factores que determinan su distribución (Lomba et al., 2010; Walther et al., 2007; Wu & Smeins, 2000). Estas especies se caracterizan por tener estrechos rangos geográficos, bien de forma natural o a consecuencia del impacto humano, suelen tener una alta especificidad de hábitat (ocurren solo en uno o pocos tipos de hábitats), y, por lo general, tamaños de población pequeños (Aitken, Roberts, & Shultz, 2007; Medrano & Herrera, 2008). Todo ello hace que recopilar cualquier tipo de información sobre ellas sea un desafío, que además se acrecienta debido sobre todo a la naturaleza compleja y dinámica de la distribución de las especies y sus factores relacionados que además actúan a diferentes escalas espaciales (Elith & Leathwick, 2007; Guisan & Thuiller, 2005; Guisan & Zimmermann, 2000). Por tanto, el desarrollo de un amplio conjunto de herramientas estadísticas capaces de relacionar los patrones de diversidad con los factores ambientales es de gran ayuda para poder llegar a comprender tales patrones (Elith et al., 2006; Guisan & Thuiller, 2005). Los Modelos de Nicho Ecológico (MNE) (Guisan & Thuiller, 2005; Guisan & Zimmermann, 2000) tienen como objetivo cuantificar las relaciones especie-ambiente y el nicho ambiental de una especie (sensu Hutchinson, ver Araújo & Guisan, 2006).

La información provista por modelos espaciales puede apoyar prospecciones específicas para recolectar registros adicionales para la especie (Guisan et al., 2006), apoyar la selección de poblaciones para enfocarse en medidas de conservación urgentes (Farnsworth & Ogurcak, 2006), y direccionar búsquedas de nuevas poblaciones de manera optimizada. Algunos trabajos demuestran que es posible lograr ese último objetivo (Siqueira et al., 2009; J. N. Williams et al., 2009). En la Península Ibérica, Buirra (2016) encontró 28 nuevas poblaciones de cinco especies de la flora de interés a partir de los resultados de modelos de distribución.

Aunque recientemente se han logrado grandes avances metodológicos, como la mejora de los algoritmos predictivos (Elith et al., 2006; Guisan & Thuiller, 2005) y el uso de más predictores ambientales causales con una mejor resolución espacial (Lassueur, Joost, & Randin, 2006; Randin, Vuissoz, Liston, Vittoz, & Guisan, 2009), el modelado de la

distribución de estas especies raras aún está en sus comienzos (Aitken et al., 2007; Elith et al., 2006; Ferrier, Watson, Pearce, & Drielsma, 2002; Guisan et al., 2006; Guisan & Thuiller, 2005). Lomba et al. (2010) han definido en su estudio la “paradoja del modelado de especies raras”, como el hecho de que al mismo tiempo en que hay la necesidad prioritaria de modelar distribuciones de especies raras con fines de conservación, existe también la dificultad inherente para modelarlas con precisión. Los modelos de especies raras, caracterizados por rangos ecológicos estrechos, a menudo muestran una mayor precisión en comparación con especies comunes caracterizadas por amplios rangos ecológicos (ver Franklin, 2010). Sin embargo, la exactitud y la viabilidad del modelo de las especies raras aumenta asintóticamente con el tamaño de la muestra, porque cuanto más están disponibles las ocurrencias, más completo se describe el nicho de la especie (Hernandez, Graham, Master, & Albert, 2006; Stockwell & Peterson, 2002).

Por lo tanto, Lomba et al. (2010) propusieron una nueva estrategia para abordar el modelado de especies raras, basada en dos enfoques: el primero se trata de una aplicación de modelado espacial jerárquico. Las especies consideradas como especialistas de hábitat, restringidas y adaptadas de forma única a tipos de hábitats altamente fragmentados, son las que más necesitan modelos predictivos de idoneidad del hábitat. Además, los enfoques que incluyen niveles jerárquicos de refinamiento a distintas escalas y límites geográficos también pueden contribuir a la planificación estratégica de la conservación en distintas escalas (Elith & Leathwick, 2007). Al utilizar diferentes niveles de información en diferentes escalas espaciales, que incluyen clima, cobertura del suelo, entre otros, los enfoques jerárquicos pueden ayudar a refinar los modelos de distribución y hacerlos más informativos (Luoto, Virkkala, & Heikkinen, 2007; Thuiller et al., 2003). El segundo enfoque es ajustar un mayor número de pequeños modelos bivariados, es decir, modelos con solo dos predictores a la vez, y promediarlos en un conjunto usando pesos basados en el rendimiento del modelo (ver también Breiner et al., 2015). Esta última estrategia metodológica busca solventar el problema importante con el modelado de especies raras que es, que frecuentemente hay un gran número de variables ambientales explicativas en relación con pocas ocurrencias, lo que puede llevar a un sobreajuste del modelo, es decir, el ajuste entre valores predichos y datos reales en modelos con un gran número de predictores es engañosamente bueno (Breiner et al., 2015). Este problema se puede aliviar reduciendo el número de predictores en un modelo. Una regla general es que el tamaño de la muestra (el número de presencias) debe ser 10 veces mayor que el número de predictores utilizados para modelar (Harrell, Lee, & Mark, 1996). Sin embargo,

para las especies raras, el modelado es a menudo difícil porque mantener una proporción de 1:10 implica incluir solo dos predictores para 20 ocurrencias, que generalmente es información insuficiente del nicho de una especie para modelar su distribución con precisión (Breiner et al., 2015).

Finalmente, es importante destacar que son pocos los trabajos de modelado de nicho ecológico con especies raras de la flora ibérica (Buire, 2016; Jiménez-Alfaro, Draper, & Nogués-Bravo, 2012; Lomba et al., 2010; Rus et al., 2017; Sousa-Silva, Alves, Honrado, & Lomba, 2014). La Península Ibérica es una de las regiones biológicas más diversas del mundo (Lozano et al., 1996; Reyjol et al., 2007), pero la tasa de extinción en este territorio también se ha intensificado debido a la crisis ambiental global (Fontaine et al., 2007; E. O. Wilson, 1988). Por lo tanto, los trabajos en el ámbito de la bioinformática similares al trabajo presentado aquí son fundamentales, ya sea para la comprensión de los patrones de distribución de las especies como también servir de base en la planificación de medidas de conservación *in situ*, sobretodo de las especies amenazadas, lo que nos permitirá minimizar las potenciales pérdidas. En ese sentido, como objetivo de ese estudio está el generar modelos de nicho ecológico a tiempo presente y en diferentes escalas de resolución de dos endemismos de la flora vascular ibérica en peligro de extinción: *Astragalus devevae* Talavera, A. González & G. López y *Tephrosieris coincoyi* (Rouy) Holub. A partir de los resultados obtenidos se realizaron búsquedas de nuevas poblaciones y se identificaron nuevas áreas potencialmente idóneas para la ocurrencia de las dos especies, lo que podrá servir para el planteamiento y ejecución de estrategias eficaces de conservación.

4.2 MATERIAL Y MÉTODOS

4.2.1 Especies de estudio y datos de presencia

La descripción detallada de ambas especies se puede consultar en el capítulo 2, pero a modo de resumen podemos decir que *A. devevae* es una planta herbácea perenne, con sus poblaciones ubicadas en el piso de vegetación supramediterráneo, en un bioclima mediterráneo pluviestacional-oceánico, con ombroclima seco. Se conocen solo tres poblaciones situadas todas ellas en la provincia de Ávila, en los municipios de Padiernos, Collado del Mirón y Ávila (Martínez et al., 2004; Teresa et al., 2009a) (Figura 1C). Se le ha asignado la categoría de mayor amenaza: “En Peligro Crítico”, en las Listas Rojas de la Flora Vascular Española de 2008 y 2010 (Moreno, 2008, 2011). Además, está en la categoría de

“En Peligro” en el “Decreto 63/2007” del 14 de junio, que condujo a la creación del Catálogo de Flora Protegida de Castilla y León y la figura de protección llamada “Microrreservas de flora” (BOCYL, 2007).

Por su parte, *Tephroseris coinnyi* es una planta tomentosa con tallo de hasta 60 cm. Sus poblaciones –poco más de diez núcleos– están ubicadas fundamentalmente en la Sierra de Villafranca y Sierra de Gredos, en medios permanentemente húmedos sobre suelos silíceos (García et al., 2008, 2009) (Figura 1B). En Listas Rojas de la Flora Vasculare Española de 2008 y 2010 (Moreno, 2008, 2011) está catalogada como “Vulnerable”. Además, esta especie también se incluyó en la categoría de “En Peligro” en el mencionado Decreto 63/2007 (BOCYL, 2007).

Los datos de presencia de *A. devesae*, que como se ha dicho, solo cuenta con tres poblaciones conocidas, fueron tomados con GPS en las salidas de campo llevadas a cabo en los años 2015 y 2016. Los de *T. coinnyi* (latitud y longitud) a nivel peninsular se obtuvieron de Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2016; www.gbif.org) y, a nivel regional, del Catálogo de Flora Protegida de Castilla y León (BOCYL, 2007). Todos estos datos fueron preparados cuidadosamente para detectar y corregir duplicaciones, falta de precisión o localidades geográficamente discordantes en relación a lo que aparece en la ficha de la especie del Catálogo de Flora Amenazada (García et al., 2008, 2009). Por lo general, los registros de presencia que están demasiado cerca tienen las mismas combinaciones de valores para las variables ambientales, lo que viola el supuesto de independencia entre las observaciones. Para reducir el agrupamiento (sesgo espacial), los registros de ocurrencia que estaban dentro de un radio de cinco cuadrículas con respecto a otro (alrededor de 5 km) se eliminaron aleatoriamente (Guisan & Zimmermann, 2000). Después de este proceso de filtración, se obtuvieron un total de 19 registros para esta especie. Dado que los registros de ausencia no estaban disponibles, se utilizó el método de modelado ecológico desarrollado para datos solo de presencia (Phillips, Anderson, & Schapire, 2006b; Phillips, Dudík, & Schapire, 2004; Phillips & Dudík, 2008) para calcular el nicho ecológico realizado (*sensu* Sillero, 2011).

4.2.2 Áreas de estudio

Para cada especie, fueron generados modelos con distintas variables y escalas de resolución teniendo en cuenta sus distribuciones y los límites geográficos y/o políticos. En

ambos casos se generaron modelos en el ámbito territorial de la Península Ibérica (~ 582 860 km²).

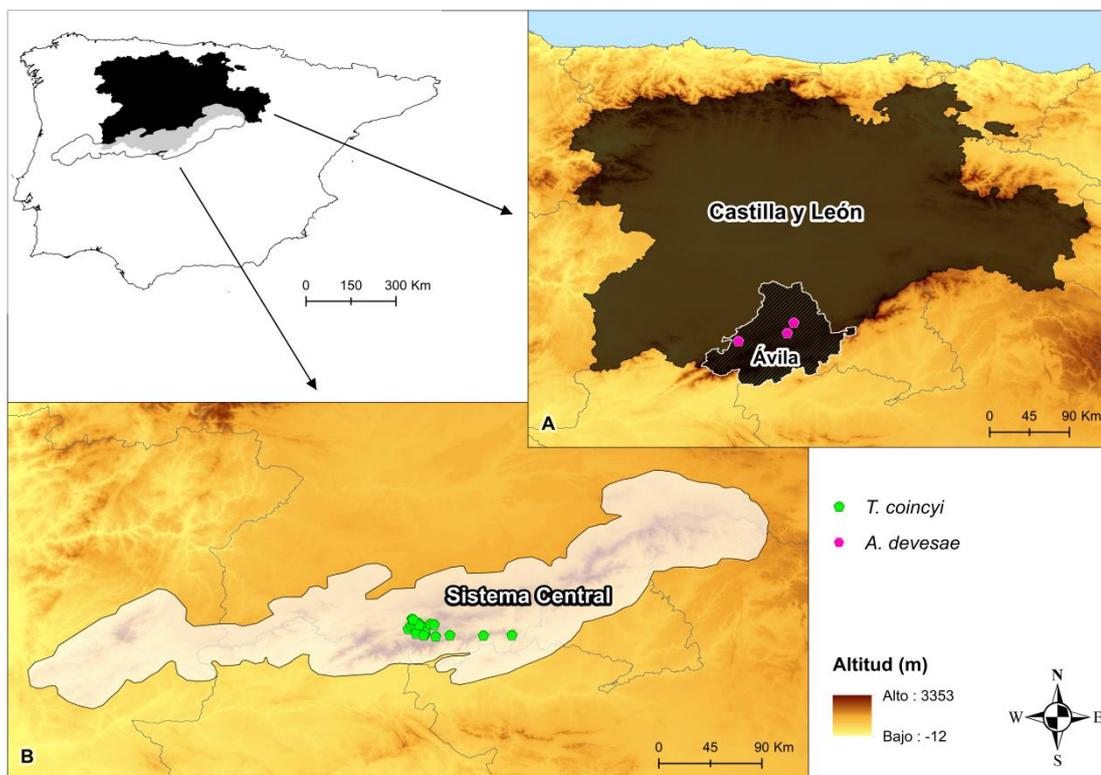


Figura 1. Los cuatro ámbitos geográficos considerados para ejecución de los modelos: Península Ibérica; Castilla y León y la provincia de Ávila (A); Sistema Central (B).

Para *A. devesae* se ejecutaron también modelos restringidos a la comunidad autónoma de Castilla y León (94 224 km²), lo que tiene sentido por ser una especie endémica adscrita a este territorio. A pesar de tratarse de un límite político, la zona presenta algunas características geográficas y bioclimáticas particulares y se encuentra casi completamente delimitada por los arcos montañosos de su periferia, lo cual podría haber funcionado como una barrera ecológica para muchas especies. También para *A. devesae* se han elaborado modelos específicos para la provincia de Ávila (8050 km²) (Figura 1A) puesto que todas las poblaciones conocidas están en este territorio y además, como es lógico, los modelos generados a nivel peninsular y regional habían indicado que era la zona con más áreas idóneas para esa especie (Teresa et al., 2009a).

Para *T. coincy*, elegimos el Sistema Central para la ejecución de los modelos como el área más restringida, ya que sus poblaciones están fundamentalmente en esa zona (García et al., 2009) (Figura 1B). La delimitación aproximada del Sistema Central se basó en el documento oficial de Ministerio de Educación, Cultura y Deporte de España, “Geografía de España” (disponible en www.mecd.gob.es/).

4.2.3 Variables Ambientales

Modelos a resolución espacial de 1 km – Nuestro conjunto inicial de variables estuvo compuesto por 25 variables como predictores, relacionadas con las condiciones climáticas y topográficas, la cobertura, tipo y uso del suelo y la influencia humana (Tabla 1). Todo el trabajo SIG se realizó con ArcGIS® Desktop 10 versión 10.0 (ESRI, 2015). Las variables bioclimáticas están disponibles en la base de datos climáticos de WorldClim a una resolución espacial de 30 segundos de arco (aproximadamente 1 km en el ecuador) (Hijmans, Cameron, Parra, Jones, & Jarvis, 2005). Las variables topográficas se derivaron del Modelo Digital de Elevaciones (DEM) disponible de la base de datos CGIAR-CSI a una resolución espacial de 3 segundos (aproximadamente 90 m en el ecuador) (Jarvis, Reuter, Nelson, & Guevara, 2008, www.cgiar-csi.org). La pendiente se calculó en grados utilizando la función “pendiente” del programa ArcGIS (ESRI, 2015), para cada celda de cuadrícula. La diversidad topográfica se calculó utilizando la función “Estadísticas focales” (ESRI, 2015), que calcula para cada celda de cuadrícula DEM la diversidad de valores de elevación considerando todas las celdas dentro de un radio de 3 km. El Índice de Influencia Humana se obtuvo de la base de datos SEDAC (Centro de Datos y Aplicaciones Socioeconómicas) a una resolución espacial de 1 km. Esta variable contiene información sobre la presión que sobre el territorio ejerce la población humana (densidad de población), en forma de infraestructuras presentes (áreas edificadas, luces nocturnas) y vías de comunicación (costas, carreteras, ferrocarriles, ríos navegables) (WCS & CIESIN, 2005). Los datos de cobertura del suelo están disponibles en la base de datos del programa *Corine Land Cover* (CLC) 2006 a una resolución espacial de 1 km (Agencia Europea del Medio Ambiente, 2006; www.eea.europa.eu); contiene información sobre la ocupación del suelo en toda Europa con una clasificación jerárquica dividida en tres niveles con 44 clases de uso de la tierra y cobertura del suelo. El Tipo y Textura del suelo (categoría SNDPPT – textura del suelo por la fracción de arena en porcentaje [límite superior del 90%] – para 45 cm de profundidad) están disponibles en la base de datos SOILGRIDS (*Global gridded soil information* www.soilgrids.org). SoilGrids es una colección de mapas de propiedades y clases del mundo actualizable a una resolución relativamente gruesa de 1 km (Hengl et al., 2014). Para minimizar la multicolinealidad entre las variables ambientales, se utilizó una agrupación jerárquica con el método de vinculación completa. Del árbol de correlación resultante, las variables se seleccionaron en función de un umbral o umbral mínimo de 0,5. En cada uno de los grupos de variables con nodo <0,5, solo se seleccionó una variable en función de su correlación y el conocimiento que tenemos sobre la ecología de cada

especie. Además del procedimiento anterior, calculamos el factor de inflación de la varianza (VIF). El VIF para el predictor i es $1 / (1 - R_i^2)$, donde R_i^2 es el R^2 de una regresión del predictor i frente a los predictores restantes. Los valores de $VIF > 5$ se consideran evidencia de colinealidad: la información transportada por un predictor que tiene dicho VIF está contenida en un subconjunto de los predictores restantes (Heiberger, 2017). Finalmente, se seleccionaron seis variables para cada especie: altitud (ALT), Isotermalidad (BIO3), rango de temperatura anual (BIO7), estacionalidad de la precipitación (BIO15), cobertura terrestre (LANDCOVER) y tipo del suelo (TIPO_SUELO) para *Tephroses coincy*; y, altitud (ALT), temperatura mínima del mes más frío (BIO3), temperatura media del cuatrimestre más caliente (BIO10), precipitación del cuatrimestre más húmedo (BIO16), cobertura terrestre (LANDCOVER) y tipo del suelo (TIPO_SUELO) para *Astragalus devesae* (Tabla 1).

Tabla 1. Variables en su conjunto inicial y las seleccionadas para cada especie para los modelos a escala de resolución de 1 km.

Código	Variables	<i>A. devesae</i>	<i>T. coincy</i>
BIO 1	Temperatura media anual		
BIO 2	Rango diario promedio (promedio de la temperatura máxima mensual y temperatura mínima)		
BIO 3	Isotermalidad((Bio2/Bio7) × 100)	x	x
BIO 4	Estacionalidad de la temperatura (desviación estándar × 100)		
BIO 5	Temperatura máxima del mes más cálido		
BIO 6	Temperatura mínima del mes más frío		
BIO 7	Rango de temperatura anual (Bio5-Bio6)		x
BIO 8	Temperatura media del cuatrimestre más húmedo		
BIO 9	Temperatura media del cuatrimestre más seco		
BIO 10	Temperatura media del cuatrimestre más cálido	x	
BIO 11	Temperatura media del cuatrimestre más frío		
BIO 12	Precipitación anual		
BIO 13	Precipitación del periodo más húmedo		
BIO 14	Precipitación del período más seco		
BIO 15	Estacionalidad de la Precipitación (CV)		x
BIO 16	Precipitación del cuatrimestre más húmedo	x	
BIO 17	Precipitación del cuatrimestre más seco		
BIO 18	Precipitación del cuatrimestre más cálido		
BIO 19	Precipitación del cuatrimestre más frío		
ALT	Altitud	x	x
LANDCOVER	Uso de la tierra y cobertura del suelo	x	x
HFP	Índice de Influencia Humana		
DIVER_TOPO	Diversidad Topográfica		
PEND	Pendiente		
TIPO_SUELO	Tipo del suelo	x	x
TEXTU_SUELO	Textura del suelo		

Modelos a resolución espacial de 200 m – A partir de la constatación de la importante contribución de la variable *landcover* en los modelos generados en escala de 1 km (ver resultados), generamos modelos a escala más fina utilizando variables derivadas de los datos de la cobertura del suelo, disponibles en la base de datos del programa *Corine Land Cover* (CLC). Para ello, aquellas categorías de las 44 existentes en esta base de datos, en las que había puntos de presencia de cada especie, fueron seleccionadas y preparadas en ArcGIS® Desktop 10 versión 10.0 (ESRI, 2015), cada una presentando valores del porcentaje de ocupación en una malla de cuadrículas de 200 m². Para minimizar la multicolinealidad entre las variables ambientales, se utilizó una agrupación jerárquica con el método de vinculación completa. Del árbol de correlación resultante, las variables se seleccionaron en función de un umbral o umbral mínimo de 0,5. En cada uno de los grupos de variables con nodo < 0,5, solo se seleccionó una variable. Tal procedimiento fue llevado a cabo para *T. coincy*, que presentaba inicialmente 12 categorías, pero no para *A. devesae*, ya que para esa especie apenas tres categorías fueron preparadas inicialmente. Las categorías en su conjunto inicial, y elegidas para cada especie se pueden apreciar en la tabla 2.

Tabla 2. Variables en su conjunto inicial y las seleccionadas para cada especie para los modelos a escala de resolución de 200 m (capas derivadas de *landcover*).

Variables	<i>A. devesae</i>	<i>T. coincy</i>
vegetación esclerófila		
Pasto		x
transición bosque-arbusto		x
praderas naturales		x
bosque de coníferas		x
bosque de hojas anchas	x	x
ocupado por la agricultura		x
bosque mixto	x	x
cultivos permanentes		x
plantaciones de árboles frutales		x
playas, dunas, arenas		x
patrones de cultivo complejos	x	

4.2.4 Modelando especies raras – Ensamblado de pequeños modelos

Los modelos de nicho ecológico (MNEs) (Guisan & Thuiller, 2005), se basan en enfoques de reconocimiento de patrones, es decir, evalúan los determinantes del nicho ecológico de las especies y distribuciones geográficas relacionando las ocurrencias de una especie con valores de variables predictores en una serie de sitios de observación (Elith et al., 2006; Guisan & Thuiller, 2005; Guisan & Zimmermann, 2000). En nuestro estudio

adoptamos el enfoque jerárquico de Lomba et al. (2010), desarrollado para modelar la distribución de especies raras y que se basa en la suposición de que hay dos objetivos principales para el modelado de especies con pocos puntos de ocurrencia (Guisan, Edwards, & Hastie, 2002): (i) predictivo, es decir, generar mapas de distribución estadísticamente precisos que representan la distribución potencial de la especie y (ii) explicativos; o sea, obtener información sobre predictores ambientales que impulsan las distribuciones de especies, específicamente para especies raras que actúan a escalas relevantes para la planificación y gestión de la conservación (Guisan & Thuiller, 2005; Wu & Smeins, 2000). Este nuevo marco está basado en generar modelos pequeños y simples con todas las posibles combinaciones bivariados de predictores (es decir, modelos que contienen solo dos predictores de un conjunto mayor de predictores), y luego combinarlos en un conjunto adoptando determinados criterios que se explicarán a continuación. Además, este novedoso enfoque estadístico consiste en un marco jerárquico de algunos pasos que representan las distintas escalas de influencia de los predictores: (1) utilizando los registros disponibles de ocurrencia de especies para ajustarse a un modelo climático a más grande escala (nuestro caso, la Península Ibérica para ambas especies); (2) basado en ese primer modelado seleccionar un área más restringida, (en nuestro caso, Castilla y León para *A. devevae* y el Sistema Central para *T. coincy*) utilizando el mismo conjunto de predictores; (3) adaptar modelos a escala local con un nuevo conjunto de tipos de predictores ambientales (en nuestro estudio variables derivadas de *landcover* utilizando los límites geográficos de la provincia de Ávila para *A. devevae* y el Sistema Central para *T. coincy*); y (4) combinar los resultados para abordar la planificación y gestión de la conservación (Lomba et al., 2010).

4.2.5 Ajuste y evaluación de los modelos

Todos los modelos se calcularon utilizando la técnica de aprendizaje automático llamado Enfoque de Máxima Entropía (Phillips, Anderson, Dudík, Schapire, & Blair, 2017; Phillips et al., 2006b, 2004; Phillips & Dudík, 2008). Los modelos *Maximum Entropy* se realizaron con el software Maxent 3.4.1 (https://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/maxent/). Maxent es un modelo de distribución de especies ampliamente utilizado y funciona relativamente bien con tamaños de muestra pequeños en comparación con otros métodos de modelado (Elith et al., 2006; Kumar & Stohlgren, 2009; Papeş & Gaubert, 2007; Pearson, Raxworthy, Nakamura, & Townsend Peterson, 2007; Weber, 2011; Wisz et al., 2008). Para todos los modelos generados, los

puntos de *background* se establecieron en 20 000, las iteraciones máximas se establecieron en 5000 y todas las demás configuraciones fueron valores predeterminados. Para *T. coincy*, utilizamos en todas las combinaciones de dos variables, el 20% de las presencias para testar y lo restante para calibrar el modelo. Así, obtuvimos un total de 15 modelos para cada conjunto. Excepcionalmente, el modelo a nivel local fue llevado a cabo con todas las variables seleccionadas (Tabla 2) utilizando el procedimiento de *bootstrap* con 30 réplicas y los mismos restantes parámetros ya mencionados. Para *A. devesae*, además de todas las combinaciones de dos variables, se adoptó la metodología de Pearson et al. (2007), que para especies raras utiliza todas las combinaciones de un punto de presencia para testar y las demás para calibrar el modelo. En ese caso, para *A. devesae* tuvimos un total de 45 modelos en los dos primeros niveles jerárquicos y nueve en el paso 3 (ver esquema de síntesis en la Figura 2).

El área bajo la curva (AUC) se utilizó como un medio para evaluar el rendimiento de los modelos (Chefaoui & Lobo, 2008; Elith et al., 2006), y se obtuvo de la salida *Maxent* para cada modelo. Reunimos, para cada conjunto de modelos de cada especie, los modelos individuales en un solo modelo al ponderar las proyecciones basadas en las puntuaciones individuales de AUC (Elith & Leathwick, 2007; Marmion, Parviainen, Luoto, Heikkinen, & Thuiller, 2009). Se estableció un AUC de 0,7 como valor de corte (Lomba et al., 2010), y solo se consideraron las proyecciones de aquellos modelos con AUC por encima de ese valor. La selección de este enfoque de ensamblado con un valor de corte de AUC sirve para maximizar el carácter informativo de los resultados (Lomba et al., 2010; Thuiller, Lafourcade, Engler, & Araújo, 2009) (la información está sintetizada en la Figura 2).

La estadística de AUC también se usó para analizar la precisión de los modelos ensamblado a través del promedio. Con el fin de evaluar la relevancia de cada predictor a través de todos los modelos considerados, utilizamos valores de contribución de la variable en porcentaje (salida *maxent*) calculando su valor medio. Finalmente, las salidas brutas de *Maxent* (de 0 a 1) se volvieron a escalar de 0 a 100 en el software R (R Development Core Team, 2016). Los mapas de idoneidad resultantes se agregaron en cuatro clases de hábitats adecuados potenciales siguiendo a Cuyckens et al. (2016), “muy alto” (> 75), “alto” (50-74,9), “intermedio” (25-49,9) y “bajo” (<24,9).

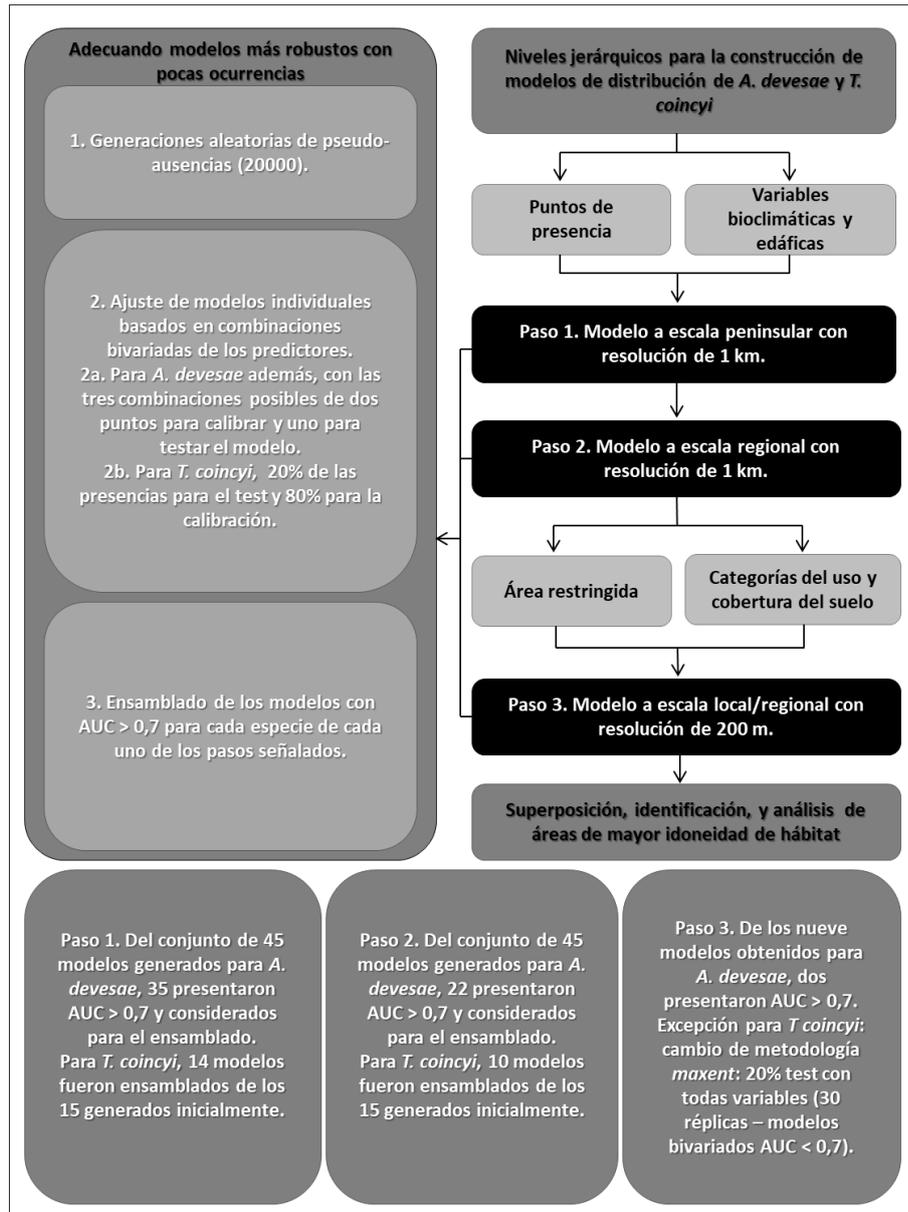


Figura 2. Síntesis de los niveles jerárquicos e parámetros utilizados para cada conjunto de modelos generados en diferentes ámbitos geográficos para *A. devesae* y *T. coincy* (adaptación de Lomba et al., 2010).

4.2.6 Búsquedas de nuevas poblaciones de *A. devesae* y evaluación de introducción poblacional de *T. coincy* en Hoyocasero

A partir de los resultados generados y la superposición de los mapas obtenidos, se plantearon salidas de campo para la búsqueda de nuevas poblaciones para *A. devesae*. Los criterios para la consideración de las cuadrículas visitadas se basó primeramente en una combinación de: i) presentar valores de idoneidad en las clases “alta” o “muy alta” en los modelos realizados a una resolución de 1 km (Península Ibérica y Castilla y León), y ii) estar totalmente o parcialmente ocupada por las categorías “alta” o “muy alta” del modelo generado

a la resolución de 200 m (uso del suelo). En según lugar, un análisis visual a partir de imágenes satelitales ArcGIS® Desktop 10 versión 10.0 (ESRI, 2015) de las cuadrículas más idóneas, con base en los criterios ya mencionados, fueron evaluadas de acuerdo con la proximidad de las poblaciones de *A. devesae* conocidas y su facilidad de acceso. Finalmente, se eligieron aleatoriamente 10 cuadrículas, todas ubicadas en la provincia de Ávila, que fueron visitadas en salidas de campo llevadas a cabo en junio de 2016. Además, para complementar ese estudio, tres cuadrículas que presentaron valores de idoneidad dentro de la categoría “media” del modelo Peninsular en el norte de la provincia de Cáceres (Comunidad Autónoma de Extremadura) fueron también visitadas en julio de 2016. La elección de la inclusión de esas cuadrículas se basó en el conocimiento de especialistas que consideran, debido a las características del suelo, la zona con una alta potencialidad para la presencia de *A. devesae*.

Para *T. coincyi*, además de mapear nuevas posibles áreas idóneas para la presencia de la especie, evaluamos la viabilidad de los modelos a partir del análisis de idoneidad del Pinar de Hoyocasero, localidad donde se llevó a cabo una reintroducción poblacional en noviembre de 2014. La especie fue descrita en 1890 por Rouy en esta localidad, pero no se ha vuelto a encontrar allí y por lo tanto se consideraba extinta esta población (López & Medina, 1988). La reintroducción fue realizada gracias a la iniciativa de la Guardería Medio Ambiental de la Junta de Castilla y León (JCyL) de la provincia de Ávila, en colaboración con grupos de investigación incluido el nuestro (BG-USAL), que a través de pruebas previas realizadas entre 2009 y 2011, ya conocía el protocolo óptimo de germinación para esa especie (Figuras 3 y 4).



Figura 3. A) Recolección de semillas de *T. coincyi* en Piedrahita (Ávila) en julio de 2014. B) Plántulas de *T. coincyi* desarrolladas a partir de ensayos germinativos.

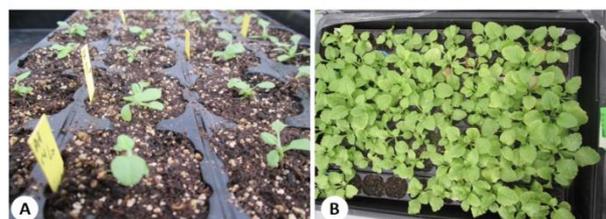


Figura 4. En el invernadero del CIALE, mudas de *T. coincyi* en agosto de 2014 (A), y en noviembre de 2014 (B); producidas para la introducción poblacional en Hoyocasero.

4.3 RESULTADOS

4.3.1 *Astragalus devesae*

El conjunto de modelos bivariados generados en el ámbito peninsular presentaron buen desempeño, ya que del total de 45 modelos apenas 10 presentaron valores del test AUC por debajo del umbral de 0,7, (Figura 2 – cuadros inferiores) y no considerados en el ensamblado para generar el modelo final (Figura 5a) [Los valores de AUC de todos los modelos bivariados considerados para el ensamblado se puede apreciar en el Anexo A1]. El promedio fue de $0,863 \pm 0,0890$ de manera que el desempeño final es considerado muy bueno (Tabla 3). El modelo final presentó un área bastante restricta de idoneidad de hábitat, con una pequeña zona en el centro peninsular ocupado por las categorías “media”, “alta” o “muy alta” de accesibilidad para *A. devesae*, en la franja donde se encuentran las tres poblaciones conocidas de la especie (Figura 5a). Las variables con más altos porcentajes de contribución fueron *landcover* (uso del suelo) con un promedio de 95%, y en según lugar tipo del suelo (promedio de 82,34%) (Figura 6 y Anexo A1).

Para el conjunto de modelos generados con las mismas variables (bioclimáticas y edáficas), restringiendo el ámbito geográfico a la comunidad de Castilla y León, el desempeño general fue más bajo, y 22 modelos presentaron AUC por encima del umbral de 0,7 y por ello considerados para el ensamblado (Figura 2 y Anexo A1). El promedio de los 22 modelos fue de $0,839 \pm 0,098$ de valor de AUC, presentando así desempeño final considerado también muy bueno (Tabla 3). El modelo final fue menos conservador cuando se compara al modelo peninsular, presentando más áreas ocupadas por la categoría “media” y “alta”, sobre todo en el sur de Castilla y León, concretamente en la provincia de Ávila, donde la especie es endémica (Figura 5b). Las variables con más altos porcentajes de contribución también fueron *landcover* y tipo del suelo, con valores promedios iguales de 85% (Figura 6 y Anexo A1).

Los modelos generados a partir de las variables derivadas de *landcover* a una resolución de 200 m presentaron aún más bajos valores de AUC, y apenas dos del conjunto de nueve modelos bivariados con AUC mayor de 0,7 (Figura 2, Anexo A1). El valor promedio de los dos modelos ensamblados fue de $0,982 \pm 0,0007$ (Tabla 3). En general, todo el área de la provincia de Ávila en el modelo final está ocupado por la categoría “media” de idoneidad de hábitat, con una franja de zonas más grandes ocupadas por la categoría “muy alta” donde están ubicadas las poblaciones de la especie (Figura 5c). La categoría con más alto porcentaje

de contribución fue *broad-leaved forest* (bosque de hojas anchas), con valor promedio de 78% (Figura 7; Anexo A1).

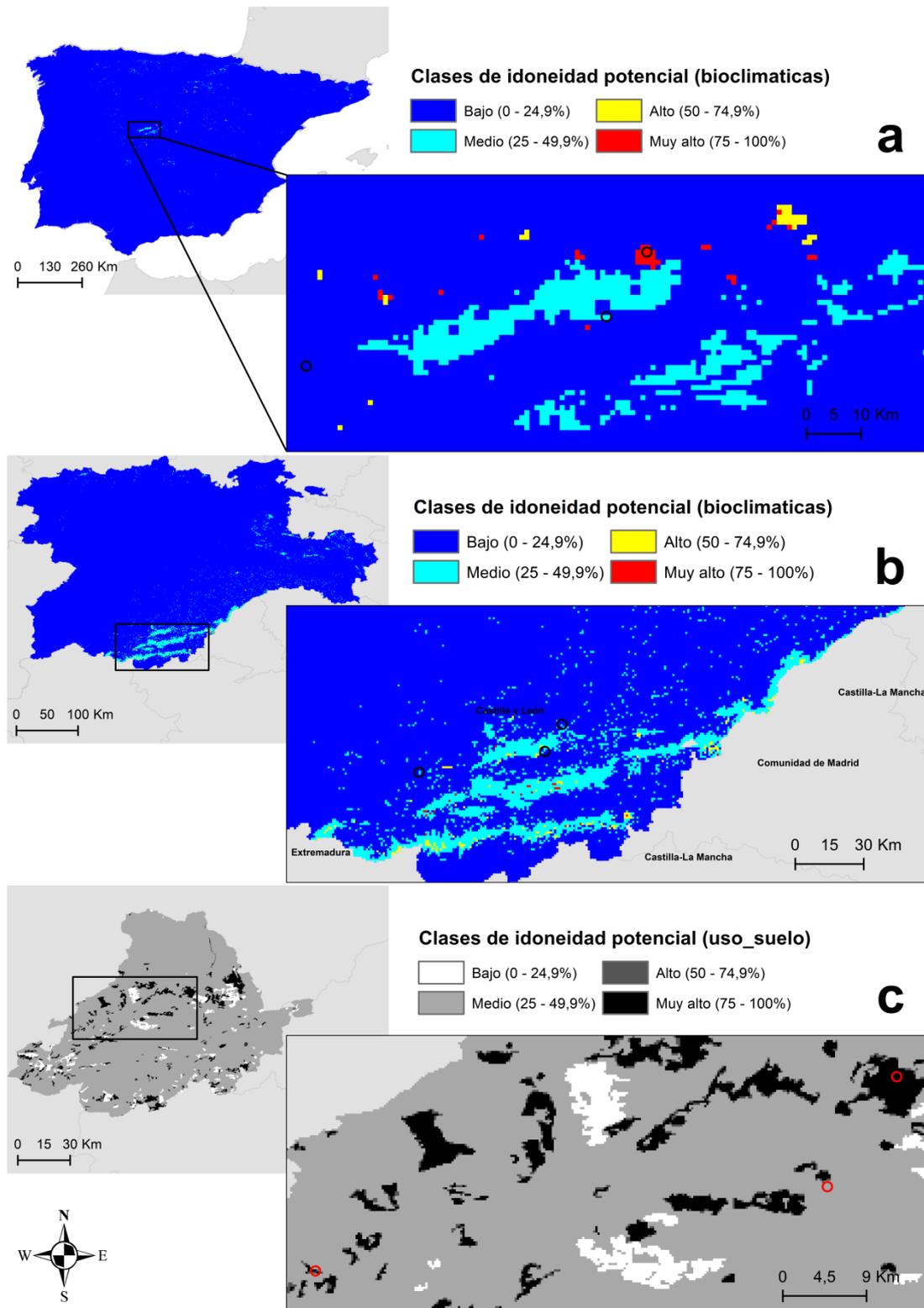


Figura 5. Resultados por clases de idoneidad de hábitat (accesibilidad potencial) en cada uno de los ámbitos geográficos (a = Península Ibérica; b = Castilla y León y c = Ávila) de los modelos finales, para *A. devesae*. Círculos negros (a y b) o rojos (c) representan las tres poblaciones conocidas de la especie.

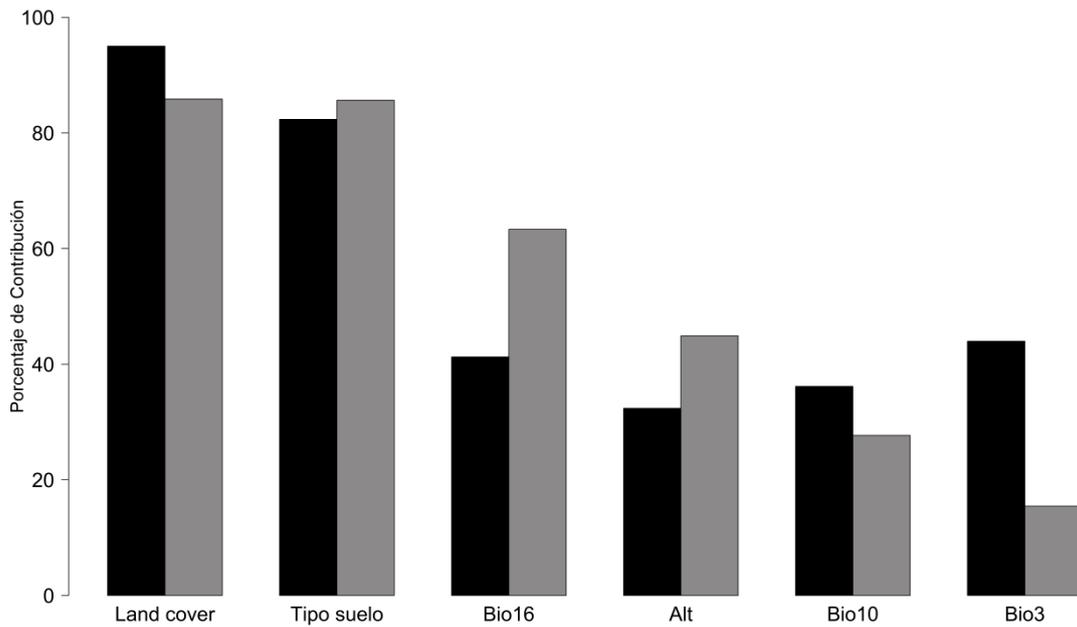


Figura 6. Promedio de la contribución de cada variable en los modelos a la resolución de 1 km, considerados para el ensamblado. Ámbitos geográficos de la Península Ibérica (negro) y Castilla y León (gris), para *A. devesae*.

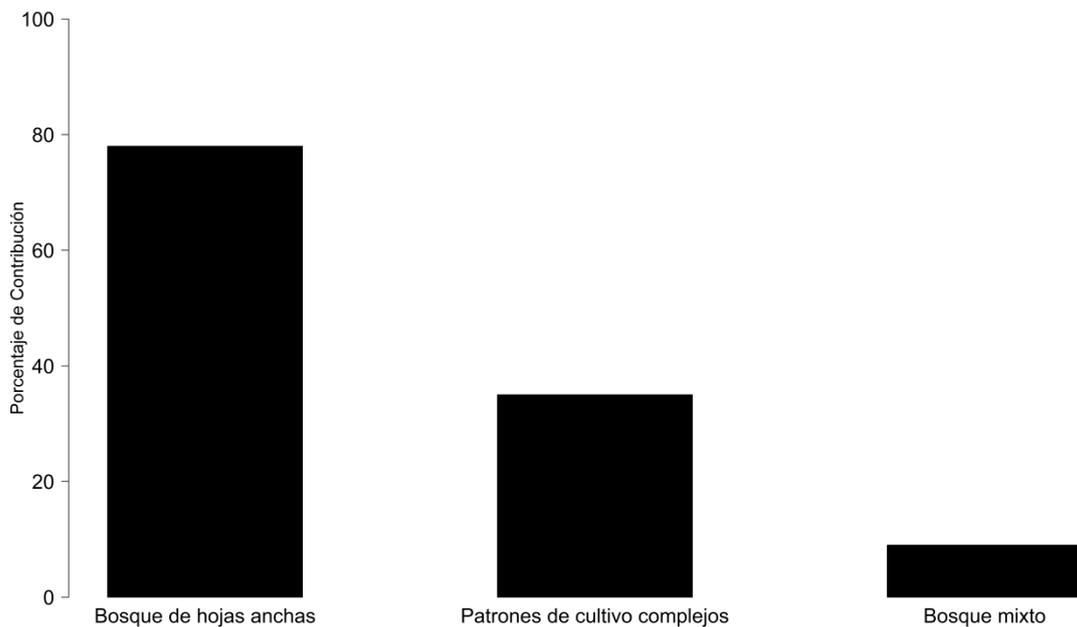


Figura 7. Promedio de la contribución de cada variable en los modelos a la resolución de 200 m, considerados para el ensamblado. Ámbito geográfico de la Provincia de Ávila, para *A. devesae*.

Tabla 3. Valores de promedio y desvío estándar del AUC test de los modelos bivariados considerados para el ensamblado en cada conjunto y ámbito geográfico.

Especie	AUC Test		
	Península Ibérica	Castilla y León	Ávila uso_suelo
<i>Astragalus devesae</i>	0,863 ± 0,0890	0,839 ± 0,098	0,982 ± 0,0007

La figura 8 muestra la superposición de los tres modelos finales generados y la ocupación por categoría de idoneidad en las proximidades de las tres poblaciones conocidas de la especie, además de los límites municipales de la provincia. Una franja que incluye las poblaciones de Ávila y Padiernos presenta valores de idoneidad dentro de la clase “media” coincidente en los dos modelos a resolución de 1 km (Península Ibérica y Castilla y León). Por otro lado, se puede observar que las cuadrículas que presentan los valores más altos de idoneidad están en las periferias de esa zona, y coinciden con las manchas de la categoría “muy alta” del modelo a resolución de 200 m (uso del suelo). Los municipios que presentaron grandes áreas ocupadas por las categorías altas según nuestros tres modelos superpuestos son: Cabezas del Villar, La Torre, Muñogalindo, Ávila, Bularros, Muñana, Villafior y Grandes y San Martín (Figura 8). Estos resultados pueden ser útiles en el planeamiento de proyectos de conservación de *A. devesae* sobre todo en la identificación de nuevas áreas para la introducción de la misma.

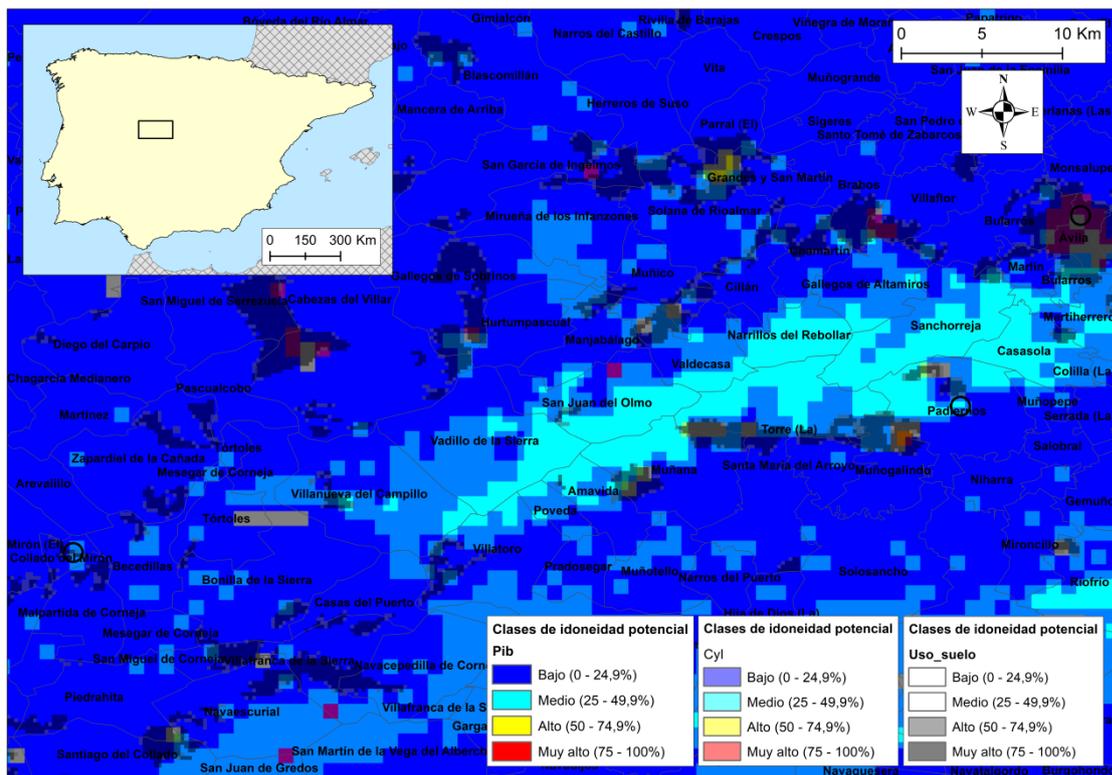


Figura 8. Superposición de los tres modelos finales generados para *A. devesae* en cada uno de los ámbitos geográficos (Península Ibérica, Castilla y León y Ávila). Resultados por clases de idoneidad de hábitat (accesibilidad potencial). Círculos negros representan las tres poblaciones conocidas de la especie.

Finalmente, para *A. devesae*, con base en los resultados presentados hasta aquí fueron seleccionadas diez cuadrículas en Ávila (Figura 9) y tres en Cáceres (Figura 10) para ser visitadas con el objetivo de buscar nuevas poblaciones. Desafortunadamente, ninguna nueva

población de *A. devesae* fue encontrada en ese estudio. Fueron seleccionadas tres cuadrículas ocupadas por la categoría “media” en Cáceres por la ausencia de las más altas categorías en esa Provincia. A pesar de ello, fue posible constatar que las mismas no presentaban similitud con las áreas de las poblaciones conocidas, a través de análisis meramente visuales teniendo en cuenta las especies presentes, tipo y textura del suelo (Figura 10). Por otro lado, algunas cuadrículas visitadas en la Provincia de Ávila sí que presentaron mayor similitud con las áreas donde la especie está presente. La figura 11 presenta la ubicación de las diez cuadrículas seleccionadas e imágenes de cuatro cuadrículas visitadas en los municipios de Muñogalindo, Mironcillo y Ávila. La figura 12 presenta imágenes de otras tres cuadrículas visitadas en los municipios de La Torre, Muñana y Solana de Rioalmar. Aquí, incluso fue posible observar la presencia de *Astragalus alopecuroides* L. y *A. incanus* L., dos especies de *Astragalus* que comparten nicho con *A. devesae* y también son encontradas en las tres poblaciones de esa especie.

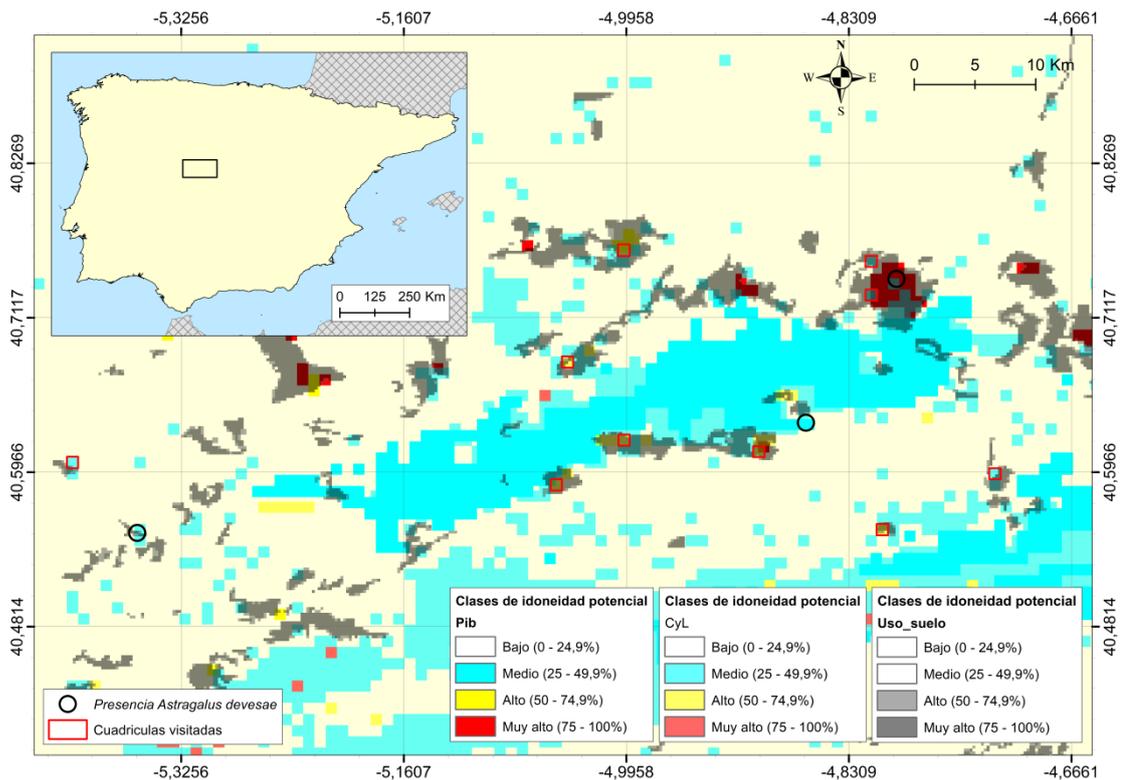


Figura 9. Ubicación de las diez cuadrículas en Ávila visitadas para la búsqueda de nuevas poblaciones. Las cuadrículas fueron seleccionadas de acuerdo con su ocupación en las categorías “alta” o “muy alta” de la combinación de los tres modelos resultantes.

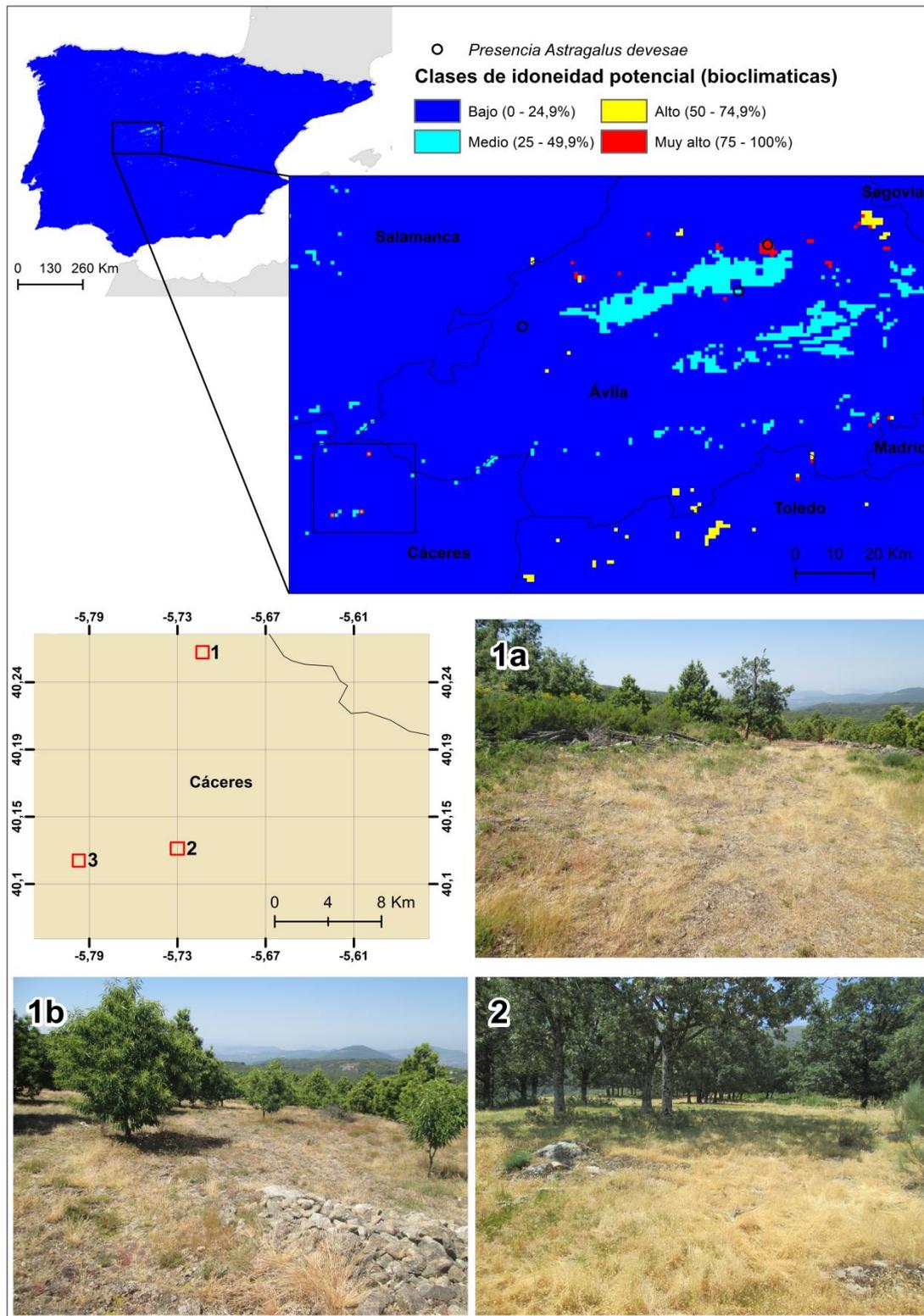


Figura 10. Localidades visitadas de tres cuadrículas en la provincia de Cáceres para la búsqueda de nuevas poblaciones (modelo peninsular). Dichos lugares presentan baja similitud con las áreas de las poblaciones conocidas de *A. deveesae*.

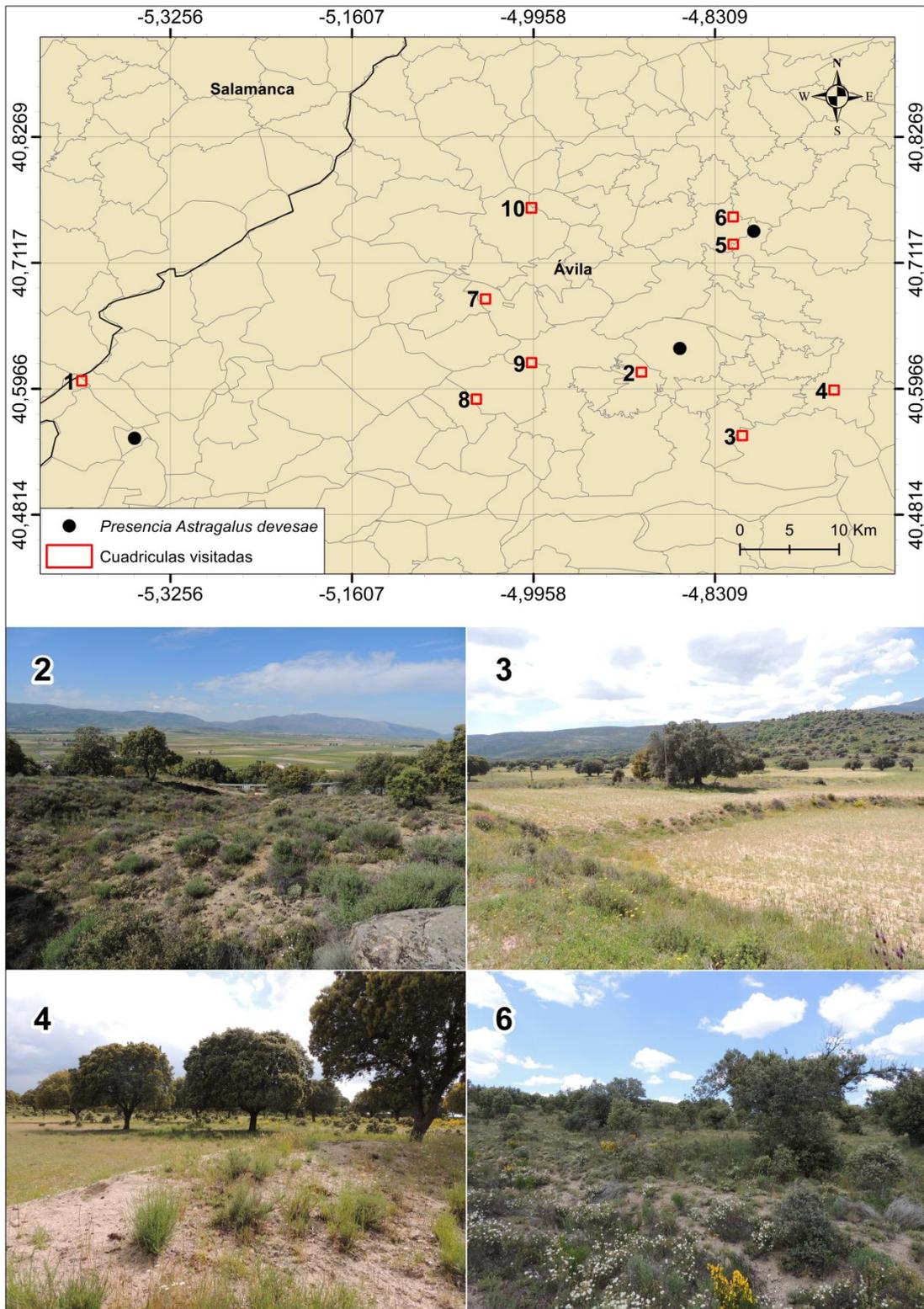


Figura 11. Localidades visitadas de cuatro cuadrículas en la provincia de Ávila para la búsqueda de nuevas poblaciones. Dichos lugares presentan alta similitud con las áreas de las poblaciones conocidas de *A. devesae*.

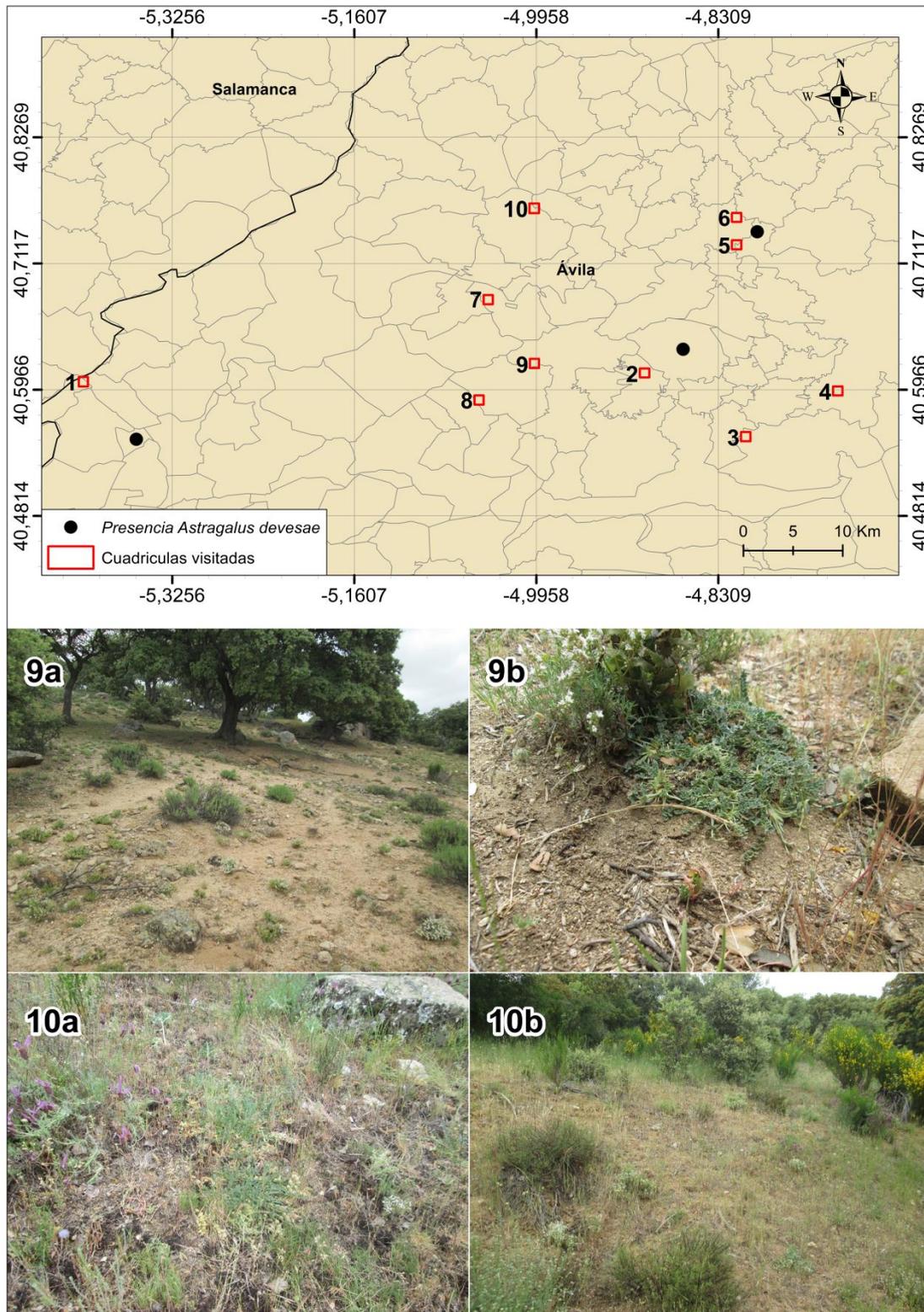


Figura 12. Localidades visitadas de tres cuadrículas en la provincia de Ávila para la búsqueda de nuevas poblaciones. Dichos lugares presentan alta similitud con las áreas de las poblaciones conocidas de *A. deveesae*, incluso fue observada la presencia de *A. alopecuroides* y *A. incanus*.

4.3.2 *Tephroseris coincy*

El conjunto de modelos bivariados generados en el ámbito peninsular presentaron buen desempeño, ya que, del total de 15 modelos, apenas uno presentó valores de AUC test por debajo del umbral de 0,7, (Figura 2 – cuadros inferiores) y desconsiderado en el ensamblado para generar el modelo final (Figura 13a). Los valores de AUC de todos los modelos bivariados considerados para el ensamblado se pueden apreciar en el Anexo B1. El promedio fue de $0,938 \pm 0,0837$ de manera que el desempeño final es considerado muy bueno (Tabla 4). El modelo final presentó un área bastante restricta de idoneidad de hábitat, con una pequeña zona en el centro peninsular ocupado por las categorías “media”, “alta” o “muy alta” de accesibilidad para *T. coincy* (Figura 13a). Las variables con más altos porcentajes de contribución fueron *landcover* (uso del suelo) con un promedio de 80,25%, y en según lugar altitud (promedio de 58,68%) (Figura 14 y Anexo B1).

Para el conjunto de modelos generados con las mismas variables (bioclimáticas y edáficas) restringiendo el ámbito geográfico al Sistema Central, el desempeño general también fue bueno, y 10 modelos presentaron AUC por encima del umbral de 0,7 y así considerados para el ensamblado (Figura 2 y Anexo B1). El promedio de los 10 modelos fue de $0,934 \pm 0,048$ de valor de AUC, presentando así un desempeño final considerado también muy bueno (Tabla 4). El modelo final presenta un resultado casi idéntico al modelo peninsular, con la concentración de zonas consideradas más idóneas en la Sierra de Gredos (centro peninsular). La pequeña diferencia está en la más baja ocupación de la categoría “muy alta” en la zona, siendo algo más conservador cuando es comparado al modelo peninsular (Figura 13b). Las variables con más altos porcentajes de contribución fueron *landcover* y tipo del suelo, con valores promedios de 82,5% y 62,3% respectivamente (Figura 14 y Anexo B1).

El modelo generado a partir de las variables derivadas de *landcover* a una resolución de 200 m presentó un valor de AUC de 0,888, con lo cual puede ser considerado un muy buen resultado (Tabla 4). En general, todo el área del Sistema Central fue ocupado por pequeñas manchas de las categorías “alta” o “muy alta” de idoneidad, con una concentración un poco más acentuada donde están ubicadas las poblaciones de la especie (Figura 13c). La categoría con más alto porcentaje de contribución fue *pasture* (áreas de pasto), con un valor promedio de 47,2%, estando muy por encima de la contribución de las demás variables (Figura 15 y Anexo B1).

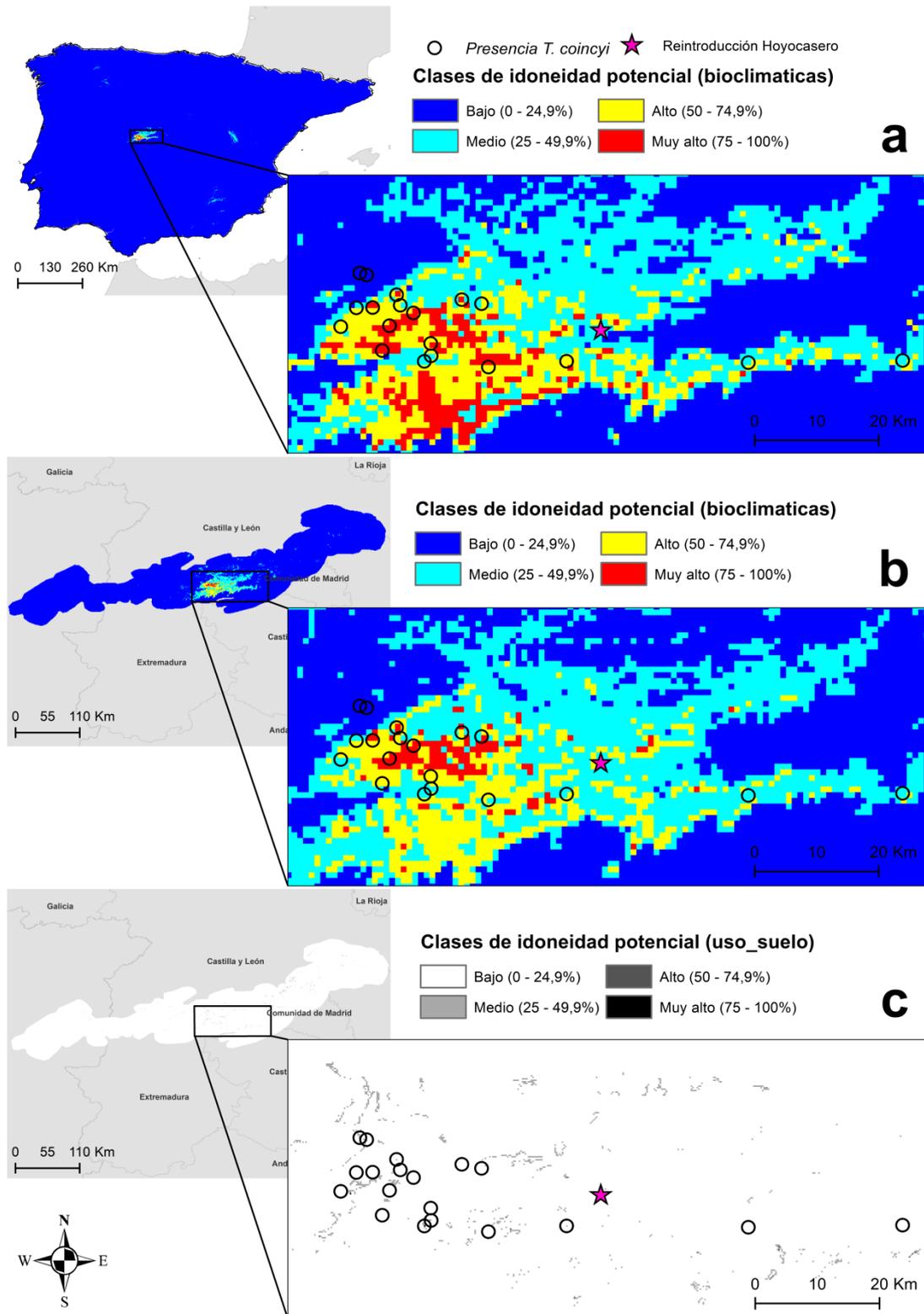


Figura 13. Resultados por clases de idoneidad de hábitat (accesibilidad potencial) en cada uno de los ámbitos geográficos (a = Península Ibérica; b y c = Sistema Central) de los modelos finales, para *T. coincyi*.

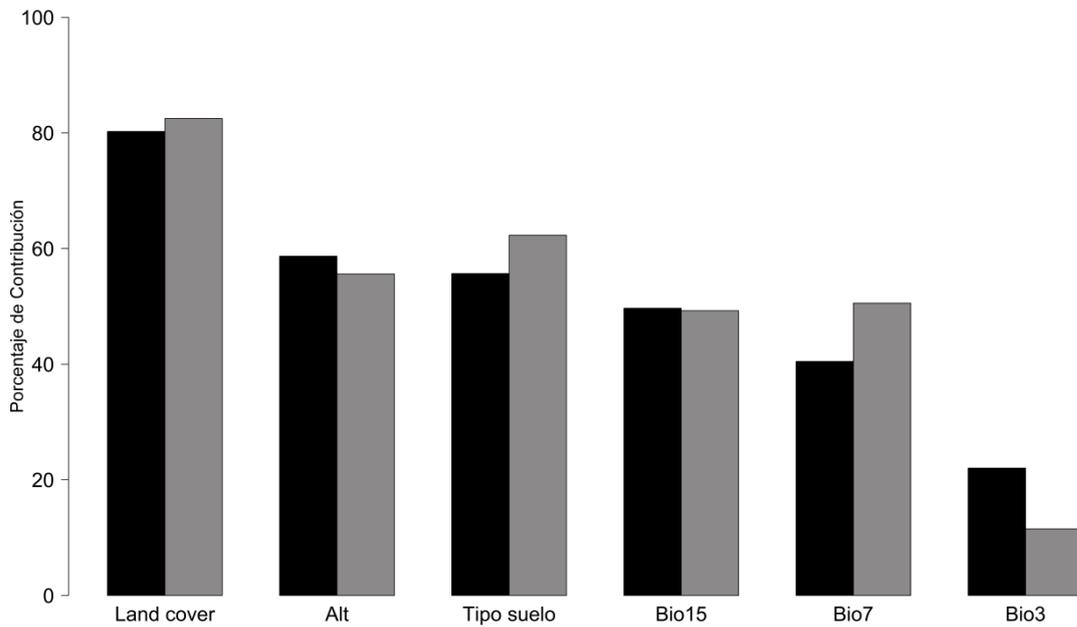


Figura 14. Promedio de la contribución de cada variable en los modelos a la resolución de 1 km, considerados para el ensamblado. Ámbitos geográficos de la Península Ibérica (negro) y Sistema Central (gris), para *T. coinnyi*.

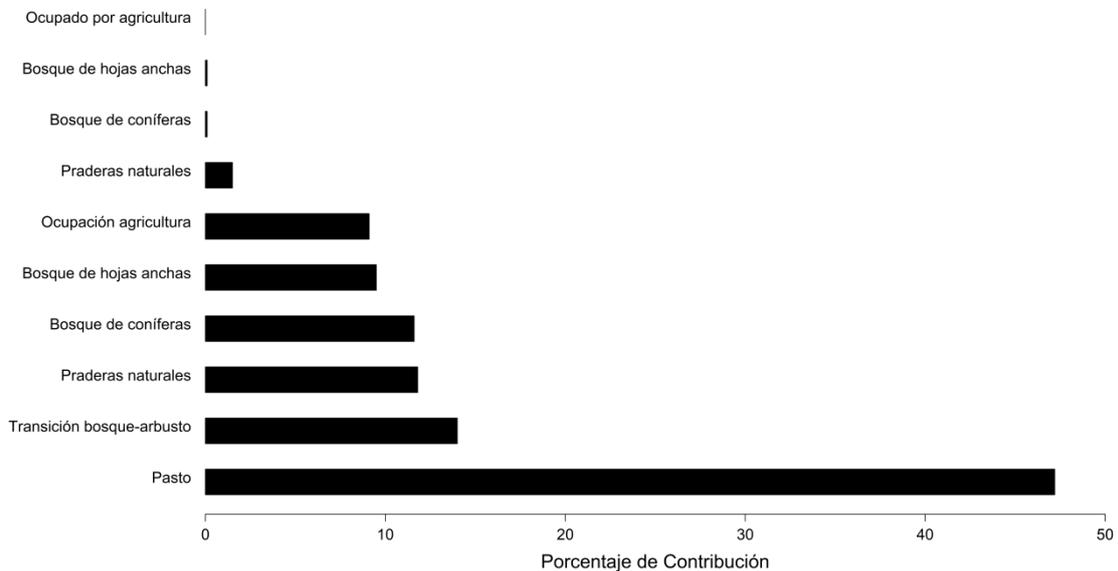


Figura 15. Promedio de la contribución de cada variable en los modelos a la resolución de 200 m, considerados para el ensamblado. Ámbito geográfico del Sistema Central, para *T. coinnyi*.

Tabla 4. Valores de promedio y desviación estándar del AUC test de los modelos bivariados considerados para el ensamblado en cada conjunto y ámbito geográfico.

Especie	AUC Test		
	Península Ibérica	Sistema Central	S. Central uso_suelo
<i>Tephrosaris coinnyi</i>	0,9383 ± 0,083	0,9343 ± 0,048	0,888 ± 0,037

La figura 16 muestra la superposición de los tres modelos finales generados y la ocupación por categoría de idoneidad en las proximidades de las poblaciones conocidas de la especie, además de los límites municipales de la zona. Los municipios que presentaron grandes áreas ocupadas por las categorías altas según nuestros tres modelos superpuestos son: Aldeanueva de Santa Cruz, Santiago del Collado, Navalperal de Tormes, San Juan de Gredos, Hoyos del Collado, Hoyos del Espino, Navarredonda de Gredos y San Martín de la Vega del Alberche (Figura 16). Estos resultados pueden ser útiles en el planeamiento de proyectos de conservación de *T. coincy*, sobre todo en la identificación de nuevas áreas para la introducción de la misma.

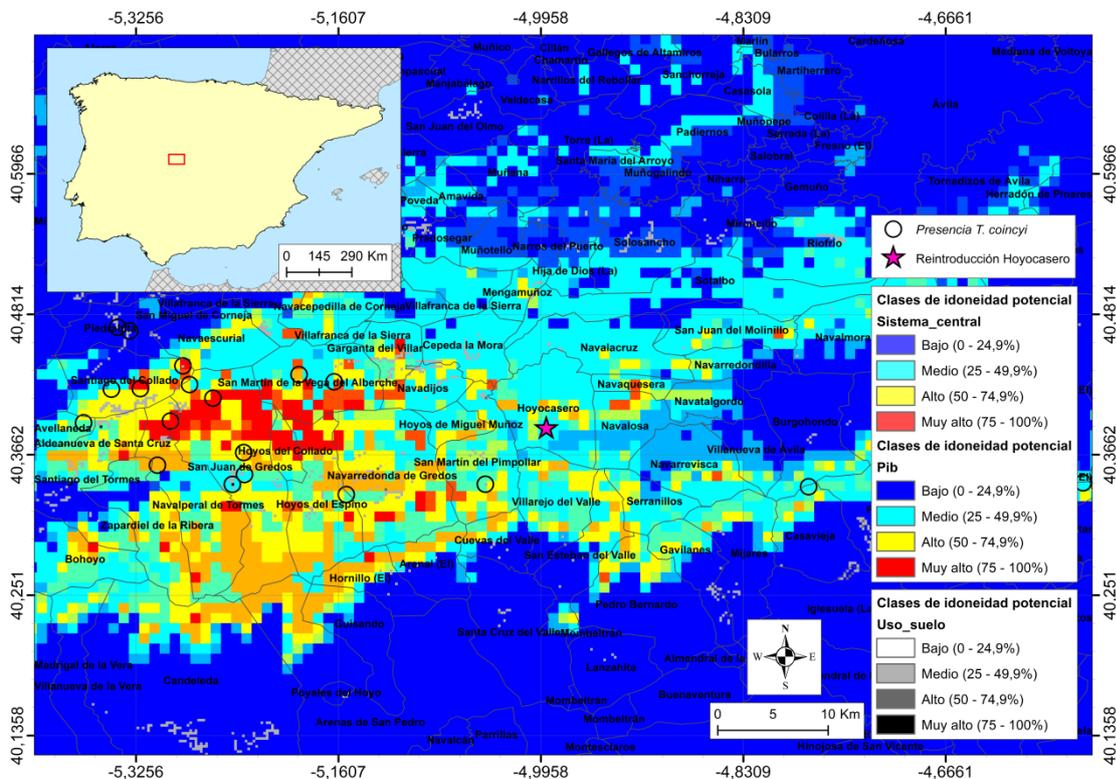


Figura 16. Superposición de los tres modelos finales generados para *T. coincy* en cada uno de los ámbitos geográficos (Península Ibérica y Sistema Central). Resultados por clases de idoneidad de hábitat (accesibilidad potencial).

Finalmente, para *T. coincy*, tuvimos el objetivo de, a través de la exitosa reintroducción experimental llevada a cabo en el Pinar de Hoyocasero en 2014, evaluar la fiabilidad de los resultados de los modelos. Las variables bioclimáticas y edáficas indicaron valores en la cuadrícula de la reintroducción de un 42,67% y un 46,22%, -modelo Península Ibérica y modelo Sistema Central respectivamente-, por ello incluidas en la categoría “media” (de 24,99 a 49,9% de idoneidad de hábitat), e indicando así buenos desempeños. Por otro lado, el modelo a resolución de 200 m usando variables derivadas de *landcover* no parece ser

un buen indicador, ya que ofreció valores bajos de idoneidad para la zona de la reintroducción (Figura 16).

4.4 DISCUSIÓN

El objetivo principal de este estudio ha sido generar mapas de distribución potencial de dos plantas endémicas y amenazadas de la Península Ibérica, con los que apoyar acciones prácticas de conservación *in situ* y búsquedas de nuevas poblaciones. No obstante, siempre es importante resaltar que estos enfoques tienen ciertas limitaciones, como el hecho de que los MNE son métodos correlativos y estáticos que asocian la ocurrencia de especies con un estado particular del medio ambiente, por lo que puede no capturar la naturaleza dinámica de las fluctuaciones de las poblaciones a través tiempo (Yañez-Arenas, Martínez-Meyer, Mandujano, & Rojas-Soto, 2012).

En el ámbito de la flora ibérica existen pocos trabajos enfocados a la conservación de especies raras, elaborados con la metodología de nicho ecológico. Sólo hemos localizado seis tras una larga búsqueda bibliográfica: (Benito et al., 2009; Jiménez-Alfaro et al., 2012; Lomba et al., 2010; Sousa-Silva et al., 2014; Buira, 2016; Rus et al., 2017). Lomba et al. (2010) han modelado a *Narcissus cyclamineus* DC., una especie rara y endémica de la Península Ibérica, aplicando la metodología de los modelos jerárquicos bivariados, que es en lo que nos basamos en nuestro estudio. Los autores resaltan la gran utilidad de este novedoso marco de trabajo, que incluye tanto el enfoque de los conjuntos jerárquicos, para la planificación y gestión de la conservación, como también su carácter más informativo sobre los determinantes ambientales en diferentes escalas.

Tal como se ha descrito previamente, en nuestro estudio hemos elaborado tres conjuntos de modelos para cada especie, uno a escala peninsular y otros dos a escala local, cada uno basado en la combinación de modelos bivariados. En casi todos los casos hemos obtenido proyecciones espaciales sobresalientes, expresadas por la evaluación AUC y por el hecho de que los modelos han podido predecir correctamente la gran mayoría de las ocurrencias registradas para las especies (ver Figuras 5 y 13). Esto es inusual cuando se modelan especies raras, según lo que indican Guisan et al. (2006) y Walther et al. (2007), e indica que hay una clara mejora técnica con la metodología aplicada en este estudio para el ajuste de los modelos (véase la Figura 2).

En relación a las contribuciones de las variables, queda claro que para *A. devevae* el suelo juega un papel clave siendo determinante para su distribución. De hecho, la presencia de

la especie parece estar asociada a la franja serpentínica que ocupa la zona del Sistema Central (dique Alentejo-Plasencia) y que suponemos que tiene influencia en la aparición de esta especie. Los dos modelos elaborados a resolución de 1 km asignaron a *landcover* y tipo del suelo los valores más altos para la construcción de los modelos (Figura 6). Estos resultados corroboran con los de Teresa et al. (2009a) que destacaron el suelo arenoso con la presencia de afloramientos calcáreos en un entorno predominantemente silíceo, las características indispensables para el desarrollo de esta planta. El modelo generado a escala más fina y utilizando las categorías de *landcover* destacó *broad-leaved forest* (bosques de hojas anchas) como la variable más explicativa. Tal resultado también vuelve a estar de acorde con lo indicado por Teresa et al. (2009) y coincide con lo observado en relación al hábitat de la nueva población en el municipio de Ávila. En Padiernos, *A. devesae* forma parte del matorral de sustitución de un encinar (Teresa et al., 2009a), y en Ávila la nueva población está ubicada en una dehesa de encinas con presencia de ganado

Para *T. coinnyi*, las variables altitud y tipo del suelo aparecen en el segundo y tercer lugar en los modelos en los que empleamos variables bioclimáticas a 1 km de resolución (Figura 14). Tal como se comentó previamente, esta especie tiene la mayor parte de sus poblaciones en una banda altitudinal entre los 1500 y los 1800 m (García et al., 2009), con lo que la importancia de esta variable dada por los modelos, apunta a su buen desempeño. De la misma manera, también el tipo del suelo tiene una importancia fundamental en la distribución de la especie, lo que ya había sido destacado por García et al. (2009). *Landcover* también aparece como la variable de mayor peso en la construcción de los dos modelos a distintas resoluciones, dejando claro el papel decisivo de las categorías y uso del suelo en la distribución de *T. coinnyi*. García et al. (2009) destacan que la transformación antrópica del territorio donde se desarrolla esta especie creó hábitats secundarios propicios para el establecimiento de *T. coinnyi*, fundamentalmente los prados de siega. Estos herbazales que el hombre ha ido modelando a lo largo de los últimos siglos se localizan en enclaves favorables, con humedad elevada y permanente a lo largo del año, como vaguadas, manantiales y pequeños regatos, lugares donde con toda probabilidad habría previamente y de manera natural, poblaciones de *T. coinnyi*. Por último, la variable con mayor contribución en el modelo a escala más fina fue *pasture* (zonas de pasto), destacando todavía más el papel decisivo de los ambientes modificados por la mano del hombre en la distribución y establecimiento de poblaciones de esta especie.

Los resultados de Lomba et al. (2010) para *N. cyclamineus* son coincidentes con los nuestros para las dos especies, en el sentido de que la distribución de este narciso también está más vinculada al uso de la tierra que las condiciones climáticas.

Teniendo en cuenta el buen desempeño de los modelos para las dos especies, señalamos la importancia de nuestro estudio para el planteamiento de proyectos de recuperación y conservación. A modo de ejemplo, el valor de idoneidad de casi un 50% en Hoyocasero, localidad donde se ha hecho la reintroducción de *T. coincy* en 2014 con resultados satisfactorios de establecimiento y supervivencia de las plantas y los altos valores de idoneidad en áreas dentro del rango de distribución de la especie, sugiere que introducciones experimentales pueden ser llevadas a cabo teniendo como base nuestros resultados. Por ejemplo, se podrían llevar a cabo ensayos de introducción de nuevas poblaciones en cuadrículas ocupadas por las categorías alta o muy alta de idoneidad ubicadas en los municipios de Hoyos del Espino, Navarredonda de Gredos, Villarejo del Valle, Serranillos y Navarrevisca, lo que permitiría conectar las poblaciones más alejadas, facilitando así el flujo génico y el aumento de la variabilidad genética entre todas ellas (ver Figuras 13 y 16). Algunos estudios destacan que las poblaciones pequeñas y/o aisladas son menos diversas genéticamente y en consecuencia están más propensas a la extinción (Buza et al., 2000; Ellstrand & Elam, 1993; Zoro Bi et al., 2003), por lo que aquellas medidas de conservación que faciliten la creación de pasillos ecológicos y conexión entre esas poblaciones contribuirán de forma directa a su preservación, siendo que el diseño de dichas vías de comunicación puede ser optimizado por los resultados del presente estudio.

De la misma manera, nuestros resultados pueden ser útiles en iniciativas de conservación para *A. devesae*. No llegamos a encontrar ninguna nueva población en las búsquedas “direccionadas” llevadas a cabo en ese estudio, pero sí que localizamos zonas que presentaban una alta potencialidad para acoger esta especie (similitud de suelos, exposición, cortejo florístico, etc.), lo que puede considerarse como un indicador del buen desempeño de los modelos, además de los otros factores de evaluación estadística interna que hemos tenido en cuenta. Así, los resultados podrán servir para llevar a cabo nuevas búsquedas en otras zonas indicadas como de alta idoneidad, o incluso ensayar introducciones experimentales en esas zonas, algo que nunca se realizó para esa especie. Municipios como Muñana, La Torre y Muñogalindo presentaron áreas con alto potencial de idoneidad y se encuentran en una franja de alta conectividad con las poblaciones de Collado del Mirón, Padiernos y Ávila.

Las estrategias de restauración y reforzamientos de poblaciones (introducciones, reintroducciones) se han convertido en herramientas ampliamente utilizadas para la conservación de plantas en riesgo de extinción (Escudero-Alcántara & Iriondo-Alegría, 2003; Godefroid et al., 2011; Heywood & Iriondo-Alegría, 2003), de hecho la reintroducción de *S. coincy* en el Pinar de Hoyocasero es un ejemplo de ello. Los criterios y métodos de planificación para desarrollar estas acciones han sido analizados por diferentes autores (Escudero-Alcántara & Iriondo-Alegría, 2003; Godefroid et al., 2011; Guerrant & Kaye, 2007; Guerrant & Pavlik, 1998; IUCN, 2013), destacando fundamentalmente el hecho de se deben tener en cuenta los requerimientos ecológicos de la especie y la selección del área de siembra, que debe estar siempre dentro del rango de distribución conocido de la especie. Existen estudios publicados en cuanto a la ejecución de traslocaciones de especies de plantas amenazadas en España, pero ninguno ha utilizado las técnicas de modelado para apoyar su plan de trabajo (Ferrer Gallego et al., 2017; Fraga & Arguimbau, 2000; Rita & Cursach, 2013).

Por otro lado, ya había sido citada la presencia de *A. devesae* en el municipio de Muñogalindo (existe una recolección de G. López & E. Valdés en 1975 (Talavera & Salgueiro, 1999), pero no se ha vuelto a encontrar allí en las últimas décadas. Teresa et al. (2009a) aconsejaron una prospección exhaustiva de la sierra de Ávila y los territorios adyacentes, que podría dar lugar al descubrimiento de nuevas poblaciones en zonas de sustratos favorables. De hecho, el hallazgo de la población en el municipio de Ávila en 2014 señala que todavía es posible encontrar nuevas poblaciones. A pesar de que hasta ahora no hemos logrado localizar nuevas poblaciones con los resultados de nuestros modelos, consideramos que son de gran utilidad para delimitar zonas de alta idoneidad, que acompañado del conocimiento de protocolos eficaces de germinación para las especies estudiadas, constituyen un excelente punto de partida para optimizar procedimientos de muestreo así como de introducción, reintroducción o reforzamiento de poblaciones.

ANEXOS

A. Información detallada de variables, valores de AUC y contribución de los modelos bivariados considerados para el ensamblado final para cada ámbito geográfico generado para *A. devesae*.

Península Ibérica					
Modelo	Variables		Porcentaje de contribución		AUC test data
	a	b	a	b	
1_1	bio3	alt	62.5	37.5	0.984
1_2	bio10	alt	50.1	49.9	0.902
1_3	alt	bio16	60.9	39.1	0.99
1_4	landcover	alt	94.3	5.7	0.875
1_5	tipo_suelo	alt	59.8	40.2	0.82
1_6	bio10	bio3	100	0	0.718
1_7	bio16	bio3	100	0	0.912
1_9	bio3	tipo_suelo	54	46	0.795
1_10	bio10	bio16	58.9	41.1	0.983
1_11	landcover	bio10	97.7	2.3	0.722
1_13	landcover	bio16	98.3	1.7	0.913
1_14	tipo_suelo	bio16	77.5	22.5	0.846
2_1	bio3	alt	82.1	17.9	0.954
2_2	alt	bio10	53.2	46.8	0.938
2_3	alt	bio16	53.2	46.8	0.987
2_4	landcover	alt	97.3	2.7	0.916
2_5	tipo_suelo	alt	97.4	2.6	0.885
2_6	bio3	bio10	72.9	27.1	0.93
2_7	bio16	bio3	100	0	0.842
2_9	tipo_suelo	bio3	76.8	86.9	0.755
2_10	bio10	bio16	59.8	40.2	0.991
2_11	landcover	bio10	96.8	3.2	0.769
2_12	tipo_suelo	bio10	95.3	4.7	0.744
2_13	landcover	bio16	91.6	8.4	0.836
2_14	tipo_suelo	bio16	96.5	3.5	0.799
3_1	alt	bio3	71.5	28.5	0.874
3_2	alt	bio10	59	41	0.928
3_3	bio16	alt	71.3	28.7	0.978
3_4	landcover	alt	98.9	1.1	0.907
3_5	tipo_suelo	alt	98.6	1.4	0.881
3_6	bio3	bio10	52.7	47.3	0.756
3_10	bio10	bio16	56.4	43.6	0.896
3_11	landcover	bio10	98.3	1.7	0.757
3_12	tipo_suelo	bio10	93.2	6.8	0.721
3_13	landcover	bio16	81.8	18.2	0.707
promedio					0.8631714
D.E					0.0908915

Castilla y León					
Modelo	Variables		Porcentaje de contribución		AUC test data
	a	b	a	b	
1_1	alt	bio3	98.8	1.2	0.816
1_2	alt	bio10	56.6	43.4	0.903
1_3	alt	bio16	57	43	0.967
1_4	landcover	alt	73.2	26.8	0.732
1_6	bio3	bio10	100	0	0.807
1_7	bio16	bio3	99.7	0.3	0.86
1_8	landcover	bio3	99.1	0.9	0.73
1_10	bio16	bio10	80.8	19.2	0.99
1_13	landcover	bio16	76.5	23.5	0.765
1_14	tipo_suelo	bio16	68.5	31.5	0.706
2_1	alt	bio3	95.2	4.8	0.897
2_2	bio10	alt	51.2	48.8	0.933
2_3	alt	bio16	51.9	48.1	0.977
2_4	landcover	alt	80.7	19.3	0.779
2_5	tipo_suelo	alt	95.1	4.9	0.786
2_7	bio16	bio3	99.9	0.1	0.754
2_8	landcover	bio3	99.2	0.8	0.725
2_9	bio16	bio10	86.6	13.4	0.984
3_2	alt	bio10	61.1	38.9	0.961
3_3	bio16	alt	56.8	43.2	0.889
3_4	landcover	alt	86.5	13.5	0.751
3_5	tipo_suelo	alt	93.4	6.6	0.748
promedio					0.8390909
D.E					0.0985799
Ávila (200 m²)					
Modelo	Variables		Porcentaje de contribución		AUC test data
	a	b	a	b	
1_1	<i>broa_leav</i>	<i>complex_cult_patte</i>	65	35	0.982
1_2	<i>broa_leav</i>	<i>mixed_fore</i>	91	9	0.983
promedio					0.9825
D.E					0.0007071

B. Información detallada de variables, valores de AUC y contribución de los modelos bivariados considerados para el ensamblado final para cada ámbito geográfico generado para *T. coincy*.

Península Ibérica					
Modelo	Variables		Porcentaje de contribución		AUC test data
	a	b	a	b	
1	alt	bio3	84.7	15.3	0.998
2	alt	bio7	61.3	38.7	0.999
3	alt	bio15	59.7	40.3	0.997
4	landcover	alt	66.6	33.4	0.987
5	alt	tipo_suelo	54.3	45.7	0.977
6	bio7	bio3	59	41	0.984
7	bio15	bio3	82.1	17.9	0.981
8	landcover	bio3	97	3	0.705
9	tipo_suelo	bio3	67.1	32.9	0.819
10	bio15	bio7	54.8	45.2	0.983
11	landcover	bio7	82.2	17.8	0.93
12	tipo_suelo	bio7	56.3	43.7	0.94
13	landcover	bio15	75.2	24.8	0.943
14	tipo_suelo	bio15	53.6	46.4	0.894
Promedio					0.9383571
D.E					0.0837539
Sistema Central					
Modelo	Variables		Porcentaje de contribución		AUC test data
	a	b	a	b	
1	alt	bio3	94.6	5.4	0.973
2	alt	bio7	67.7	32.3	0.985
3	alt	bio15	57.9	42.1	0.982
4	landcover	alt	80.1	19.9	0.969
5	tipo_suelo	alt	62.1	37.9	0.943
6	bio7	bio3	86	14	0.856
7	bio15	bio3	84.9	15.1	0.954
10	bio15	bio7	66.6	33.4	0.921
13	landcover	bio15	84.9	15.1	0.899
14	tipo_suelo	bio15	62.5	37.5	0.861
promedio					0.9343
D.E					0.0482333
Sistema Central (200 m²)					
Variable		Porcentaje de contribución		AUC	
Pasto		47.2			
transición del bosque-arbusto		14			
praderas naturales		11.8			
bosque de coníferas		11.6			
bosque de hojas anchas		9.5			
ocupado por la agricultura		4.1		0.888	
bosque mixto		1.5			
cultivos permanentes		0.1			
plantaciones de árboles frutales		0.1			
playas, dunas, arenas		0			



UNIVERSIDAD
DE SALAMANCA

CAMPUS OF INTERNATIONAL EXCELLENCE

CAPÍTULO V

**APLICACIÓN DE MODELOS DE NICHOS ECOLÓGICOS PARA
LA CONSERVACIÓN DE ESPECIES AMENAZADAS
TENIENDO EN CUENTA LOS ESCENARIOS FUTUROS DE
CAMBIO CLIMÁTICO; TRES EJEMPLOS: *Isatis platyloba*,
Rhaponticum exaltatum y *Succisella microcephala***



5. APLICACIÓN DE MODELOS DE NICHOS ECOLÓGICOS PARA LA CONSERVACIÓN DE ESPECIES AMENAZADAS TENIENDO EN CUENTA LOS ESCENARIOS FUTUROS DE CAMBIO CLIMÁTICO; TRES EJEMPLOS: *Isatis platyloba*, *Rhaponticum exaltatum* y *Succisella microcephala*

5.1 INTRODUCCIÓN

El clima es considerado un factor primario que limita y perfila las áreas de distribución de las especies, que tienden a permanecer en relativo equilibrio siempre y cuando las condiciones (fundamentalmente temperatura y humedad) permanezcan constantes (Vetaas, 2002; Woodward, 1996). No obstante, durante las últimas décadas, el vertiginoso aumento en la atmósfera de la concentración de gases de efecto invernadero (GHG) como consecuencia de la actividad humana, está provocando un cambio climático en forma de aumento paulatino en las temperaturas medias globales, lo que da lugar a impactos significativos en todos los ecosistemas, tanto terrestres como marinos. Así, las especies que forman parte de ellos sufren cambios importantes en sus áreas de distribución (generalmente disminuyen, pero puede haber especies que se ven favorecidas) (Collingham & Huntley, 2000; Ferrarini, 2012; Huntley et al., 2010; C. Miller & Urban, 1999; Parmesan & Yohe, 2003; Tingley, Monahan, Beissinger, & Moritz, 2009), ven alterados sus patrones fenológicos (Fitter & Fitter, 2002), o se modifican sus ritmos e intensidades de captación y liberación del ciclo del carbono, algo para lo que los vegetales son especialmente sensibles (Purves & Pacala, 2008).

Aunque este proceso afecta a todas las especies por igual, son las especies raras y/o endémicas las que lo sufrirán con especial magnitud (Niu & Wan, 2008; Thomas et al., 2004; Yang, Kushwaha, Saran, Xu, & Roy, 2013), debido a que sus áreas de distribución suelen ser de por sí ya bastante reducidas, a que sus poblaciones son de pequeño tamaño o a que su capacidad de dispersión es limitada (Greve et al., 2012; Morueta-Holme, Fløjgaard, & Svenning, 2010; Vié et al., 2009). Teniendo en cuenta este adverso contexto, si queremos proteger estas especies frágiles es crucial desarrollar estrategias efectivas de conservación que tengan en cuenta los diversos escenarios previstos de cambio climático (Fløjgaard, Normand, Skov, & Svenning, 2011; Morueta-Holme et al., 2010; Ohlemüller et al., 2008; Svenning & Skov, 2007).

Como ya se ha reiterado en los capítulos previos, la Península Ibérica es una de las regiones con mayor biodiversidad florística en Europa y un importante centro de taxones endémicos y de distribución restringida (Lozano et al., 1996; Reyjol et al., 2007), por lo que,

las condiciones más secas y cálidas derivadas del cambio climático pueden causar perturbaciones importantes en su flora (Houghton et al., 2001). Por lo tanto, con el fin de poder minimizar los daños en la biodiversidad de esta región, se hace esencial mejorar el conocimiento sobre cuál puede ser la respuesta de las especies silvestres a las previsibles consecuencias del aumento global de temperaturas.

Las Áreas Protegidas (APs) son uno de los principales instrumentos políticos para la conservación de la biodiversidad a nivel internacional, ya que mantienen salvaguardados bajo un paraguas legal y normativo los hábitats de especies silvestres de especial interés que a su vez son objeto de programas de conservación *in situ* y *ex situ* (Holzschuh, Dormann, Tschardtke, & Steffan-Dewenter, 2011; Sang, Ma, & Axmacher, 2011). En Europa existe una de las redes de áreas protegidas más extensa y ambiciosa a nivel global, la Red Natura 2000, que la Comisión Europea implementó con una directiva pionera, la Directiva de Hábitats, por afectar a un territorio que vincula a numerosos países, que la han traspuesto a sus propias legislaciones. Esta iniciativa abarca la mayor parte de los hábitats de interés a escala continental e incluye a gran parte de las especies amenazadas de este territorio. El corazón de esta Red Natural son los Lugares de Importancia Comunitaria (LICs) (Medio ambiente - Comisión Europea, 2017) que contienen valores naturales de especial relevancia y que están amparados por normativas de uso y gestión diseñadas para garantizar la coexistencia de especies de interés y el uso humano.

En España, además de estos espacios Red Natura (LICs y ZEPAs, zonas de especial importancia para aves), que cubren aproximadamente un cuarto del territorio, la legislación española ha creado figuras de conservación a nivel nacional (Parques Nacionales), que se ven complementadas con las de las comunidades autónomas, Parques Naturales, Monumentos Naturales, etc., a las que en tiempos relativamente recientes se ha incorporado una nueva figura especialmente diseñada para conservar la flora amenazada, que es la llamada “Microrreserva de flora”. Esta consiste generalmente en áreas de pequeño tamaño que tienen como principal objeto preservar el territorio en el que se asientan poblaciones de especies que han sido incluidas en listas rojas regionales, especialmente aquellas con mayor estatus de amenaza (BOCYL, 2007; Laguna, 2001; Laguna et al., 2004). La Comunidad Valenciana fue la primera región española en establecer estas áreas de conservación y desde 1992 existe un programa específico para establecer una red de estas microrreservas de plantas que ha estado en curso en este territorio (Laguna, 2001; Laguna et al., 2004). Actualmente, se han establecido más de 150 zonas y están en vías de declararse legalmente como AP. Este modelo

centrado en la protección de pequeños territorios para plantas silvestres endémicas y en peligro ha sido exportado, en primer lugar, a otras regiones españolas y posteriormente a varios países alrededor del mundo (Laguna, 2001; Laguna et al., 2004).

En Castilla y León, el decreto de Flora (63/2007) (BOCYL, 2007) incorporó la posibilidad de crear Flora Microrreservas para proteger a las poblaciones vulnerables de algunas especies amenazadas. Si bien el decreto no estableció áreas específicas, se establecieron las condiciones legales para poder hacerlo. A partir de ese momento se ha desarrollado un trabajo de selección de especies de plantas y poblaciones para las cuales era necesario crear estas zonas de protección. También se han elaborado fichas con la información detallada de las propuestas preliminares de espacios, actividad de la que han sido responsables equipos de investigación de varias universidades españolas. Para dos de las especies que son objeto de este estudio (*I. platyloba* y *R. exaltatum*), se han diseñado dos microrreservas de flora (Microrreserva de flora del Pinar de Hoyocasero (Ávila), código: AV-006, para *R. exaltatum*; Microrreserva de flora de los Roquedos del Mirador de la Hocecilla (Montejo de la Vega de la Serrezuela, Segovia, Código: SG-003, para *I. platyloba*) con cuya información procedente de la ficha y los archivos shp de su geolocalización, hemos elaborado parte del presente trabajo.

Un defecto preocupante que subyace en el diseño de las AP actuales es que no consideran las altamente previsible perturbaciones causadas por el cambio climático en la distribución de las especies. En nuestra opinión y en la de cada vez más expertos, cualquier decisión sobre la ubicación de las AP debería considerar todos los escenarios posibles, incluyendo las posibles reducciones, ampliaciones y/o desplazamientos de los rangos de distribución de las especies en ellas incluidas (Opdam & Wascher, 2004; Parmesan & Yohe, 2003; Root, Price, Hall, & Schneider, 2003). Ello es especialmente relevante ya que el aumento global de las temperaturas medias puede provocar la migración de las especies en peligro fuera de las AP (Guisan & Thuiller, 2005; Velásquez-Tibatá, Salaman, & Graham, 2013). Aunque existen algunos estudios para la Península Ibérica que intentan evaluar el impacto del cambio climático sobre la biodiversidad de este territorio (Benito, Lorite, & Peñas, 2011; Garzón et al., 2008; Rocha et al., 2014; Rus et al., 2017), son pocos los análisis que tratan de responder a la pregunta de si el sistema vigente de APs en la Península Ibérica será efectivo para la protección de especies de especies endémicas y/o amenazadas bajo escenarios climáticos futuros (por ejemplo Rus et al., 2017)

El uso de Modelos de Nicho Ecológico (MNE) (*sensu* Sillero, 2011) ha sido propuesto con frecuencia para respaldar decisiones sobre estrategias de conservación (Guisan et al., 2013), y también se puede usar para evaluar el impacto del cambio climático proyectando la distribución actual de especies hacia el futuro teniendo en cuenta los escenarios previstos (Phillips et al., 2006b). Es por ello por lo que hemos considerado que la aplicación de esta metodología para el caso de tres especies de flora endémica amenazada puede servir para testar la eficacia de las APs donde se encuentran en esos escenarios futuros de cambio climático, siendo por tanto el objeto del presente estudio.

5.2 MATERIAL Y MÉTODOS

5.2.1 Área, especies de estudio y conjunto de datos

Se generaron modelos limitados a la Península Ibérica (~ 582 860 km²), puesto que como se ha dicho, las especies con las que se trabajará son endémicas de este territorio. El conjunto de APs (LICs y microrreservas) para cada especie, con información de área total de ocupación en Km² y nombres se puede consultar en el Anexo A1.

Tal como ya se dijo en la introducción de la tesis, para este estudio se han seleccionado tres especies de plantas endémicas de la Península Ibérica: *Isatis platyloba*, *Rhaponticum exaltatum* y *Succisella microcephala*, siguiendo los criterios de que: (i) tengan distribuciones geográficas conocidas con citas bien georreferenciadas, (ii) su número de poblaciones sea adecuado para los métodos que se van a emplear, y (iii) estén incluidas en listas rojas de plantas regionales y/o nacionales). En la Figura 1 se muestra la distribución de citas de las 3 especies, siendo evidente que se concentran mayoritariamente en Castilla y León o en sus inmediaciones.

Isatis platyloba ex Steud. (Brassicaceae) es un terófito anual de hasta 100 cm. Endemismo ibérico que se encuentra distribuido por la meseta norte, en un rango altitudinal de 400 a 970 m. Vive en las fisuras, repisas y herbazales de extraplomos calizos o silíceos, sobre suelos nitrificados en exposiciones soleadas (Muñoz-Centeno, Delgado-Sánchez, López-González, Rojas-Andrés, & Rico-Hernández, 2011). Su rango de distribución en la Península Ibérica se estima en menos de 20000 km² y su área ocupada es inferior a 2000 km², estando muy fragmentada. Además existen fluctuaciones extremas en el número de individuos maduros.

Rhaponticum exaltatum (Cutanda ex Willk.) Greuter (Compositae) es un hemicriptófito erecto perenne de hasta 150 cm. Está presente en el centro de la Península Ibérica en un rango altitudinal de 1000 a 1600 m. Habita el sotobosque, los linderos y las zonas clareadas de bosques caducos (especialmente en bosques de *Quercus pyrenaica* Willd. y *Castanea* sp.) en suelos más o menos profundos, ricos en materia orgánica y ligeramente alterados (Rodríguez Rojo & Fernández-González, 2011). Su óptimo biogeográfico (debido a la abundancia de sus poblaciones) está restringido a la Sierra de Gredos (Rodríguez Rojo & Fernández-González, 2011).

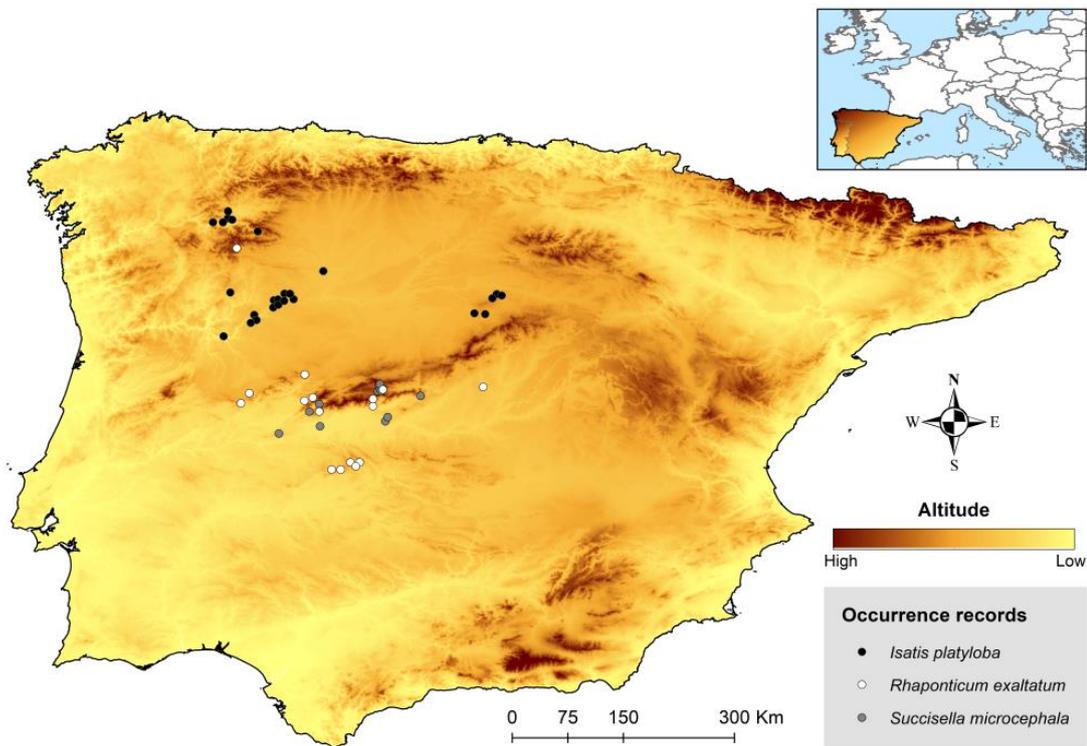


Figura 1. Registros de ocurrencia por especie dentro del área de estudio.

Succisella microcephala (Willk.) Beck (Dipsacaceae) es una planta herbácea, hemicriptófito erecta perenne de hasta 115 cm. Está presente en el centro de la Península Ibérica, en un rango altitudinal de 1200 a 1500 m. Crece en suelos silíceos y en diferentes tipos de praderas higrófilas con cierto nivel de pastoreo (Pérez-Badia & Fernández-González, 2011). Es una especie muy rara y sus poblaciones a menudo están compuestas por un pequeño número de individuos, generalmente con grandes distancias entre los núcleos. Además, el pastoreo intensivo supone una grave amenaza para esta especie (Pérez-Badia & Fernández-González, 2011).

Las tres especies están catalogadas como “Vulnerables” en la Lista Roja Española (Bañares, Blanca, Güemes, Moreno, & Ortiz, 2010; Moreno, 2008, 2011) y en el Decreto 63/2007 de 14 de junio, “por el que se crean el Catálogo de Flora Protegida de Castilla y León y la figura de protección denominada Microrreserva de Flora” (BOCYL, 2007).

Los datos de ocurrencia para estas especies (latitud y longitud) a nivel peninsular se obtuvieron de Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2016). A nivel regional, del Catálogo de Flora Protegida de Castilla y León (BOCYL, 2007). Todos los datos de ocurrencia fueron preparados cuidadosamente para detectar y corregir duplicaciones, falta de precisión o localidades geográficamente discordantes con respecto a la Ficha de cada especie (Muñoz-Centeno et al., 2011; Pérez-Badia & Fernández-González, 2011; Rodríguez Rojo & Fernández-González, 2011; Zohner, Benito, Fridley, Svenning, & Renner, 2017). Por lo general, los registros de presencia que están próximos, tienen las mismas combinaciones de valores para las variables ambientales, lo que viola el supuesto de independencia entre las observaciones. Para reducir este sesgo espacial (*clustering*), los registros de ocurrencia que están dentro de un radio de cinco cuadrículas con respecto a otros (~5 km) fueron eliminados aleatoriamente (Guisan & Zimmermann, 2000; Zohner et al., 2017) (Figura 1). Después de este proceso de filtrado, se obtuvieron un total de 25 registros (*I. platyloba*), 16 (*R. exaltatum*) y 15 (*S. microcephala*). Como los registros de ausencia no estaban disponibles, se utilizó un método de modelado ecológico desarrollado para datos solo de presencia (Phillips et al., 2006b, 2004; Phillips & Dudík, 2008), para calcular el nicho ecológico realizado (*sensu* Sillero, 2011).

5.2.2 Datos ambientales para escenarios actuales y futuros

Las variables climáticas actuales y las correspondientes a la proyección futura se obtuvieron de la base de datos WorldClim (Hijmans et al., 2005), a una resolución espacial de 30 segundos de arco (aproximadamente 1 km en el ecuador). Estas variables representan los promedios anuales y la variabilidad de los factores climáticos (Hijmans et al., 2005). Para representar la idoneidad futura del hábitat, se utilizaron los datos climáticos proyectados para 2050 y 2070 basados en el quinto informe de evaluación del IPCC. Entre cuatro GHG futuros (también conocidos como rutas de concentración representativas, RCP), se seleccionaron dos escenarios de GHG (RCP4.5 y RCP8.5) para el año 2050 (promedio para 2041-2060) y 2070 (promedio para 2061-2080). RCP4.5 representa un escenario estable donde los GHG se estabilizarán debido a las tecnologías verdes y la fuerza de radiación alcanzará hasta 4.5 W/m²

para el año 2100 (Guisan & Thuiller, 2005; Smith & Wigley, 2006; Wise et al., 2009). RCP8.5 representa el peor de los escenarios donde los GHG aumentarán continuamente a lo largo de 2100, momento en el que la radiación solar alcanzará 8.5 W/m^2 (Meinshausen et al., 2011; Riahi, Grübler, & Nakicenovic, 2007). Se ha utilizado en este estudio el modelo de circulación GISS-E2-R (nueva versión del modelo climático del Instituto Goddard para Estudios Espaciales (GISS) de la NASA, ModelE2, (Schmidt et al., 2014)), ampliamente respaldado debido a su conocida aceptabilidad y amplio uso en diversos artículos con diferentes especies (Barbosa, 2016; Bosso et al., 2017; Koo et al., 2017; Monprapussorn, 2017; Nazarenko et al., 2015; Pletterbauer, Graf, & Schmutz, 2016; Ye et al., 2018). Este modelo también fue utilizado por el IPCC en su quinto informe de evaluación (R. L. Miller et al., 2014; Schmidt et al., 2014).

Para minimizar la multicolinealidad entre las variables ambientales, se realizó una agrupación jerárquica con un método de vinculación completo. Del árbol de correlación resultante, las variables se seleccionaron a partir de un umbral mínimo de 0,5. En cada uno de los ocho grupos de variables con nodo <0.5 , sólo se seleccionó una variable en función de su correlación. Conjuntamente, se utilizó un procedimiento de selección de factor de inflación por varianza (VIF; paquete R HH) (Graham, 2003). El VIF para el predictor predictor i es $1/(1-R_i^2)$, donde R_i^2 es el R^2 de una regresión del predictor i frente a los predictores restantes. Los valores de $VIF > 5$ se consideran evidencia de colinealidad: la información transportada por un predictor que tiene dicho VIF está contenida en un subconjunto de los predictores restantes (Benito et al., 2017; Heiberger, 2017). Las variables ambientales finales seleccionadas se muestran en la Tabla 1. Todo el procesamiento de la información espacial se manejó con la herramienta *Spatial Analyst Tool* de ArcGIS 10.3.1 for Desktop (ESRI, 2015).

Tabla 1. Lista de variables climáticas utilizadas en los modelos de Maxent para las tres especies, obtenidas de la base de datos WorldClim (Hijmans et al., 2005).

Código	Variables climáticas	Unid
BIO 3	Isotermalidad	
BIO 4	Estacionalidad de la temperatura (desviación estándar \times 100)	C of V
BIO 8	Temperatura media del cuatrimestre más húmedo	$^{\circ}\text{C}$
BIO 12	Precipitación anual	mm
BIO 15	Estacionalidad de la Precipitación (CV)	C of V

5.2.3 Modelos de Nicho Ecológico

Los modelos de nicho (*sensu* Sillero, 2011) se calcularon utilizando la técnica de aprendizaje automático llamado Enfoque de Máxima Entropía (Phillips et al., 2017, 2006b, 2004; Phillips & Dudík, 2008), mediante el software Maxent 3.4.1

(https://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/maxent/). Maxent es un algoritmo de modelado de distribución de especies ampliamente utilizado y funciona relativamente bien con muestras pequeñas en comparación con otros métodos de modelado (Elith et al., 2006; Kumar & Stohlgren, 2009; Papeş & Gaubert, 2007; Pearson et al., 2007; Weber, 2011; Wisz et al., 2008).

Los modelos a tiempo presente para cada especie se hicieron a partir de 30 réplicas de tipo *bootstrap* y formato de salida *raw* con parámetros predeterminados (80% como datos de entrenamiento y 20% como datos de prueba). Los puntos de *background* se establecieron en 20000, las iteraciones máximas se establecieron en 1000 y todas las demás configuraciones fueron valores predeterminados.

Los modelos actuales se proyectaron luego a escenarios futuros con la opción *fade by clamping* seleccionada. Obtuvimos cuatro combinaciones futuras a partir de dos escenarios de GHG (GISS-E2-R: RCP4.5 y RCP8.5) y proyectamos a los años 2050 y 2080.

Maxent identificó la importancia de cada variable ambiental mediante el análisis de *jack-knife* (contribución porcentual promedio de cada variable a los modelos) Para este propósito, las variables se excluyen a su vez y se crea un nuevo modelo con las variables restantes; luego se crea un modelo usando cada variable individualmente.

Los modelos se evaluaron a través del área bajo la curva (AUC) del diagrama de características operadas por receptor (ROC) (Liu, Berry, Dawson, & Pearson, 2005). Los modelos aleatorios tienen un AUC igual a 0.5; los modelos con buen ajuste tienen valores de AUC cercanos a 1 (Fielding & Bell, 1997). Finalmente, las salidas en bruto de Maxent (de 0 a 1) se volvieron a escalar de 0 a 100 en el software R (R Core Team, 2017). Los mapas de idoneidad resultantes se agregaron en cuatro clases de hábitats potencialmente adecuados siguiendo a Cuyckens et al. (2016): “muy alto” (>75), “alto” (50-74.9), “intermedio” (25-49.9) y “bajo” (<24.9).

5.2.4 Evaluando la efectividad de áreas protegidas

Para evaluar la eficacia de áreas protegidas disponibles actualmente en escenarios futuros del cambio climático, se superpusieron los mapas de los LICs y Microrreservas de Flora a los cuatro mapas de Maxent de idoneidad climática obtenida por especie para los dos escenarios de GHG (RCP4.5 y RCP8.5) y dos años (2050 y 2080) y a continuación, se extrajeron los valores de idoneidad según las cuatro categorías de hábitats propuestas. Las capas de LICs (actualización a diciembre de 2016) están disponibles en el Ministerio de

Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente de España (MAPAMA; www.mapa.gob.es). Los datos sobre las propuestas de Microrreservas de plantas para las poblaciones de *R. exaltatum* e *I. platyloba*, tal como se comentó previamente, aún no se han publicado, pero nuestro grupo de investigación, como coautor de las fichas de esas especies, las tenía disponibles.

5.3 RESULTADOS

5.3.1 Evaluación del modelo e importancia de las variables

Todos los modelos Maxent produjeron valores muy altos de AUC de entrenamiento y prueba (>0.92, Tabla 2). La prueba de *Jack-knife* de importancia de variables mostró que la temperatura media del trimestre más húmedo (BIO 8) fue la variable con mayor ganancia cuando se usó en aislamiento para *I. platyloba* y *R. exaltatum* en todos los escenarios climáticos y la ganancia disminuyó cuando fue omitida para las tres especies en todos los escenarios climáticos. Para *S. microcephala*, la estacionalidad de la temperatura (BIO4) fue la variable con mayor ganancia cuando se usó de forma aislada en todos los escenarios climáticos (Figura 2, ver curvas de respuesta de las variables en la Figura 3).

Tabla 2. Valores de AUC de entrenamiento (=E) y prueba (=P) para los modelos Maxent, por especie y, en diferentes escenarios climáticos (promedio de 30 repeticiones).

Especies	Valores de AUC									
	Presente		2050				2070			
	E	P	RCP4.5		RCP8.5		RCP4.5		RCP8.5	
<i>I. platyloba</i>	0.942	0.929	0.940	0.938	0.941	0.935	0.940	0.942	0.938	0.907
<i>R. exaltatum</i>	0.956	0.926	0.954	0.950	0.959	0.948	0.953	0.926	0.958	0.930
<i>S. microcephala</i>	0.946	0.935	0.943	0.929	0.943	0.925	0.941	0.943	0.945	0.923

5.3.2 Idoneidad potencial del hábitat bajo diferentes escenarios climáticos

De forma general, nuestros modelos muestran una clara reducción de hábitats potenciales clasificados como “muy altos” y “altos” para todas las especies estudiadas, aunque han mostrado diferentes patrones de desplazamiento para cada una (Figuras 4, 5 y 6, Tabla 3). La salida Maxent para el escenario actual identificó como área climática más adecuada para *I. platyloba* el noroeste de España y el noreste de Portugal. Los modelos futuros (en los cuatro escenarios) presentaron un desplazamiento de posibles hábitats adecuados para esta especie hacia el norte de la Península Ibérica (Figura 4). En el caso de *R. exaltatum*, el modelo actual identificó como áreas climáticas adecuadas las regiones centro-

occidentales de España. Por otro lado, los modelos futuros indican una reducción de hábitats adecuados potenciales para este taxón, especialmente el escenario RCP8.5 en 2070 (Figura 5 y Tabla 3).

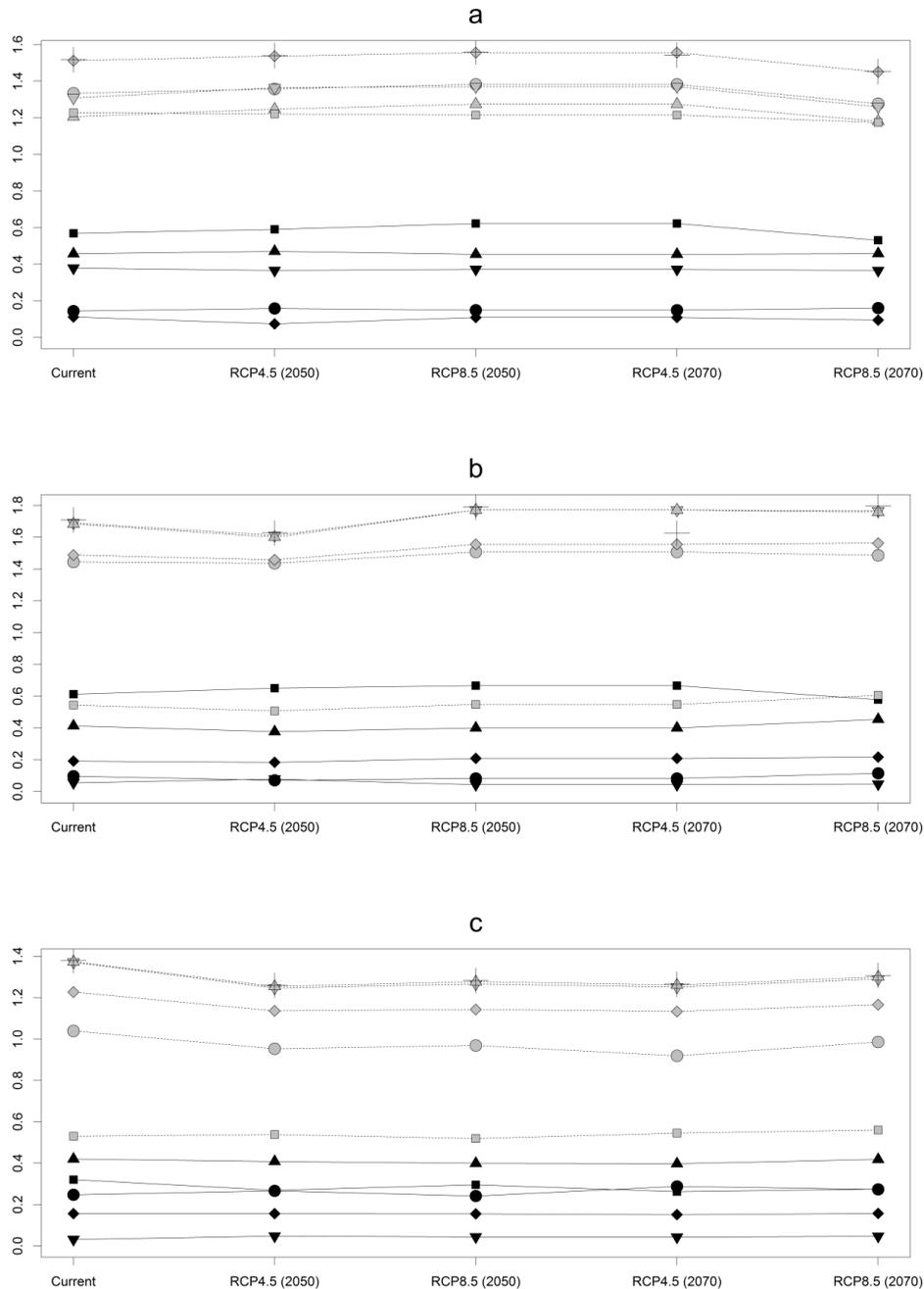


Figura 2. Resultados de la prueba de *jackknife* de importancia de variables por escenario climático y por especie. Los resultados correspondieron a los valores promedio de 30 repeticiones del modelo. (a) *Isatis platyloba*, (b) *Rhaponticum exaltatum* y (c) *Succisella microcephala*. Las cruces representan puntajes para todas las variables; los círculos representan puntuaciones de la BIO 12; triángulos invertidos representan puntajes para BIO15; los diamantes representan los puntajes de BIO3; los triángulos representan puntajes para BIO4 y los cuadrados representan puntajes para BIO8. El color gris representa las puntuaciones de todas las variables excepto la seleccionada y el color negro representa las puntuaciones de las variables individuales. Ver Tabla 1 para códigos de las variables.

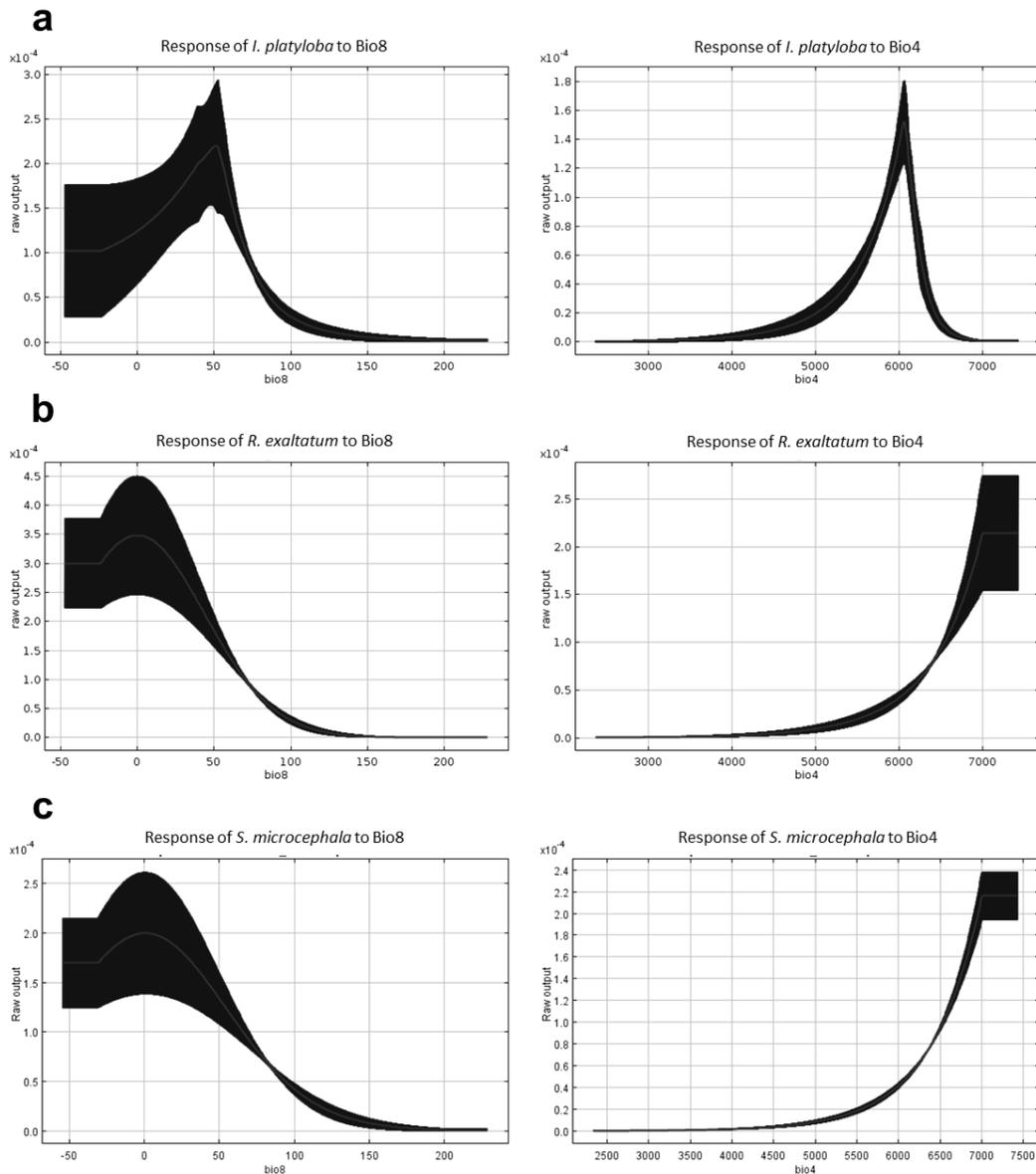


Figura 3. Curvas de respuesta de las variables utilizadas para calcular el modelo Maxent actual por especie. La respuesta media de los 30 modelos iterativos se representa con una línea gris; la media \pm desviación estándar se representa con una sombra negra. (a) *Isatis platyloba*, (b) *Rhaponticum exaltatum* y (c) *Succisella microcephala*. Ver códigos de las variables en la Tabla 1.

Con respecto a *S. microcephala*, el modelo actual también identificó como áreas climáticas adecuadas regiones centro-occidentales de España. A diferencia de los casos anteriores, las proyecciones futuras (RCP4.5 en 2050 y 2070) para esta especie indican una expansión de hábitats adecuados potenciales, aunque con una reducción de las categorías “muy altas” y “altas” (Tabla 3). Para *S. microcephala* ambos escenarios RCP8.5 mostraron una reducción de hábitats potenciales y predijeron una concentración de todas las áreas potenciales en el centro de la Península Ibérica (Figura 6).

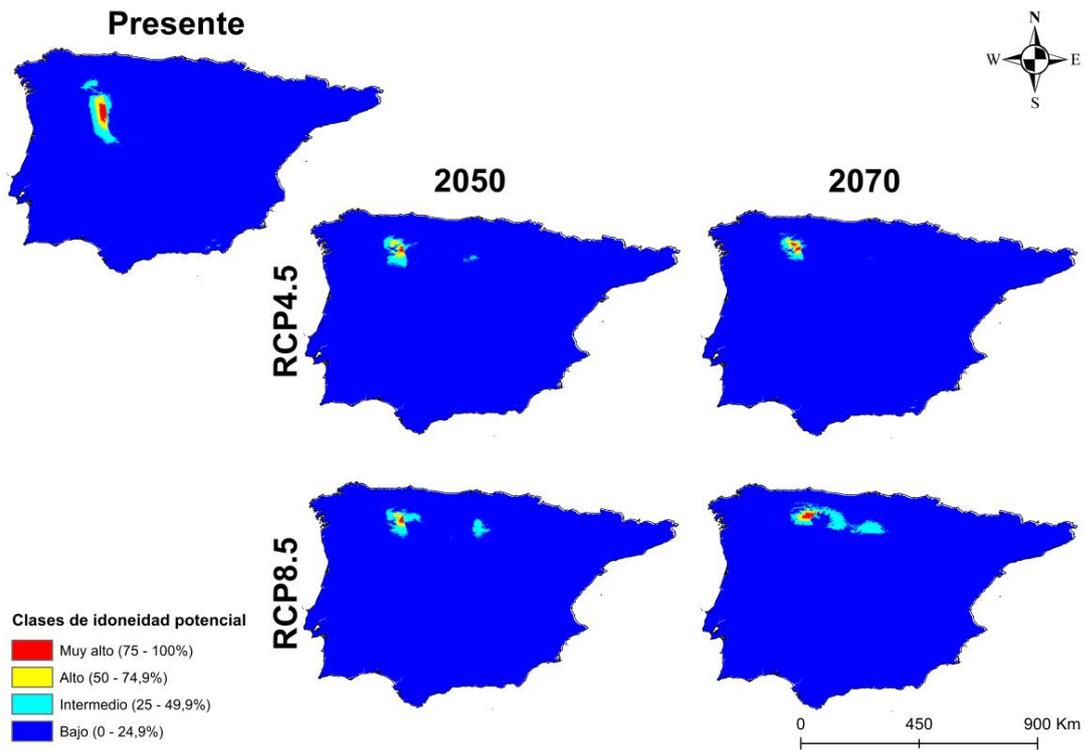


Figura 4. Mapas de distribución potencial de Maxent para *Isatis platybola* (promedio de 30 réplicas).

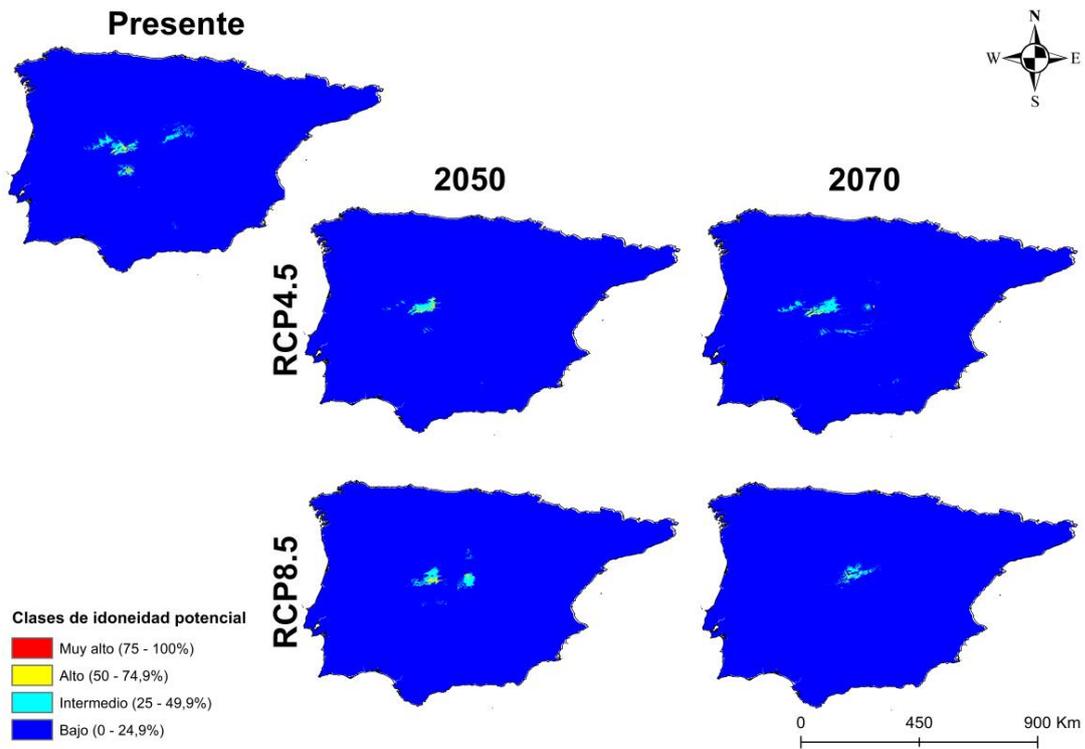


Figura 5. Mapas de distribución potencial de Maxent para *Raphonticum exaltatum* (promedio de 30 réplicas).

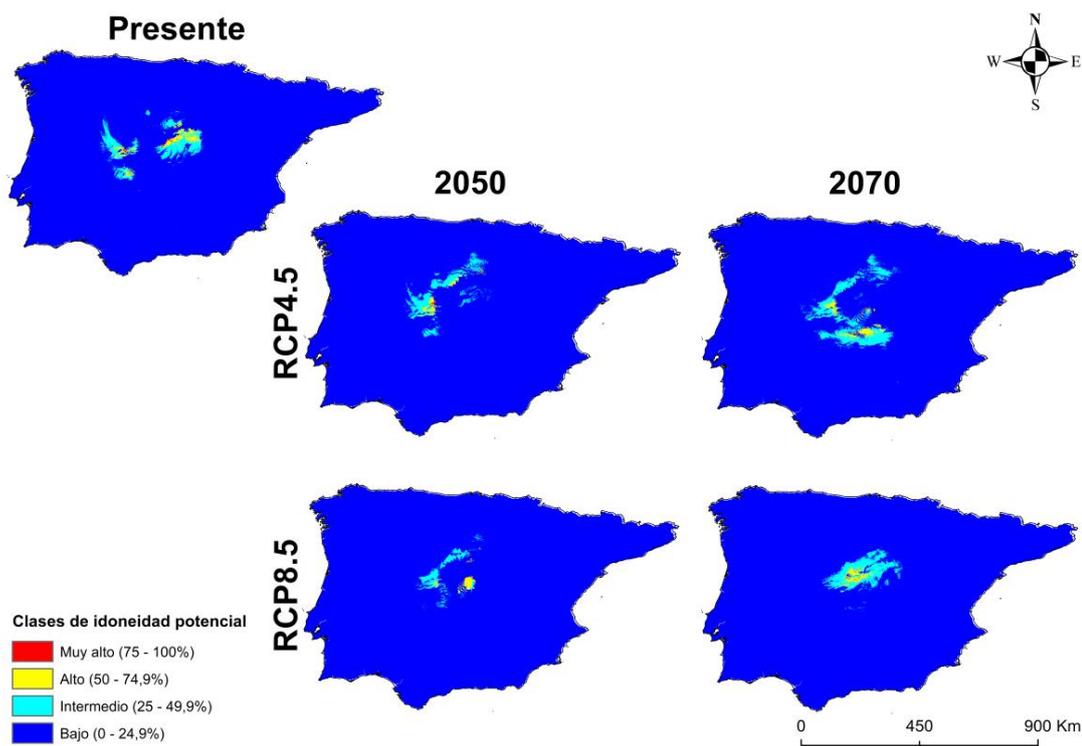


Figura 6. Mapas de distribución potencial de Maxent para *Succisella microcephala* (promedio de 30 réplicas).

Tabla 3. Número total de píxeles ocupados en la Península Ibérica por cada categoría (VH = muy alto, H = alto), en los diferentes escenarios futuros y actual, para cada especie en estudio

Especies	Número total de píxeles ocupados por cada categoría									
	Presente		2050				2070			
	VH	H	RCP4.5		RCP8.5		RCP4.5		RCP8.5	
	VH	H	VH	H	VH	H	VH	H	VH	H
<i>I. platyloba</i>	1653	3117	303	1626	329	1165	448	1445	789	1413
<i>R. exaltatum</i>	44	799	8	688	41	826	6	640	10	378
<i>S. microcephala</i>	294	5212	132	1932	12	1813	16	3491	80	3120

5.3.3 Áreas protegidas en futuros escenarios climáticos

Para las tres especies estudiadas y en el escenario climático actual, las áreas clasificadas por el modelo con valores de idoneidad “muy alta”, “alta” e “intermedia” se encuentran principalmente dentro de los límites de las áreas actualmente protegidas. Sin embargo, los porcentajes de estas áreas mostraron disminuciones importantes en los cuatro escenarios climáticos futuros (Figuras 7, 8, 9 y 10). *I. platyloba*, que presentó alto porcentaje de áreas adecuadas potenciales dentro de las áreas protegidas en el escenario actual (total del 27% para las categorías “muy alto” y “alto”), tuvo el 100% del porcentaje de áreas adecuadas potenciales en la categoría “baja”, bajo los cuatro escenarios climáticos futuros (Figuras 7a y 8). Existe una microrreserva propuesta para esta especie que se encuentra dentro del LIC

llamado Hoces del Río Duratón (para nombres de microrreserva de plantas véase Anexo A1). Sorprendentemente, nuestro modelo dio valores bajos de idoneidad para *I. platyloba* en todo el territorio de esa PMR, incluso para el modelo actual (flecha en la Figura 8 y Figura 11a); tal vez porque hay otras variables relevantes para esta especie que no fueron consideradas en este estudio.

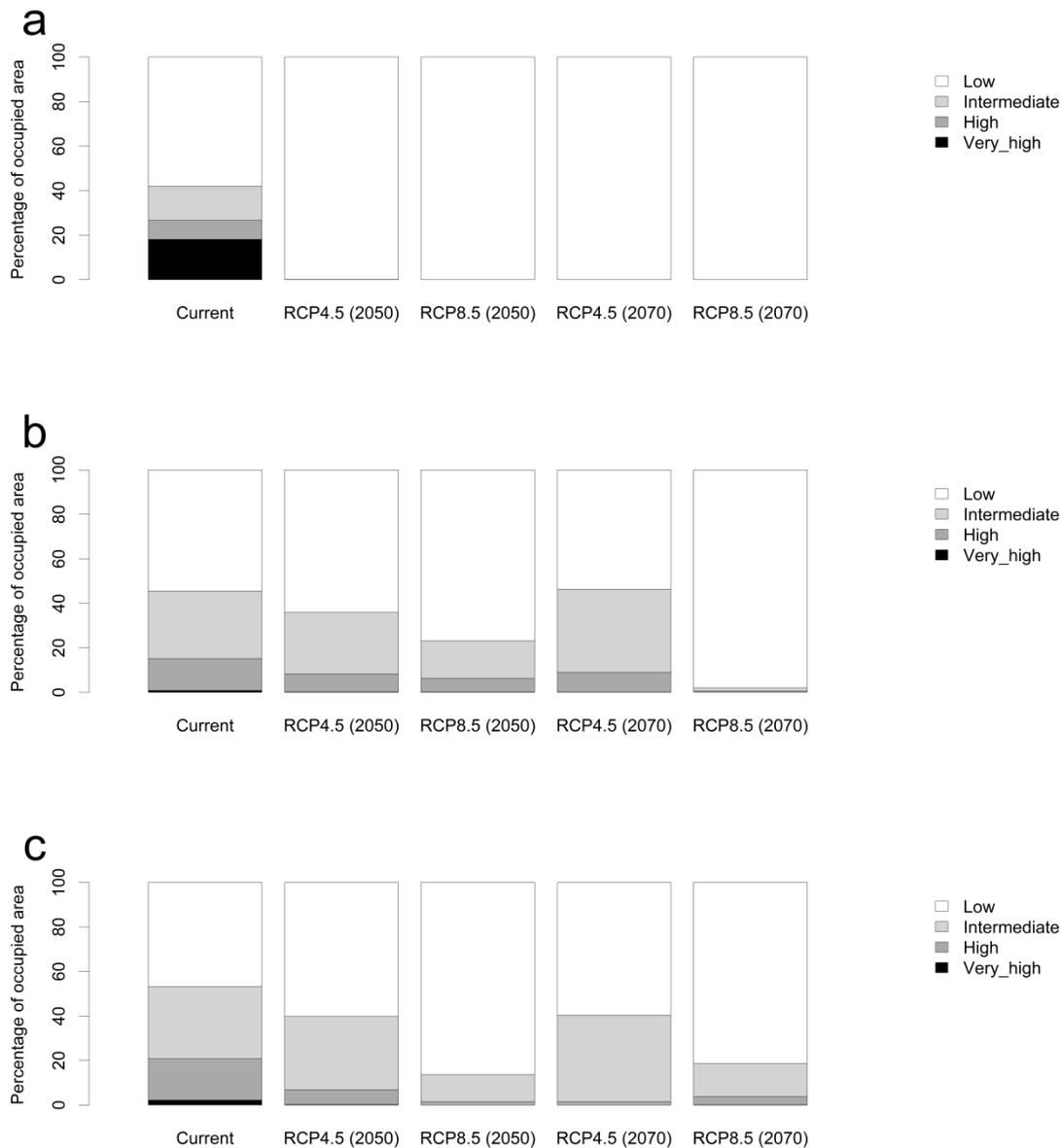


Figura 7. Porcentaje de áreas potencialmente adecuadas dentro de los límites de las áreas actualmente protegidas (LICs), bajo diferentes escenarios climáticos. (a) *Isatis platyloba*, (b) *Rhaponticum exaltatum* y (c) *Succisella microcephala*.

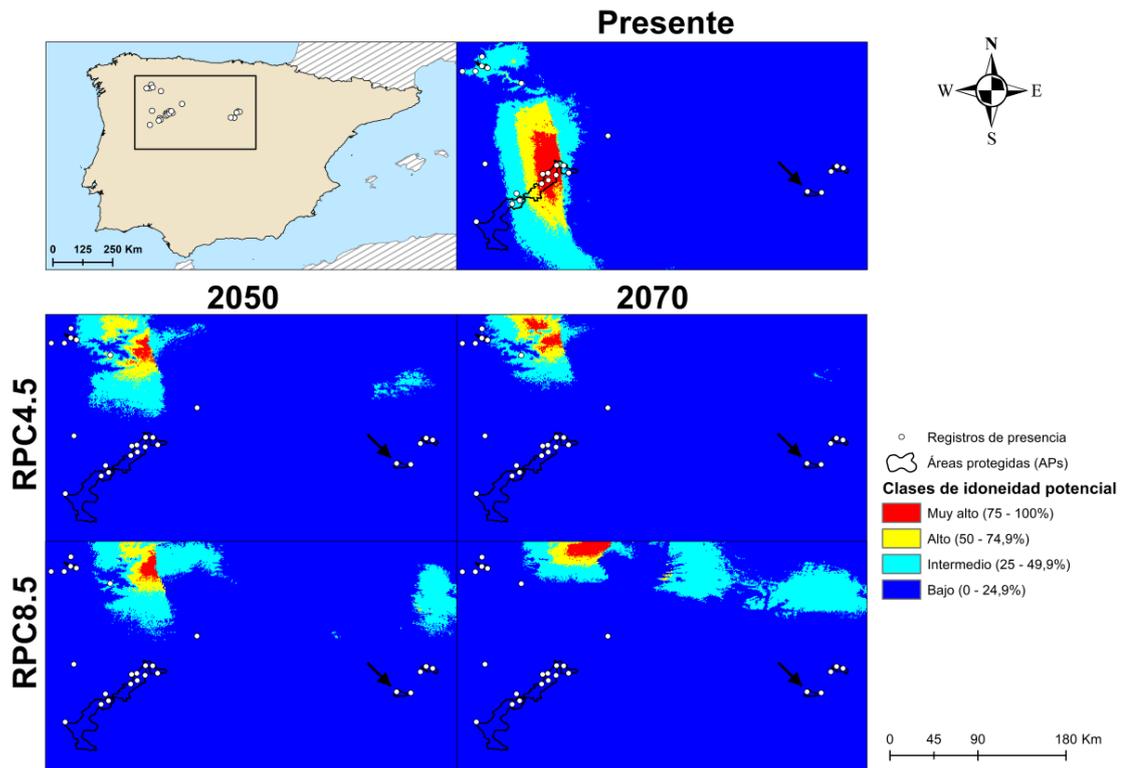


Figura 8. Predicciones de Maxent en diferentes escenarios climáticos para las AP de *Isatis platyloba* (promedio de 30 réplicas). El primer cuadro indica los registros de ocurrencia para esta especie dentro del área de estudio. Las flechas en el modelo indican el PA que contiene la Microrreserva de la planta.

R. exaltatum presentó los valores más bajos en las categorías “muy alto” y “alto” en los escenarios actuales (total de 14%), aunque tuvo los mejores resultados para esas categorías en escenarios climáticos futuros (alrededor del 10%) especialmente para dos RCP4.5 escenarios (Figura 7b y 9). Esta especie también tiene una microrreserva de plantas dentro de la PA llamada Pinar de Hoyocasero, que contiene sus dos poblaciones más importantes. En general, nuestros modelos ofrecieron valores bajos de áreas idóneas en tres de cinco escenarios climáticos (actualmente, RCP4.5 en 2050 y RCP8.5 en 2070) y valores altos en otros dos escenarios (flechas en la Figura 9 y Figura 11b). Para *S. microcephala*, los valores en la categoría “baja” en el escenario actual (46.77%) presentaron altos valores de incremento en escenarios climáticos futuros, especialmente para dos escenarios de RCP8.5 (86.36% en 2050 y 81.45% en 2070; Figuras 7c y 10).

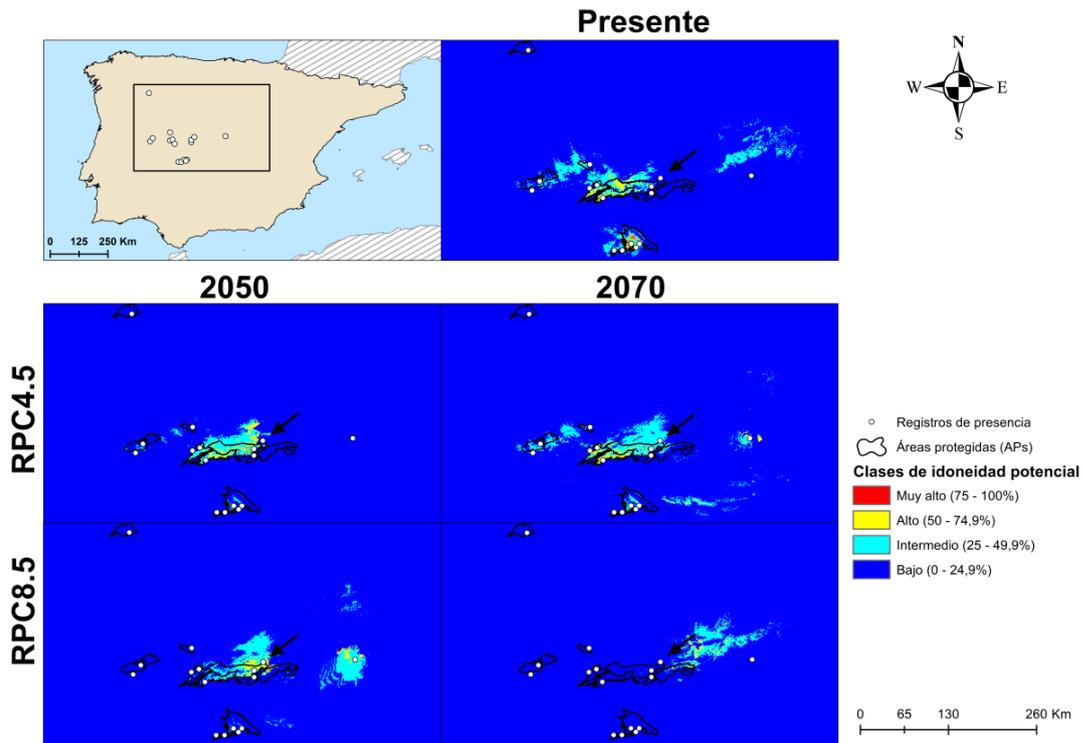


Figura 9. Predicciones de Maxent en diferentes escenarios climáticos para AP de *Rhapsiticum exaltatum* (promedio de 30 réplicas). El primer cuadro indica los registros de ocurrencia para esta especie dentro del área de estudio. Las flechas en el modelo indican el PA que contiene la Microrreserva de la planta.

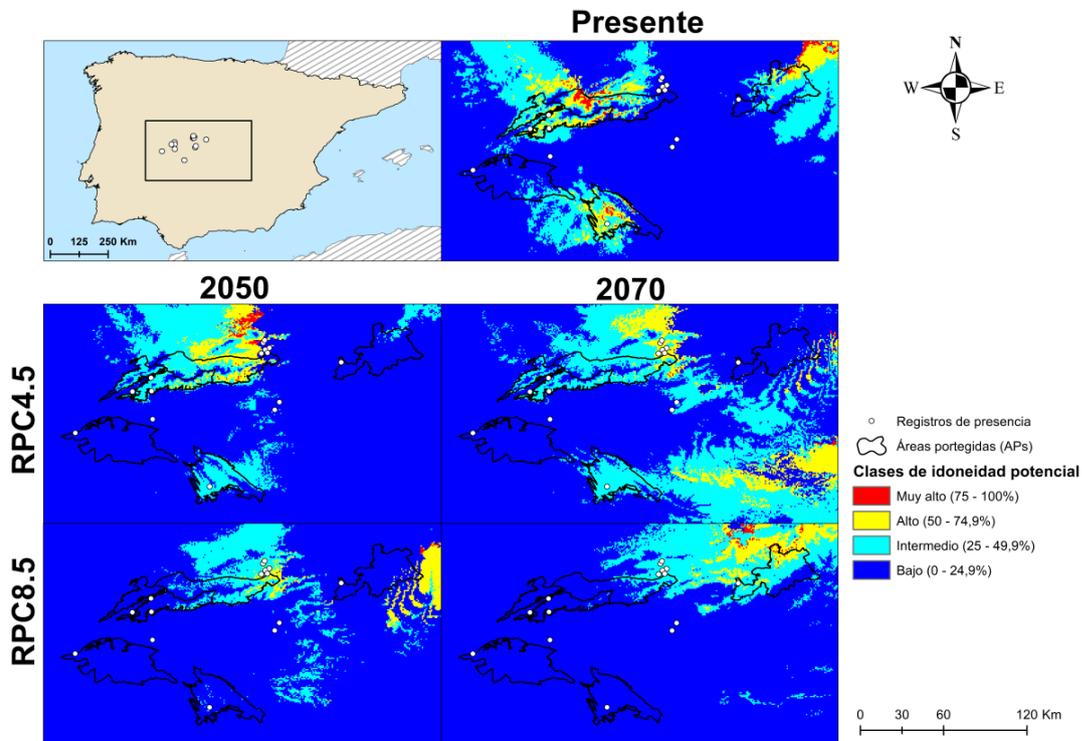


Figura 10. Predicciones de Maxent en diferentes escenarios climáticos para las AP de *Succisella microcephala* (promedio de 30 réplicas). El primer cuadro indica los registros de ocurrencia para esta especie dentro del área de estudio.

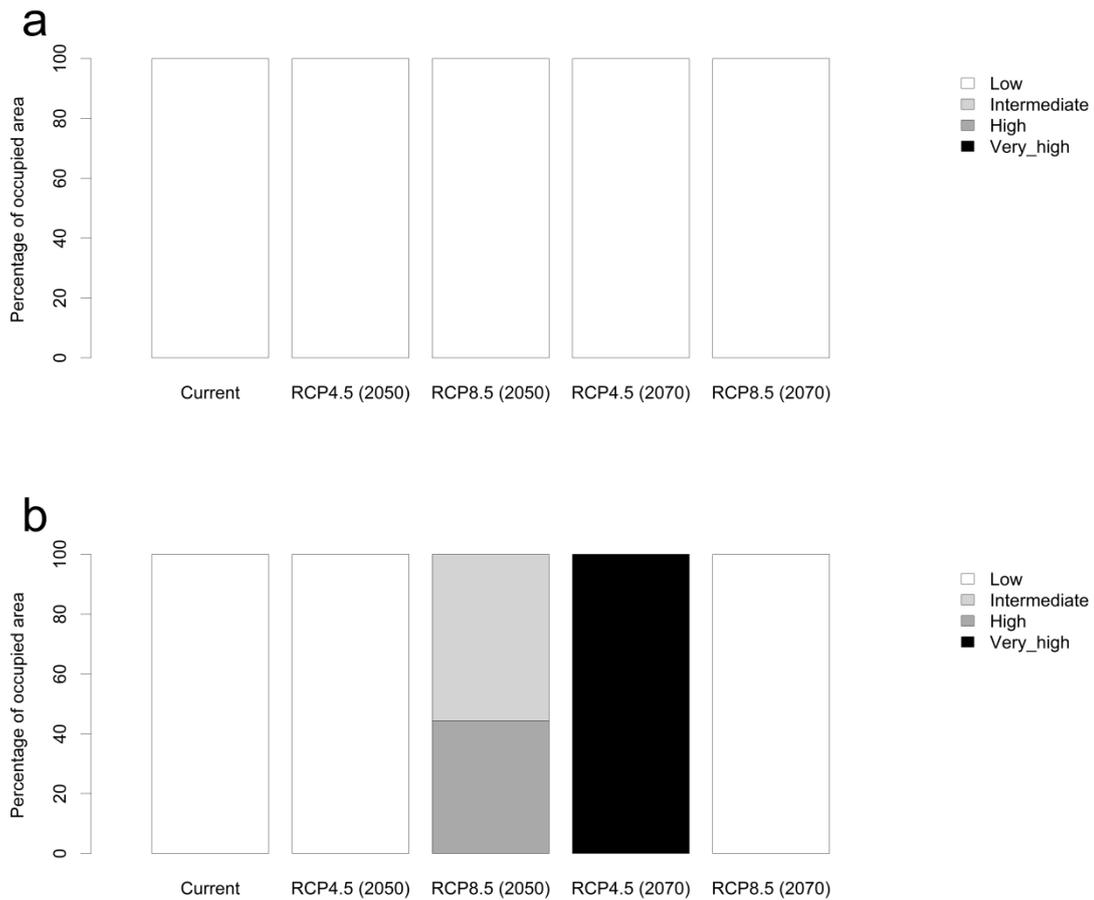


Figura 11. Porcentaje de áreas adecuadas dentro de las áreas actualmente protegidas (microrreservas) en diferentes escenarios climáticos. (a) *Isatis platyloba* y (b) *Rhaponticum exaltatum*.

5.4 DISCUSIÓN

El objetivo principal de este trabajo ha sido realizar un análisis de los efectos potenciales del cambio climático en el rango de distribución potencial de tres especies de plantas endémicas y amenazadas de la Península Ibérica, teniendo además en cuenta las áreas protegidas donde estas especies están presentes actualmente. En Europa, Araújo et al. (2011) han evaluado la efectividad de las AP y la “red Natura 2000” en la conservación de una gran cantidad de especies, y descubrieron que en 2080 aproximadamente el 60% de las especies perderían sus hábitats adecuados dentro de las AP, enfatizando la importancia de la implementación de nuevas políticas para evitar estos riesgos potenciales. Por tanto, teniendo en cuenta este y otros trabajos previos, hemos creído oportuno realizar una valoración de la situación de conservación de tres ejemplos de flora amenazada, aprovechando para ello la potencia de las nuevas metodologías bioinformáticas e incorporando la variable de las áreas protegidas. No obstante, se hace preciso resaltar que asumimos que este enfoque, tal como ya

se ha dicho previamente, tiene las limitaciones de que es un método correlativo y estático que puede no capturar la naturaleza dinámica de las fluctuaciones de las poblaciones a través del tiempo, sobre todo cuando se introducen las variables bióticas (Yañez-Arenas et al., 2012).

La distribución del área potencial predicha por nuestro modelo para *I. platyloba* y *R. exaltatum* se ajusta casi exactamente a la actualmente ocupada por ellas, pero es bastante mayor que el área donde *S. microcephala* está presente. Para todas las especies estudiadas se da el caso de que los modelos predicen áreas potenciales fuera de donde tienen su distribución conocida. Estos resultados sugieren que hay otros factores determinantes, además del clima, y probablemente relacionados con la existencia de micro refugios (Gentili et al., 2015; Rull, 2009) (es decir, topografía, tipo y uso del suelo) y/o también biológicos (es decir, competencia, depredación, capacidad de dispersión, etc.) que están determinando los patrones de distribución de estas especies.

Se cree que el riesgo de extinción de una especie debido al cambio climático está fuertemente relacionado con su capacidad para desplazarse hacia hábitats adecuados (R. Engler et al., 2009). Es fácil suponer que la velocidad del cambio climático probablemente excederá la capacidad de migración de muchas especies (Pearson, 2006), lo que será especialmente evidente para aquellas de distribución restringida, estrechamente adaptadas a circunstancias ambientales concretas y con escasa capacidad de dispersión. En este sentido, nuestros modelos a tiempo futuro predicen cambios en la distribución de las zonas idóneas para las especies estudiadas, que además, se ubicarían lejos de las que actualmente ocupan, lo que es un mal presagio para su supervivencia.

En la región mediterránea, las previsiones indican que las temperaturas aumentarán (con un máximo de 5 °C en 2085), y disminuirán significativamente las precipitaciones (ver Bravo, Araújo, Lasanta, & Moreno, 2008; F. Giorgi & Lionello, 2008). Como se mencionó anteriormente, para *I. platyloba* la temperatura media del cuatrimestre más húmedo y la estacionalidad de la temperatura (Figura 2a) son las variables más determinantes. En general, esta especie tiende a aparecer en zonas con una temperatura media del cuatrimestre más húmedo que varía aproximadamente de 0 °C a 5 °C (óptimo alrededor de 5 °C) y con fuerte estacionalidad (Figura 3a). En cualquiera de los cuatro escenarios de cambio climático analizados, las áreas adecuadas para esta especie siempre se desplazarán hacia la parte norte de la Península Ibérica, quedando siempre lejos de su distribución actual. Este hecho implica un importante problema de conservación para este taxón, ya que sus mejores poblaciones se encuentran hoy en el oeste de España dentro del “Parque Nacional Arribes del Duero”

(Muñoz-Centeno et al., 2011), donde los modelos actuales predijeron los valores de idoneidad más altos (Figura 4). Además, los fuertes requisitos de hábitats específicos para esta especie (por ejemplo, alta nitrificación y laderas soleadas) (Muñoz-Centeno et al., 2011), dificultarían su reubicación en las áreas adecuadas futuras.

Para *R. exaltatum*, las variables más importantes para la generación de modelos también fueron la temperatura media del cuatrimestre más húmedo y la estacionalidad de la temperatura (Figura 2b). Esta especie selecciona hábitats con una temperatura media del cuatrimestre más húmedo que varía aproximadamente de -5 °C a 5 °C (óptimo alrededor de 0 °C) y con estacionalidad a altas temperaturas (Figura 3b). Tres escenarios climáticos futuros predijeron una reducción de las áreas idóneas potenciales para esta especie (RCP4.5 2050, RCP8.5 2050 y 2070) siendo los escenarios 8.5 los peores, especialmente en 2070. En estos escenarios (en ambos años) toda el área occidental de la distribución actual se predice como no apta, ya que hay un claro desplazamiento de las áreas climáticas más adecuadas hacia el oriente ibérico (Figura 5). Si se confirma el RCP8.5 para 2070, la población ubicada en la AP llamada “Pinar de Hoyocasero” se vería muy afectada, lo que es especialmente grave ya que esta localidad abarca la mayor población conocida para este taxón (Rodríguez Rojo & Fernández-González, 2011).

En el caso de *S. microcephala*, la variable que más aumentó la ganancia del entrenamiento cuando se usó aislada fue la estacionalidad de la temperatura y, al omitir la temperatura media del cuatrimestre más húmedo, la ganancia del entrenamiento disminuyó aún más (Figuras 2c). En general, esta especie prefiere las áreas con una temperatura media más alta, entre -5 °C y 10 °C (óptimo alrededor de 0 °C) del cuatrimestre más húmedo (Figura 3c). Según nuestros modelos, en el escenario RCP4.5 en 2050, las áreas idóneas potenciales para esta especie se desplazarán hacia el noroeste de la Península Ibérica. En los escenarios RCP8.5 en 2050 y 2070 se prevé una reducción de potenciales áreas idóneas, además con el mismo patrón de desplazamiento hacia el noroeste. Sin embargo, en este hipotético escenario, las zonas de mayor idoneidad se restringirán a una pequeña zona del centro de la Península Ibérica que por otro lado, dejará fuera a la mayor parte de las áreas de distribución actual. La predicción para RCP4.5 en 2070 ofrece unos resultados similares -en cuanto a la situación general del área de idoneidad-, a los que nos brinda el modelo a tiempo presente, pero con una distribución diferente (Figura 6). Desde un punto de vista conservacionista, esta especie se vería menos afectada en escenarios futuros, ya que sus áreas idóneas potenciales están muy próximas a las que presenta su distribución actual. Además es una especie con buenas

estrategias adaptativas, como sus mecanismos eficientes de reproducción y dispersión (Pérez-Badia & Fernández-González, 2011).

Nuestros resultados para las tres especies analizadas coinciden con los de otros autores, como los de Thuiller et al. (2005) que proyectaron la distribución potencial de más de 1000 especies de plantas europeas, concluyendo que más de la mitad se clasificarían como vulnerables o amenazadas en 2080; o los de Engler et al. (2011) en los que evaluaron 2632 especies de plantas de montañas europeas, y observaron que casi la mitad de ellas perderían hasta el 80% de sus hábitats idóneos para 2070 y 2100. Igual de pesimistas son los de Casazza et al. (2014) y Broennimann et al. (2006) para las especies de la región mediterránea, o los de Garzón, Diós & Ollero (2008), Benito, Lorite & Peña (2011) y Rocha et al. (2014), para la flora de la Península Ibérica. Draper Munt, Muñoz-Rodríguez, Marques & Moreno Saiz (2016) encontraron una disminución dramática en la predicción de área adecuada para 41 especies medicinales amenazadas en España. Se hace evidente por tanto, que el cambio climático causará un gran impacto en una amplia gama de taxones, sean cual sean sus hábitos y requisitos ambientales y, desafortunadamente, la flora de la Península Ibérica no quedará al margen, sino todo lo contrario.

Teniendo en cuenta estas previsiones, consideramos que para evaluar de una forma más verosímil el riesgo potencial de extinción para las tres especies, se hacía necesario incorporar también una valoración de la efectividad futura de las áreas protegidas que actualmente las acogen. Las poblaciones más importantes y mejor conservadas de las tres especies se ubican dentro de los límites de las siguientes áreas protegidas: “Parque Natural Arribes del Duero” (*I. platyloba*), “Pinar de Hoyocasero” (*R. exaltatum*) y “Sierra de Gredos” (*S. microchepala*). Un resumen de todas las AP que incluyen a las tres especies se muestran en la Tabla Suplementaria Anexo A1.

Según nuestros resultados las áreas protegidas analizadas contendrían en la actualidad, de forma general, una mayoría de celdas con valores de idoneidad de muy alta a intermedia. Sin embargo, en los escenarios futuros los modelos muestran que esa idoneidad se reduciría fuertemente (Figura 7).

Así, *I. platyloba* presenta la situación más comprometida ya que los modelos predicen que en los escenarios futuros, las APs en los que está presente tendrían una mayoría de celdas clasificadas como de baja idoneidad, es decir, que no cumplirían los requisitos ambientales adecuados para acoger a esta especie (Figuras 7a y 8). En el caso de *R. exaltatum* es importante resaltar que la mayor parte de las áreas que los modelos en tiempo presente

asignan valores muy altos de idoneidad se ubican dentro de la AP llamada “Sierra de las Villuercas” y “Valle del Guadarranque”. Desafortunadamente, las poblaciones ubicadas en esta AP parece que serían las más afectadas en los escenarios climáticos futuros, ya que presentarían una mayoría de celdas con baja idoneidad, especialmente en los dos escenarios RCP8.5 (Figura 7b y Figura 9). Para *S. microcephala* la situación es parecida ya que aquellas poblaciones ubicadas en áreas protegidas se verían gravemente afectadas si se confirma cualquiera de los dos escenarios RCP8.5. En ambos casos, las APs estarían ocupadas principalmente por la categoría de idoneidad “baja”. Por el contrario, las seis poblaciones de esta especie que se encuentran actualmente fuera de la AP “Sierra de Gredos” podrían verse favorecidas en cualquiera de los cuatro escenarios futuros, especialmente bajo los escenarios de RCP4.5 (Figuras 7c y 10). Dado que esas seis poblaciones están ubicadas cerca de los límites de una de las áreas protegidas, teniendo en cuenta nuestros resultados, sería altamente recomendable ampliar esos límites para incluirlas, o bien la creación de una nueva AP que incluyera esas poblaciones, como sugirieron Pérez-Badia et al. (2011).

Como ya se mencionó al comienzo de este capítulo, hay dos Microrreservas de plantas que se han propuesto específicamente en Castilla y León para proteger poblaciones de *I. platyloba* y *R. exaltatum* (Microrreserva de flora de los Roquedos del Mirador de la Hocecilla (Montejo de la Vega de la Serrezuela, Segovia, Código: SG-003, para la primera, y Microrreserva de flora del Pinar de Hoyocasero (Ávila), código: AV-006, para la segunda). Sorprendentemente, para esas microrreservas nuestros modelos han generado bajos valores de idoneidad en todos los escenarios climáticos, incluso en el actual. Es obvio que para evaluar correctamente la idoneidad de estas microrreservas, dadas sus pequeñas dimensiones, es conveniente una escala mucho más fina de modelado que la que se ha empleado en este estudio, ya que permitiría identificar microhábitats que a menudo son los que determinan la distribución precisa de estas especies raras. Nuestros resultados, no obstante, pueden ser útiles para seleccionar las poblaciones más relevantes sobre las que deben centrarse los esfuerzos de conservación y para las que es más necesario proteger con alguna figura legal (por ejemplo, las ubicadas en hábitats considerados idóneos tanto en escenarios climáticos actuales como futuros).

En conclusión, nuestros resultados para las tres especies analizadas, coinciden con otros previos al mostrar un alto riesgo de extinción para todas ellas. Las previsiones en los escenarios futuros indican bajos valores de idoneidad en las áreas donde están actualmente presentes, y ni siquiera la existencia del factor protector de las áreas protegidas donde se

encuentran parece garantizar su supervivencia, tal como se ha visto.. Por tanto, a la luz de estos resultados, recomendamos diseñar áreas de protección más grandes para estas especies que incorporen los lugares que en cualquiera de esos hipotéticos futuros reúnan las condiciones óptimas para albergarlas.

ANEXO

A. Resumen de todas las áreas protegidas (AP) que abarcan poblaciones de cada una de las tres especies.

Especies	Número total de poblaciones	Número y porcentaje de las poblaciones incluidas en APs	Área total de las APs en km²	Nombre AP
<i>Isatis platyloba</i>	25	11 (45.8%)	1 181.89	<i>Parque Arribes del Duero</i>
				<i>Hoces del Río Riaza</i>
				<i>Hoces del Río Duratón (incluye Microrreserva: 'Roquedos del Mirador de la Hocecilla')</i>
				<i>Serra da Enciña da Lastra</i>
<i>Rhaponticum exaltatum</i>	16	11 (68.7%)	3 946.79	<i>Lago de Sanabria</i>
				<i>El Rebollar</i>
				<i>Quilamas</i>
				<i>Pinar de Hoyocasero (incluye Microrreserva: 'Pinar de Hoyocasero')</i>
				<i>Valle de Tiétar</i>
				<i>Sierra de Gredos</i>
				<i>Sierra de Cabezas de Aguila</i>
				<i>Valle del Jerte</i>
<i>Succisella microcephala</i>	15	7 (46.7%)	4 324.31	<i>Riberas del Río Alberche</i>
				<i>Sierra de Gredos</i>
				<i>Valle del Jerte</i>
				<i>Sierra de las Villauercas and Valle del Guadarranque</i>
				<i>Monfraque</i>



VNIVERSIDAD
D SALAMANCA

CAMPUS OF INTERNATIONAL EXCELLENCE

CONSIDERACIONES FINALES



CONSIDERACIONES FINALES

- La aplicación de diferentes técnicas teórico-prácticas en el ámbito de la conservación vegetal para 6 endemismos ibéricos amenazados (*Astragalus devesae*, *Isatis platyloba*, *Rhaponticum exaltatum*, *Succisella microcephala*, *Tephroseris coincyi* y *Veronica chamaepithyoides*), nos ha permitido, en primer lugar, efectuar una revisión de las amenazas a que están sometidas sus poblaciones en la actualidad, y vislumbrar posibles amenazas futuras. Tras el monitoreo de las poblaciones castellano-leonesas de estas especies a lo largo de tres años, hemos comprobado que todas ellas están sometidas a amenazas importantes (las más relevantes: plagas de insectos e impactos humanos directos en el uso del suelo), constatando en comparación con trabajos previos, una alarmante disminución del número de efectivos poblacionales en todas ellas. Basándonos en estos resultados sugerimos acciones prácticas para mejorar las iniciativas de protección de estas especies.
- Los resultados de los ensayos germinativos y los de los modelos predictivos en los diferentes escenarios temporales considerados, señalan a dos de las especies estudiadas, *I. platyloba* y *R. exaltatum*, como las que corren un mayor riesgo de extinción, y por tanto las que precisan de medidas más urgentes de conservación.
- Para el resto de especies analizadas hemos obtenido buenos resultados en los ensayos germinativos. Esta circunstancia unida a sus elevadas categorías de amenaza justifican la recolección y conservación de sus semillas en Bancos de Germoplasma con el fin de plantear potenciales reforzamientos poblacionales en el futuro, algo que ha sido posible realizar exitosamente con *A. devesae*.
- Aún asumiendo las limitaciones de los modelos predictivos de nicho ecológico, hemos demostrado en esta tesis doctoral, con las especies estudiadas, que son herramientas de gran valor en diferentes ámbitos de la biología de conservación vegetal y que son extrapolables a cualquier especie. Nuestros resultados sirven para plantear estrategias eficaces para tratar de garantizar la viabilidad de las poblaciones de las especies analizadas, identificando áreas idóneas donde realizar búsquedas de nuevas poblaciones, donde realizar introducciones experimentales, o donde enfocar los esfuerzos de conservación a tiempo presente y futuro.

- Por último, deseamos destacar la importancia de reproducir más estudios teórico-prácticos como el presente, que contribuyan directamente al cumplimiento de las diferentes metas de la Estrategia Global para la Conservación de Plantas (GSPC) para la conservación de la flora amenazada, que aún no han sido alcanzadas en España. Para ello, es indispensable fomentar el que los resultados se publiquen y / o sean compartidos en redes y bases de datos de información científica nacionales e internacionales. Cuando nos referimos a los ensayos germinativos, los resultados pueden apoyar la mejora de nuevas técnicas para las mismas especies o especies próximas. Además, el intercambio de información precisa sobre datos de ocurrencia de especies y ausencias reales por ejemplo permitirá el uso de técnicas más robustas para el modelado y la generación de mapas de distribución potenciales más precisos y por tanto, más útiles.

Conclusiones

1. Se han realizado estudios de germinación para 5 especies de flora amenazada de Castilla y León: *A. devesae*, *I. platyloba*, *R. exaltatum*, *S. microcephala* y *V. chamaepithyoides*. Nuestros resultados muestran que las especies con mayor tasa germinativa son *V. chamaepithyoides*, *A. devesae* con más de 70%; y *S. microcephala* con una tasa de 50-60%. Las semillas de *V. chamaepithyoides* muestran una elevada viabilidad tras siete años de estar almacenadas. *I. platyloba* y *R. exaltatum* ofrecieron bajas tasas de germinación (alrededor de un 5%), por lo que deben existir otros factores determinantes que no hemos podido detectar en el presente trabajo. Por último en este apartado pudimos constatar problemas graves de depredación de semillas por insectos en una de las poblaciones de *R. exaltatum*, lo que puede suponer una amenaza grave para su supervivencia.

2. Las buenas tasas de germinación *in vitro* logradas para *A. devesae* nos han permitido obtener plántulas suficientes en laboratorio como para poder plantear un reforzamiento en las poblaciones de Padiernos, Ávila. El seguimiento durante 2 años de los ejemplares reintroducidos muestra que la tasa de supervivencia es de un 50%, lo que supone un éxito para este tipo de acciones de conservación. Los animales silvestres y probablemente la situación orográfica parecen ser los principales determinantes de la viabilidad de las plántulas en sus momentos iniciales.

3. La metodología de modelado de nicho ecológico (MNE) empleando variables predictoras actuales ha sido empleada para dos especies (*A. devesae* y *T. coinnyi*) con el

objetivo de optimizar la búsqueda de nuevas poblaciones. Los mapas de distribución potencial muestran un buen rendimiento, al ajustarse las áreas idóneas previstas a sus rangos conocidos, no obstante los muestreos realizados usando esos mapas no nos han permitido localizar nuevas poblaciones, aunque sí hemos detectado áreas potencialmente idóneas para albergar reintroducciones experimentales.

4. Los modelos de nicho ecológico desarrollados teniendo en cuenta los escenarios futuros de cambio climático para *I. platyloba*, *R. exaltatum* y *S. microcephala*, con el fin de evaluar su riesgo de extinción y la capacidad de las Áreas protegidas para protegerlas en un futuro, muestran que en las dos primeras especies, las áreas idóneas previstas quedan fuera de esas áreas protegidas, lo que tiene implicaciones relevantes de cara a su supervivencia. En el caso de *S. microcephala*, algunas poblaciones que quedan fuera de zonas protegidas se ubican en áreas de alta idoneidad tanto en tiempo presente como en el futuro, por lo que se sugiere la ampliación de los límites de esas zonas protegidas para albergarlas.

REFERENCIAS

- Aitken, M., Roberts, D. W., & Shultz, L. M. (2007). Modelling distributions of rare plants in the great basin, Western north America. *Western North American Naturalist*, 67(1), 26–38. [https://doi.org/10.3398/1527-0904\(2007\)67\[26:mdorpi\]2.0.co;2](https://doi.org/10.3398/1527-0904(2007)67[26:mdorpi]2.0.co;2)
- Albert, M. J., Iriondo, J. M., & Pérez-García, F. (2002). Effects of temperature and pretreatments on seed germination of nine semiarid species from NE Spain. *Israel Journal of Plant Sciences*, 50(2), 103–112. <https://doi.org/10.1560/3ht7-p4ub-ga7n-pb3f>
- Amich, F., & Bernardos, S. (2008). *Succisella microcephala* (Willk.) G. Beck. (D. de Botánica, Ed.), *Ficha de Síntesis Del Catálogo de Flora Amenazada de España*. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente.
- Anderson, R. P., Lew, D., & Peterson, A. T. (2003). Evaluating predictive models of species' distributions: criteria for selecting optimal models. *Ecological Modelling*, 162(3), 211–232. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(02\)00349-6](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(02)00349-6)
- Andreou, M., Delipetrou, P., Kadis, C., Tsiamis, G., Bourtzis, K., & Georghiou, K. (2011). An integrated approach for the conservation of threatened plants: The case of *Arabis kennedyae* (Brassicaceae). *Acta Oecologica*, 37(3), 239–248. <https://doi.org/10.1016/J.ACTAO.2011.02.007>
- Araújo, M. B., Alagador, D., Cabeza, M., Nogués-Bravo, D., & Thuiller, W. (2011). Climate change threatens European conservation areas. *Ecology Letters*, 14(5), 484–492. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01610.x>
- Araújo, M. B., & Guisan, A. (2006). Five (or so) challenges for species distribution modelling. *Journal of Biogeography*, 33(10), 1677–1688. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2006.01584.x>
- Atia, A., Debez, A., Barhoumi, Z., Smaoui, A., & Abdelly, C. (2009). ABA, GA3, and nitrate may control seed germination of *Crithmum maritimum* (Apiaceae) under saline conditions. *Comptes Rendus Biologies*, 332(8), 704–710. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2009.03.009>
- Austin, M. (2007). Species distribution models and ecological theory: A critical assessment and some possible new approaches. *Ecological Modelling*, 200(1–2), 1–19. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLMODEL.2006.07.005>
- Bacchetta, G., Fenu, G., Mattana, E., Bueno Sanchez, A., Jiménez-Alfaro, B., Piotto, B., & Virevaire, M. (2008). *Conservación ex situ de plantas silvestres*. Gijón, España: Jardín Botánico Atlántico. Retrieved from <http://veprints.unica.it/789/>
- Balmford, A., & Bond, W. (2005). Trends in the state of nature and their implications for human well-being. *Ecology Letters*, 8(11), 1218–1234. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00814.x>
- Bañares, Á., Blanca, G., Güemes, J., Moreno, J. C., & Ortiz, S. (Eds.). (2010). *Atlas y Libro Rojo de la Flora Vasculare Amenazada de España. Adenda 2010*. Madrid (in Spanish): Dirección General de Medio Natural y Política Forestal (Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino) y Sociedad Española de Biología de la Conservación de

Plantas.

- Barbet-Massin, M., Rome, Q., Muller, F., Perrard, A., Villemant, C., & Jiguet, F. (2013). Climate change increases the risk of invasion by the Yellow-legged hornet. *Biological Conservation*, 157, 4–10. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2012.09.015>
- Barbosa, F. G. (2016). The future of invasive African grasses in South America under climate change. *Ecological Informatics*, 36, 114–117. <https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2016.10.006>
- Bariego, P. G., Benítez, G., Buirra, A., del Egado, F., & Rodríguez, A. (2015). *Tephrosia coincyi* (Rouy) Holub (= *Senecio coincyi* Rouy) (Asteraceae) en Sanabria (Zamora, NW de España). Implicaciones para la conservación de la especie y una reflexión. Vitoria-Gasteiz: VII Congreso de Biología de la Conservación de Plantas.
- Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (1971). Germination Ecology and Adaptation to Habitat in *Leavenworthia* spp. (Cruciferae). *The American Midland Naturalist*, 85(1), 22–35. <https://doi.org/10.2307/2423908>
- Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (1981). Seasonal changes in the germination responses of buried *Lamium amplexicaule* seeds. *Weed Research*, 21(6), 299–306.
- Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (1984). Role of temperature in regulating timing of germination in soil seed reserves of *Lamium purpureum* L. *Weed Research*, 24(5), 341–349.
- Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (1987). Physiology of dormancy and germination in relation to seed bank ecology. In *American Journal of Botany* (Vol. 74, pp. 634–635). Columbus: Ohio: Botanical Soc. American Ohio State.
- Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (1998). *Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. Lexington, USA: Elsevier.
- Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (2000). Evolutionary considerations of claims for physical dormancy-break by microbial action and abrasion by soil particles. *Seed Science Research*, 10(4), 409–413.
- Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (2003). Classification, biogeography, and phylogenetic relationships of seed dormancy. In S. Smith, RD; Dickie, JB; Linington (Ed.), *Seed conservation: turning science into practice*. (pp. 518–544). Kew: Kew: Royal Botanic Gardens.
- Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, 14(1), 1–16.
- Bellusci, F., Pellegrino, G., & Musacchio, A. (2009). Different levels of inbreeding depression between outcrossing and selfing *Serapias* species. *Biologia Plantarum*, 53(1), 175–178. <https://doi.org/10.1007/s10535-009-0029-8>
- Benito, B. M., Lorite, J., & Peñas, J. (2011). Simulating potential effects of climatic warming on altitudinal patterns of key species in Mediterranean-alpine ecosystems. *Climatic Change*, 108(3), 471–483. <https://doi.org/10.1007/s10584-010-0015-3>
- Benito, B. M., Martínez-Ortega, M. M., Muñoz, L. M., Lorite, J., & Peñas, J. (2009).

- Assessing extinction-risk of endangered plants using species distribution models: a case study of habitat depletion caused by the spread of greenhouses. *Biodiversity and Conservation*, 18(9), 2509–2520. <https://doi.org/10.1007/s10531-009-9604-8>
- Benito, B. M., Svenning, J. C., Kellberg-Nielsen, T., Riede, F., Gil-Romera, G., Mailund, T., ... Sandel, B. S. (2017). The ecological niche and distribution of Neanderthals during the Last Interglacial. *Journal of Biogeography*, 44(1), 51–61. <https://doi.org/10.1111/jbi.12845>
- Bennett, A. F., & Saunders, D. A. (2010). Habitat fragmentation and landscape change. In *Conservation biology for all* (Vol. 93, pp. 1544–1550). Oxford University Press Oxford.
- Bewley, J. D., & Black, M. (1994). Seeds. In *Seeds* (pp. 1–33). Springer.
- BOCYL. (2007). DECRETO 63/2007, de 14 de junio, por el que se crean el Catálogo de Flora Protegida de Castilla y León y la figura de protección denominada Microrreserva de Flora. *Boletín Oficial de Castilla Y León*, 119, 13197–13204.
- Bosch, J., Mardones, F., Pérez, A., De la Torre, A., & Muñoz, M. J. (2014). A maximum entropy model for predicting wild boar distribution in Spain. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 12(4), 984–999.
- Bosso, L., Luchi, N., Maresi, G., Cristinzio, G., Smeraldo, S., & Russo, D. (2017). Predicting current and future disease outbreaks of *Diplodia sapinea* shoot blight in Italy: species distribution models as a tool for forest management planning. *Forest Ecology and Management*, 400, 655–664. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.06.044>
- Brändel, M. (2005). The effect of stratification temperatures on the level of dormancy in primary and secondary dormant seeds of two *Carex* species. *Plant Ecology*, 178(2), 163–169. <https://doi.org/10.1007/s11258-004-3037-y>
- Brashares, J. S., Arcese, P., Sam, M. K., Coppolillo, P. B., Sinclair, A. R. E., & Balmford, A. (2004). Bushmeat Hunting, Wildlife Declines, and Fish Supply in West Africa. *Science*, 306(5699), 1180 LP-1183. Retrieved from <http://science.sciencemag.org/content/306/5699/1180.abstract>
- Bravo, D. N., Araújo, M. B., Lasanta, T., & Moreno, J. I. L. (2008). Climate Change in Mediterranean Mountains during the 21st Century. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 37(4), 280–285. [https://doi.org/10.1579/0044-7447\(2008\)37\[280:CCIMMD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1579/0044-7447(2008)37[280:CCIMMD]2.0.CO;2)
- Breiner, F. T., Guisan, A., Bergamini, A., & Nobis, M. P. (2015). Overcoming limitations of modelling rare species by using ensembles of small models. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(10), 1210–1218. <https://doi.org/10.1111/2041-210x.12403>
- Broadhurst, L. M., Lowe, A., Coates, D. J., Cunningham, S. A., McDonald, M., Vesk, P. A., & Yates, C. (2008). Seed supply for broadscale restoration: maximizing evolutionary potential. *Evolutionary Applications*, 1(4), 587–597.
- Broennimann, O., Thuiller, W., Hughes, G., Midgley, G. F., Alkemade, J. M. R., & Guisan, A. (2006). Do geographic distribution, niche property and life form explain plants' vulnerability to global change? *Global Change Biology*, 12(6), 1079–1093. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01157.x>

- Buechley, E., & Sekercioglu, C. H. (2013). Endangered Species. In B. Grzimek, N. MacLeod, J. D. Archibald, P. S. Levin, & D. S. Blanchfield (Eds.), *Grzimek's animal life encyclopedia. Extinction* (pp. 159–175). Detroit: Gale/Cengage Learning. Retrieved from http://find.galegroup.com/openurl/openurl?url_ver=Z39.88-2004&url_ctx_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:ctx&req_dat=info:sid/gale:ugnid:gnlopacplus&res_id=info:sid/gale:GVRL&ctx_enc=info:ofi:enc:UTF-8&rft_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:book&rft_id=info:sid/gale:bmco
- Buira, A. (2016). Aplicación de modelos de nicho ecológico para la localización de seis plantas amenazadas en el Parque Natural de Els Ports (noreste de la Península Ibérica). *Pirineos*, 171, 17.
- Buse, J., Boch, S., Hilgers, J., & Griebeler, E. M. (2015). Conservation of threatened habitat types under future climate change – Lessons from plant-distribution models and current extinction trends in southern Germany. *Journal for Nature Conservation*, 27, 18–25. <https://doi.org/10.1016/J.JNC.2015.06.001>
- Butchart, S. H. M. (2008). Red List Indices to measure the sustainability of species use and impacts of invasive alien species. *Bird Conservation International*, 18(S1), S245–S262.
- Buza, L., Young, A., & Thrall, P. (2000). Genetic erosion, inbreeding and reduced fitness in fragmented populations of the endangered tetraploid pea *Swainsona recta*. *Biological Conservation*, 93(2), 177–186. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(99\)00150-0](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(99)00150-0)
- Carrión, M. A., Aznar, L., Martínez, J. J., Vicente, M. J., Munuera, M., Conesa, E., & Segura, F. (2007). Luces y sombras en la conservación de *Astragalus nitidiflorus*. *Conservación Vegetal*, 11, 35–37.
- Carta, A., Bedini, G., Müller, J. V., & Probert, R. J. (2013). Comparative seed dormancy and germination of eight annual species of ephemeral wetland vegetation in a Mediterranean climate. *Plant Ecology*, 214(2), 339–349. <https://doi.org/10.1007/s11258-013-0174-1>
- Casazza, G., Giordani, P., Benesperi, R., Foggi, B., Viciani, D., Filigheddu, R., ... Mariotti, M. G. (2014). Climate change hastens the urgency of conservation for range-restricted plant species in the central-northern Mediterranean region. *Biological Conservation*, 179(Supplement C), 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.09.015>
- Cerabolini, B., Andreis, R. De, Ceriani, R. M., Pierce, S., & Raimondi, B. (2004). Seed germination and conservation of endangered species from the Italian Alps: *Physoplexis comosa* and *Primula glaucescens*. *Biological Conservation*, 117(3), 351–356. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2003.12.011>
- Chefaoui, R. M., & Lobo, J. M. (2008). Assessing the effects of pseudo-absences on predictive distribution model performance. *Ecological Modelling*, 210(4), 478–486. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2007.08.010>
- Chen, S.-Y., Chien, C.-T., Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (2010). Storage behavior and changes in concentrations of abscisic acid and gibberellins during dormancy break and germination in seeds of *Phellodendron amurense* var. *wilsonii* (Rutaceae). *Tree Physiology*, 30(2), 275–284. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpp111>
- Clemente, A. S., Müller, J. V., Almeida, E., Costa, C. A., Dias, S. L., Brehm, J. M., ... Martins-Loução, M. A. (2017). What can routine germination tests in seed banks tell us

- about the germination ecology of endemic and protected species? *Botany*, 95(7), 673–684. <https://doi.org/10.1139/cjb-2017-0003>
- Cochrane, J. A., Crawford, A. D., & Monks, L. T. (2007). The significance of ex situ seed conservation to reintroduction of threatened plants. *Australian Journal of Botany*, 55(3), 356–361. Retrieved from <https://doi.org/10.1071/BT06173>
- Coelho, N., Gonçalves, S., González-Benito, M. E., & Romano, A. (2012). Germination and cryopreservation tolerance of seeds from the rare aromatic species *Thymus lotocephalus*. *Scientia Horticulturae*, 145, 84–86. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2012.07.031>
- Coleman, F. C., & Williams, S. L. (2002). Overexploiting marine ecosystem engineers: potential consequences for biodiversity. *Trends in Ecology & Evolution*, 17(1), 40–44. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(01\)02330-8](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(01)02330-8)
- Collingham, Y. C., & Huntley, B. (2000). Impacts of habitat fragmentation and patch size upon migration rates. *Ecological Applications*, 10(1), 131–144. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2000\)010\[0131:iohfap\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2000)010[0131:iohfap]2.0.co;2)
- Côme, D. (1970). Obstacles to germination. *Obstacles to Germination.*, (6). Retrieved from <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19729701389>
- Conway, W. (1988). Can technology aid species preservation. In E. O. Wilson & F. M. Peter (Eds.), *Biodiversity* (pp. 263–268). New York, USA: National Forum on Biodiversity.
- Corlett, R. T. (2016). Plant diversity in a changing world: Status, trends, and conservation needs. *Plant Diversity*, 38(1), 10–16. <https://doi.org/10.1016/J.PLD.2016.01.001>
- Cross, A. T., Paniw, M., Ojeda, F., Turner, S. R., Dixon, K. W., & Merritt, D. J. (2017). Defining the role of fire in alleviating seed dormancy in a rare Mediterranean endemic subshrub. *AoB PLANTS*, 9(5), plx036–plx036. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1093/aobpla/plx036>
- Cuyckens, G. A. E., Christie, D. A., Domic, A. I., Malizia, L. R., & Renison, D. (2016). Climate change and the distribution and conservation of the world's highest elevation woodlands in the South American Altiplano. *Global and Planetary Change*, 137, 79–87. <https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2015.12.010>
- Davis, M. A. (2009). *Invasion biology*. New York, USA: Oxford University.
- De Vitis, M., Seal, C. E., Ulian, T., Pritchard, H. W., Magrini, S., Fabrini, G., & Mattana, E. (2014). Rapid adaptation of seed germination requirements of the threatened Mediterranean species *Malcolmia littorea* (Brassicaceae) and implications for its reintroduction. *South African Journal of Botany*, 94, 46–50. <https://doi.org/10.1016/J.SAJB.2014.05.008>
- Del Vecchio, S., Mattana, E., Acosta, A. T. R., & Bacchetta, G. (2012). Seed germination responses to varying environmental conditions and provenances in *Crucianella maritima* L., a threatened coastal species. *Comptes Rendus Biologies*, 335(1), 26–31. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2011.10.004>
- Delgado Sánchez, L., & Santos Vicente, M. (2002). Cartografía Detallada de Hábitats del Anexo I de la directiva 92/43/CEE a Escala 1:10.000 en diversos Espacios incluidos en

la Red Natura 2000. *Espacio Natural de Arribes Del Duero*. Valladolid: Consejería de Medio Ambiente. Junta de Castilla y León.

- Delibes-Mateos, M., Ferreras, P., & Villafuerte, R. (2008). Key Role of European Rabbits in the Conservation of the Western Mediterranean Basin Hotspot. *Conservation Biology*, 22(5), 1106–1117. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.00993.x>
- Dissanayake, P., George, D. L., & Gupta, M. L. (2010). Effect of light, gibberellic acid and abscisic acid on germination of guayule (*Parthenium argentatum* Gray) seed. *Industrial Crops and Products*, 32(2), 111–117. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669010000798>
- Domínguez-Vega, H., Monroy-Vilchis, O., Balderas-Valdivia, C. J., Gienger, C. M., & Ariano-Sánchez, D. (2012). Predicting the potential distribution of the beaded lizard and identification of priority areas for conservation. *Journal for Nature Conservation*, 20(4), 247–253. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2012.04.003>
- Draper Munt, D., Muñoz-Rodríguez, P., Marques, I., & Moreno Saiz, J. C. (2016). Effects of climate change on threatened Spanish medicinal and aromatic species: predicting future trends and defining conservation guidelines. *Israel Journal of Plant Sciences*, 63(4), 309–319. <https://doi.org/10.1080/07929978.2016.1258257>
- Duclos, D. V., Altobello, C. O., & Taylor, A. G. (2014). Investigating seed dormancy in switchgrass (*Panicum virgatum* L.): Elucidating the effect of temperature regimes and plant hormones on embryo dormancy. *Industrial Crops and Products*, 58, 148–159. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669014002143>
- Dulvy, N. K., Sadovy, Y., & Reynolds, J. D. (2003). Extinction vulnerability in marine populations. *Fish and Fisheries*, 4(1), 25–64. <https://doi.org/10.1046/j.1467-2979.2003.00105.x>
- Elith, J., H. Graham, C., P. Anderson, R., Dudík, M., Ferrier, S., Guisan, A., ... E. Zimmermann, N. (2006). Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. *Ecography*, 29(2), 129–151. <https://doi.org/10.1111/j.2006.0906-7590.04596.x>
- Elith, J., & Leathwick, J. (2007). Predicting species distributions from museum and herbarium records using multiresponse models fitted with multivariate adaptive regression splines. *Diversity and Distributions*, 13(3), 265–275. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2007.00340.x>
- Ellstrand, N. C., & Elam, D. R. (1993). Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 24(1), 217–242.
- Engler, J. O., Stiels, D., Schidelko, K., Strubbe, D., Quillfeldt, P., & Brambilla, M. (2017). Avian SDMs: current state, challenges, and opportunities. *Journal of Avian Biology*, 48(12), 1483–1504. <https://doi.org/10.1111/jav.01248>
- Engler, R., Randin, C. F., Thuiller, W., Dullinger, S., Zimmermann, N. E., Araújo, M. B., ... Guisan, A. (2011). 21st century climate change threatens mountain flora unequally across Europe. *Global Change Biology*, 17(7), 2330–2341. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02393.x>

- Engler, R., Randin, C. F., Vittoz, P., Czaka, T., Beniston, M., Zimmermann, N. E., & Guisan, A. (2009). Predicting future distributions of mountain plants under climate change: does dispersal capacity matter? *Ecography*, *32*(1), 34–45. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2009.05789.x>
- Eremrena, P. O., & Mensah, S. I. (2016). Effect of plant growth regulators and nitrogenous compounds on seed germination of pepper (*Capsicum frutescens* L). *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, *20*(2), 242–250.
- Escudero-Alcántara, A., & Iriondo-Alegría, J. M. (2003). Restauración de poblaciones de plantas amenazadas. In J. . Rey, J.M., Espigares, T. & Nicolau (Ed.), *Restauración de ecosistemas mediterrneos* (pp. 113–140). Madrid: Universidad de Alcala.
- Escudero, A., Carnes, L. F., & Pérez-García, F. (1997). Seed germination of gypsophytes and gypsovags in semi-arid central Spain. *Journal of Arid Environments*, *36*(3), 487–497. <https://doi.org/10.1006/JARE.1996.0215>
- ESRI. (2015). *ArcGIS 10.3.1 for Desktop*. Redlands: Environmental Science Research Institute.
- European Commission. (2000). Managing Natura 2000 sites. The provisions of article 6 of the “Habitats” Directive 92/43/CEE. *EU, Luxembourg*.
- Farnsworth, E. J., & Ogurcak, D. E. (2006). Biogeography and decline of rare plants in New England: historical evidence and contemporary monitoring. *Ecological Applications*, *16*(4), 1327–1337. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2006\)016\[1327:badorp\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2006)016[1327:badorp]2.0.co;2)
- Faucheux, M. J. (1991). Morphology and distribution of sensilia on the cephalic appendages, tarsi and ovipositor of the European sunflower moth, *Homoeosoma nebulella* Den. & Schiff. (Lepidoptera : Pyralidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, *20*(6), 291–307. [https://doi.org/10.1016/0020-7322\(91\)90018-5](https://doi.org/10.1016/0020-7322(91)90018-5)
- Fenner, M., & Thompson, K. (2005). *The ecology of seeds*. Cambridge University Press.
- Fernández González, I., Juan Rodríguez, R., & Pastor Díaz, J. E. (1995). Ecología de la germinación en especies del género *Veronica* (Scrophulariaceae) del so de España. *Acta Botanica Malacitana*, *20*, 43–50.
- Ferrarini, A. (2012). I think different: Models of climate warming impact on plant species are unrealistic. *Environmental Skeptics and Critics*, *1*(2), 30. Retrieved from <https://search.proquest.com/openview/510f8c1ae8ea692aec67656bc4de62ef/1?pq-origsite=gscholar&cbl=1316357>
- Ferrer Gallego, P. P., Ferrando Pardo, I., Navarro Peris, A., Oltra Benavent, J. E., Pérez Botella, J., Carchano Jorda, R., ... Laguna, E. (2017). Estado de conservación de *Narcissus perezlarae* Font Quer (Amaryllidaceae) en la Comunidad Valenciana.
- Ferrier, S., Watson, G., Pearce, J., & Drielsma, M. (2002). Extended statistical approaches to modelling spatial pattern in biodiversity in northeast New South Wales. I. Species-level modelling. *Biodiversity & Conservation*, *11*(12), 2275–2307. <https://doi.org/10.1023/a:1021302930424>
- Fielding, A. H., & Bell, J. F. (1997). A review of methods for the assessment of prediction

- errors in conservation presence/absence models. *Environmental Conservation*, 24(1), 38–49. <https://doi.org/10.1017/s0376892997000088>
- Fitter, A. H., & Fitter, R. S. R. (2002). Rapid Changes in Flowering Time in British Plants. *Science*, 296(5573), 1689–1691. <https://doi.org/10.1126/science.1071617>
- Fløjgaard, C., Normand, S., Skov, F., & Svenning, J.-C. (2011). Deconstructing the mammal species richness pattern in Europe – towards an understanding of the relative importance of climate, biogeographic history, habitat heterogeneity and humans. *Global Ecology and Biogeography*, 20(2), 218–230. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2010.00604.x>
- Fontaine, B., Bouchet, P., Van Aelterberg, K., Alonso-Zarazaga, M. A., Araujo, R., Asche, M., ... et al. (2007). The European union's 2010 target: Putting rare species in focus. *Biological Conservation*, 139(1–2), 167–185. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2007.06.012>
- Foody, G. M. Ecological applications of remote sensing and GIS (2007). Elsevier.
- Fraga, P., & Arguimbau, I. (2000). Intentos de reintroducción de “*Lysimachia minoricensis*” JJ Rodr. en Menorca. *Conservación Vegetal*, (5), 12.
- Frankham, R. (2010). Challenges and opportunities of genetic approaches to biological conservation. *Biological Conservation*, 143(9), 1919–1927. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2010.05.011>
- Frankham, R., Briscoe, D. A., & Ballou, J. D. (2002). *Introduction to conservation genetics*. (2, Ed.). Cambridge, United Kingdom: Cambridge university press.
- Franklin, J. (2010). *Mapping species distributions: spatial inference and prediction*. Cambridge University Press.
- Galán, C. P. (1993). *Isatis* L. In S. et al. CASTROVIEJO (Ed.), *Flora Iberica* (Vol. IV, pp. 43–46). Madrid: Real Jardín Botánico (CSIC).
- Gallart, M., Verdú, A. M. C., & Mas, M. T. (2008). Dormancy breaking in *Digitaria sanguinalis* seeds: the role of the caryopsis covering structures. *Seed Science and Technology*, 36(2), 259–270. <https://doi.org/10.15258/sst.2008.36.2.01>
- García, F. M., Álvarez, S. G., Rubiales, J. M., García-Amorena, I., & García, S. G. (2008). *Senecio coinnyi* Rouy. (Atlas y Libro Rojo de la Flora Vascular Amenazada de España - Adenda 2008, Ed.), *Ficha de Síntesis Del Catálogo de Flora Amenazada de España*. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente.
- García, F. M., García, S. G., Mijarra, J. M. P., Molino, C. M., & Mateos, L. H. (2009). *Senecio coinnyi* Rouy. *Fichas Del Catálogo de Flora Protegida En Castilla Y León*. Madrid.
- Garzón, M. B., de Dios, R. S., & Ollero, H. S. (2008). Effects of climate change on the distribution of Iberian tree species. *Applied Vegetation Science*, 11(2), 169–178. <https://doi.org/10.3170/2008-7-18348>
- Gaston, K. J., & Spicer, J. I. (2004). *Biodiversity: an introduction*. (B. Publishing, Ed.) (2nd ed.). Oxford, UK: Blackwell Publishing Company.

- Gentili, R., Baroni, C., Caccianiga, M., Armiraglio, S., Ghiani, A., & Citterio, S. (2015). Potential warm-stage microrefugia for alpine plants: Feedback between geomorphological and biological processes. *Ecological Complexity*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.ecocom.2014.11.006>
- Giménez-Benavides, L., Escudero, A., & Pérez-García, F. (2005). Seed germination of high mountain Mediterranean species: altitudinal, interpopulation and interannual variability. *Ecological Research*, 20(4), 433–444.
- Giorgi, A. P., Rovzar, C., Davis, K. S., Fuller, T., Buermann, W., Saatchi, S., ... Gillespie, T. W. (2014). Spatial conservation planning framework for assessing conservation opportunities in the Atlantic Forest of Brazil. *Applied Geography*, 53, 369–376. <https://doi.org/10.1016/j.apgeog.2014.06.013>
- Giorgi, F., & Lionello, P. (2008). Climate change projections for the Mediterranean region. *Global and Planetary Change*, 63(2–3), 90–104. <https://doi.org/10.1016/J.GLOPLACHA.2007.09.005>
- Godefroid, S., Piazza, C., Rossi, G., Buord, S., Stevens, A.-D., Aguraiuja, R., ... Vanderborght, T. (2011). How successful are plant species reintroductions? *Biological Conservation*, 144(2), 672–682. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2010.10.003>
- González-Benito, M. E., Ortiz-Marcide, J. M., & Martínez-Laborde, J. M. (n.d.). En recuerdo de César Gómez-Campo, maestro de botánicos. Retrieved March 6, 2018, from <http://www.upm.es/portal/site/institucional/menuitem.fa77d63875fa4490b99bfa04dffb46a8/?vgnextoid=b3468de73d7b3210VgnVCM10000009c7648aRCRD>
- González-Talaván, A., Bernardos-Hernández, S., Sánchez-Agudo, J. A., & Amich-García, F. (2004). *Isatis platyloba* Link ex Steud. In B. G. BAÑARES Á. GÜEMES J., MORENO J.C. & ORTIZ S. (Ed.), *Atlas y Libro Rojo de la Flora Vasculare Amenazada de España*. Madrid: Dirección General de Conservación de la Naturaleza.
- Graham, M. H. (2003). Confronting multicollinearity in ecological multiple regression. *Ecology*, 84(11), 2809–2815. <https://doi.org/10.1890/02-3114>
- Greve, M., Stoffelen, P., Bigendako, M. J., De Canniegrave, C., Svenning, J.-C., & Bogaert, J. (2012). Modelling the spatial distribution of endemic Caesalpinioideae in Central Africa, a contribution to the evaluation of actual protected areas in the region. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 4(3), 118–129. <https://doi.org/10.5897/IJBC11.150>
- Grzesik, M., Górnik, K., Janas, R., Lewandowki, M., Romanowska-Duda, Z., & Duijn, B. van. (2017). High efficiency stratification of apple cultivar Ligor seed dormancy by phytohormones, heat shock and pulsed radio frequency. *Journal of Plant Physiology*, 219, 81–90. <https://doi.org/10.1016/J.JPLPH.2017.09.007>
- Guerrant, E. O., Fiedler, P. L., Havens, K., & Maunder, M. (2004). Revised genetic sampling guidelines for conservation collections of rare and endangered plants. *Ex Situ Plant Conservation: Supporting Species Survival in the Wild*, 419–438.
- Guerrant, E. O., & Kaye, T. N. (2007). Reintroduction of rare and endangered plants: common factors, questions and approaches. *Australian Journal of Botany*, 55(3), 362–370. Retrieved from <https://doi.org/10.1071/BT06033>

- Guerrant, E. O., & Pavlik, B. M. (1998). Reintroduction of Rare Plants: Genetics, Demography, and the Role of *Ex Situ* Conservation Methods. In P. L. Fiedler & P. M. Kareiva (Eds.), *Conservation Biology: For the Coming Decade* (pp. 80–108). Boston, MA: Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6051-7_5
- Guisan, A., Broennimann, O., Engler, R., Vust, M., Yoccoz, N. G., Lehmann, A., & Zimmermann, N. E. (2006). Using Niche-Based Models to Improve the Sampling of Rare Species. *Conservation Biology*, 20(2), 501–511. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2006.00354.x>
- Guisan, A., Edwards, T. C., & Hastie, T. (2002). Generalized linear and generalized additive models in studies of species distributions: setting the scene. *Ecological Modelling*, 157(2), 89–100. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(02\)00204-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(02)00204-1)
- Guisan, A., & Thuiller, W. (2005). Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. *Ecology Letters*, 8(9), 993–1009. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00792.x>
- Guisan, A., Tingley, R., Baumgartner, J. B., Naujokaitis-Lewis, I., Sutcliffe, P. R., Tulloch, A. I. T., ... Buckley, Y. M. (2013). Predicting species distributions for conservation decisions. *Ecology Letters*, 16(12), 1424–1435. <https://doi.org/10.1111/ele.12189>
- Guisan, A., & Zimmermann, N. E. (2000). Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological Modelling*, 135(2), 147–186. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(00\)00354-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(00)00354-9)
- Hájková, L., & Krekule, J. (1972). The Developmental Pattern in a Group of Therophytes. *Flora*, 161(1), 111–120. [https://doi.org/10.1016/S0367-2530\(17\)32053-4](https://doi.org/10.1016/S0367-2530(17)32053-4)
- Hansen, A. J., Neilson, R. P., Dale, V. H., Flather, C. H., Iverson, L. R., Currie, D. J., ... Bartlein, P. J. (2001). Global Change in Forests: Responses of Species, Communities, and Biomes Interactions between climate change and land use are projected to cause large shifts in biodiversity. *BioScience*, 51(9), 765–779. Retrieved from [http://dx.doi.org/10.1641/0006-3568\(2001\)051\[0765:GCIFRO\]2.0.CO](http://dx.doi.org/10.1641/0006-3568(2001)051[0765:GCIFRO]2.0.CO)
- Harrell, F. E., Lee, K. L., & Mark, D. B. (1996). Multivariable prognostic models: issues in developing models, evaluating assumptions and adequacy, and measuring and reducing errors. *Statistics in Medicine*, 15(4), 361–387. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0258\(19960229\)15:4<361::aid-sim168>3.0.co;2-4](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0258(19960229)15:4<361::aid-sim168>3.0.co;2-4)
- Heiberger, R. M. (2017). HH: Statistical analysis and data display: Heiberger and Holland. R package version 3.1-34, <https://CRAN.R-project.org/package=HH>.
- Hengl, T., de Jesus, J. M., MacMillan, R. A., Batjes, N. H., Heuvelink, G. B. M., Ribeiro, E., ... Gonzalez, M. R. (2014). SoilGrids1km — Global Soil Information Based on Automated Mapping. *PLOS ONE*, 9(8), e105992. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105992>
- Hernandez, P. A., Graham, C. H., Master, L. L., & Albert, D. L. (2006). The effect of sample size and species characteristics on performance of different species distribution modeling methods. *Ecography*, 29(5), 773–785. <https://doi.org/10.1111/j.0906-7590.2006.04700.x>
- Herranz, J. M., Ferrandis, P., & Martínez-Duro, E. (2010). Seed germination ecology of the threatened endemic Iberian *Delphinium fissum* subsp. *sordidum* (Ranunculaceae). *Plant*

- Ecology*, 211(1), 89–106. <https://doi.org/10.1007/s11258-010-9775-0>
- Heywood, V. H. (2016). *In situ* conservation of plant species – an unattainable goal? *Israel Journal of Plant Sciences*, 63(4), 211–231. <https://doi.org/10.1080/07929978.2015.1035605>
- Heywood, V. H., & Culham, A. (2009). The impacts of climate change on plant species in Europe. *Report to the Council of Europe*, 98.
- Heywood, V. H., & Iriondo-Alegría, J. M. (2003). Plant conservation: old problems, new perspectives. *Biological Conservation*, 113(3), 321–335. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(03\)00121-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(03)00121-6)
- Hijioka, Y., Lin, E., Pereira, J. J., Corlett, R. T., Cui, X., Insarov, G. E., ... Surjan, A. (2014). Climate Change 2014: Impacts Adaptation, and Vulnerability. Part B. *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability Part B: Regional Aspects Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, 1327–1370.
- Hijmans, R. J., Cameron, S. E., Parra, J. L., Jones, P. G., & Jarvis, A. (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 25(15), 1965–1978. <https://doi.org/10.1002/joc.1276>
- Hirzel, A. H., Posse, B., Oggier, P.-A., Crettenand, Y., Glenz, C., & Arlettaz, R. (2004). Ecological requirements of reintroduced species and the implications for release policy: the case of the bearded vulture. *Journal of Applied Ecology*, 41(6), 1103–1116. <https://doi.org/10.1111/j.0021-8901.2004.00980.x>
- Hmeljevski, K. V., Freitas, L., Domingues, R., Pereira, A. R., Cancio, A. S., Andrade, A. C. S., ... Forzza, R. C. (2014). Conservation assessment of an extremely restricted bromeliad highlights the need for population-based conservation on granitic inselbergs of the Brazilian Atlantic Forest. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 209(5–6), 250–259. <https://doi.org/10.1016/J.FLORA.2014.03.004>
- Hoban, S., & Schlarbaum, S. (2014). Optimal sampling of seeds from plant populations for *ex situ* conservation of genetic biodiversity, considering realistic population structure. *Biological Conservation*, 177, 90–99. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2014.06.014>
- Holzschuh, A., Dormann, C. F., Tschardtke, T., & Steffan-Dewenter, I. (2011). Expansion of mass-flowering crops leads to transient pollinator dilution and reduced wild plant pollination. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. <https://doi.org/10.1098/rspb.2011.0268>
- Hong, T. D., Ellis, R. H., & Linington, S. (1998). *Compendium of information on seed storage behaviour*. The Royal Botanic Gardens.
- Hooftman, D. A., van Kleunen, M., & Diemer, M. (2003). Effects of habitat fragmentation on the fitness of two common wetland species, *Carex davalliana* and *Succisa pratensis*. *Oecologia*, 134(3), 350–359. <https://doi.org/10.1007/s00442-002-1096-0>
- Houghton, J. T., Ding, Y., Griggs, D. J., Noguier, M., van der Linden, P. J., Dai, X., ... Johnson, C. A. (2001). *Climate Change 2001: the scientific basis third assessment report of the intergovernmental panel on climate change*. Cambridge: Cambridge University

Press.

- Hu, X. W., Huang, X. H., & Wang, Y. R. (2012). Hormonal and temperature regulation of seed dormancy and germination in *Leymus chinensis*. *Plant Growth Regulation*, 67(2), 199–207.
- Hugo, E., Saayman-Du Toit, A. E. J., & Reinhardt, C. F. (2014). Germination characteristics of the grass weed *Digitaria nuda* (Schumach.). *South African Journal of Botany*, 90, 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.10.004>
- Huntley, B., Barnard, P., Altwegg, R., Chambers, L., Coetzee, B. W. T., Gibson, L., ... Willis, S. G. (2010). Beyond bioclimatic envelopes: dynamic species' range and abundance modelling in the context of climatic change. *Ecography*, 33(3), 621–626. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2009.06023.x>
- Ibáñez, Calero, Mayol, & Rosselló. (1999). Isozyme uniformity in a wild extinct insular plant, *Lysimachia minoricensis* J.J. Rodr. (Primulaceae). *Molecular Ecology*, 8(5), 813–817. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.1999.00633.x>
- Iriondo Alegría, J. M. (2001). Conservación de germoplasma de especies raras y amenazadas (Revisión). *Investigación Agraria. Producción Y Protección Vegetales-INIA (España)*, 16(1), 5–24.
- Isselstein, J., Tallwin, J. R. B., & Smith, R. E. N. (2002). Factors Affecting Seed Germination and Seedling Establishment of Fen-Meadow Species. *Restoration Ecology*, 10(2), 173–184. <https://doi.org/10.1046/j.1526-100X.2002.00045.x>
- ISTA. (2003). ISTA working sheets on tetrazolium testing. *Volume I–Agricultural, Vegetable and Horticultural Species*. Zurich: International Seed Testing Association.
- ISTA. (2004a). *International rules for seed testing*. (E. 2004, Ed.), (*International rules for seed testing*). Bassersdorf, CH-Switzerland: The International Seed Testing Association (ISTA).
- ISTA. (2004b). *The International Seed Testing Association (ISTA)*. (E. 2004, Ed.), (*International rules for seed testing*). Bassersdorf.
- IUCN. (1994). IUCN Red List categories. *World Conservation Union, Gland, Switzerland*.
- IUCN. (2001). *Categorías y criterios de la Lista Roja de la UICN, versión 3.1*. Gland, Switzerland and Cambridge, UK: Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza de los Recursos Naturales Comisión de Supervivencia de Especies de la UICN (en Español).
- IUCN. (2013). Guidelines for reintroductions and other conservation translocations. *Gland Switz Camb UK IUCNSSC Re-Introd Spec Group*.
- Jaarsma, C. F., van Langevelde, F., Baveco, J. M., van Eupen, M., & Arisz, J. (2007). Model for rural transportation planning considering simulating mobility and traffic kills in the badger *Meles meles*. *Ecological Informatics*, 2(2), 73–82. <https://doi.org/10.1016/J.ECOINF.2007.04.004>
- Jarvis, A., Reuter, H. I., Nelson, A., & Guevara, E. (2008). Hole-filled SRTM for the globe Version 4. Available from the CGIAR-CSI SRTM 90m Database (<Http://srtm.Csi.Cgiar>).

Org).

- Jiménez-Alfaro, B., Draper, D., & Nogués-Bravo, D. (2012). Modeling the potential area of occupancy at fine resolution may reduce uncertainty in species range estimates. *Biological Conservation*, 147(1), 190–196. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biocon.2011.12.030>
- Jiménez-Valverde, A., Lira-Noriega, A., Peterson, A. T., & Soberón, J. (2010). Marshalling existing biodiversity data to evaluate biodiversity status and trends in planning exercises. *Ecological Research*, 25(5), 947–957. <https://doi.org/10.1007/s11284-010-0753-8>
- Joshi, M., Charles, B., Ravikanth, G., & Aravind, N. A. (2017). Assigning conservation value and identifying hotspots of endemic rattan diversity in the Western Ghats, India. *Plant Diversity*, 39(5), 263–272. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2017.08.002>
- Jusaitis, M., Polomka, L., & Sorensen, B. (2004). Habitat specificity, seed germination and experimental translocation of the endangered herb *Brachycome muelleri* (Asteraceae). *Biological Conservation*, 116(2), 251–266. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(03\)00196-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(03)00196-4)
- Karssen, C. M., Zagorski, S., Kepczynski, J., & Groot, S. P. C. (1989). Key Role for Endogenous Gibberellins in the Control of Seed Germination. *Annals of Botany*, 63(1), 71–80. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a087730>
- Kato, R., & Kadono, Y. (2011). Seed germination traits of *Trapella sinensis* (Trapellaceae), an endangered aquatic plant in Japan: Conservation implications. *Aquatic Botany*, 95(4), 258–261. <https://doi.org/10.1016/J.AQUABOT.2011.08.002>
- Keshtkar, H., & Voigt, W. (2016). Potential impacts of climate and landscape fragmentation changes on plant distributions: Coupling multi-temporal satellite imagery with GIS-based cellular automata model. *Ecological Informatics*, 32, 145–155. <https://doi.org/10.1016/J.ECOINF.2016.02.002>
- Kettenring, K. M., & Galatowitsch, S. M. (2007). Tools for *Carex* revegetation in freshwater wetlands: understanding dormancy loss and germination temperature requirements. *Plant Ecology*, 193(2), 157–169. <https://doi.org/10.1007/s11258-006-9255-8>
- Khurana, E., & Singh, J. S. (2001). Ecology of seed and seedling growth for conservation and restoration of tropical dry forest: a review. *Environmental Conservation*, 28(1), 39–52.
- Kim, S. Y., Oh, S. H., Hwang, W. H., Kim, S. M., Choi, K. J., & Kang, H. W. (2008). Physical dormancy in seeds of Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.) from Korea. *Korean J Crop Sci*, 53(4), 421–426.
- Kimura, E., & Islam, M. A. (2012). Seed scarification methods and their use in forage legumes. *Res J Seed Sci*, 5, 38–50.
- Koo, K. A., Park, S. U., Kong, W.-S., Hong, S., Jang, I., & Seo, C. (2017). Potential climate change effects on tree distributions in the Korean Peninsula: Understanding model & climate uncertainties. *Ecological Modelling*, 353, 17–27. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2016.10.007>
- Kumar, S., & Stohlgren, T. J. (2009). Maxent modeling for predicting suitable habitat for

threatened and endangered tree *Canacomyrica monticola* in New Caledonia. *Journal of Ecology and the Natural Environment*, 1(4), 94–98.

Laguna, E. (2001). *The micro-reserves as a tool for conservation of threatened plants in Europe* (Vol. 121). Council of Europe.

Laguna, E., Deltoro, V. I., Pèrez-Botella, J., Pèrez-Rovira, P., Serra, L., Olivares, A., & Fabregat, C. (2004). The role of small reserves in plant conservation in a region of high diversity in eastern Spain. *Biological Conservation*, 119(3), 421–426.
<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2004.01.001>

Lassueur, T., Joost, S., & Randin, C. F. (2006). Very high resolution digital elevation models: Do they improve models of plant species distribution? *Ecological Modelling*, 198(1), 139–153. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2006.04.004>

Laurance, W. F. (2010). Habitat destruction: death by a thousand cuts. In S. N. Sodhi & P. R. Ehrlich (Eds.), *Conservation biology for all* (pp. 73–88). New York: Oxford University Press.

Laurance, W. F., Lovejoy, T. E., Vasconcelos, H. L., Bruna, E. M., Didham, R. K., Stouffer, P. C., ... Sampaio, E. (2002). Ecosystem Decay of Amazonian Forest Fragments: a 22-Year Investigation. *Conservation Biology*, 16(3), 605–618.
<https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2002.01025.x>

Lessmann, J., Muñoz, J., & Bonaccorso, E. (2014). Maximizing species conservation in continental Ecuador: a case of systematic conservation planning for biodiverse regions. *Ecology and Evolution*, 4(12), 2410–2422. <https://doi.org/10.1002/ece3.1102>

Liu, C., Berry, P. M., Dawson, T. P., & Pearson, R. G. (2005). Selecting thresholds of occurrence in the prediction of species distributions. *Ecography*, 28(3), 385–393.
<https://doi.org/10.1111/j.0906-7590.2005.03957.x>

Lizana, M., & Rodríguez, R. (2013). La Biodiversidad de Castilla y León. Salamanca. Disponible en: <[https://diarium.usal.es/bibagro/2013/02/06/la-biodiversidad-de-castilla-y-leon-su-inventario-gestion-y-conservacion%E2%80%9C/](https://diarium.usal.es/bibagro/2013/02/06/la-biodiversidad-de-castilla-y-leon-su-inventario-gestion-y-conservacion%E2%80%9C/>)>: La biodiversidad de Castilla y León: su inventario, gestión y conservación. Retrieved from <https://diarium.usal.es/bibagro/2013/02/06/la-biodiversidad-de-castilla-y-leon-su-inventario-gestion-y-conservacion>“/

Lomba, A., Pellissier, L., Randin, C., Vicente, J., Moreira, F., Honrado, J., & Guisan, A. (2010). Overcoming the rare species modelling paradox: a novel hierarchical framework applied to an Iberian endemic plant. *Biological Conservation*, 143(11), 2647–2657.

López, P. G., & Medina, A. R. (1988). Dos nuevos táxones para el valle de Sanabria (Zamora). In *Anales del Jardín Botánico de Madrid* (Vol. 45, pp. 353–354). Real Jardín Botánico.

Lozano, F. D., Herbada, D. G., Rivero, L. M., Moreno Saiz, J. C., Ollero, H. S., Saiz, J. C. M., & Ollero, H. S. (1996). Threatened plants in Peninsular and Balearic Spain: A report based on the EU Habitats Directive. *Biological Conservation*, 76(2), 123–133.
[https://doi.org/10.1016/0006-3207\(95\)00107-7](https://doi.org/10.1016/0006-3207(95)00107-7)

Luijten, S. H., Dierick, A., Gerard, J., Oostermeijer, B., Raijmann, L. E. L., & Den Nijs, H. C.

- M. (2000). Population Size, Genetic Variation, and Reproductive Success in a Rapidly Declining, Self-Incompatible Perennial (*Arnica montana*) in The Netherlands. *Conservation Biology*, 14(6), 1776–1787. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2000.99345.x>
- Luna, B., & Moreno, J. M. (2009). Light and nitrate effects on seed germination of Mediterranean plant species of several functional groups. *Plant Ecology*, 203(1), 123–135.
- Luoto, M., Virkkala, R., & Heikkinen, R. K. (2007). The role of land cover in bioclimatic models depends on spatial resolution. *Global Ecology and Biogeography*, 16(1), 34–42. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2006.00262.x>
- Maassoumi, A. A. (1998). *Astragalus in the Old World: check-list*. (Vol. 194). Tehrān, Iran: Research Institute of Forests and Rangelands.
- MAGRAMA. (2014). *Quinto Informe sobre la Diversidad Biológica*. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Disponible en: <https://www.cbd.int/doc/world/es/es-nr-05-es.pdf>. Retrieved from <https://www.cbd.int/doc/world/es/es-nr-05-es.pdf>
- Marmion, M., Parviainen, M., Luoto, M., Heikkinen, R. K., & Thuiller, W. (2009). Evaluation of consensus methods in predictive species distribution modelling. *Diversity and Distributions*, 15(1), 59–69. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2008.00491.x>
- Martinez-Fernandez, V., Martínez-García, F., & Garcia, F. P. (2014). Census, reproductive biology, and germination of *Astragalus gines-lopezii* (Fabaceae), a narrow and endangered endemic species of SW Spain. *Turkish Journal of Botany*, 38(4), 686–695.
- Martínez-García, F., Guerrero-García, S., & Pérez-García, F. (2012). Evaluation of reproductive success and conservation strategies for *Senecio coincoyi* (Asteraceae), a narrow and threatened species. *Australian Journal of Botany*, 60(6), 517–525. <https://doi.org/10.1071/BT12109>
- Martínez-Ortega, M. M., Sánchez-Agudo, J. Á., & Rico, E. (2009). *Veronica* L. (Scrophulariaceae). In C. A. S. Castroviejo S. Cirujano, M. Laínz, P. Montserrat, R. Morales, F. Muñoz Garmendia, C. Navarro, J. Paiva & C. Soriano (Ed.), “*Flora ibérica*” (Vol. 16, pp. 360–434). Madrid: Real Jardín Botánico, CSIC.
- Martínez, J., Valcárcel, V., Fiz, O., & Vargas, P. (2004). *Astragalus devesae* Talavera, A. González & G. López. In B. G. Bañares A Güemes S, Ortiz S, Moreno J C (Ed.), *Libro Rojo de la Flora Vasculare Española* (pp. 132–133). Madrid, Spain.
- Maunder, M. (1992). Plant reintroduction: an overview. *Biodiversity & Conservation*, 1(1), 51–61. <https://doi.org/10.1007/BF00700250>
- McGowan, P. J. K., Traylor-Holzer, K., & Leus, K. (2017). IUCN Guidelines for Determining When and How *Ex Situ* Management Should Be Used in Species Conservation. *Conservation Letters*, 10(3), 361–366. <https://doi.org/10.1111/conl.12285>
- McNeely, J. A., Miller, K. R., Reid, W. V., Mittermeier, R. A., & Werner, T. B. (1990). *Conserving the worlds biological diversity*. Switzerland: Gland: International Union for Conservation of Nature and Natural Resources.

- McShea, W. J., Koy, K., Clements, T., Johnson, A., Vongkhamheng, C., & Aung, M. (2005). Finding a needle in the haystack: Regional analysis of suitable Eld's deer (*Cervus eldi*) forest in Southeast Asia. *Biological Conservation*, *125*(1), 101–111.
<https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2005.03.013>
- MEA. (2005). Ecosystems and human well-being: wetlands and water. *Assessment Millennium Ecosystem*. World Resources Institute, Washington, DC, 5, 1–25.
- Medrano, M., & Herrera, C. M. (2008). Geographical Structuring of Genetic Diversity Across the Whole Distribution Range of *Narcissus longispatus*, a Habitat-specialist, Mediterranean Narrow Endemic. *Annals of Botany*, *102*(2), 183–194.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcn086>
- Meinshausen, M., Smith, S. J., Calvin, K., Daniel, J. S., Kainuma, M. L. T., Lamarque, J.-F., ... van Vuuren, D. P. P. (2011). The RCP greenhouse gas concentrations and their extensions from 1765 to 2300. *Climatic Change*, *109*(1), 213.
<https://doi.org/10.1007/s10584-011-0156-z>
- Mekuriaw, A., Heinimann, A., Zeleke, G., Hurni, H., & Hurni, K. (2017). An automated method for mapping physical soil and water conservation structures on cultivated land using GIS and remote sensing techniques. *Journal of Geographical Sciences*, *27*(1), 79–94. <https://doi.org/10.1007/s11442-017-1365-9>
- Menges, E. S. (1991). Seed Germination Percentage Increases with Population Size in a Fragmented Prairie Species. *Conservation Biology*, *5*(2), 158–164.
<https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.1991.tb00120.x>
- Menges, E. S. (2008). Restoration demography and genetics of plants: when is a translocation successful? *Australian Journal of Botany*, *56*(3), 187–196. Retrieved from <https://doi.org/10.1071/BT07173>
- Miller, C., & Urban, D. L. (1999). Forest Pattern, Fire, and Climatic Change in the Sierra Nevada. *Ecosystems*, *2*(1), 76–87. <https://doi.org/10.1007/s100219900060>
- Miller, R. L., Schmidt, G. A., Nazarenko, L. S., Tausnev, N., Bauer, S. E., DelGenio, A. D., ... Shindell, D. T. (2014). CMIP5 historical simulations (1850–2012) with GISS ModelE2. *Journal of Advances in Modeling Earth Systems*, *6*(2), 441–478.
- Miransari, M., & Smith, D. L. (2014). Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, *99*, 110–121.
<https://doi.org/10.1016/J.ENVEXPBOT.2013.11.005>
- Mittermeier, R. A., Myers, N., Mittermeier, C. G., & Robles, G. (1999). *Hotspots: Earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions*. CEMEX, SA, Agrupación Sierra Madre, SC.
- Mohammad Esmaili, M., Sattarian, A., Bonis, A., & Bouzillé, J.-B. (2012). Ecology of seed dormancy and germination of *Carex divisa* Huds.: Effects of stratification, temperature and salinity. *International Journal of Plant Production*, *3*(2), 27–40.
- Monprapussorn, S. (2017). Impact of climate and land use change on ecosystem services: A case study of Samutsakorn province, Thailand. *Ecological Informatics*.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2017.08.007>

- Moreno, J. C. (Ed.). (2008). *Lista Roja 2008 de la flora vascular española*. Madrid: Dirección General de Medio Natural y Política Forestal. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, y Sociedad Española de Biología de la Conservación.
- Moreno, J. C. (Ed.). (2011). *Lista Roja de la Flora Vascular Española 2008. Actualización con los datos del Adenda 2010 al Atlas y Libro Rojo de la Flora Vascular Amenazada*. Madrid: Dirección General de Medio Natural y Política Forestal. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, y Sociedad Española de Biología de la Conservación.
- Moreno Saiz, J. C., Lozano, F. D., Gómez, M. M., & Baudet, Á. B. (2015). Application of the Red List Index for conservation assessment of Spanish vascular plants. *Conservation Biology*, 29(3), 910–919. <https://doi.org/10.1111/cobi.12437>
- Morueta-Holme, N., Fløjgaard, C., & Svenning, J.-C. (2010). Climate Change Risks and Conservation Implications for a Threatened Small-Range Mammal Species. *PLOS ONE*, 5(4), e10360. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010360>
- Muñoz-Centeno, L. M., Delgado-Sánchez, L., López-González, B., Rojas-Andrés, B., & Rico-Hernández, E. (2009). *Isatis platyloba* Link ex Steud. (Departamento de Botánica. Universidad de Salamanca, Ed.), *Fichas Del Catálogo de Flora Protegida En Castilla Y León*. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente.
- Muñoz-Centeno, L. M., Delgado-Sánchez, L., López-González, B., Rojas-Andrés, B., & Rico-Hernández, E. (2011). *Fichas del Catálogo de Flora Protegida en Castilla y León. Isatis platyloba* Link ex Steud. Colaboración entre la Universidad de León y la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Castilla y León.
- Muñoz-Rodríguez, P., Draper Munt, D., & Moreno Saiz, J. C. (2016). Global strategy for plant conservation: inadequate in situ conservation of threatened flora in Spain. *Israel Journal of Plant Sciences*, 63(4), 297–308. <https://doi.org/10.1080/07929978.2016.1257105>
- Myers, N. (2003). Biodiversity hotspots revisited. *BioScience*, 53(10), 916–917.
- Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., da Fonseca, G. A. B., & Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1038/35002501>
- Narbona, E., Delgado, A., Encina, F., Miguez, M., & Buide, M. L. (2013). Seed germination and seedling establishment of the rare *Carex helodes* Link depend on the proximity to water. *Aquatic Botany*, 110, 55–60. <https://doi.org/10.1016/J.AQUABOT.2013.05.005>
- Navarro, L., & Guitián, J. (2003). Seed germination and seedling survival of two threatened endemic species of the northwest Iberian peninsula. *Biological Conservation*, 109(3), 313–320. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(02\)00151-9](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(02)00151-9)
- Nazarenko, L., Schmidt, G. A., Miller, R. L., Tausnev, N., Kelley, M., Ruedy, R., ... Bauer, S. (2015). Future climate change under RCP emission scenarios with GISS ModelE2. *Journal of Advances in Modeling Earth Systems*, 7(1), 244–267.
- Newman, D., & Pilson, D. (1997). Increased Probability of Extinction Due to Decreased Genetic Effective Population Size: Experimental Populations of *Clarkia pulchella*.

Evolution, 51(2), 354–362. <https://doi.org/10.2307/2411107>

- Nikolaeva, M. G. (1969). Physiology of deep dormancy in seeds. Israel Programme for Scientists Translations, Jerusalem. 220 pp.
- Niu, S., & Wan, S. (2008). Warming changes plant competitive hierarchy in a temperate steppe in northern China. *Journal of Plant Ecology*, 1(2), 103–110. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtn003>
- Noronha, A., Andersson, L., & Milberg, P. E. R. (1997). Rate of Change in Dormancy Level and Light Requirement in Weed Seeds During Stratification. *Annals of Botany*, 80(6), 795–801. <https://doi.org/10.1006/anbo.1997.0520>
- Nowatzki, A., Cordeiro Santos, L. J., & Vedor de Paula, E. (2010). Utilização do SIG na delimitação das Áreas de Preservação Permanente (APP's) na bacia do Rio Sagrado (Morretes/PR). *Sociedade & Natureza*, 22(1).
- Ohlemüller, R., Anderson, B. J., Araújo, M. B., Butchart, S. H. M., Kudrna, O., Ridgely, R. S., & Thomas, C. D. (2008). The coincidence of climatic and species rarity: high risk to small-range species from climate change. *Biology Letters*, 4(5), 568–572. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2008.0097>
- Opdam, P., & Wascher, D. (2004). Climate change meets habitat fragmentation: linking landscape and biogeographical scale levels in research and conservation. *Biological Conservation*, 117(3), 285–297. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2003.12.008>
- Osborne, P. E., Foody, G. M., & Suárez-Seoane, S. (2007). Non-stationarity and local approaches to modelling the distributions of wildlife. *Diversity and Distributions*, 13(3), 313–323. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2007.00344.x>
- Ouborg, N. J., & Van Treuren, R. (1994). The significance of genetic erosion in the process of extinction. IV. Inbreeding load and heterosis in relation to population size in the mint *Salvia pratensis*. *Evolution*, 48, 996–1008.
- Padalia, H., Srivastava, V., & Kushwaha, S. P. S. (2014). Modeling potential invasion range of alien invasive species, *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. in India: Comparison of MaxEnt and GARP. *Ecological Informatics*, 22, 36–43. <https://doi.org/10.1016/J.ECOINF.2014.04.002>
- Panuccio, M. R., Fazio, A., Musarella, C. M., Mendoza-fernández, A. J., Mota, J. F., & Spampinato, G. (2017). Seed germination and antioxidant pattern in *Lavandula multifida* (Lamiaceae): a comparison between core and peripheral populations. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology*, 1–9.
- Papeş, M., & Gaubert, P. (2007). Modelling ecological niches from low numbers of occurrences: assessment of the conservation status of poorly known viverrids (Mammalia, Carnivora) across two continents. *Diversity and Distributions*, 13(6), 890–902. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2007.00392.x>
- Parmesan, C., & Yohe, G. (2003). A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature*, 421(6918), 37. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006320703004890>

- Patanè, C., & Gresta, F. (2006). Germination of *Astragalus hamosus* and *Medicago orbicularis* as affected by seed-coat dormancy breaking techniques. *Journal of Arid Environments*, 67(1), 165–173. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2006.02.001>
- Pearson, R. G. (2006). Climate change and the migration capacity of species. *Trends in Ecology & Evolution*, 21(3), 111–113. <https://doi.org/10.1016/J.TREE.2005.11.022>
- Pearson, R. G., Raxworthy, C. J., Nakamura, M., & Townsend Peterson, A. (2007). Predicting species distributions from small numbers of occurrence records: a test case using cryptic geckos in Madagascar. *Journal of Biogeography*, 34(1), 102–117. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2006.01594.x>
- Peres, C. A., Baider, C., Zuidema, P. A., Wadt, L. H. O., Kainer, K. A., Gomes-Silva, D. A. P., ... Freckleton, R. P. (2003). Demographic Threats to the Sustainability of Brazil Nut Exploitation. *Science*, 302(5653), 2112–2114. Retrieved from <http://science.sciencemag.org/content/302/5653/2112.abstract>
- Pérez-Badia, R., & Fernández-González, F. (2009). *Succisella microcephala* (Willk.) G. Beck. (Departamento de Ciencias Ambientales. Facultad de Ciencias del Medio Ambiente. Universidad de Castilla-La Mancha, Ed.), *Fichas Del Catálogo de Flora Protegida En Castilla Y León*. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente.
- Pérez-Badia, R., & Fernández-González, F. (2011). Fichas Catálogo de Flora Protegida en Castilla y León *Succisella microcephala* (Willk.) G. Beck. Colaboración entre la Universidad de León y la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Castilla y León.
- Pérez-García, F. (2008). Effect of cryopreservation, gibberellic acid and mechanical scarification on the seed germination of eight endemic species from the Canary Islands. *Seed Science and Technology*, 36(1), 237–242.
- Pérez-García, F. (2009). Germination characteristics and intrapopulation variation in carob (*Ceratonia siliqua* L.) seeds. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 7(2), 398–406.
- Phillips, S. J., Anderson, R. P., Dudík, M., Schapire, R. E., & Blair, M. E. (2017). Opening the black box: an open-source release of Maxent. *Ecography*, 40(7), 887–893. <https://doi.org/10.1111/ecog.03049>
- Phillips, S. J., Anderson, R. P., & Schapire, R. E. (2006a). A maximum entropy modelling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190(3–4), 231–259. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026>
- Phillips, S. J., Anderson, R. P., & Schapire, R. E. (2006b). Maximum entropy modelling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190, 231–259. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026>
- Phillips, S. J., & Dudík, M. (2008). Modeling of species distributions with Maxent: New extensions and a comprehensive evaluation. *Ecography*, 31(2), 161–175. <https://doi.org/10.1111/j.0906-7590.2008.5203.x>
- Phillips, S. J., Dudík, M., & Schapire, R. E. (2004). Maximum entropy approach to species distribution modeling. In *ACM International Conference Proceeding Series* (Vol. 69, pp. 83–92). ACM. <https://doi.org/10.1145/1015330.1015412>

- Pletterbauer, F., Graf, W., & Schmutz, S. (2016). Effect of biotic dependencies in species distribution models: The future distribution of *Thymallus thymallus* under consideration of *Allogamus auricollis*. *Ecological Modelling*, 327, 95–104. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2016.01.010>
- Podlech, D. (1986). Taxonomic and phytogeographical problems in *Astragalus* of the Old World and South-West Asia. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh. Section B. Biological Sciences*, 89, 37–43.
- Podlech, D. (1999). *Astragalus* L. In Talavera S, Aedo C, Castroviejo S, Romero Zarco C, Sáez L, Salgueiro FJ, & Velayos M (Eds.), *Flora Ibérica* (Vol. Vol. 7, pp. 279–338). Madrid, Spain: Real Jardín Botánico, CSIC.
- Prance, G. T. (2000). The conservation of botanical diversity. In *Plant Genetic Conservation* (pp. 3–14). Springer.
- Probert, R. J. (1992). The role of temperature in germination ecophysiology. *Seeds. The Ecology of Regeneration in Plant Communities*.
- Purves, D., & Pacala, S. (2008). Predictive Models of Forest Dynamics. *Science*, 320(5882), 1452–1453. <https://doi.org/10.1126/science.1155359>
- R Core Team. (2017). *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. <https://doi.org/https://www.r-project.org/>
- R Development Core Team. (2016). *R: A language and environment for statistical computing.*, *R Foundati*, Vienna, Austria. <https://doi.org/http://www.R-project.org/>
- Raijmann, L. E. L., Van Leeuwen, N. C., Kersten, R., Oostermeijer, J. G. B., Den Nijs, H. C. M., & Menken, S. B. J. (1994). Genetic Variation and Outcrossing Rate in Relation to Population Size in *Gentiana pneumonanthe* L. *Conservation Biology*, 8(4), 1014–1026. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1994.08041014.x>
- Ramos, S., Rincón, S., & Vázquez, F. M. (2010). Distribution and germination characteristics of *Astragalus gines-lopezii*: an endangered species. *Annales Botanici Fennici*, 47, 330–336.
- Randin, C. F., Vuissoz, G., Liston, G. E., Vittoz, P., & Guisan, A. (2009). Introduction of Snow and Geomorphic Disturbance Variables into Predictive Models of Alpine Plant Distribution in the Western Swiss Alps. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 41(3), 347–361. <https://doi.org/10.1657/1938-4246-41.3.347>
- Redford, K. H., Amato, G., Baillie, J., Beldomenico, P., Bennett, E. L., Clum, N., ... Thorbjarnarson, J. (2011). What Does It Mean to Successfully Conserve a (Vertebrate) Species? *BioScience*, 61(1), 39–48. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1525/bio.2011.61.1.9>
- Reid, W. V., & Miller, K. R. (1989). Keeping options alive. The scientific basis for conserving biodiversity. *Keeping Options Alive. The Scientific Basis for Conserving Biodiversity*.
- Reidsma, P., Tekelenburg, T., van den Berg, M., & Alkemade, R. (2006). Impacts of land-use change on biodiversity: An assessment of agricultural biodiversity in the European

- Union. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 114(1), 86–102.
<https://doi.org/10.1016/J.AGEE.2005.11.026>
- Reina-Rodríguez, G. A., Rubiano, J. E., Castro Llanos, F. A., & Otero, J. T. (2016). Spatial distribution of dry forest orchids in the Cauca River Valley and Dagua Canyon: Towards a conservation strategy to climate change. *Journal for Nature Conservation*, 30, 32–43.
<https://doi.org/10.1016/J.JNC.2016.01.004>
- Reyjol, Y., Hugueny, B., Pont, D., Bianco, P. G., Beier, U., Caiola, N., ... Ferreira, T. (2007). Patterns in species richness and endemism of European freshwater fish. *Global Ecology and Biogeography*, 16(1), 65–75.
- Riahi, K., Grübler, A., & Nakicenovic, N. (2007). Scenarios of long-term socio-economic and environmental development under climate stabilization. *Technological Forecasting and Social Change*, 74(7), 887–935. <https://doi.org/10.1016/j.techfore.2006.05.026>
- Rita, J., & Cursach, J. (2013). Creating new populations of *Apium bermejoi* (Apiaceae), a critically endangered endemic plant on Menorca (Balearic Islands). In *Anales del Jardín Botánico de Madrid* (Vol. 70). Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
- Rivas-Martínez, S., Rivas-Sáenz, S., & Penas-Merino, A. (2011). *Worldwide bioclimatic classification system*. *Global Geobotany* (Vol. 1). Backhuys Pub.
<https://doi.org/10.5616/gg110001>
- Rocha, J., da Silva, R. A., Amich, F., Martins, Á., Almeida, P., Aranha, J. T., ... Crespi, A. L. (2014). Biogeographic trends of endemic and subendemic flora in the western Iberian Peninsula under scenarios of future climate change. *Lazaroa*, 35, 19.
- Rodríguez Rojo, M. P., & Fernández-González, F. (2011). Fichas Catálogo de Flora Protegida en Castilla y León *Rhaponticum exaltatum* (Willk.) Greuter. Colaboración entre la Universidad de León y la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Castilla y León.
- Roem, W. J., Klees, H., & Berendse, F. (2002). Effects of nutrient addition and acidification on plant species diversity and seed germination in heathland. *Journal of Applied Ecology*, 39(6), 937–948. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2664.2002.00768.x>
- Rojo, M. L., & Fernández-González, F. (2009). *Rhaponticum exaltatum* (Willk.) Greuter. (Departamento de Ciencias Ambientales. Facultad de Ciencias del Medio Ambiente. Universidad de Castilla-La Mancha., Ed.), *Fichas Del Catálogo de Flora Protegida En Castilla Y León*. Ministerio de Agricultura Y Pesca, Alimentación Y Medio Ambiente.
- Root, T. L., Price, J. T., Hall, K. R., & Schneider, S. H. (2003). Fingerprints of global warming on wild animals and plants. *Nature*, 421(6918), 57. Retrieved from <https://search.proquest.com/openview/632c2f76c001ab8fa69301e1fddc953f/1?pq-origsite=gscholar&cbl=40569>
- Ruiz, M. A. (2009). El análisis de tetrazolio en el control de calidad de semillas. *Caso de Estudio: Cebadilla Chaqueña*. *EEA INTA Anguil Argentina* (77), 1–19. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/M_A_Ruiz/publication/280776094_El_analisis_de_tetrazolio_en_el_control_de_calidad_de_semillas_Caso_de_estudio_cebadilla_chaquena/links/55c6224108aeca747d633488/El-analisis-de-tetrazolio-en-el-control-de-calidad-de-semi

- Rull, V. (2009). Microrefugia. *Journal of Biogeography*. Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2008.02023.x>
- Rus, J. D., Ramírez-Rodríguez, R., Amich, F., & Melendo-Luque, M. (2017). Habitat distribution modelling, under the present climatic scenario, of the threatened endemic Iberian *Delphinium fissum* subsp. *sordidum* (Ranunculaceae) and implications for its conservation. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology*, 1–10. <https://doi.org/10.1080/11263504.2017.1359214>
- Russi, L., Cocks, P. S., & Roberts, E. H. (1992). Hard-seededness and seed bank dynamics of six pasture legumes. *Seed Science Research*, 2(4), 231–241.
- Ruttanaruangboworn, A., Chanprasert, W., Tobunluepop, P., & Onwimol, D. (2017). Effect of seed priming with different concentrations of potassium nitrate on the pattern of seed imbibition and germination of rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Integrative Agriculture*, 16(3), 605–613. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61441-7](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61441-7)
- Sachser, F., Nopp-Mayr, U., Zohmann, M., Schweiger, A.-K., Grünschachner-Berger, V., & Immitzer, M. (2017). Searching the right tie -Expert-based vs. statistical niche modeling for habitat management at the alpine treeline ecotone. *Ecological Engineering*, 100, 107–119. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.12.009>
- Sainz-Ollero, H., & Hernandez-Bermejo, J. E. (1979). Experimental reintroductions of endangered plant species in their natural habitats in Spain. *Biological Conservation*, 16(3), 195–206. [https://doi.org/10.1016/0006-3207\(79\)90021-1](https://doi.org/10.1016/0006-3207(79)90021-1)
- Sánchez-Agudo, J. A. (2008). *Estudio Biosistemático de Veronica sect. Pocilla y V. sect. Beccabunga*. Departamento de Botánica. Universidad de Salamanca, Salamanca.
- Sánchez-Agudo, J. A., & Rico, E. H. (2009). *Veronica chamaepithyoides* Lam. (Departamento de Botánica, Ed.), *Fichas Del Catálogo de Flora Protegida En Castilla Y León*. Salamanca.
- Sánchez Agudo, J. Á., Duran, S. S., Rodríguez de la Cruz, D., Reyes, E. S., & Sáchez, J. S. (2011). Conservación de flora amenazada en Castilla y León. Actividades del Banco de Germoplasma de la Universidad de Salamanca (BG - USAL). *V Congreso Biología de La Conservación de Plantas (in Spanish)*. España: Menorca.
- Sánchez Duran, S., Sánchez Agudo, J. Á., Rodríguez de la Cruz, D., Reyes, E. S., & Sáchez, J. S. (2011). Estudios germinativos de *Astragalus devesae* Talavera, A. González & G. López (Leguminosae): una especie en peligro de extinción en Castilla y León, España. *V Congreso Biología de La Conservación de Plantas (in Spanish)*. España: Menorca.
- Sang, W., Ma, K., & Axmacher, J. C. (2011). Securing a Future for China's Wild Plant Resources. *BioScience*, 61(9), 720–725. <https://doi.org/10.1525/bio.2011.61.9.11>
- Sarasan, V., Cripps, R., Ramsay, M. M., Atherton, C., McMichen, M., Prendergast, G., & Rowntree, J. K. (2006). Conservation *in vitro* of threatened plants - Progress in the past decade. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 42(3), 206–214. <https://doi.org/10.1079/ivp2006769>
- Schmidt, G. A., Kelley, M., Nazarenko, L., Ruedy, R., Russell, G. L., Aleinov, I., ... Bleck, R. (2014). Configuration and assessment of the GISS ModelE2 contributions to the

- CMIP5 archive. *Journal of Advances in Modeling Earth Systems*, 6(1), 141–184.
- Schütz, W., & Rave, G. (1999). The effect of cold stratification and light on the seed germination of temperate sedges (*Carex*) from various habitats and implications for regenerative strategies. *Plant Ecology*, 144(2), 215–230. <https://doi.org/10.1023/a:1009892004730>
- Secretariat of the Convention on Biological Diversity. (2000). *Sustaining Life on Earth: How the CBD Promotes Nature and Human Well-being*. Montreal: CBD.
- Secretariat of the Convention on Biological Diversity. (2002). *The global strategy for plant conservation*. CBD. Retrieved from <http://www.cbd.int/doc/publications/pc-brochure-en.pdf>
- Secretariat of the Convention on Biological Diversity. (2010). *Perspectiva Mundial sobre la Diversidad Biológica 3*. Montreal: CBD.
- Secretariat of the Convention on Biological Diversity. (2011). *GSPC Toolkit*. CBD. Retrieved from www.cbd.int/doc/%0Anotifications/2011/ntf-2011-017-gspc-en.pdf
- Sekercioglu, C. H. (2010). Ecosystem functions and services. In *Conservation biology for all* (Vol. 2010, pp. 45–72). Oxford University Press Oxford, United Kingdom.
- Sekercioglu, C. H., Ehrlich, P. R., Daily, G. C., Aygen, D., Goehring, D., & Sandi, R. F. (2002). Disappearance of insectivorous birds from tropical forest fragments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(1), 263–267. <https://doi.org/10.1073/pnas.012616199>
- Sharrock, S., & Jones, M. (2009). *Conserving Europe's threatened plants: progress towards target 8 of the global strategy for plant conservation*. Richmond, UK: Botanic Gardens Conservation International.
- Shen, S.-K., Wang, Y.-H., & Ma, H.-Y. (2010). Seed germination requirements and responses to desiccation and storage of *Apterostroma oblatum* (Theaceae), an endangered tree from south-eastern China: implications for restoration. *Plant Species Biology*, 25(2), 158–163. <https://doi.org/10.1111/j.1442-1984.2010.00278.x>
- Shen, S.-K., Wu, F.-Q., Yang, G.-S., Wang, Y.-H., & Sun, W.-B. (2015). Seed germination and seedling emergence in the extremely endangered species *Rhododendron protistum* var. *giganteum*—the world's largest *Rhododendron*. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 216, 65–70. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367253015000936>
- Shim, S. I., Moon, J.-C., Jang, C. S., Raymer, P., & Kim, W. (2008). Effect of potassium nitrate priming on seed germination of seashore paspalum. *HortScience*, 43(7), 2259–2262.
- Sillero, N. (2011). What does ecological modelling model? A proposed classification of ecological niche models based on their underlying methods. *Ecological Modelling*, 222(8), 1343–1346. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2011.01.018>
- Sillero, N., & Carretero, M. A. (2013). Modelling the past and future distribution of contracting species. The Iberian lizard *Podarcis carbonelli* (Squamata: Lacertidae) as a

case study. *Zoologischer Anzeiger*. <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2012.08.004>

- Siqueira, M. F., Durigan, G., de Marco Júnior, P., & Peterson, A. T. (2009). Something from nothing: Using landscape similarity and ecological niche modeling to find rare plant species. *Journal for Nature Conservation*, *17*(1), 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2008.11.001>
- Sletvold, N., Grindeland, J. M., Zu, P., & Ågren, J. (2012). Strong inbreeding depression and local outbreeding depression in the rewarding orchid *Gymnadenia conopsea*. *Conservation Genetics*, *13*(5), 1305–1315. <https://doi.org/10.1007/s10592-012-0373-7>
- Smith, S. J., & Wigley, T. M. L. (2006). Multi-Gas Forcing Stabilization with Minicam. *The Energy Journal*, *27*, 373–391. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/23297091>
- Sousa-Silva, R., Alves, P., Honrado, J., & Lomba, A. (2014). Improving the assessment and reporting on rare and endangered species through species distribution models. *Global Ecology and Conservation*, *2*(Supplement C), 226–237. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2014.09.011>
- Specht, M. J., Pinto, S. R. R., Albuquerque, U. P., Tabarelli, M., & Melo, F. P. L. (2015). Burning biodiversity: Fuelwood harvesting causes forest degradation in human-dominated tropical landscapes. *Global Ecology and Conservation*, *3*, 200–209. <https://doi.org/10.1016/J.GECCO.2014.12.002>
- Stocker, T. F., Qin, D., Plattner, G.-K., Alexander, L. V., Allen, S. K., Bindoff, N. L., ... Emori, S. (2013). Technical summary. In *Climate change 2013: the physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (pp. 33–115). Cambridge University Press.
- Stockwell, D. R. B., & Peterson, A. T. (2002). Effects of sample size on accuracy of species distribution models. *Ecological Modelling*, *148*(1), 1–13. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(01\)00388-X](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(01)00388-X)
- Strandby Andersen, U., Prado Córdova, J. P., Bräuner Nielsen, U., & Kollmann, J. (2008). Provenance variation in germination and seedling growth of *Abies guatemalensis* Rehder. *Forest Ecology and Management*, *255*(5–6), 1831–1840. <https://doi.org/10.1016/J.FORECO.2007.12.009>
- Supatimusro, D., Areerachakul, N., & Poomsripanon, J. (2013). The Applied Geographic Information System and the Relation of Mollusk with Water Quality in Ayutthaya Province, Thailand. *Energy Procedia*, *34*, 99–108. <https://doi.org/10.1016/J.EGYPRO.2013.06.738>
- Svenning, J.-C., & Skov, F. (2007). Ice age legacies in the geographical distribution of tree species richness in Europe. *Global Ecology and Biogeography*, *16*(2), 234–245. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2006.00280.x>
- Symeonakis, E., Calvo-Cases, A., & Arnau-Rosalen, E. (2007). Land Use Change and Land Degradation in Southeastern Mediterranean Spain. *Environmental Management*, *40*(1), 80–94. <https://doi.org/10.1007/s00267-004-0059-0>
- Taberlet, P., Fumagalli, L., Wust-Saucy, A.-G., & Cosson, J.-F. (1998). Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology*, *7*(4),

453–464. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1998.00289.x>

- Talaván, A. G., Sánchez-Agudo, J. A., Sánchez, L. D., & Rico, E. H. (2008). *Veronica chamaepithyoides* Lam. (Atlas y Libro Rojo de la Flora Vasculare Amenazada de España, Ed.), *Ficha de Síntesis Del Catálogo de Flora Amenazada de España*. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente.
- Talavera, S., & Salgueiro, F. J. (1999). Sobre el tratamiento de la familia Leguminosae en Flora Ibérica. *Lagascalia*, 21(1), 155–221.
- Teresa, F. M. S., Muñoz, G. B., & Gómez, P. V. (2009a). *Astragalus devesae* Talavera, A. González & G. López. (Departamento de Biodiversidad y Conservación. Real Jardín Botánico (CSIC), Ed.), *Fichas Del Catálogo de Flora Protegida En Castilla Y León*. Ministerio de Agricultura Y Pesca, Alimentación Y Medio Ambiente. Retrieved from http://soporte.patrimonionatural.net/FLVS/2013_02_27_Datos_para_Repositorio/efd/Astragalus_devesae.pdf
- Teresa, F. M. S., Muñoz, G. B., & Gómez, P. V. (2009b). *Encinar de Los Terreros, Padiernos*. (Departamento de Biodiversidad y Conservación. Real Jardín Botánico (CSIC), Ed.), *Microrreservas de flora en Castilla y León*. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/235953461_Microrreserva_de_flora_del_encinar_de_Los_Terreros
- Thomas, C. D., Cameron, A., Green, R. E., Bakkenes, M., Beaumont, L. J., Collingham, Y. C., ... Williams, S. E. (2004). Extinction risk from climate change. *Nature*, 427(6970), 145–148. https://doi.org/http://www.nature.com/nature/journal/v427/n6970/supinfo/nature02121_S1.html
- Thuiller, W., Lafourcade, B., Engler, R., & Araújo, M. B. (2009). BIOMOD – a platform for ensemble forecasting of species distributions. *Ecography*, 32(3), 369–373. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2008.05742.x>
- Thuiller, W., Lavorel, S., Araújo, M. B., Sykes, M. T., & Prentice, I. C. (2005). Climate change threats to plant diversity in Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(23), 8245–8250. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409902102>
- Thuiller, W., Vayreda, J., Pino, J., Sabate, S., Lavorel, S., & Gracia, C. (2003). Large-scale environmental correlates of forest tree distributions in Catalonia (NE Spain). *Global Ecology and Biogeography*, 12(4), 313–325. <https://doi.org/10.1046/j.1466-822X.2003.00033.x>
- Tingley, M. W., Monahan, W. B., Beissinger, S. R., & Moritz, C. (2009). Birds track their Grinnellian niche through a century of climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(Supplement 2), 19637–19643. <https://doi.org/10.1073/pnas.0901562106>
- Tyndall, R. W., & Groller, P. L. (2006). Transplant Survival, Reproductive Output, and Population Monitoring of *Desmodium ochroleucum* M. A. Curtis at Chicone Creek Woods in Maryland. *Castanea*, 71(4), 329–332. [https://doi.org/10.2179/0008-7475\(2006\)71\[329:TSROAP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2179/0008-7475(2006)71[329:TSROAP]2.0.CO;2)

- Valdés, B. (2011). Plant species protection in Spain, with especial reference to the Spanish Mediterranean Islands. *Naturalista Sicil. S. IV, XXXV* (, 1, 79–86.
- Van der Walt, K., & Witkowski, E. T. F. (2017). Seed viability, germination and seedling emergence of the critically endangered stem succulent, *Adenium swazicum*, in South Africa. *South African Journal of Botany*, *109*, 237–245.
<https://doi.org/10.1016/J.SAJB.2017.01.011>
- Vázquez, F. M., Devesa Alcaraz, J. A., & Domínguez Vilches, E. (1991). Nueva localidad de *Astragalus nitidiflorus* Jiménez y Pau en España.
- Velásquez-Tibatá, J., Salaman, P., & Graham, C. H. (2013). Effects of climate change on species distribution, community structure, and conservation of birds in protected areas in Colombia. *Regional Environmental Change*, *13*(2), 235–248.
<https://doi.org/10.1007/s10113-012-0329-y>
- Vergeer, P., Rengeling, R., Copal, A., & Ouborg, N. J. (2003). The interacting effects of genetic variation, habitat quality and population size on performance of *Succisa pratensis*. *Journal of Ecology*, *91*(1), 18–26. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2003.00736.x>
- Vetaas, O. R. (2002). Realized and potential climate niches: a comparison of four *Rhododendron* tree species. *Journal of Biogeography*, *29*(4), 545–554.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.2002.00694.x>
- Vié, J.-C., Hilton-Taylor, C., & Stuart, S. N. (2009). *Wildlife in a changing world: an analysis of the 2008 IUCN Red List of threatened species*. IUCN. Retrieved from <https://books.google.es/books?hl=pt-PT&lr=&id=hgErHErt6-gC&oi=fnd&pg=PR7&dq=Wildlife+in+a+changing+world:+a+analysis+of+the+2008+IUCN+red+list+of+threatened+species&ots=ulmnRreZGo&sig=KbzKre1XMayNgXN3p yiGK42-jUo#v=onepage&q=Wildlife in a changing world%3A>
- Vierling, K. T., Bäessler, C., Brandl, R., Vierling, L. A., Weiß, I., & Müller, J. (2011). Spinning a laser web: predicting spider distributions using LiDAR. *Ecological Applications*, *21*(2), 577–588. <https://doi.org/10.1890/09-2155.1>
- Vogeler, J. C., Hudak, A. T., Vierling, L. A., Evans, J., Green, P., & Vierling, K. T. (2014). Terrain and vegetation structural influences on local avian species richness in two mixed-conifer forests. *Remote Sensing of Environment*, *147*, 13–22.
<https://doi.org/10.1016/J.RSE.2014.02.006>
- vv.aa. (2000). Lista roja de flora vascular española (valoración según categorías UICN). *Conservación Vegetal*, *6*, 1–44.
- Walther, B. A., SchÄffer, N., Van Niekerk, A., Thuiller, W., Rahbek, C., & Chown, S. L. (2007). Modelling the winter distribution of a rare and endangered migrant, the Aquatic Warbler *Acrocephalus paludicola*. *Ibis*, *149*(4), 701–714. <https://doi.org/10.1111/j.1474-919X.2007.00690.x>
- Washitani, I., & Masuda, M. (1990). A Comparative Study of the Germination Characteristics of Seeds from a Moist Tall Grassland Community. *Functional Ecology*, *4*(4), 543–557.
<https://doi.org/10.2307/2389322>

- WCS, & CIESIN. (2005). Last of the Wild Project, Version 2, 2005 (LWP-2): Global Human Footprint Dataset (Geographic). *NASA Socioeconomic Data and Applications Center (SEDAC), Palisades, NY*. [Http://sedac.ciesin.columbia.edu/data/set/wildareas-v2-Human-Footprint-Geographic/data-Download](http://sedac.ciesin.columbia.edu/data/set/wildareas-v2-Human-Footprint-Geographic/data-Download).
- Weber, T. C. (2011). Maximum entropy modeling of mature hardwood forest distribution in four U.S. states. *Forest Ecology and Management*, 261(3), 779–788. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2010.12.009>
- Williams, C., Davis, K., & Cheyne, P. (2003). *The CBD for Botanists: An Introduction to the Convention on Biological Diversity for people working with botanical collections*. Royal Botanic Gardens.
- Williams, J. N., Seo, C., Thorne, J., Nelson, J. K., Erwin, S., O'Brien, J. M., & Schwartz, M. W. (2009). Using species distribution models to predict new occurrences for rare plants. *Diversity and Distributions*, 15(4), 565–576. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2009.00567.x>
- Wilson, E. O. (1988). The current state of biological diversity. *Biodiversity*, 521(1), 3–18.
- Wilson, M. C., Chen, X.-Y., Corlett, R. T., Didham, R. K., Ding, P., Holt, R. D., ... Jiang, L. (2016). Habitat fragmentation and biodiversity conservation: key findings and future challenges.
- Wise, M., Calvin, K., Thomson, A., Clarke, L., Bond-Lamberty, B., Sands, R., ... Edmonds, J. (2009). Implications of Limiting CO2 Concentrations for Land Use and Energy. *Science*, 324(5931), 1183–1186. <https://doi.org/10.1126/science.1168475>
- Wisz, M. S., Hijmans, R. J., Li, J., Peterson, A. T., Graham, C. H., Guisan, A., & Group, N. P. S. D. W. (2008). Effects of sample size on the performance of species distribution models. *Diversity and Distributions*, 14(5), 763–773. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2008.00482.x>
- Witt, S. C. (1985). Biotechnology and genetic diversity. In *Briefbook* (Vol. 2). California Agricultural Lands Project.
- Woodward, F. I. (1996). *Climate and plant distribution*. Cambridge: Cambridge University Press. Retrieved from [https://books.google.es/books?hl=pt-PT&lr=&id=0Ld1h0MT3oIC&oi=fnd&pg=PR9&dq=Climate+and+plant+distribution&ots=QgBEzb9k1I&sig=HoMfIUHOlc0FvRLxKzTzWd7r9WA#v=onepage&q=Climate and plant distribution&f=false](https://books.google.es/books?hl=pt-PT&lr=&id=0Ld1h0MT3oIC&oi=fnd&pg=PR9&dq=Climate+and+plant+distribution&ots=QgBEzb9k1I&sig=HoMfIUHOlc0FvRLxKzTzWd7r9WA#v=onepage&q=Climate+and+plant+distribution&f=false)
- Wu, X. Ben, & Smeins, F. E. (2000). Multiple-scale habitat modeling approach for rare plant conservation. *Landscape and Urban Planning*, 51(1), 11–28. [https://doi.org/10.1016/S0169-2046\(00\)00095-5](https://doi.org/10.1016/S0169-2046(00)00095-5)
- Yañez-Arenas, C., Martínez-Meyer, E., Mandujano, S., & Rojas-Soto, O. (2012). Modelling geographic patterns of population density of the white-tailed deer in central Mexico by implementing ecological niche theory. *Oikos*, 121(12), 2081–2089. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2012.20350.x>
- Yang, X.-Q., Kushwaha, S. P. S., Saran, S., Xu, J., & Roy, P. S. (2013). Maxent modeling for predicting the potential distribution of medicinal plant, *Justicia adhatoda* L. in Lesser

Himalayan foothills. *Ecological Engineering*, 51, 83–87.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2012.12.004>

- Ye, X., Yu, X., Yu, C., Tayibazhaer, A., Xu, F., Skidmore, A. K., & Wang, T. (2018). Impacts of future climate and land cover changes on threatened mammals in the semi-arid Chinese Altai Mountains. *Science of The Total Environment*, 612, 775–787.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.191>
- Zeng, L. W., Cocks, P. S., & Kailis, S. G. (2005). Softening of impermeable seeds of six Mediterranean annual legumes on the soil surface and buried beneath the soil surface. *Seed Science and Technology*, 33(3), 551–561.
- Zohner, C. M., Benito, B. M., Fridley, J. D., Svenning, J. C., & Renner, S. S. (2017). Spring predictability explains different leaf-out strategies in the woody floras of North America, Europe and East Asia. *Ecology Letters*, 20(4), 452–460.
<https://doi.org/10.1111/ele.12746>
- Zoro Bi, I., Maquet, A., & Baudoin, J.-P. (2003). Population genetic structure of wild *Phaseolus lunatus* (Fabaceae), with special reference to population sizes. *American Journal of Botany*, 90(6), 897–904. <https://doi.org/10.3732/ajb.90.6.897>