

Resumen: *Tragopogon pseudocastellanus* Blanca & C. Díaz (Asteraceae) es un endemismo Ibérico restringido a la comarca de Babia en la provincia de León del que solo se conoce una única población. Se encuentra catalogada en el Libro Rojo de Flora Vascular como En Peligro Crítico. Trabajos previos llevados a cabo por miembros de la Universidad de León han conseguido germinar semillas de esta planta *ex-situ* con el objeto de estudiar su sistema reproductivo. Para analizar la biología reproductiva de *Tragopogon pseudocastellanus*, en la primavera de 2021 se realizaron polinizaciones manuales para estimar la capacidad de producción de semillas tras polinizaciones autógamias y xenógamas. En el presente Trabajo de Fin de Grado se han analizado el número de semillas - aquenios (estimado como cicatrices por capítulo) y el peso por aquenio tras estas polinizaciones manuales y no se han encontrado diferencias significativas entre tratamientos (autogamia vs alogamia). Sin embargo, comparando las tasas de germinación, para los días de germinación sí que existen diferencias significativas entre determinados tratamientos y orígenes para los días que tardan en germinar. Este trabajo refuerza la idea de la importancia de los estudios de biología reproductiva en especies importantes en conservación, ya que ayudan a gestionar mejores planes de recuperación.

Palabras clave: biología reproductiva, especie amenazada, germinación, *Tragopogon pseudocastellanus*

Abstract: *Tragopogon pseudocastellanus* Blanca & C. Díaz (Asteraceae) is an Iberian endemism restricted to the region of Babia in the province of León of which only a single population is known. It is listed in the Red Book of Vascular Flora as Critically Endangered. Previous works carried out by members of the University of León have managed to germinate seeds of this plant *ex-situ* in order to study its reproductive system. To analyze the reproductive biology of *Tragopogon pseudocastellanus* in the spring of 2021, hand-pollinations were performed to estimate the seed production capacity after autogamous and xenogamous pollination. In the present Final Degree Project, the number of seeds -achenes (estimated through the number of scars per capitulum) and the weight per achene after these manual pollinations were analyzed and no significant differences were found between treatments (autogamy vs. allogamy). However, there were significant differences between certain treatments and seeds' origin when looking to the days to germination. This study confirms the relevance of reproductive biology studies in threatened species, as they help to manage better recovery plans.

Key words: reproductive biology, endangered species, germination, *Tragopogon pseudocastellanus*



universidad
de León



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

**Biología reproductiva de *Tragopogon
pseudocastellanus* Blanca & C. Díaz
(Asteraceae), una especie en peligro crítico**

Reproductive biology of *Tragopogon
pseudocastellanus* Blanca & C. Díaz
(Asteraceae), critically endangered species

Claudia Aguirre Martínez

Victoria Ferrero Vaquero

Grado en Biología

Julio, 2023

Índice

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Historia de la Conservación	1
1.2 Biología reproductiva y conservación.....	3
1.3 El caso de <i>Tragopogon pseudocastellanus</i>	5
1.4 Objetivos	6
2. MATERIAL Y MÉTODOS	7
2.1 Sistema de estudio	7
2.2 Experimentos.....	9
2.2.1 Cruzamientos.....	9
2.2.2 Test de viabilidad.....	10
2.3 Tratamiento estadístico.....	11
3. RESULTADOS.....	12
3.1 Número de cicatrices	12
3.2 Peso de los aquenios.....	14
3.3 Viabilidad de las semillas	15
4. DISCUSIÓN.....	18
5. CONCLUSIÓN	21
6. REFERENCIAS	21

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Historia de la Conservación

En el siglo XXI se define por algunos autores como el de la crisis de la biodiversidad y de las extinciones, ya que se prevé que la mayoría de las especies del planeta podrían desaparecer antes de haber sido siquiera estudiadas por el hombre (Dubois, 2003). La continua actividad humana ligada al aumento poblacional ha sido la principal causa de pérdida de comunidades biológicas que llevaban desarrollándose durante millones de años (Primack y Ros, 2002).

Ante esta devastadora situación se han empezado a tomar ciertas medidas destacando dos acontecimientos. En 1972, tuvo lugar la celebración de la primera Conferencia de las Naciones Unidas sobre Medio Ambiente Humano donde se creó el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUNMA) en Estocolmo. El segundo ocurrió veinte años después, en 1992, en el que se estableció el Convenio sobre Diversidad Biológica (CDB) en la Cumbre de la Tierra celebrada en la Conferencia de Naciones Unidas para el Medio Ambiente y Desarrollo en Río de Janeiro (Gómez Lee, 2005; Tellería, 2012). El CDB englobaba tres puntos fundamentales: la conservación de la diversidad biológica, el uso sostenible de sus componentes y la participación justa y equitativa de los beneficios derivados de la utilización de los recursos genéticos (Negri, 2010). A partir de este momento, la conservación cobró más relevancia a escala mundial no quedando reducida únicamente a la importancia en el ámbito científico (Tellería, 2012).

El conservacionismo es, sin embargo, un movimiento que emergió antes de estos dos hitos. Autores como los filósofos Ralph Waldo Emerson (1803-1882) y Henry David Thoreau (1817-1862) presentaban una ideología similar basada en la creencia de la naturaleza con un papel moralista y espiritual que influía en el ser humano en el siglo XIX (Primack, 2002). Más tarde, uno de los primeros conservacionistas, John Muir (1838-1914) luchó por una naturaleza con valor intrínseco, aunque otras propuestas impidieron el avance de su idea. Aldo Leopold (1886-1948) retomó la visión de Muir y defendió las comunidades como sistemas de procesos interrelacionados, implicando al ser humano como una especie partícipe en dichas interacciones (Corcuera y Ponce de León, 2004). Posteriormente, cabe destacar la famosa obra titulada *Primavera Silenciosa* de Raquel Carson en 1962. En ella se exponía la peligrosidad de los plaguicidas en el ambiente, lo que provocó indignación de agricultores, industriales, numerosos científicos e incluso del gobierno (Garza, 2009).

En España el conservacionismo se inició a principios del siglo XX (1900-1940) con la protección de Parques Nacionales como el de la Montaña de Covadonga y Ordesa en 1918 (Gobierno de España, 2019). Más tarde, en 1966, se creó el primer banco de germoplasma. El primer Banco de Germoplasma Vegetal, situado actualmente en la Universidad Politécnica de Madrid y fundado por César Gómez Campo, se considera un hito en la historia de la conservación. No obstante, el momento de mayor apogeo en el ámbito conservacionista se desarrolló entre 1980 y 2000 con la creación de la primera Lista Roja por Barreno y colaboradores en 1984, el primer Libro Rojo por Gómez Campo en 1987 y el Comité Español para la Flora (CEF) de la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) en 1996. También en este mismo año se publicó el primer número de la revista especializada *Conservación vegetal*. Esta ha servido de boletín a la Sociedad Española de Biología de la Conservación de Plantas (SEBiCoP), la cual nació a modo de foro para intercambio científico y técnico entre expertos, estudiosos y todas aquellas personas interesadas en la conservación de flora silvestre (Sociedad Española de Biología de la Conservación de Plantas, sin fecha).

La disciplina Biología de la Conservación como tal surge en 1978 en California (Tellería, 2012). Se trata de una ciencia multidisciplinaria que nace como respuesta ante una problemática inminente y dramática como es la pérdida de biodiversidad. Se trata de una disciplina de crisis que requiere de una actuación inmediata, lo que conlleva lidiar con cierta falta de certeza (Soulé, 1985).

Se podría decir que la Biología de la Conservación intenta abordar tres fundamentos (Primack, 2002):

- En primer lugar, investigar y describir la diversidad del mundo vivo. Para ello según el CDB el término biodiversidad se define como “La variabilidad de organismos vivos de cualquier naturaleza, incluidos, entre otros, en los ecosistemas terrestres y marinos, y otros sistemas acuáticos, y los complejos ecológicos de los que forman parte; comprende la diversidad dentro de cada especie, entre las especies y de los ecosistemas” (Naciones Unidas, 1992, pp. 3-4).
- Posteriormente, entender los efectos de las actividades humanas sobre las especies, comunidades y ecosistemas. En la actualidad como consecuencia de dichas acciones del ser humano existen cinco grandes amenazas que ponen en peligro la biodiversidad (WWF, 2010), destacando la pérdida de hábitat, alteración y fragmentación como la principal causa. Luego cobraría importancia el cambio climático, la contaminación, las

especies invasoras y, finalmente, la sobreexplotación de poblaciones de especies silvestres. Además, los mecanismos de amenaza son sinérgicos, es decir, la combinación de factores independientes puede provocar una extinción a mayor escala (Myers, 1987).

- Por último, desarrollar métodos interdisciplinarios prácticos para proteger y recuperar la diversidad biológica.

El deterioro de una comunidad va a provocar una disminución en el número de individuos y también de variabilidad genética, pero siempre que se mantengan las especies originales existe la posibilidad de su recuperación. Si las comunidades siguen descendiendo hasta el punto de extinguirse su restauración resultará imposible, ya que, se habrá perdido la información genética que contenía su ADN. Por tanto, es realmente necesario mantener una buena conservación de especies, comunidades, ecosistemas y variabilidad genética (Primack, 2002).

En determinados puntos de la historia evolutiva, el número de especies se ha visto reducido drásticamente por perturbaciones naturales como impactos de meteoritos, orogenia o cambios climáticos (reducción de dióxido de carbono, ausencia de oxígeno y cambios de temperatura) (Tellería, 2012). Todos estos eventos con un mismo origen en común se conocen como extinciones masivas, siendo la de mayor gravedad la tercera, la del Pérmico-Triásico hace unos 250 millones de años, porque supuso la desaparición del 96% de las especies (Gomis, 2003). La sexta y última extinción es la que va desde el Holoceno (hace unos 10.000 años) hasta el presente y es la única que no ha sido causada por un evento geológico sino por la acción humana (Fernández *et al.*, 2015).

1.2 Biología reproductiva y conservación

Según Ayasse M. y Arroyo J. (2011) desde hace siglos, tanto la biología reproductiva como la polinización de plantas han generado gran interés. Las relaciones mutualistas entre las plantas y sus polinizadores y las interacciones con la red de organismos que afectan tanto a plantas como a polinizadores, van a determinar el futuro de numerosas especies vegetales (Kearns, 1998).

Los estudios relacionados con la biología reproductiva tienen gran importancia, a pesar de no ser muy frecuentes (Bañares y Carque, 2005), ya que, en especies amenazadas permite establecer estrategias de conservación (Pérez de Paz, 2002). Como dice Pérez de Paz (2002) anomalías en los ciclos de reproducción vegetal permiten intervenir evitando o frenando la

reducción del tamaño poblacional y la variabilidad genética, aunque este tipo de trabajos también han demostrado que no es necesario un gran tamaño poblacional ni una variabilidad genética grande para la supervivencia de todas las especies.

Los estudios de biología reproductiva son muy importantes para la conservación. En algunas especies, como *Petrocoptis viscosa*, a pesar de ser un endemismo de El Bierzo y estar En Peligro (EN) se ha visto que en ausencia de polinizadores es capaz de producir semillas, además de presentar unas tasas altas tanto de fructificación como de germinación de semillas. Por lo que ante la fragmentación del hábitat mostraría una gran resistencia, cosa que podría parecer contradictoria si se habla de una especie amenazada (Navarro y Guitián, 2002). Otro caso que demuestra la importancia de efectuar estudios sobre los sistemas de cruzamiento para entender los supuestos fallos en la reproducción y plantear estrategias para favorecer la recuperación y conservación de taxones amenazados (Pérez de Paz, 2002), es el de *Viola cazorlensis*. Esta especie está considerada en Peligro de Extinción por la Junta de Andalucía y Vulnerable por la UICN, y gracias a estas técnicas se ha determinado que en ocasiones en ausencia de polinizadores es capaz de producir frutos ya que sus flores son autocompatibles, aunque la autogamia espontánea es inhabitual (Herrera *et al.*, 1999).

Atendiendo a los sistemas de reproducción sexual en plantas se puede diferenciar, por un lado, la alogamia, también conocida como xenogamia o fecundación cruzada. Es un sistema en el que un individuo debe cruzarse con otro y, en algunos casos, las especies presentan un sistema de incompatibilidad que garantiza este cruzamiento entre individuos. La incompatibilidad consiste en una serie de barreras fisiológicas que permiten identificar el tipo de polen y rechazarlo si es propio (Pérez de Paz, 2002). La alogamia es el sistema de reproducción más común y que aporta mayor variabilidad genética en las especies y reduce la endogamia (Seguí, 2010).

Por otro lado, la autogamia o autofecundación consiste en la fecundación de un individuo a sí mismo. En este caso es cierto que, para no condenar a estas especies al fracaso por carecer de nuevos genes, suele combinarse con cierto grado de alogamia (Seguí, 2010). Se habla de autogamia *sensu stricto* si esta autofertilización ocurre dentro de una misma flor, pero en muchos casos se emplea el concepto autogamia *sensu lato* incluyendo la geitonogamia si el cruce surge entre flores del mismo individuo (Pérez de Paz, 2002). Este mecanismo resulta útil cuando existen pocos individuos de una especie en un área restringida, ya que se garantiza su

éxito de propagación evitando que la llegada del polen se vea afectada por condiciones meteorológicas adversas o por problemas con el polinizador (Seguí, 2010).

Estos estudios se pueden tratar desde dos niveles:

- Estudios de los mecanismos de polinización, fecundación y dispersión, que permitan conocer la distribución actual de las especies o planificar restituciones con especies adaptadas a vectores de polinización o dispersión específicos (Bañares y Carque, 2005).
- Estudios del comportamiento germinativo: suelen desarrollarse en vivero o laboratorio bajo condiciones controladas para explicar el funcionamiento de la germinación de la especie y establecer protocolos de tratamiento capaces de romper la latencia de las semillas, aumentando así la productividad de los viveros. Además, para que su identificación en la naturaleza sea sencilla es muy importante realizar una buena descripción e iconografía de frutos, semillas y plántulas de la especie (Bañares y Carque, 2005).

1.3 El caso de *Tragopogon pseudocastellanus*

Tragopogon es un género monofilético de unas 150 especies con una distribución por Eurasia cuya mayor diversificación se localiza en la cuenca mediterránea oriental (Díaz de la Guardia y Blanca, 2017). En 1996, Blanca y Díaz de la Guardia realizaron una descripción muy detallada de *Tragopogon pseudocastellanus*, gracias a un único pliego de herbario procedente de la única población que se conoce hasta la fecha, San Félix de Arce (29TQH36) en el municipio de Cabrillanes (León, España).

La taxonomía del género *Tragopogon* es compleja, por la similitud entre especies, y los frecuentes procesos de poliploidización e hibridación. Por su nombre cabría esperar que fuese un taxón próximo a *T. castellanus*, pero en realidad mantiene mayor similitud con *T. pratensis* ya que, comparten un rasgo característico entre las plantas como es la coloración de la corola que en ambos casos presenta un limbo amarillo. Sin embargo, *T. castellanus* posee una coloración morada o ferrugínea con la base y el ápice amarillos.

En cuanto a su estado de conservación, *Tragopogon pseudocastellanus* es una especie que actualmente se encuentra incluida en el Atlas y Libro Rojo de Flora Vasculosa Amenazada de España 2004 como especie En Peligro Crítico (CR) por enfrentarse a un riesgo extremadamente alto de extinción en estado silvestre. Concretamente la UICN la categoriza de esta forma (CR

A2c; B2ab(i,ii,v); D) por presentar un área de ocupación reducida (50m²) con una única localidad y una disminución de su extensión de presencia, área de ocupación y tamaño poblacional (unos 16 individuos maduros) y en la Lista Roja 2008 (Moreno, 2008). A pesar de su mala situación no está protegida ni por el Catálogo Regional (Ley 4/2015, CYL) ni por el Catálogo Nacional de Especies Amenazadas (CNEA) (R.D. 139/2011) (Alfaro *et al.*, 2020).

La principal causa de amenaza de *T. pseudocastellanus*, de manera indirecta son los incendios, ya que, como medida preventiva ante ellos la Diputación de León emplea fumigaciones con herbicidas que provocan una disminución de la calidad del hábitat (Alfaro *et al.*, 2017). Otra amenaza son las obras de acondicionamiento viario debido a que se localiza muy próxima a carreteras y núcleos de población, lo que provocó su desaparición durante ocho años (Alfaro *et al.*, 2020). También es notoria la competencia entre las especies naturales por vivir en comunidades nitrófilas. Por último, se ha observado en algunos ejemplares un elevado parasitismo por pulgones, lo que podría afectar la *fitness* de la planta (Llamas *et al.*, 2004).

En el 2001, Llamas, Acedo y Alonso llevaron a cabo un seguimiento preciso sobre la distribución, ecología y fenología de la especie para el proyecto del Atlas de Flora Amenaza (AFA). Este trabajo sirvió para describir su hábitat y su floración y fructificación, así como alertar de su desfavorable situación y determinar una serie de estrategias para frenar la desaparición de esta especie. Sin embargo, hasta la actualidad todavía no se sabe nada acerca del sistema reproductivo de esta especie, ni de su producción de semillas en condiciones naturales, ni de la viabilidad de estas, con la posible relevancia que esto pueda tener en términos de conservación de la especie.

1.4 Objetivos

La finalidad de este trabajo es analizar el sistema reproductivo de *Tragopogon pseudocastellanus* mediante la comparación de la producción de frutos y semillas y su viabilidad tras polinizaciones controladas con polen de distinta procedencia: polen propio (autogamia) y de otros individuos (xenogamia). Además, se estudió si la especie tenía alguna limitación por polinización mediante un tratamiento de suplementación polínica.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Sistema de estudio

La especie, como se ha comentado previamente, se encuentra en la localidad de San Félix de Arce (42°57'27"N 6°07'50"O), perteneciente al municipio de Cabrillanes en la comarca de Babia (León). La única población mundial de *Tragopogon pseudocastellanus*, abarca un área de distribución de 450 m² (Alfaro *et al.*, 2017). Este territorio anualmente presenta 7,6 °C de temperatura media y unas precipitaciones aproximadas de 1000 mm (Llamas *et al.*, 2002). Además, se caracteriza por sus suelos terrosos que benefician el desarrollo de *T. pseudocastellanus*, así como una altitud de unos 1230 m.

Tragopogon pseudocastellanus se halla en comunidades nitrófilas junto a zonas de cultivo y prados de siega, al borde de la carretera. También, suelen acompañar a *Achillea millefolium*, *Convolvulus arvensis*, *Ligusticum lucidum*, *Papaver rhoeas*, *Galium verum*, *Daucus carota*, *Centaurea nigra*, *Eryngium campestre*, *Dactylis glomerata* y *Sedum álbum* (Llamas *et al.*, 2004).



Figura 1. A la izquierda se muestra una fotografía de *Tragopogon pseudocastellanus*. A la derecha se presenta el hábitat en el que se encuentra esta especie de estudio.

Tragopogon pseudocastellanus es una hierba bienal o perenne de 25-45 (60) cm con capítulos terminales y axilares, solitarios, pedunculados. El género *Tragopogon* es complejo desde el punto de vista taxonómico y la especie analizada está emparentada con otras especies presentes en la Península, de las que se diferencia por el color y longitud de las flores y el tamaño y ornamentación de los aquenios principalmente (Díaz de la Guardia y Blanca, 2017). Con *T. pratensis* comparte la coloración amarillenta (Fig. 1) y ambas especies poseen un involucre de

5 (7) brácteas y un tamaño de aquenio comprendido entre 16-23 mm siendo ligeramente incurvo y con costillas escábridas el cuerpo de los externos y recto y con costillas suavemente escábridas o lisas el de los internos. En cambio, *T. pseudocastellanus* difiere en que la longitud de sus flores alcanza 2/3 de la longitud del involucre siendo en *T. pratensis* de 4/5. También el primero presenta unas hojas caulinares más anchas (0,6-0,8 cm) con tallos muy ramificados en la parte superior y, por el contrario, el segundo más estrechas (0,2-0,4 cm) y tallos simples o ramificados en la base (Díaz de la Guardia y Blanca, 2017). Por otro lado, a pesar de que el nombre de la especie puede indicar cierta aproximación con *T. castellanus*, esta mantiene una coloración morada o ferrugínea con la base y el ápice amarillos (Fig. 2) y un involucre y unos aquenios más grandes (de 8(12) brácteas y 23-32 mm, respectivamente) (Díaz de la Guardia y Blanca, 2017). Atendiendo a la fenología *T. pseudocastellanus* florece desde junio hasta finales de julio y su plena fructificación se alcanza en agosto (Llamas *et al.* 2002).



Figura 2. Fotografía de César Fernández González de un ejemplar de *Tragopogon castellanus*.

Durante los años 2001-2003 se llevaron a cabo censos poblacionales que comenzaron con el hallazgo de 16 individuos y finalizaron con alrededor de 7. Más tarde en 2007 se retomó esta actividad de campo y se obtuvieron resultados desfavorables, destacando la grave preocupación que supuso no hallar ningún individuo en los años 2009, 2010, 2013 y 2014. Finalmente, en 2015, se registraron 27 individuos maduros (Alfaro *et al.*, 2017).

En marzo de 2020, se germinaron plantas de *T. pseudocastellanus* en los invernaderos de la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León. Esta germinación se realizó a partir de semillas de la población de San Félix de Arce, junto con 200 procedentes de la F3 obtenida del cultivo de 25 individuos recogidos en 2007 por Jean Yves Lesouëf en la

localidad clásica y cultivados en el *Conservatoire Botanique National* de Brest (Francia) durante tres años donde se obtuvieron aproximadamente 7000 semillas (Alfaro *et al.*, 2020). A lo largo de esta memoria se tratarán estos dos orígenes (San Félix de Arce y Brest) como “poblaciones”, siendo consciente de la limitación en esta denominación. El objetivo de este trabajo era conseguir una colección de planta *ex-situ* con el fin de estudiar distintos aspectos de su biología reproductiva, y en última instancia, conseguir individuos con los que reforzar la población.

2.2 Experimentos

2.2.1 Cruzamientos

En la primavera de 2021 las plantas en flor de *Tragopogon pseudocastellanus*, fueron sometidas a tres tipos de tratamientos:

- 1) Autogamia, se polinizan los capítulos con su propio polen (geitonogamia). Para ello, los capítulos se embolsaron para evitar polinizaciones con polen indeseado.
- 2) Tratamiento control (no embolsado) que implica la llegada a los capítulos de polen alógamo o xenógamo (procedente de otras plantas) y autógeno (porque las flores no fueron emasculadas, es decir, no se eliminaron las anteras para prevenir las autofecundaciones).
- 3) Estudio de la limitación polínica. Las inflorescencias, sin embolsar, se suplementaron con polen de otras plantas para intentar alcanzar la máxima producción de frutos.

En junio y julio de 2021, se recogieron capítulos fructificados y se empaquetaron en sobres de papel con su correspondiente código identificador en el anverso: fecha de recogida; determinación de la población, (Brest, Br o San Félix de Arce, SF); número de individuo. Después el tipo de tratamiento implementado mediante las letras A (autogamia), C (control: alogamia + autogamia) y S (suplementación).

A partir de octubre del 2022 se inició el conteo del número de cicatrices que dejaban los aquenios en los capítulos de los distintos individuos para estimar la producción de semillas producidas, se llevó a cabo un recuento del número de aquenios y se registró el peso total de estos para cada individuo y su respectivo tratamiento. La metodología que se siguió fue primero tomar un sobre y comenzar registrando en un Excel toda la información identificatoria del ejemplar, luego se realizó el conteo de aquenios y su peso total en una balanza PACISA de

precisión 2200 C / 0,01g. Para ello se introdujeron todos los aquenios del individuo en un tubo Falcon, se pesaban y se les asignó una etiqueta con una numeración comprendida entre el 1 y el 212. Finalmente se hizo el recuento de cicatrices en cada capítulo mediante una lupa Motic binocular (SMZ-140-N2LED). Todos estos datos se registraron en una hoja de Excel compuesta por 9 columnas: la primera era la fecha de recolección del capítulo/s; la segunda la población a la que pertenecía el ejemplar (Br o SF); seguido el tipo de tratamiento (A, C o S); luego el número de individuo; la quinta reflejaba el número de aquenios; la sexta el peso total en gramos de dichos aquenios; la siguiente el número de cicatrices observadas en el/los capítulo/s; la octava el código Falcon asignado y la última indicaba la presencia de pulgón o no.

2.2.2 Test de viabilidad

Para conocer la viabilidad de las semillas tras cada uno de los tratamientos se llevó a cabo la germinación de las semillas de *T. pseudocastellanus* siguiendo un protocolo modificado del previamente implementado por miembros del grupo de investigación TaCoBi. Este protocolo consistió, primero, en preparar los medios de cultivo de agar al 1%, en (placas Petri). Para ello se disolvieron 5g de agar en 500ml de agua destilada; a continuación, en una cámara de flujo de aire laminar se repartió el medio en placas Petri y se dejaron gelificar. El siguiente paso fue realizar el saneamiento de las semillas. Para ello, se preparó una solución a partir de lejía comercial al 0,5%, a la que se añadió 1% de tensioactivo (Tween 20) y se sumergió durante 10 minutos las semillas, seguido por un aclarado bajo agua corriente durante 1 minuto. Luego, se las sometió a una segunda esterilización mediante lejía comercial 10% durante 5 minutos y un posterior lavado con agua destilada. A continuación, se rotularon las placas con letras mayúsculas por orden alfabético y se les dibujo un eje longitudinal y otro transversal que ayudasen a la correcta colocación de las semillas (Fig. 3). Con pinzas esterilizadas se pusieron en cada placa 16 semilla de las cuales las 8 primeras correspondían con un tipo de tratamiento y las 8 restantes con otro, es decir, cada placa estaba integrada por dos tratamientos distintos. Por ejemplo: en la placa A, las primeras 8 semillas pertenecerían al individuo 1 (población Br) del tratamiento autogamia (A) y de la 9 a la 16 serán también del individuo 1 pero controles (C). La suplementación (S) del individuo 1 estaría colocada en las posiciones 1-8 de la placa B. Por tanto, cada individuo estaría representado en una placa y media. Así bien, en este caso se utilizaron 17 placas:

Brest: 8 individuos (del 1 al 8) x 8 semillas x 3 tratamientos (A, C y S) = 192 semillas

San Félix: 2 individuos (9 y 10) x 8 semillas x 2 tratamientos (C y S) = 32 semillas

2 individuos (11 y 12) x 8 semillas x 3 tratamientos (A, C y S) = 48 semillas

$$\frac{192 + 32 + 48}{16 \text{ semillas en una placa}} = \mathbf{17 \text{ placas}}$$

En la población de Brest los individuos 9 y 10 con suplementación no se pudieron germinar debido a que solo se tenía una única muestra que ya había sido utilizada en una germinación previa fallida. Además, el material que se poseía tras esta primera germinación para los individuos 9 y 10 de San Félix para la autogamia se encontraba en un estado poco desarrollado, así que tampoco se pudo germinar.

Finalmente, se trasladaron todas las placas selladas con parafilm al fitotrón (cámara de germinación) a una temperatura de 20°C y un fotoperiodo de 12h luz / 12h oscuridad. A partir de ese día se realizó una revisión de germinación diaria mediante fotos.

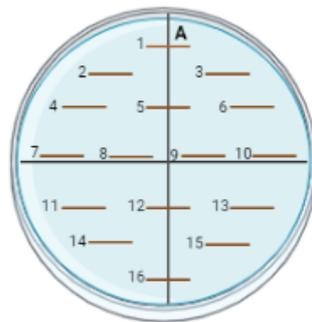


Figura 3. Representación esquemática de la distribución de semillas de *Tragopogon pseudocastellanus* para su germinación en placa Petri. Concretamente, en esta placa A del número 1 al 8 corresponde con Br-1-A y del 9 al 16 con Br-1-C.

2.3 Tratamiento estadístico

Para realizar el correspondiente procesamiento de datos, se precisó de la ayuda de R versión 4.2.2 (R Core Team, 2022). Concretamente, para todos los tratamientos se aplicaron ANOVAs simple sin diferenciar entre poblaciones para analizar diferencias entre tratamientos, y c en el ANOVAs de dos factores para estimar diferencias entre tratamientos y poblaciones. En estos últimos, se aplicó un análisis post-hoc consistente en una prueba de Tukey siempre que se encontraron diferencias para algún factor y se consideró necesario. Para la elaboración de figuras se empleó el paquete ggplot2 versión 3.4.2 (Wickham, 2016).

3. RESULTADOS

Se estudiaron 212 muestras de *Tragopogon pseudocastellanus*, concretamente en la población Brest se recolectaron capítulos de diez individuos, de los cuales los ocho primeros presentaban resultados para los tres tratamientos (A, C y S) y dos de ellos únicamente tenían el tratamiento suplementación. De la población de San Félix solamente se muestrearon 4 individuos con los tres tratamientos.

Tabla 1. Resumen de las medias y sus correspondientes desviaciones para las tres variables dependientes estudiadas (número de cicatrices, peso por aquenio y días que tarda en germinar) según la población (Br o SF) y el tipo de tratamiento (A, C y S) al que han sido sometidas las plantas de *Tragopogon pseudocastellanus*.

Población	Tratamientos	Nº cicatrices	Peso/Aquenio (g)	Días germinación
Br	A	40,022 ± 14,357	0,0085 ± 0,005	1,375 ± 0,703
	C	37,804 ± 12,259	0,0093 ± 0,005	2,787 ± 1,907
	S	41,575 ± 14,195	0,0089 ± 0,004	2,934 ± 2,089
SF	A	39,767 ± 13,316	0,006 ± 0,002	2,875 ± 0,991
	C	38,580 ± 9,052	0,008 ± 0,004	2,258 ± 1,237
	S	41,045 ± 14,959	0,009 ± 0,004	3,136 ± 3,060

Como muestra la Tabla 1, los mayores valores obtenidos son resultado del tratamiento de suplementación tanto para el número de cicatrices que contiene cada capítulo como para el peso de cada aquenio y los días que tardaban en germinar.

3.1 Número de cicatrices

Atendiendo al número de cicatrices que se hallan en cada capítulo según el tipo de tratamiento sometido, se observaron valores comprendidos entre 16 y 69 cicatrices (Fig. 4). El valor medio de cicatrices fue 39,94, siendo los resultados más altos aquellos para el tratamiento con suplementación, seguidos de los de autogamia y finalizando por los controles (alogamia). A pesar de seguir este patrón las diferencias entre tratamientos fueron mínimas, por tanto, tras realizar el análisis estadístico ANOVA se observó que no existían diferencias significativas entre tratamientos ($F = 1,339$; $p = 0,278$).

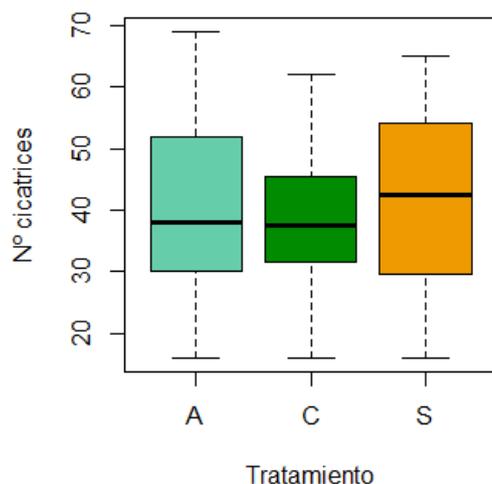


Figura 4. *Boxplot* o diagrama de cajas para el número de cicatrices frente al tipo de tratamiento, siendo en color turquesa la autogamia (A), en verde el control o alogamia + autogamia (C) y en naranja la suplementación (S). Gráfico realizado mediante el programa R.

Cuando analizamos las poblaciones por separado (Fig. 5) encontramos para la suplementación los valores más altos en el número de cicatrices, siendo levemente superior en Brest (Tabla 1). Atendiendo a los cruces autógamos ambas poblaciones fueron muy similares, aunque sutilmente inferiores en San Félix y, por último, los valores más bajos los presentarían los controles difiriendo en unidad y media, pero en este caso el más alto correspondería a San Félix. En este caso se realizó un ANOVA de dos vías en el que tampoco se encontraron diferencias significativas ni entre tratamientos ($F = 0,434$; $p = 0,649$) ni poblaciones ($F = 0,342$; $p = 0,559$) ni para su interacción ($F = 1,098$; $p = 0,336$).

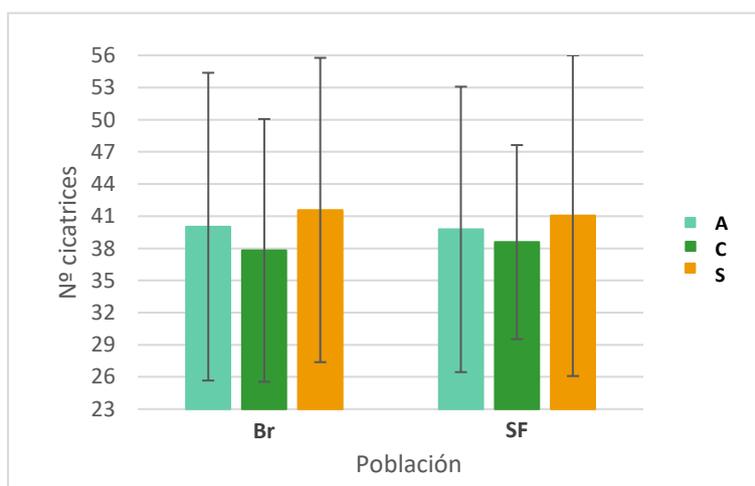


Figura 5. Diagrama de barras para el número de cicatrices para cada población frente al tipo de tratamiento, siendo en color turquesa la autogamia (A), en verde el control o alogamia + autogamia (C) y en naranja la suplementación (S). Las barras representan la media junto con su desviación estándar. Gráfico realizado mediante el programa Excel.

3.2 Peso de los aquenios

El peso de los aquenios de *T. pseudocastellanus* varió entre 0,001 y 0,031 gramos (Fig. 6) con un valor medio de 0,0086 g. Los mayores resultados, al igual que con la variable anterior (nº cicatrices), se localizaron en el tratamiento de suplementación. Sin embargo, no se encontraron tampoco diferencias significativas entre tratamientos ($F = 0,435$; $p = 0,648$).

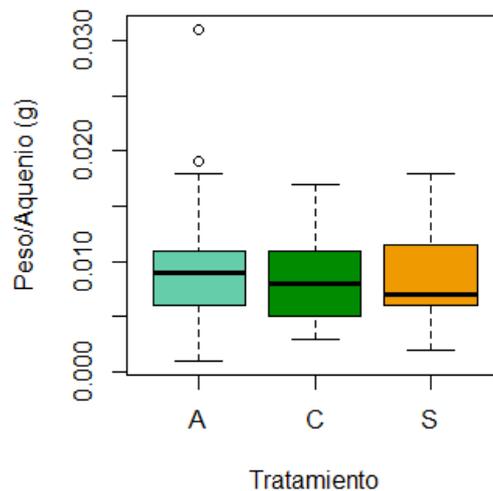


Figura 6. *Bloxplot* o diagrama de cajas para el peso por aquenio (g) frente al tipo de tratamiento, siendo en color turquesa la autogamia (A), en verde el control o alogamia + autogamia (C) y en naranja la suplementación (S). Gráfico realizado mediante el programa R.

Si analizamos los datos obtenidos para cada población, en Brest prácticamente no se detectaron diferencias según el tipo de tratamiento, ya que el peso medio por aquenio fue de aproximadamente 0,009 gramos en los tres casos. Sin embargo, en San Félix se observaron unos valores similares entre la suplementación y la alogamia, pero un resultado de dos milésimas menos para la autogamia (Fig. 7). Al analizar estadísticamente estos datos, se encontraron que no existían diferencias significativas entre tratamientos ($F = 1,320$; $p = 0,269$), ni entre poblaciones ($F = 0,002$; $p = 0,967$), ni tampoco para su interacción ($F = 0,061$; $p = 0,941$).

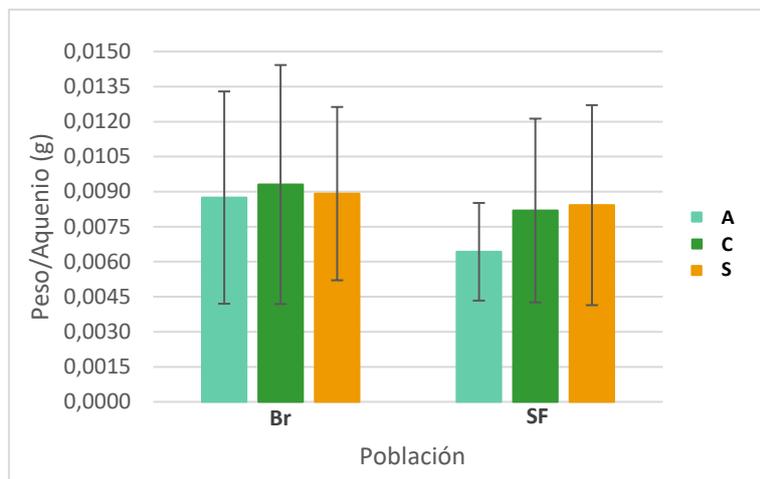


Figura 7. Diagrama de barras para el peso por aquenio en gramos para cada población frente al tipo de tratamiento, siendo en color turquesa la autogamia (A), en verde el control o alogamia + autogamia (C) y en naranja la suplementación (S). Las barras indican la media junto con su desviación estándar. Gráfico realizado mediante el programa Excel.

3.3 Viabilidad de las semillas

Se germinaron 192 semillas de la población Brest (64 semillas para cada tratamiento), sin embargo, para San Félix se disponía solo de 80 semillas (16 semillas procedentes de autogamia y 32 de los dos tratamientos restantes). Tras el seguimiento de la germinación de *T. pseudocastellanus* durante 15 días, se observó que las semillas resultado de los cruces alógamos y autógamos (controles) alcanzaron el mayor porcentaje de germinación para ambas poblaciones (93,75%). En segundo lugar, la suplementación fue el tratamiento con valores más altos, pero en este caso existía gran diferencia entre el mayor valor obtenido para la población Brest (87,5%) y el menor para San Félix (62,5%). El porcentaje de germinación tras la autogamia varió también entre poblaciones. Las semillas de Brest germinaron un 75% mientras que las de San Félix solo un 50% (Fig. 8). Sin embargo, los resultados obtenidos tras el análisis estadístico no mostraron ninguna diferencia significativa entre tratamientos ($F = 0,298$; $p = 0,743$), ni entre poblaciones ($F = 0,236$; $p = 0,628$), ni para su interacción ($F = 0,049$; $p = 0,953$).

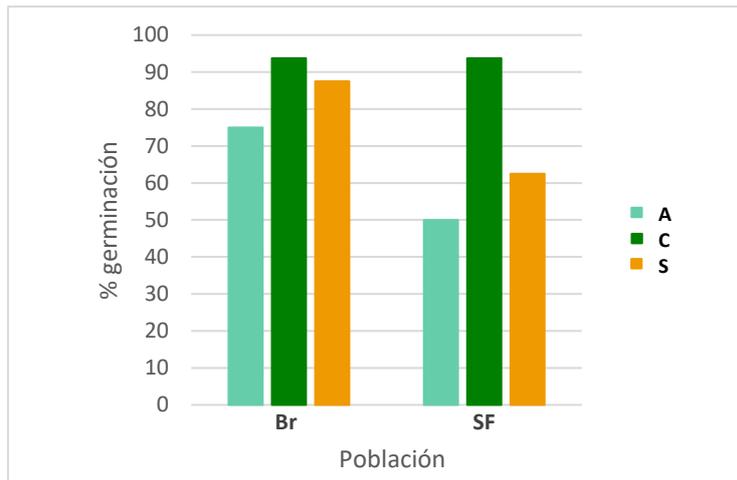


Figura 8. Diagrama de barras para el porcentaje de germinación logrado por cada población según el tipo de tratamiento, siendo en color turquesa la autogamia (A), en verde el control o alogamia + autogamia (C) y en naranja la suplementación (S). Las barras muestran los valores medios. Gráfico realizado mediante el programa Excel.

Al analizar el tiempo que tardaban en germinar las semillas, distinguiendo entre poblaciones, se observó que en Brest la T50, es decir, el tiempo que tarda en alcanzar el 50% de la germinación, para las semillas procedentes de autogamia se logró el primer día. Sin embargo, para los otros dos tratamientos restantes se necesitaron dos días (Fig. 9). La T25 para la autogamia no existe, ya que, pasado el primer día se consigue la mitad de la germinación. En cambio, para el control y la suplementación fue necesario un día para alcanzar el 25% de germinación.

La T50 en semillas procedentes de San Félix se alcanzó a los cinco días en las de autogamia, valor que permaneció constante hasta los 15 días. Para las semillas control y las de suplementación transcurrieron alrededor de dos días (Fig. 9). La T25 para la autogamia necesitó aproximadamente dos días y para la suplementación algo más de un día. En cambio, para el control ocurre lo mismo que para la autogamia de Brest, tras el primer día ya han germinado el 34% de las semillas. Además, se puede destacar que en San Félix hasta los últimos días hay semillas de suplementación que germinan.

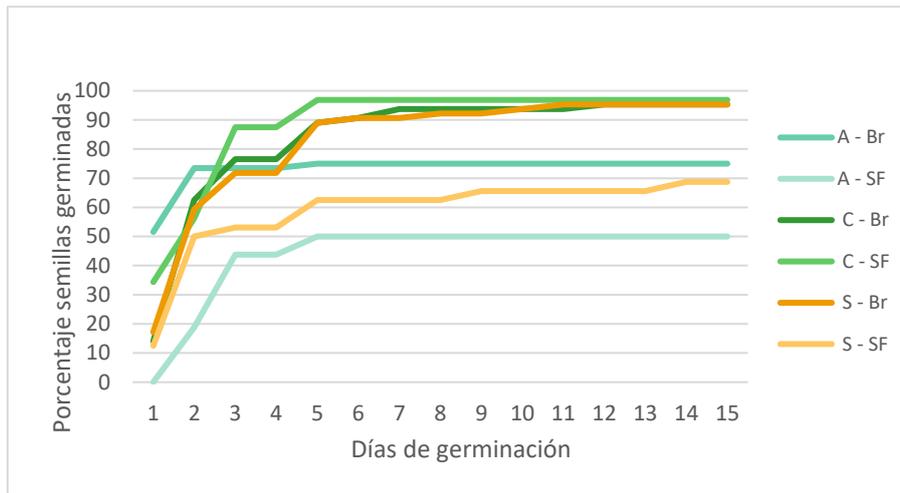


Figura 9. Gráfico de líneas para el porcentaje de semillas germinadas por días transcurridos desde el día que se inició la germinación para cada población según el tipo de tratamiento, siendo en color turquesa la autogamia (A), en verde el control o alogamia + autogamia (C) y en naranja la suplementación (S). Gráfico realizado mediante el programa Excel.

Para analizar si existían diferencias significativas entre los días de germinación según el tipo de tratamiento y la población se realizó un ANOVA de dos vías y se obtuvo diferencias significativas para tratamientos ($F = 10,059$; $p < 0,001$) y para la interacción entre población y tratamientos ($F = 3,239$; $p = 0,041$). No se encontraron diferencias significativas entre poblaciones ($F = 0,049$; $p = 0,824$). La prueba de Tukey entre tratamientos y poblaciones detectó diferencias entre el control y la autogamia en Brest ($p = 0,001$), la suplementación en Brest y la autogamia en la misma población ($p < 0,0001$) y la suplementación en San Félix y la autogamia en Brest ($p = 0,003$) (Fig. 10 y Tabla 2).

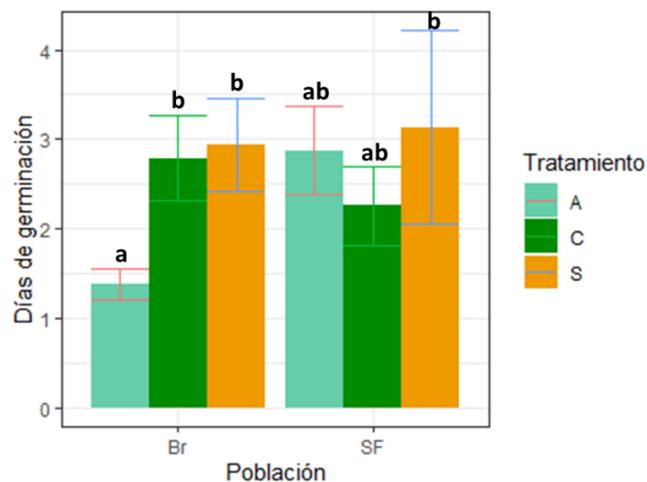


Figura 10. Diagrama de barras que muestra los días que han tardado las semillas en germinar de cada población según el tipo de tratamiento, siendo en color turquesa la autogamia (A), en verde el control o alogamia + autogamia (C) y en naranja la suplementación (S). Las distintas letras indican diferencias estadísticamente significativas según ANOVA con post hoc de Tukey ($p < 0,05$). Gráfico realizado mediante el programa R.

Tabla 2. Resultados obtenidos tras la prueba de Tukey con el programa R, mostrando con un * los valores con diferencias significativas. Br, Brest; SF, San Félix; A, autogamia; C, control; S, suplementación.

	diff	lwr	upr	valor p
C:Br - A:Br	1,41188525	0,3975587	2,4262118	0,0011920 *
S:Br - A:Br	1,55942623	0,5450997	2,5737528	0,0002214 *
A:SF - A:Br	1,50000000	-0,5076059	3,5076059	0,2668874
C:SF - A:Br	0,88306452	-0,3282646	2,0943936	0,2933772
S:SF - A:Br	1,76136364	0,4078360	3,1148913	0,0031527 *
S:Br - C:Br	0,14754098	-0,8043784	1,0994603	0,9977657
A:SF - C:Br	0,08811475	-1,8886942	2,0649237	0,9999951
C:SF - C:Br	-0,52882073	-1,6883941	0,6307526	0,7788209
S:SF - C:Br	0,34947839	-0,9579348	1,6568916	0,9725295
A:SF - S:Br	-0,05942623	-2,0362352	1,9173827	0,9999993
C:SF - S:Br	-0,67636171	-1,8359350	0,4832116	0,5486888
S:SF - S:Br	0,20193741	-1,1054758	1,509350	0,9978025
C:SF - A:SF	-0,61693548	-2,7016977	1,4678268	0,9574862
S:SF - A:SF	0,26136364	-1,9091092	2,4318365	0,9993390
S:SF - C:SF	0,87829912	-0,5872346	2,3438328	0,5182688

4. DISCUSIÓN

La familia Asteraceae (Compositae) conforma uno de los grandes grupos de plantas con flores en el mundo (Pysek, 1997). Estas plantas presentan una serie de ventajas que les permiten adaptarse a nuevos ambientes como una polinización eficaz, una alta capacidad reproductiva junto con estrategias de dispersión y germinación de semillas. Por lo que esta familia suele incluir un número alto de especies endémicas y exóticas (Torres y Galetto, 2008). Lo que conlleva en la actualidad a una situación de extinción para muchas de estas especies debido a una reducción de sus áreas de ocupación como sucede con *Tragopogon pseudocastellanus*.

A pesar de que el género *Tragopogon* presenta unas 150 especies mundialmente, en la Península Ibérica se pueden encontrar concretamente las diez especies siguientes: *T. porrifolius*, *T. angustifolius*, *T. castellanus*, *T. pratensis*, *T. crocifolius*, *T. cazorlanus*, *T. pseudocastellanus*, *T. lamottei*, *T. dubius* y *T. laizii*, todas ellas descritas y recopiladas en el libro de *Flora ibérica volumen XVI (II) Compositae (partim)*. De estas especies la única que se halla en estado de amenaza, exactamente en la categoría más alta, En Peligro Crítico (CR), es *Tragopogon pseudocastellanus*.

Los resultados de los análisis de este Trabajo Fin de Grado en cuanto al número de semillas y peso de estas apuntan hacia el mismo éxito reproductivo de *T. pseudocastellanus* independientemente de la procedencia del polen, lo que indica que la especie es autocompatible. La autocompatibilidad en Asteraceae no es común. En diversos estudios como el de Torres y Galetto (2008) se describe cómo la familia Asteraceae suele ser autoincompatible. La autoincompatibilidad es un sistema que previene la consanguinidad evitando la autofecundación e impidiendo cruzamientos entre parientes cercanos con la misma incompatibilidad. Se pueden distinguir 2 tipos de autoincompatibilidad según la incompatibilidad del polen: la gametofítica que suele ser la más común, está controlado por su propio genotipo haploide y la esporofítica por el diploide de la antera donde se originan (Hiscock y Tabah, 2003).

Dados los tamaños poblacionales reducidos que suelen tener las especies amenazadas, la autocompatibilidad no sería, a priori, un sistema esperable en estos sistemas. En un estudio de biología floral y reproductiva de nueve especies presentes en el Catálogo de Especies Amenazadas de la Flora Andaluza se encontraron unos valores altos de autocompatibilidad, aunque la autogamia espontánea era poco frecuente (Alonso *et al.*, 2004). Sin embargo, existían diferencias particulares en la fenología de la floración y en el éxito de reproducción, lo que da a entender que cada especie amenazada es un caso concreto que requiere de un estudio exhaustivo para poder determinar en donde se halla el problema y solventarlo. Otro trabajo sobre una especie En Peligro Crítico que presenta un sistema autocompatible es el de *Petrocoptis viscosa* que al igual que en *T. pseudocastellanus*. Atendiendo al peso medio de las semillas de *P. viscosa* sí que existen diferencias significativas en el peso dependiendo de su origen, siendo más ligeras las obtenidas por autogamia espontánea, autogamia y geitonogamia que las de xenogamia. En nuestro estudio, sin embargo, no se hallaron diferencias para este carácter en *T. pseudocastellanus*, lo que parece indicar que su total autocompatibilidad también se refleja a este nivel.

A pesar de que se ha visto que *T. pseudocastellanus* es autocompatible tras someter algunas plantas a una autogamia forzada mediante polinización manual y embolsamiento y dejar otras sin embolsar expuestas a autogamia y alogamia natural (controles), resultaría atractivo realizar un estudio con una ampliación de tratamientos. En otros trabajos con compuestas se han realizado otros tratamientos interesantes, como por ejemplo en el de Torres y Galetto (2008) en el que se analizaron 30 asteráceas simpátricas de poblaciones naturales en Argentina, o el de Zaffaroni *et al.* (2021) sobre *Chuquiraga avellanadae*, un arbusto endémico de la Patagonia.

En estos casos se implementó una autopolinización espontánea en la que a pesar de que se embolsaban las flores no se polinizaban manualmente. También se llevaba a cabo una polinización cruzada con intervención manual de polen de otra planta y posterior embolsamiento, es decir, controlando por el individuo donador de polen. Un último tratamiento para estudiar si la polinización era favorecida por el viento (anemófila), por insectos (entomófila) o por una combinación de ambos (ambofilia) consiste en embolsar las flores con una malla de 0,2 mm de apertura para permitir solo pasar el viento y no los insectos. En nuestro caso no analizamos ninguno de estos aspectos, que quizá podrían incluirse en futuros trabajos.

La dispersión anemócora de los propágulos de las asteráceas permite una amplia distancia de propagación, sin embargo, que esta familia constituya un grupo de gran riqueza no solo se debería a esta característica. También estaría ligada a altas tasas de producción de semillas, pero todavía no existen suficientes evidencias (Castillo *et al.*, 2009). Aunque según Pérez de Paz (2002) las plantas autógamias además de poseer, por norma general, flores más pequeñas y menos numerosas y llamativas, junto con niveles de olor y néctar más bajos, presentan una mayor proporción relativa de semillas que las plantas alógamas. Es cierto que en la Figura 4 se ve esa ligera diferencia en el número de cicatrices, pero como se ha mencionado anteriormente en ese apartado, dicha distinción no es significativa.

En cuanto a la germinación de las semillas, se detectaron diferencias significativas en los días de germinación entre el control y la autogamia en las semillas procedentes de Brest, la suplementación en Brest y la autogamia en la misma población y la suplementación en San Félix y la autogamia en Brest (ver Tabla 2). Tras revisar los resultados obtenidos atendiendo al porcentaje de germinación (ver Figura 7) se podría pensar que los valores encontrados por la población Brest respecto a San Félix se pudieran deber a diferencias en la conservación del material o su manipulación en el momento de la germinación. De hecho, el material de mejor calidad fue utilizado en la primera germinación que se realizó en el contexto de este Trabajo Fin de Grado y que no fue fructífera. Los resultados, por tanto, deben ser tomados con cautela, pero en cualquier caso apuntan a diferencias mínimas, que en condiciones naturales quizá pudieran desaparecer. En otras especies, como en *P. viscosa*, tampoco se han encontrado valores significativos entre tratamientos en el porcentaje de germinación, aunque en la velocidad de germinación ha sido mayor en aquellas semillas procedentes de alogamia que autofecundadas (Navarro y Guitián, 2002).

A la hora de actuar frente a situaciones críticas como es la reducción de biodiversidad hay que recordar que la toma de acciones inmediatas debe ser planificada y ejecutada localmente y no globalmente (Benito, 2009). Por ello, como estrategias de conservación de *T. pseudocastellanus* se lleva solicitando desde 2004 de la mano de Llamas, Acedo, Alonso y Lence su inclusión en el catálogo de Castilla y León y en el CNEA. Además, resulta conveniente la elaboración de un plan de recuperación que asegure el mantenimiento y la estabilidad del hábitat y sobre todo que se continúe con el seguimiento de la población y la realización de censos que determinen posibles fluctuaciones, ya que el última data de 2017. La inclusión de semillas es banco de germoplasma es una medida propuesta para la especie, que debe tener en cuenta los resultados de este estudio, lo mismo que el perfeccionamiento de técnicas de cultivo que favorezcan su reintroducción (Llamas *et al.*, 2004).

5. CONCLUSIÓN

Según los resultados obtenidos tras este estudio se puede concluir que tanto el número de semillas como el peso del aquenio en principio no se ven influidos por el origen del polen que fecunda las flores. Esto indica que la especie es autógena, lo que es importante en términos de conservación. Sin embargo, para los días de germinación, según la prueba de Tukey, sí que se encontraron diferencias significativas entre el control y la autogamia de semillas procedentes de Brest, la suplementación de Brest y la autogamia de la misma población y la suplementación de San Félix y la autogamia de Brest. Estas diferencias, no obstante, son mínimas, y probablemente no afectasen en términos de éxito en condiciones naturales. No obstante, sería interesante germinar estas semillas en dichas condiciones naturales en el futuro. En cualquier caso, es necesario seguir realizando trabajos de biología reproductiva porque entender las necesidades reproductivas de las plantas es un componente esencial para gestionar planes de recuperación y conservación de especies amenazadas, y con el fin de aumentar su supervivencia en el medio y disminuir así su grado de amenaza.

6. REFERENCIAS

Alfaro, E., Llamas, F., Fernández-Calvo, A. y Acedo, C. (2020) *Un microendemismo en lucha constante*. Disponible en: <https://www.conservacionvegetal.org/2020/11/01/un-microendemismo-en-lucha-constante/> (Accedido: 16 de mayo de 2023)

- Alfaro-Saiz, E., Llamas, F., García-González, M.E., Alonso-Redondo, R. y Acedo C. (2017) *Estrategia actual de conservación del microendemismo leonés Tragopogon pseudocastellanus: en lucha constante*. Póster 8º Congreso de Biología de la Conservación de Plantas. Madrid.
- Alonso, C., Garrido, J. L. y Herrera, C. M. (2004) *Investigaciones sobre plantas y animales en las Sierras de Cazorla, Segura y Las Villas*. Sevilla: Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía.
- Ayasse, M. y Arroyo, J. (2011) "Pollination and plant reproductive biology", *Plant Biology (Stuttgart, Germany)*, 13 Suppl 1, pp. 1-6. doi:[10.1111/j.1438-8677.2010.00414.x](https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2010.00414.x).
- Bañares, A., Marrero, M. V. y Carque, Eduardo (2005) "Caso de Sitio: Estrategias de recuperación de plantas amenazadas en espacios naturales protegidos (España)", en Organismo Autónomo Parques Nacionales (ed.) *Áreas protegidas de Iberoamérica: conservación y sociedad en el siglo XXI* pp. 111-129.
- Blanca, G. y Díaz de la Guardia, C. (1996) "Sinopsis del género *Tragopogon* L. (Asteraceae) en la Península Ibérica". *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 54: 358-363.
- Castilla y León (2015) "Ley 4/2015, de 24 de marzo, del Patrimonio Natural de Castilla y León", *Boletín Oficial de Castilla y León*, 30 de marzo de 2015, (61) pp. 1-54
- Castillo, S., Martínez, Y., Meave, J.A. y Hernández M. (2009) "Flora: susceptibilidad de la comunidad a la invasión de malezas nativas y exóticas", en Cano, A. (ed.) *Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel*, pp. 107-133.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) y Secretaría del Medio Ambiente del Distrito Federal (SEDEMA) (2016) *La biodiversidad en la Ciudad de México*. México: CONABIO-SEDEMA.
- Corcuera, P. y Ponce de León, L. (2004) "Tendencias de los movimientos conservacionistas y el surgimiento de la Eco-Ética", *Sociológica*, 19(56), pp. 199-211.
- Díaz de la Guardia, C. y Blanca, G. (2017) "Tragopogon L." en Talavera, S., Buirra, A., Quintanar, A., García, M.A., Talavera, M., Fernández Piedra, P. y Aedo, C. (eds.) *Flora ibérica Compositae (II)* Madrid: Real Jardín Botánico, CSIC, pp. 795-812.
- Dubois, A. (2003) "The relationships between taxonomy and conservation biology in the century of extinctions", *Comptes Rendus Biologies*, 326 Suppl 1, pp. S9-21. doi:[10.1016/s1631-0691\(03\)00022-2](https://doi.org/10.1016/s1631-0691(03)00022-2).
- España (2011) "Real Decreto 139/2011, de 4 de febrero, para el desarrollo del Listado de Especies Silvestres en Régimen de Protección Especial y del Catálogo Español de Especies Amenazadas", *Boletín Oficial del Estado*, 23 de febrero de 2011, (46), 20912-20951.
- Fernández, B., Fernández, P. y Pereira, B. (2015) "Extinciones masivas de la Tierra", *Nuclear España*, pp. 38-42
- Garza, V. (2009) "Rachel Carson: La escritura de lo ambiental", *CULCyT: Cultura Científica y Tecnológica*, 6(33-34), pp. 39-45.
- Gobierno de España (2019) *Historia de la Red de Parques Nacionales*. Disponible en: <https://www.miteco.gob.es/es/parques-nacionales-oapn/red-parques-nacionales/historia.aspx> (Accedido: 1 de junio de 2023)
- Gómez Lee, M. I. (2005) "Las patentes sobre biodiversidad en el TLC: negocio inconsulto", *OASIS: Observatorio de Análisis de los Sistemas Internacionales*, (11), pp. 103-134.
- Gomis, E. (2003) "La sexta extinción", *Argutorio: revista de la Asociación Cultural «Monte Irago»*, 4(10), pp. 32-34.
- Herrera, C. M., Hernández-Bermejo, J.L., Luque, P. y Benavente A. (1999) "*Viola cazorlensis* Gandoger", en Blanca, G., Cabezuelo, B., Hernández-Bermejo, J.E., Herrera, C. M., Molero Mesa, J., Muñoz, J. y Valdés, B. (eds.) *Libro Rojo de la Flora Silvestre Amenazada de Andalucía (Tomo I)*. Andalucía: Conserjería de Medio Ambiente, pp. 294-297.
- Hiscock, S.J. y Tabah, D. A. (2003) "The different mechanisms of sporophytic self-incompatibility", *The Royal Society*, 358, pp. 1037-1045. doi:[10.1098/rstb.2003.1297](https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1297)

- Kearns, C. A., Inouye, D. W. y Waser, N. M. (1998) "Endangered mutualisms: the conservation of plant-pollinator interactions", *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29(1), pp. 83-112. doi:[10.1146/annurev.ecolsys.29.1.83](https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.83).
- Llamas, F., Acedo, C., Alonso, R. y Lence, C. (2004) "*Tragopogon pseudocastellanus* Blanca & C. Díaz", en Bañares, Á., Blanca G., Güemes J., Moreno J.C. y Ortiz S. (eds.) *Atlas y Libro Rojo de la Flora vascular Amenazada Española*. Madrid: Dirección General de Conservación de la Naturaleza, pp. 554-555.
- Llamas, F., Acedo, C. y Redondo, R. A. (2002) "Distribución, ecología y estado de conservación de *Tragopogon pseudocastellanus* Blanca y Díaz de la Guardia (Asteraceae)", *Acta Botánica Malacitana*, 27, pp. 257-259. doi:[10.24310/abm.v27i0.7338](https://doi.org/10.24310/abm.v27i0.7338).
- Moreno, J.C. (2008) *Lista Roja 2008 de la flora vascular española*. Madrid: Grupo Tragsa.
- Myers, N. (1987) "The Extinction Spasm Impending: Synergisms at Work", *Conservation Biology*, 1(1), pp. 14-21.
- Naciones Unidas (1992) *Convenio sobre la Diversidad Biológica*. Disponible en: <https://www.un.org/es/conferences/environment/rio1992> (Accedido: 1 de junio de 2023)
- Navarro, L. y Guitián, J. (2002) "The role of floral biology and breeding system on the reproductive success of the narrow endemic *Petrocoptis viscosa* rothm. (Caryophyllaceae)", *Biological Conservation*, 103(2), pp. 125-132. doi:[10.1016/S0006-3207\(01\)00108-2](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(01)00108-2).
- Negri, S. (2010) "La biodiversidad como «interés común de toda la humanidad»: perfiles controvertidos de reglamentación y de responsabilidad internacional", en Ivone, V. (ed.) *Biodiversidad, biotecnologías y derecho. Un crisol para la sustentabilidad*. Roma: Aracne Editrice pp. 143-161.
- Pérez de Paz, J. (2002) "La biología reproductiva: importancia y tipos de estudios", en Bañares, A. (ed.) *Biología de la conservación de plantas amenazadas*. Madrid: Icona, pp. 71-132.
- Primack, R. B. y Ros, J. (2002) *Introducción a la biología de la conservación*. Barcelona: Ariel.
- Pysek, P. (1997) "Compositae as invaders: better than the others?", *Preslia, Praha*, 69: 9-22.
- R Core Team (2022) *R: A language and environment for statistical computing (Versión 4.2.2) [Programa de ordenador]*. Disponible en: <https://www.R-project.org/> (Accedido: 21 de mayo de 2023)
- Seguí, J. M. (2010) *Biología y biotecnología reproductiva de las plantas*. Valencia: Universitat Politècnica de València.
- Sociedad Española de Biología de la Conservación de Plantas (sin fecha) [*Página web corporativa*]. Disponible en: <https://www.conservacionvegetal.org/quienes-somos/> (Accedido: 29 de mayo de 2023)
- Soulé, M. E. (1985) "What Is Conservation Biology?", *BioScience*, 35(11), pp. 727-734. doi:[10.2307/1310054](https://doi.org/10.2307/1310054).
- Tellería, J. L. (2012) *Introducción a la conservación de las especies*. Valencia: Tundra.
- Torres, C. y Galetto, L. (2008) "Importancia de los polinizadores en la reproducción de Asteraceae de argentina central", *Acta Botánica Venezuelica*, 31(2), pp. 473-494.
- Wickham, H. (2016) *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis (Versión 3.4.2)[Programa de ordenador]* New York: Wickham, H.
- World Wildlife Fund (2010) *Informe Planeta Vivo 2010*. Disponible en: <https://wwf.panda.org/es/?195675/Informe-Planeta-Vivo-2010> (Accedido: 25 de mayo 2023)
- Zaffaroni, F. T., Campanella, M.V. y Martínez F.J. (2021) "Biología reproductiva de *Chuquiraga avellanadae* (Asteraceae), un arbusto endémico de la Patagonia", *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 56(4), pp. 1-8. doi:[10.31055/1851.2372.v56.n4.33707](https://doi.org/10.31055/1851.2372.v56.n4.33707).