

Estudi i optimització de protocols de germinació per a 5 espècies amenaçades de l'Alta Garrotxa

ROSA MERLO-DOMINGO i NÚRIA MEMBRIVES FERNÀNDEZ

Fundació Carl Faust Pg. Carles Faust 9, 17300 Bla, la Selva

rosa.md85@gmail.com

nuria.membrives@marimurtra.cat

Rebut: 30.11.2010

Acceptat: 31.12.2010

Resum

El projecte proposa realitzar els assajos pertinents per establir els protocols de germinació per a 5 espècies amenaçades de l'Alta Garrotxa. Les espècies assajades són: *Dichoropetalum schottii*, *Glandora oleifolia*, *Oplismenus undulatifolius*, *Polygala vayredae* i *Silaum silaus*. El projecte pretén iniciar mesures de conservació *ex situ* a través de proves de germinació en cambra, realitzant els pretractaments adients per tal de simular les condicions naturals. Per totes les espècies els percentatges de germinació han estat baixos (<48%). L'única espècie que ha sobreviscut al repicat de les llavors germinades ha estat *G. oleifolia*. Es proposa continuar assajant amb diferents condicions ambientals i fotoperíodes a fi d'aconseguir uns percentatges de germinació acceptables, o bé optar per altres sistemes de propagació com la multiplicació vegetativa.

Paraules clau

Germinació, conservació *ex situ*, *Dichoropetalum schottii*, *Glandora oleifolia*, *Oplismenus undulatifolius*, *Polygala vayredae* i *Silaum silaus*.

Abstract

Study and optimization of germination protocols for 5 endangered species from the Alta Garrotxa

The purpose of the project is to carry out relevant tests to establish germination protocols for five endangered species from the Alta Garrotxa. These species are: *Dichoropetalum schottii*, *Glandora oleifolia*, *Oplismenus undulatifolius*, *Polygala vayredae* and *Silaum silaus*. The project aims to initiate *ex situ* conservation measures by means of germination tests in chamber,

with adequate pre-treatments for simulating natural conditions. For all species, germination rates have been low (<48%). The only species that has survived the pruning of germinated seeds has been *G. oleifolia*. Further tests will be made using different photoperiods and environmental conditions to achieve acceptable rates of germination, or other means of methods of propagation may be chosen such as vegetative multiplication.

Key words

Germination, *ex situ* conservation, *Dichoropetalum schottii*, *Glandora oleifolia*, *Oplismenus undulatifolius*, *Polygala vayredae* and *Silaum silaus*.

Introducció

El Departament de Medi Ambient i Habitatge (DMAH) de la Generalitat de Catalunya va publicar el Decret 172/2008 per a la creació del Catàleg de flora amenaçada de Catalunya (26 d'agost 2008) la qual cosa ha significat un document base per iniciar pautes per desenvolupar la conservació de la flora catalana en els subsegüents anys.

La conservació de flora amenaçada comporta tenir en compte dues línies d'actuació: (i) conservació *in situ* que inclou la creació de mesures de conservació d'espais naturals i el seguiment de les poblacions i (ii) conservació *ex situ* que inclou, per una banda, disposar de material viu amb el màxim de diversitat genètica de les poblacions, ja sigui com a col·leccions cultivades de planta viva o guardades en forma de llavor en els bancs de germoplasma, i per altra, el coneixement de cultiu, d'estratègies reproductives i de la diversitat genètica d'aquestes poblacions.

La Delegació de la Garrotxa de l'Institut Catalana d'Història Natural (ICHN), porta diversos anys treballant en el coneixement de la flora de l'EIN de l'Alta Garrotxa a diferents nivells: comunitats vegetals, flora amenaçada, flora invasora, ... i fent una tasca de divulgació i conscienciació destacable (veure <http://130.206.88.24/ichngarrotxa/index.php>). En relació a la conservació de la flora amenaçada es disposa d'un excel·lent treball de recollida de dades i propostes d'acció titulat: "Seguiment i conservació de la flora vascular protegida i/o amenaçada de l'Alta Garrotxa" (OLIVER, 2006). Com a resultat d'aquest treball es destaca la presència de 6 espècies vasculares incloses en els annexes 1 o 2 del Decret (taula 1).

En canvi, s'ha fet poc treball en aquesta zona en relació a la conservació *ex situ*. Per a la majoria d'espècies, no es disposa de material conservat en cap banc de germoplasma, no es coneix com fer germinar les llavors ni cultivar les plantes i poc es coneix de la diversitat genètica i els aspectes reproductius. Alguns dels projectes de conservació *ex situ* i recerca en relació a la flora amenaçada de l'Alta Garrotxa que s'han realitzat són: "i) estudis de reproducció amb *Polygala vayredae* (CASTRO, 2007) i *Glandora oleifolia* (FERRERO *et al.*, 2006), ii) estudis de diversitat genètica de *Glandora oleifolia* (LÓPEZ-PUJOL *et al.*, 2009), iii) estudis de viabilitat poblacional de *Dichoropetalum schottii* (MARTINELL, 2010), iv) alguns resultats preliminars sobre germinació d'*Oplismenus undulatifolius* (TARRUELLA & GUERRERO, 2000) i v) estudis de germinació d'*Allium pyrenaicum* (Gifré & Font, 2009).

El nostre projecte proposa estudiar els protocols de germinació de 5 de les 6 espècies incloses al Decret presents a l'Alta Garrotxa: *Dichoropetalum schottii*, *Glandora oleifolia*, *Oplismenus undulatifolius*, *Polygala vayredae* i *Silaum silaus*. Per l'espècie *Allium pyrenaicum* ja existeix un estudi de germinació realitzat pel Grup de Recerca de Flora i Vegetació de la Facultat de Ciències de la Universitat de Girona (GIFRE & FONT, 2009).

El projecte persegueix dos objectius principals:

- 1) Recol·lectar llavors de les 5 espècies amenaçades citades per realitzar els assaigs de germinació i cultiu.
- 2) Establir els protocols de germinació i cultiu de les llavors de les espècies seleccionades.

Material i mètodes

Recol·lecció i neteja

La recol·lecció i neteja de les espècies es va realitzar seguint els protocols i recomanacions descrits en diferents manuals de germinació (GENMEDOC, 2006; ENSCONET, 2009 i BACCHETTA *et al.*, 2008).

A partir de les dades fenològiques (BOLÒS *et al.*, 2005) es van fer dos grups: *Glandora oleifolia* i *Polygala vayredae* per recol·lectar a l'estiu i *Dichoropetalum schottii*, *Oplismenus undulatifolius* i *Silaum silaus* per recol·lectar a la tardor. Un cop a camp, es van localitzar les poblacions i es van recollir les llavors vigilant de deixar-ne les suficients per la pròpia dinàmica

Espècie	Família	Categoria UICN (2001)	Categoria Decret 172/2008	Justificació
<i>Glandora oleifolia</i> (Lapeyr.) D.C. Thomas (= <i>Lithodora oleifolia</i> Griseb.)	Boraginaceae	VU: D2	VU	3 localitats reduïdes i úniques al món
<i>Oplismenus undulatifolius</i> (Ard.) Roem. et Schultes	Poaceae	EN: B1 + 2bc, C2b	EN	1 única localitat a la Península Ibèrica
<i>Dichoropetalum schottii</i> (Besser ex DC.) Pimenov & Kljuykov (= <i>Peucedanum schottii</i> Besser ex DC.)	Apiaceae	EN: B1 + 2c, C2b	EN	Localitat única a la Península Ibèrica i en regressió
<i>Polygala vayredae</i> Costa	Polygalaceae	VU: D2	VU	1 única localitat àmplia al món
<i>Silaum silaus</i> (L.) Schinz & Thell.	Apiaceae	VU	VU	2 úniques localitats a Catalunya
<i>Allium pyrenaicum</i> Costa et Vayr. in Costa	Liliaceae	VU: D2	VU	Àrea de distribució reduïda en hàbitats en regressió

Taula 1: Espècies de l'EIN de l'Alta Garrotxa catalogades en el Decret 172/2008, de creació del Catàleg de flora amenaçada de Catalunya

poblacional però al mateix temps tenir-ne per fer diferents proves i en cas que fos possible per guardar al Banc de Germoplasma del Jardí Botànic Marimurtra (taula 2).

Les mostres recol·lectades es van portar al laboratori on es van netejar i es van guardar en sobres de paper en una sala fosca a 18°C fins al moment de fer-les servir. A partir de la bibliografia disponible (BISCHOFF, 2000; CHANTRE *et al.*, 2009; ECKSTEIN & DONATH, 2005; GRIME *et al.*, 1981; OSUNA-AGUILERA *et al.*, 2007; PRADOS-LIGERO, 2007; SOUSA *et al.*, 2008) es va dissenyar un pla d'experimentació per a cada espècie, es van comptar les llavors que farien falta per a cada assaig i la resta es van guardar en pots amb gel de sílice. Un cop dessecades es va estimar el nombre total de llavors a partir de la mitjana del pes de 4 rèpliques de 100 llavors.

Germinació

Les proves de germinació es van realitzar en una cambra de germinació sota control de llum i temperatura. Totes les llavors es van desinfectar amb NaOCl al 5% durant 5 minuts per eliminar els possibles fongs i altres microorganismes que poguessin acompanyar les llavors recol·lectades a camp. Un cop passats els 5 minuts es va rentar cada lot de llavors diverses vegades amb aigua destil·lada. Un cop fets els pretractaments específics de cada lot, totes les llavors es van deixar cobertes amb aigua durant 48 h a temperatura ambient (entre 18°C i 22°C) per tal de que s'embeguessin. Passades les 48 h les llavors

es van posar en plaques de petri amb agar a l'1% i es van posar a la cambra. Les condicions de temperatura van ser iguals per tots els assajos: 25°C/15°C (12 h/12 h) simulant la diferència de temperatura dia-nit. Per les condicions de fotoperíode es van plantejar dues situacions: 12 h de llum i 12 h de foscor per una banda, i totalment fosc per l'altra, excepte per *Glandora oleifolia* on només es va considerar el cicle dia-nit. Es va controlar la germinació cada dos dies al mateix temps que s'afegia aigua destil·lada a les plaques que quedaven més seques.

Per a cada tractament es van fer servir 20 llavors. Passat un mínim de 3 mesos des de que les llavors es van posar a la cambra, aquestes es van retirar i es va fer la prova del tetrazoli. Aquesta prova consisteix en submergir les llavors en una solució de 2,3,5-Tetraphenyl tetrazolium chloride (BACCHETTA *et al.*, 2008; Tetrazolium subcommittee, 2005) una substància fotosensible que reacciona amb l'activitat mitocondrial i això va permetre identificar el percentatge de llavors vives (i per tant considerades dorments) i el percentatge de mortalitat a cada lot.

A continuació es detallen tots els pretractaments específics per a cada una de les 5 espècies.

Glandora oleifolia

Es van utilitzar llavors recol·lectades durant l'any 2009 de la població del Salt del Brull (població amb la mostra més abundant). Es van fer dos lots: un sense deshidratar i un altre amb les llavors deshidratades

Espècie	Població	Data de recol·lecció	Número de llavors recol·lectades	Número de llavors guardades al BG
<i>Glandora oleifolia</i>	El Salt del Brull	11/06/09	267	97
<i>Glandora oleifolia</i>	Baumes d'Uja	11/06/09	168	168
<i>Polygala vayredae</i>	Coll de Carrera	29/06/09	601	432
<i>Dichoropetalum schottii</i>	Mare de Déu del Mont	19/09/08	299	199
<i>Dichoropetalum schottii</i>	Mare de Déu del Mont	25/09/09	190	110
<i>Oplismenus undulatifolius</i>	Font del Serrat	15/10/09	1034	984
<i>Silaum silaus</i>	Plans de Bonaire (I)*	15/10/09	7349	6869
<i>Silaum silaus</i>	Plans de Bonaire (II)*	15/10/09	1150	1150

Taula 2: Dades de recol·lecció de les llavors de les espècies estudiades. *Les llavors de *S. silaus* es van recol·lectar a la comarca del Ripollès ja que les poblacions de la Garrotxa es consideren desaparegudes.

durant 3 mesos i guardades a 18°C. Els pretractaments aplicats van ser: escarificació física (es va fer un tall a la coberta de cada llavor amb un escalpel), escarificació química (llavors submergides 15 minuts en H₂SO₄ al 96% i després rentades diverses vegades), estratificació freda (col·locades un mes en torba humida a 5°C) i control.

Viu en roques calcàries amb aigua de la muntanya mediterrània humida entre els 500 i 1000 m (BOLÒS *et al.*, 2005). Les dues escarificacions havien de servir perquè l'aigua pogués penetrar a través de la coberta de la llavor i que aquesta comencés el procés de germinació. L'estratificació freda es va considerar per simular l'hivern que les llavors de *G. oleifolia* han de superar abans de germinar a la primavera.

Polygala vayredae

Es van fer servir llavors recol·lectades durant l'any 2009. Igual que en *G. oleifolia* es van fer dos lots: un sense deshidratar i l'altre amb les llavors deshidratades durant 3 mesos, en aquest cas es van guardar a 5°C simulant l'hivern. La llavor, de coberta dura, té eleosoma i és dispersada per formigues. Viu en zones calcàries en pasturatges camefítics de la muntanya mediterrània plujosa entre els 480 i 1075 m (BOLÒS *et al.*, 2005). Els pretractaments aplicats van ser: la retirada de l'eleosoma (com si les formigues s'haguessin endut les llavors), escarificació física (tall amb escalpel a la coberta de cada llavor), la combinació de la retirada d'eleosoma amb escarificació física i control.

Oplismenus undulatifolius

Es van fer servir llavors recol·lectades l'any 2009 sense pretractaments. Viu en boscos humits de l'estatge montà plujós entre els 300 i els 400 m (BOLÒS *et al.*, 2005). Tenint en compte l'alçada a la que viu, no es va considerar necessari fer estratificació freda i com que la coberta no és dura, no es van fer escarificacions per no malmetre la llavor.

Dichoropetalum schottii

Es van fer servir llavors recol·lectades durant l'any 2008 deshidratades durant un any i congelades durant els darrers 2 mesos i llavors de l'any 2009 sense deshidratar. Viu en llocs rocosos calcaris de la muntanya mediterrània als 1100 m (BOLÒS *et al.*, 2005). Com a únic pretractament es va fer una escarificació física (tall amb escalpel) i control.

Silaum silaus

Es van fer servir les llavors recol·lectades l'any 2009 sense deshidratar. Viu en aiguamolls de l'estatge montà i contrades mediterrànies plujoses entre els 0 i 1325 m (BOLÒS *et al.*, 2005). Els diferents pretractaments van ser:

escarificació química, escarificació física, estratificació freda (submergides en aigua a 4°C durant 7 dies), escarificació química combinada amb estratificació freda i escarificació física combinada amb estratificació freda i control. Per a aquesta espècie es van fer dues rèpliques de cada pretractament.

Resultats i discussió

Glandora oleifolia

Els percentatges de germinació van ser baixos (<15%) i els percentatges de mortalitat elevats principalment en els lots en que es va fer algun pretractament (principalment les escarificacions tan física com química) ja sigui deshidratades o sense deshidratar (figura 1).

Caldria continuar assajant amb diferents temperatures i fotoperíodes per poder establir un millor protocol de germinació per a *G. oleifolia*.

El percentatge de supervivència al repicat de les llavors germinades ha estat d'un 50%.

Polygala vayredae

Els percentatges de germinació tot i que no van ser tan baixos com a l'espècie anterior, no superen el 48% (figura 2). En aquesta gràfica només es representen els assajos on es van obtenir germinacions. Veient els tractaments amb els que hi va haver resultat, podem dir que requereix escarificació (en aquest cas física) perquè la llavor pugui germinar. També podem dir que no hi ha diferències entre el cicle dia-nit (12 h/12 h) o 24 h de foscor pel que fa al percentatge de germinació. Sembla que el tractament de retirada de l'eleosoma i escarificació conjuntament és el més apropiat per si es vol repetir l'experimentació amb diferents temperatures o fotoperíodes.

Cap de les llavors germinades de *P. vayredae* ha sobreviscut al repicat. Dues possibles causes podrien ser que les condicions de temperatura de l'hivernacle on es cultiven els repicats no han sigut les més adequades o bé que les llavors necessiten relacions simbiòtiques amb micorizes per prosperar.

Oplismenus undulatifolius

El percentatge de germinació d'*O. undulatifolius* també va ser baix (<16%) (figura 3), però s'ha de tenir en compte que no es va fer cap tractament. Podem dir que té una petita tendència a funcionar millor en foscor. El percentatge de mortalitat és molt elevat i pràcticament no hi ha llavors dorments.

Les llavors germinades de *O. undulatifolius* no van sobreviure al repicat.

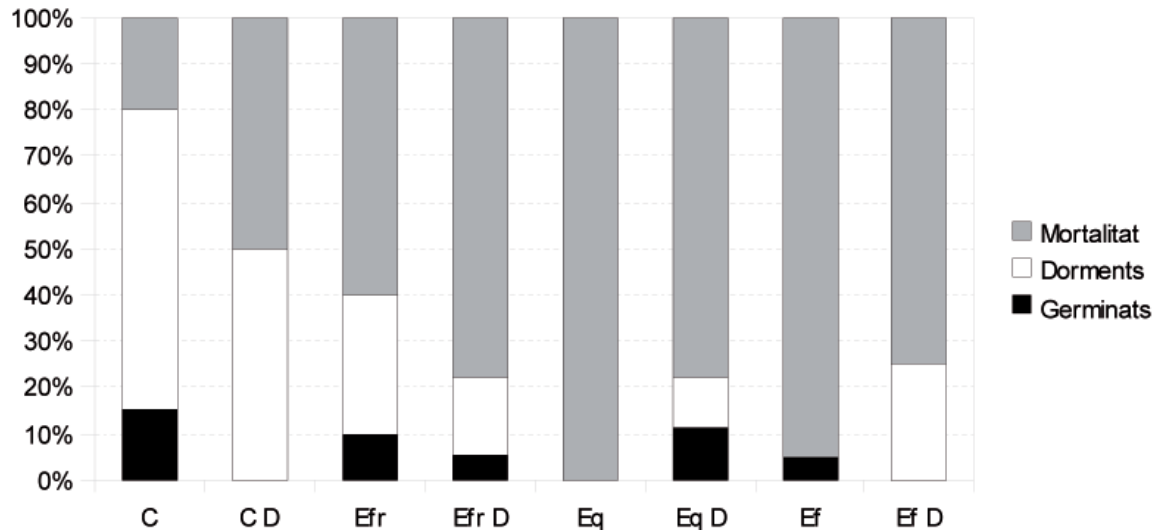


Figura 1. *Glandora oleifolia*. Percentatges de germinació amb els diferents pretractaments: C=control, D=deshidratat, Efr=estratificació freda, Eq=escarificació química i Ef=escarificació física

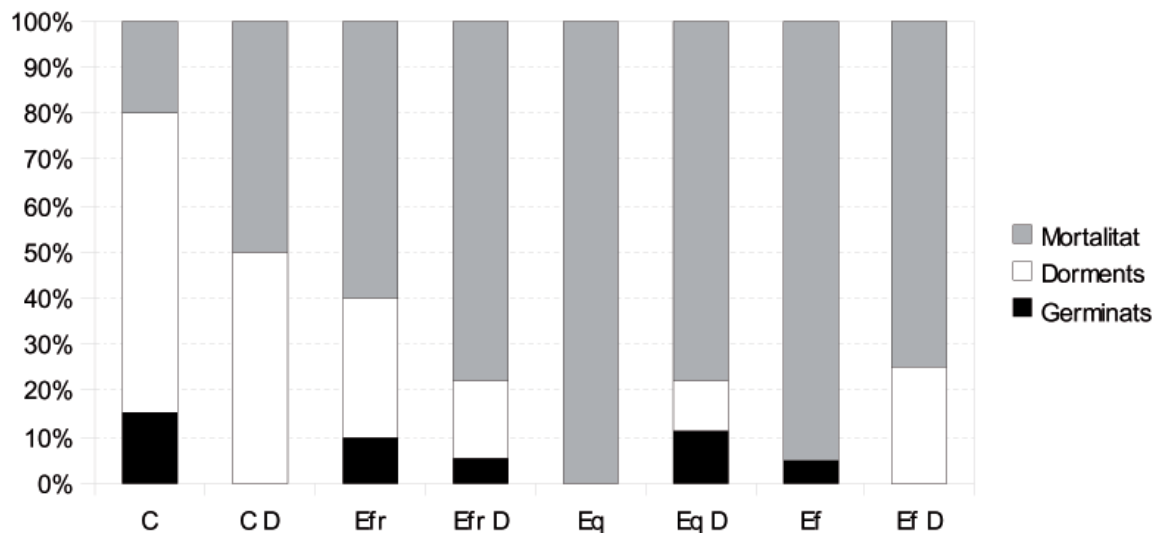


Figura 2. *Polygala vayredae*. Percentatges de germinació amb els diferents pretractaments: Ef=escarificació física, D-N= cicle dia-nit, F=foscor, D=deshidratat i Re=retirada de l'eleosoma.

Dichoropetalum schottii

Els percentatges de germinació de *D. schottii* van ser molt baixos (<8%) (figura 4). Els percentatges de mortalitat van ser més elevats en les llavors de l'any 2009 que en les llavors de l'any 2008. Una possible explicació és que les llavors de l'any 2009 es van recollir més tard, cosa que podria fer que el percentatge de llavors inviubles a les inflorescències (i per tant recol·lectades) fos més elevat. En el control de les llavors de l'any 2009 no hi ha diferències en el fotoperíode, en canvi, a la resta de tractaments sembla que la mortalitat en foscor hagi sigut inferior a la del cicle dia-nit.

Per augmentar el percentatge de germinació caldria continuar assajant amb diferents condicions ambientals i pretractaments.

Cap de les llavors germinades va sobreviure al repicat.

Silaum silaus

És l'espècie amb la qual s'han fet més pretractaments però cap ha resultat exitós. Tot i així el percentatge de mortalitat va ser baix exceptuant els tractaments d'escarificació química i les combinacions d'escarificació amb estratificació (figura 5). Els percentatges de mortalitat van ser més elevats en les plaques que estaven

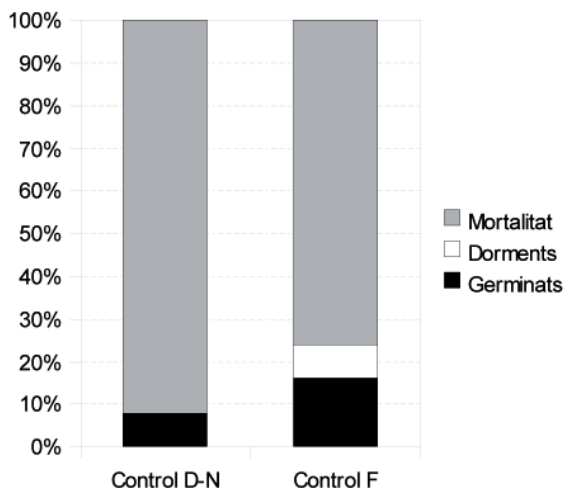


Figura 3. *Oplismenus undulatifolius*. Percentatges de germinació amb els diferents tractaments: D-N=cicle dia-nit i F=foscor.

amb el cicle dia-nit la qual cosa podria ser explicada per una major presència de microorganismes en aquestes plaques.

Conclusions generals

- 1) Totes les espècies assajades tenen un percentatge de germinació inferior al 50%.
- 2) Cap dels pretractaments assajats ha tingut una acció positiva en el trencament de la dormició de les llavors.
- 3) Alguns pretractaments han provocat un percentatge elevat de mortalitat en la mostra (principalment l'escarificació química i física a *G. oleifolia*, l'escarificació física en foscor a *D. schottii* i l'escarificació química combinada amb altres factors a *S. silaus*).
- 4) Caldria continuar assajant amb noves condicions ambientals i pretractaments, per tal d'esbrinar quines condicions són les que provoquen la inhibició de la germinació en cada una de les espècies.

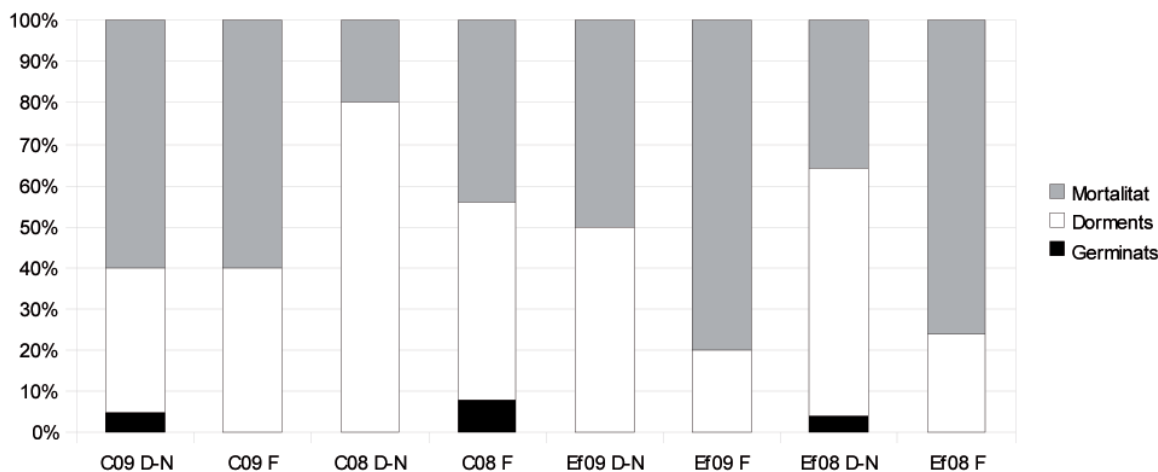


Figura 4. *Dichoropetalum schottii*. Percentatges de germinació amb els diferents pretractaments: C=control, D-N=cicle dia-nit, F=foscor, Ef=escarificació física, 09=llavors recol·lectades l'any 2009 i 08=llavors recol·lectades l'any 2008.

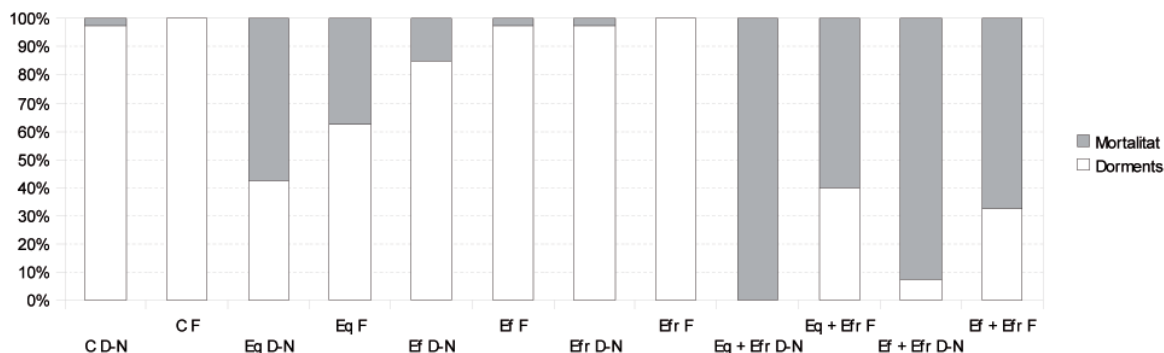


Figura 5. *Silaum silaus*. Percentatges de germinació amb els diferents pretractaments: C=control, D-N=cicle dia-nit, F=foscor, Eq=escarificació química, Ef=escarificació física i Efr=estratificació freda.

5) De forma paral·lela i donades les dificultats per la petita mida de les poblacions i la baixa producció de llavors, caldria provar amb altres sistemes de propagació. Assajos realitzats amb *O. undulatifolius* (TARRUELLA & GUERRERO, 2000) i al Jardí Botànic Marimurtra amb *G. oleifolia* han obtingut resultats positius amb reproducció vegetativa.

Agraïments

A en JOAN FONT, M^a DEL CARMEN MARTINELL i XAVIER OLIVER per la seva ajuda en les localitzacions de les poblacions i en la recol·lecció de les llavors.

Aquest projecte ha estat finançat per l'Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca de la Generalitat de Catalunya (2008ACOM0060).

Bibliografia

BACHETTA, G.; BUENO, A.; FENU, G.; JIMÉNEZ, B.; MATTANA, E.; PIOTTO, B. & VIREVAIRE, M. 2008. Conservación *ex situ* de plantas silvestres. Principado de Asturias/La Caixa.

BISCHOFF, A. 2000. Dispersal and re-establishment of *Silaum silaus* (L.) in floodplain grassland. *Basic and Applied Ecology*, 1: 125-131.

BOLÒS, O.; VIGO, J.; MASALLES, R.M.; NINOT, J.M. 2005. *Flora manual dels Països Catalans*. Ed. Pòrtic.

CASTRO, S. 2007. *Biologia reproductiva e conservação do endemismo Polygala vayredae*. Memòria de Doctorado. Universidade de Aveiro, Departamento de Biologia. Consultable en <http://ecology.uc.pt/index.php?menu=18&tabela=peossoaldetail&language=pt&user=65>

CHANTRE, G.R.; BATALLA, D.; SABBATINI, M.R.; ORIOLI, G. 2009. Germination parameterization and development of an after-ripening thermal-time model for primary dormancy release of *Lithospermum arvense* seeds. *Annals of Botany*, 103: 1291-1501.

Delegació de la Garrotxa, Institució Catalana d'Història Natural, 2010. <http://ichngarrotxa.iec.cat/ichngarrotxalindex.php>.

ECKSTEIN, R.L. & DONATH, T.W. 2005. Interaction between litter and water availability affect seedling emergence in four familial pairs of floodplain species. *Journal of Ecology*, 93: 807-816.

ENSCONET, 2009. Seed Collecting Manual of Wild Species (<http://www.ensconet.eu>).

FERRERO, V.; CASTRO, S.; ARROYO, J. & NAVARRO, L., 2006. Estudios preliminares sobre la biología de *Lithodora oleifolia* (Lapeyr.) Griseb. (*Boraginaceae*). II Congreso Ibérico de Ecología. Portugal, Lisboa, 17-21 de Julho. Inèdit.

Generalitat de Catalunya, 2008. Catàleg de flora amenaçada de Catalunya. Decret 172/2008. Diari Oficial de la Generalitat de Catalunya.

GENMEDOC, 2006. Prácticas de germinación en los bancos de semillas de la red GENMEDOC (<http://www.genmedoc.org>).

GIFRE, M.C.; FONT, J. 2009. A Comparative study of germination strategies of two species of genus *Allium* sect. *Allium*. A "Màster en Medi Ambient . Itinerari de Biologia Ambiental: biodiversitat i conservació". Girona: Universitat. Disponible a: <http://hdl.handle.net/10256/1727>.

GRIME, J.P.; MANSON, G.; CURTIS, A.V.; RODMAN, J.; BAND, S.R.; MOWFORTH, M.A.G.; NEAL, A.M. & SHAW, S. 1981. A comparative study on germination characteristics in a local flora. *Journal of Ecology*, 69: 1017- 1059.

LÓPEZ-PUJOL, J., DEL HOYO, A. & LASSO DE LA VEGA, B., 2009. Genética de la conservación del endemismo extremo pirenaico *Glandora oleifolia* (Boraginaceae). IV Congreso de Biología de la Conservación de Plantas. Almería 15-18 de Septiembre de 2009. Llibre electrònic de comunicacions.

MARTINELL, M.C. 2010. Biología de la conservación de especies amenazadas de área de distribución restringida en Cataluña. Memòria de tesi doctoral. Universidad de Barcelona.

OLIVER, X. 2006. Seguiment i conservació de la flora vascular protegida i/o amenaçada de l'Alta Garrotxa. Consorci de l'Alta Garrotxa. Inèdit.

OSUNA AGUILERA, Ú.M.; QUERO, J.M.; PLAZA, L. & RODRIGUEZ HIRALDO, C. 2007. Actuaciones de conservación de flora amenazada en la provincia de Córdoba (Andalucía, España) Comunicació escrita.

Falta part de la referència?

PRADOS LIGERO, J.; DÍAZ LÓPEZ, M.A.; HERRERA MOLINA, F. & HERNÁNDEZ BERMEJO, J.E. 2007. Técnicas de propagación aplicadas a la conservación de especies silvestres de flora amenazada en la provincia de Córdoba. Comunicació escrita. Falta part de la referència?

Sousa, R.; Marcos, W. & Vidal, J. 2008. Carrot seed germination and vigor in response to temperature and umbel orders. *Scientia Agricola*, 65 (2): 145-150.

TARRUELLA, X. & GUERRERO, M. 2000. Seguiment de la població d'*Oplismenus undulatifolius* al Parc Natural de la Zona Volcànica de la Garrotxa. EGAM. Inèdit.

Tetrazolium subcommittee of the Association of Official Seed Analysts, 2005. *Tetrazolium Testing Handbook*. Association of Official Seed Analysts.

UICN, 2001. Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN: Versión 3.1. Comisión de supervivencia de Especies de la UICN. UICN, Gland, Suiza i Cambridge, Regne Unit.