

SECCIÓ DE BOTÀNICA
DEPARTAMENT DE PRODUCTES NATURALS, BIOLOGIA VEGETAL I
EDAFOLOGIA. FACULTAT DE FARMÀCIA




UNIVERSITAT DE BARCELONA



**DIVERSITAT ISOENZIMÀTICA EN DUES
ESPÈCIES ENDÈMIQUES DE CATALUNYA:
PETROCOPTIS MONTSICCIANA I
*SESELI FARRENYI***

**MÀSTER EXPERIMENTAL
EN CIÈNCIES FARMACÈUTIQUES**

JORDI LÓPEZ I PUJOL
Llicenciat en Farmàcia
Barcelona, setembre de 2000

SECCIÓ DE BOTÀNICA
DEPARTAMENT DE PRODUCTES NATURALS, BIOLOGIA VEGETAL I
EDAFOLOGIA. FACULTAT DE FARMÀCIA



**DIVERSITAT ISOENZIMÀTICA EN DUES
ESPÈCIES ENDÈMIQUES DE CATALUNYA:
PETROCOPTIS MONTSICCIANA I
*SESELI FARRENYI***

Els sotasignants, com a Directors del treball, fan constar que Jordi López i Pujol ha realitzat el Màster Experimental en Ciències Farmacèutiques sota la seva direcció al Laboratori de Botànica de la Facultat de Farmàcia i que, considerant la Memòria conculsa, autoritzen la seva presentació davant del Tribunal corresponent.

Barcelona, 18 de setembre de 2000

DR. CÈSAR BLANCHÉ I VERGÉS

DR. JOAN SIMON I PALLISÉ

AGRAÏMENTS

Voldria expressar, en primer lloc, el més sincer agraïment als meus directors de Màster, que sempre han estat disposats a ajudar-me i orientar-me. Al Dr. Cèsar Blanché, que és la persona que em va obrir les portes de la Unitat de Botànica d'aquesta Facultat, i ha confiat en la meva persona per a dur a terme una imminent tesi doctoral. El seu optimisme i passió per la botànica m'ha animat a tirar endavant en els moments més durs. Al Dr. Joan Simon, que tot i anar sempre atrafegat, m'ha ajudat en tot moment. Difícilment oblidaré les seves bromes de les últimes setmanes.

Mereix una menció especial la Dra. Maria Bosch, que em va ensenyar tant pacientment la tècnica de l'electroforesi d'isoenzims. Els seus consells, d'un rigor científic inqüestionable, i la seva companyia en les sortides de camp, són inesborrables.

Al Dr. Julià Molero, i a la Dra. Anna Rovira, pel seu mestratge en les sortides de camp i pels seus ànims.

Als "petits" de la Unitat, que em van acollir des del primer dia com un més i m'han ajudat en tot tipus de tasques: Luca Lavelli, Esther Clavero, M. Àngels Bonet, Montse Torrell, Elsa Arcalís i Mònica Roldán, companya de Màster.

A la resta de membres de la Unitat, que d'una manera o altra m'han ofert el seu ajut: Dr. Pep Vicens, Dr. Joan Vallès, Dr. Carles Benedí, Dra. M. Carme Barceló, Dra. Maruxa Suárez, Dr. Juan Antonio Seoane, Dra. M. Antònia Ribera, Dra. Amèlia Gómez, Dra. Mariona Hernández, Dr. Joan Martín, Dr. Jordi Rull, Teresa Castells, Elisabet Ballester i Pilar Fernández.

Als alumnes de Treball Pràctic de Botànica que m'han ajudat d'alguna manera: Virgínia Andreu i Ruth Fernández.

Al Joan Devis i al Dr. Ignasi Soriano, per acompanyar-nos tan amablement a la inaccessible població de la Móra Comdal de *P. montsiciana*.

A la Dra. Begoña García i al Dr. Daniel Goñi, per indicar-nos la localització precisa de les poblacions de *Petrocoptis montsiciana* aragoneses.

Al Dr. M. Salgot i a la Dra. J. Tapia, de la Unitat d'Edafologia de la Facultat de Farmàcia, per realitzar les anàlisis edàfiques de sòls provinents de l'àrea de distribució de les dues espècies que es tracten en aquesta memòria.

A la Generalitat de Catalunya, per la concessió dels permisos per a treballar amb les dues espècies tractades en aquesta memòria. Als guardes forestals, per les seves oportunes indicacions. A la Sra. Maria Pery i al Sr. Xavier Carceller, del Departament de Medi Ambient.

A la Generalitat Valenciana, concretament en les persones del Dr. Emilio Laguna i la Sra. Patricia Pérez, per la informació prestada sobre *Petrocoptis pardoii*. També vull agrair l'ajuda del Servei de Guarderia Forestal de la Diputació de Castelló, per acompanyar-nos a algunes localitats de *P. pardoii*.

A l'empresa FECSA, per permetre el nostre accés a les seves instal·lacions de la central hidroelèctrica de Camarasa, on hem treballat amb individus de *P. montsicciana*.

I finalment, agraeixo a la meva família tota la paciència que han tingut amb mi en certes ocasions durant la realització d'aquest Màster i, a la Marta, una persona molt especial.

El desenvolupament d'aquest Màster s'emmarca dins el projecte AMB-97-0375 del Plan Nacional de I+D del Ministerio de Educación y Ciencia.

ÍNDIX

I. Introducció	1
1. Biologia de la conservació.....	1
1.1. Situació de la flora amenaçada a Catalunya	1
1.2. Poblacions petites; fragmentació de poblacions	3
1.3. Objectius generals del treball.....	5
2. Electroforesi d'isoenzims	6
2.1. Generalitats	6
2.2. Aplicacions dels isoenzims als estudis sobre genètica de poblacions	8
2.3. Material i mètodes	10
2.3.1. Material	10
2.3.2. Metodologia de l'electroforesi	11
2.3.3. Anàlisi de les dades.....	18
2.3.4. Processament de les dades	20
II. <i>Seseli farrenyi</i>	23
1. Introducció.....	23
1.1. Descripció	23
1.2. Situació taxonòmica.....	25
1.3. Característiques ecològiques	33
1.3.1. Biogeografia i distribució	33
1.3.1.1. Localització i mida de les poblacions	33
1.3.1.2. Extensió de presència i àrea d'ocupació	39
1.3.1.3. Corologia.....	39
1.3.2. Hàbitat.....	40
1.3.2.1. Característiques climàtiques.....	40
1.3.2.2. Característiques edàfiques.....	45
1.3.2.3. Fitocenologia.....	46
1.4. Conservació	48
1.5. Interès medicinal.....	50
2. Plantejament i objectius.....	52
3. Material i mètodes	52
3.1. Material.....	52
3.2. Metodologia.....	53
4. Resultats	55
4.1. Interpretació dels zimogrames	55
4.2. Variabilitat genètica.....	63
5. Discussió.....	73
6. Implicacions per a la conservació.....	77
6.1. Revisió de la categoria UICN	77
6.2. Valoració de les amenaces	78
6.3. Mesures de conservació proposades	79
6.3.1. Conservació <i>in-situ</i>	79
6.3.2. Conservació <i>ex-situ</i>	81

III. <i>Petrocoptis montsiciana</i>	83
1. Introducció.....	83
1.1. Descripció.....	83
1.2. Situació taxonòmica.....	85
1.3. Característiques ecològiques.....	87
1.3.1. Biogeografia i distribució.....	87
1.3.1.1. Àrea de distribució de <i>P. montsiciana</i> i <i>P. pardoï</i>	87
1.3.1.2. Extensió de presència i àrea d'ocupació.....	102
1.3.1.3. Estimació del nombre d'efectius de <i>P. montsiciana</i> ...	102
1.3.1.4. Corologia.....	103
1.3.2. Hàbitat.....	107
1.3.2.1. Característiques climàtiques.....	108
1.3.2.2. Característiques edàfiques.....	112
1.3.2.3. Fitocenologia.....	113
1.4. Conservació.....	116
1.5. Interès medicinal.....	119
2. Plantejament i objectius.....	120
3. Material i mètodes.....	121
3.1. Material.....	121
3.2. Metodologia.....	122
4. Resultats.....	123
4.1. Interpretació dels zimogrames.....	123
4.2. Variabilitat genètica.....	133
5. Discussió.....	145
6. Implicacions per a la conservació.....	153
6.1. Revisió de la categoria UICN.....	153
6.2. Valoració de les amenaces.....	155
6.3. Mesures de conservació proposades.....	156
6.3.1. Conservació <i>in-situ</i>	156
6.3.2. Conservació <i>ex-situ</i>	158
IV. Bibliografia	161

I. INTRODUCCIÓ

1. BIOLOGIA DE LA CONSERVACIÓ

1.1. SITUACIÓ DE LA FLORA AMENÇADA A CATALUNYA

La conca mediterrània compta amb un total d'unes 25.000 espècies de plantes vasculares entre continentals i marines, de les quals prop de 13.000 s'hi consideren endèmiques (Myers *et al.*, 2000). Segons un estudi recent (Myers *et al.*, *l.c.*), la conca mediterrània constitueix un dels 25 punts calents (*hotspots*) de biodiversitat mundial (fig. 1). Un *hotspot* es pot considerar com una àrea que mostra excepcionals concentracions d'espècies endèmiques i que ha experimentat una també excepcional pèrdua d'hàbitat (Myers, 1988, 1990; Pressey *et al.*, 1993; Prendergast *et al.*, 1999; Ginsberg, 1999). Per a Myers *et al.* (*l.c.*) una regió es pot classificar com a *hotspot* si compleix dos criteris: (1) Ha de contenir com a endèmiques almenys un 0,5 % de les 300.000 espècies vegetals del planeta. (2) Ha d'haver perdut més del 70 % de la seva vegetació primària.

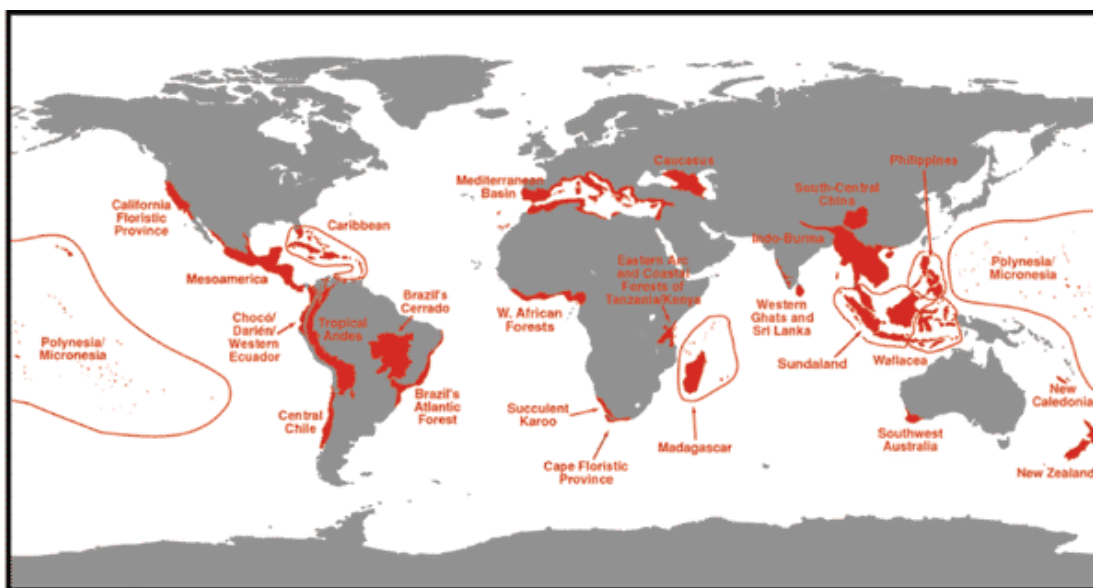


FIG. 1. Els 25 punts calents ("hotspots"), segons Myers *et al.* (2000).

Al continent europeu es coneixen unes 12.000 espècies de flora terrestre, de les quals entre 8.000 i 9.000 són presents al territori ibèrico-balear, el que suposa aproximadament un 70 % del total europeu (Torres, 1999). Unes 1500 espècies són de distribució restringida a la Península i Balears, fet que suposa que quasi el 50 % dels endemismes europeus són al territori ibèrico-balear. Segons el darrer esborrany de "Lista roja de la flora vascular española" (28 de juny de 2000), 22 espècies han desaparegut de la naturalesa, ja que es troben dins la categoria EX (extingit) o EW (extingit en estat silvestre), i 1.140 presenten algun grau d'amenaça segons les categories de la Unió Internacional per la Conservació de la Naturalesa de 1994

(UICN). Els Països Catalans compten amb unes 4.000 espècies de flora, de les quals 279 són endèmiques dels Països Catalans o almenys del nord-est de la Península Ibèrica (Sáez *et al.*, 1998). Dels tàxons endèmics, 6 es troben en perill crític (CR), 5 en perill (EN), 32 són vulnerables (VU), 5 quasi amenaçats (LR nt), 84 poc preocupants (LR lc), 116 no amenaçats (NT) i 31 no prou estudiats (DD).

La pèrdua de diversitat vegetal, tant a escala dels ecosistemes com dels tàxons i de les races genètiques, és un dels problemes més greus que afecten al conjunt de la biosfera (Sáez *et al.*, *l.c.*). Aquest fet pot atribuir-se, entre altres causes, als efectes de l'erosió (conseqüència dels incendis forestals, d'un pastoreig excessiu en zones muntanyenques, etc.) i el canvi d'ús del territori (urbanització del sòl i construcció de grans infraestructures). Als Països Catalans, el turisme és un dels sectors econòmics més importants, i el coneixement de les repercussions que té sobre el medi ambient i l'establiment de mesures per a la seva preservació ha de representar una activitat prioritària per les diferents administracions. Entre els elements naturals afectats per les activitats del sector turístic, hi ha el conjunt de la biodiversitat, els components més afectats de la qual són els hàbitats, les espècies i les poblacions més sensibles. Les espècies més sensibles són les catalogades amb algun grau d'amenaça, i es pot produir la seva extinció de moltes d'aquestes si no s'adopten mesures encaminades a la seva conservació (Gómez-Campo, 1987; Hernández, 1994; Mus, 1995). Un bon exemple d'aquests riscos és la desaparició de la localitat europea més meridional i única a la vessant sud dels Pirineus de *Lycopodium annotium* L., durant la construcció de l'estació d'esquí d'Arcalís, al Principat d'Andorra (Villar, 1982).

Atesa l'organització política actual, la gestió del patrimoni natural va forçosament lligada a les diferents entitats administratives. El coneixement de quines són les plantes que es troben amenaçades és un requisit indispensable per endegar polítiques de conservació (Sáez *et al.*, *l.c.*). Els mecanismes que s'han desenvolupat per a realitzar aquesta tasca tant a nivell autonòmic (Decret 328/1992 de 14 de desembre, Pla d'Espais d'Interès Natural, PEIN) com estatal (Llei 4/1989 de 27 de març, de *Conservación de los Espacios Naturales y de la Flora y Fauna Silvestres*) i internacional (Conveni de Berna i Directiva Hàbitats) són encara insuficients. L'aportació de la Directiva Hàbitats (92/43/CEE) és numèricament poc important, puix que sol hi trobem 3 espècies endèmiques dels Països Catalans (tot i que entre elles hi ha *Petrocoptis montsiciana*, una de les espècies que s'estudien en el marc del present treball). La llei 4/1989 de 27 de març, estableix la creació del "Catálogo Nacional de Especies Amenazadas", però tampoc recull gaires tàxons endèmics presents a Catalunya (Sáez *et al.*, *l.c.*). El Decret 328/1992, d'aprovació del PEIN, ha suposat l'aportació més important de conservació de flora vascular a Catalunya, però conté algunes incoherències, com el fet que de les espècies endèmiques recollides a l'annex 3, solament tenen protecció les que estan dins algun espai PEIN, quedant sense protecció legal a la resta del territori (Sáez *et al.*, *l.c.*).

Algunes Comunitats Autònomes ja disposen d'estratègies consolidades de conservació de la flora, de les que cal destacar Andalusia, Canàries, Aragó i el País Valencià. Aragó és avui dia l'única Comunitat peninsular que disposa d'un autèntic pla de recuperació d'una espècie vegetal. *Borderea chouardii* (Gaussen) Heslot compta

amb un conjunt de mesures legals encaminades a la seva conservació (Boletín Oficial de Aragón, 1995).

1.2. POBLACIONS PETITES; FRAGMENTACIÓ DE POBLACIONS

Els plantejaments del *desenvolupament sostenible*, tant debatuts a la Cimera de la Terra de les Nacions Unides a Rio de Janeiro, el 1992, suposen la compatibilitat entre els objectius de conservació de la biodiversitat i els objectius també legítims del progrés econòmic.

Un dels efectes del *canvi global* propugnats per investigadors de reconegut prestigi internacional és que l'alteració dels hàbitats provocada per aquest fenòmen tindrà conseqüències greus sobre els ecosistemes. La transformació de l'ús del territori, juntament amb el canvi climàtic, formen part del concepte de canvi global (Pattermann, 1998). La pressió sobre el territori pot tenir conseqüències ambientals molt diverses, entre elles la fragmentació d'hàbitats sensibles. Segons Vitousek (Vitousek, 1994; Riley i Vitousek, 1995) el canvi climàtic també pot comportar la fragmentació de les poblacions vegetals en unitats menors, de manera que es veuen interrompudes les possibilitats de flux genètic i es redueix el nombre d'efectius disponibles per fer front a canvis estocàstics (ambientals i/o demogràfics), el que pot arribar a comprometre l'existència d'algunes espècies. Tot i que les prediccions sobre les conseqüències d'aquest fenòmen sobre la conservació d'espècies vegetals són cada cop més alarmants (la intervenció de P. Raven al *XVIth International Botanical Congress* el 1999, estima que 1/3 del total de plantes superiors poden haver-se extingit o trobar-se en vies d'extinció l'any 2050) només es tracta d'estimacions generals i no són resultat d'anàlisis més detallades de les causes de *rarificació* de les espècies.

El paper de la genètica de poblacions al camp de la biologia de la conservació vegetal ha estat objecte d'una considerable discussió durant l'última dècada. Alguns investigadors (Hamrick, 1983; Falk i Holsinger, 1991; Ellstrand i Elam, 1993; Loeschcke *et al.*, 1994) argumenten que el coneixement de la composició genètica de les espècies és essencial per a qualsevol pla complet de conservació, mentre que altres (Lande, 1988; Schemske *et al.*, 1994) dubten que la diversitat genètica jugui un paper decisiu en la supervivència de poblacions o espècies. Aquests últims suggereixen que les poblacions s'extingeixen per raons ecològiques (per exemple per una destrucció de l'hàbitat o per canvis ambientals) més que per manca de variabilitat genètica. La bibliografia cita casos de pèrdua de poblacions (DeMauro, 1993) i d'espècies (Hamrick i Godt, 1996) com a conseqüència de no assolir la taxa mínima de diversitat genètica necessària per a reproduir-se o sobreviure als canvis ambientals. En realitat, els estudis ecològics i genètics es complementen mútuament, i la contribució d'ambdues disciplines permet un millor coneixement de la biologia de les espècies amenaçades. Hi ha però diferents aspectes en biologia de la conservació als quals només ens podem adreçar a través d'estudis detallats de genètica de poblacions. Per exemple, la pèrdua de diversitat genètica en programes de conservació *in-situ* i *ex-situ* només pot ésser mesurada si aquesta és coneguda a les seves poblacions naturals (Hamrick i Godt, *l.c.*).

El manteniment dels nivells de variabilitat genètica és un dels principals objectius dels programes de conservació (Frankel i Soulé, 1981; Simberloff, 1988), i és una acció que permet conservar el potencial evolutiu i la capacitat d'adaptació enfront canvis ambientals, tant biòtics com abiòtics (Barret i Kohn, 1991).

Ben poc es coneix de l'estructura genètica de la gran majoria d'espècies vegetals, mancança que es fa més palesa a les espècies en perill d'extinció. Un gran nombre d'investigadors s'han bolcat a la recerca de marcadors bioquímics i moleculars per a descriure la composició genètica de poblacions i espècies vegetals. L'assumpció bàsica d'aquestes anàlisis és que l'estructura genètica mesurada amb gens "neutrals" reflecteix els processos evolutius (*inbreeding* o consanguinitat, deriva genètica i flux gènic) que afecten el genoma sencer. Els marcadors utilitzats més a bastament són els **isoenzims** (Hamrick i Godt, *l.c.*). Les tècniques moleculars que s'utilitzen a l'actualitat per mesurar la diversitat genètica d'una espècie vegetal són: RFLPs (*Restriction fragment length polymorphism*), AFPLs (*Amplified fragment length polymorphism*), intermicrosatèl·lits, seqüenciació de DNA, PCR-RAPDs (*Polymerase chain reaction-Random amplified polymorphic DNA*) i electroforesi d'isoenzims. Únicament les dues últimes tècniques s'utilitzen en biologia de la conservació, per raons tècniques i econòmiques (Torres, *l.c.*). Hem utilitzat l'electroforesi d'isoenzims, entre d'altres raons, pel seu baix cost i la seva alta versatilitat. A més, és una tècnica que permet una fàcil interpretació en termes d'herència i de genètica de poblacions, no tan nítidament admesa en la resta de tècniques.

La literatura sobre genètica de poblacions ens permet extreure una sèrie de generalitzacions respecte el nivell i la distribució de la diversitat genètica a les espècies vegetals. Una d'elles és que les espècies endèmiques tendeixen a presentar menys loci polimòrfics (P) i menys diversitat gènica (H_e) que les espècies d'àmplia distribució, encara que el grau de compartimentació mitjançant la diferenciació entre poblacions (G_{st}) és del mateix ordre en ambdós casos. Els sistemes reproductius també estan correlacionats amb els nivells i distribució de la diversitat genètica, de manera que les espècies predominantment autògames presenten menor diversitat general i una espectacular diferenciació entre poblacions. Les espècies al·lògames presenten més diversitat genètica però molta menys heterogeneïtat interpoblacional (Hamrick i Godt, *l.c.*). En el cas concret d'espècies endèmiques peninsulars, la fragmentació de les seves poblacions en unitats de mida més petita s'ha demostrat que està associada a una disminució en els paràmetres de diversitat genètica (A , P). Tot i això, una possible estructura en subpoblacions, l'efecte de la poliploidia, de la hibridació o les taxes d'heterozigosi, poden alterar aquesta hipòtesi general.

Les conseqüències de la fragmentació de les poblacions vegetals sobre els mecanismes implicats en la pol·linització també han estat posades de manifest (Aizen i Patterson, 1995; Aizen, 1999). Un mecanisme plausible de risc ecològic en poblacions petites implica la pèrdua de la "qualitat" i/o la "quantitat" dels serveis dels pol·linitzadors, fenòmen que pot succeir a diferents escales d'espai-temps i veure's afectat tant per la estocasticitat demogràfica com ambiental.

Una alta perspectiva important per enfocar el problema de la fragmentació és la teoria de *metapoblacions* de Levins (1969), que suggereix dinàmiques demogràfiques

asincròniques entre poblacions, on es podria produir una certa compensació demogràfica i genètica entre els elements del mosaic metapoblacional. Són comptades però, les vegades en què les dades experimentals d'espècies amb àrea fragmentada concorden amb el model metapoblacional (Hanski i Gilpin, 1997).

A nivell de la Península, dins l'àmbit genètic s'han desenvolupat estudis per a conèixer la diversitat intra e interpoblacional de diferents espècies amenaçades com *Erodium paularense* Fern. Gonz. & Izco (Martín *et al.*, 1997), *Limonium cavanillesii* Erben (Palacios i González-Candelas, 1997a), *Limonium dufourii* (Girard) O. Kuntze (Palacios i González-Candelas, 1997b) i en diverses espècies de *Petrocoptis* (Mayol, 1998, 1999). Més nombrosos són els estudis sobre biologia de la reproducció, que abarquen aspectes tant diversos com caràcters florals, sistemes de creuament, potencial reproductiu, taxes de germinació de llavors o identificació de pol·linitzadors: *Viola cazorlensis* Gand. (Herrera, 1990a, 1990b), *Borderea pyrenaica* Miégevillè (García i Antor, 1995a, 1995b), *Rhamnus legionensis* Rothm. (Guitián, 1995), *Erica andevalensis* Cabezudo & J. Rivera (Aparicio i García-Martín, 1996), *Silene stockenii* Chater (Talavera *et al.*, 1996), *Linaria tursica* Valdés & Cabezudo (Valdés i Díaz-Lifante, 1996), *Petrocoptis grandiflora* Rothm. (Guitián i Sánchez, 1993; Guitián *et al.*, 1994), *Cytisus striatus* i *Retama sphaerocarpa* (Rodríguez-Riano *et al.*, 1999), *Coronopus navasii* Pau i *Lavatera oblongifolia* Boiss. (Pérez-García *et al.*, 1995), entre d'altres. Són molt més escassos els estudis que combinen informació de diversitat genètica i de biologia floral: *Delphinium bolosii* C. Blanché et Molero (Bosch *et al.*, 1998); *Antirrhinum microphyllum* Rothm. (Torres, 1999); *Delphinium montanum* (Simon *et al.*, en premsa) (Torres, 1999).

1.3. OBJECTIUS GENERALS DEL TREBALL

El present treball s'emmarca dins el projecte AMB97-0375 del Plan Nacional de I+D, que té com a objectiu principal investigar els processos originats per la fragmentació de poblacions en la confluència entre paràmetres de diversitat genètica i paràmetres ecològics (influència dels pol·linitzadors en la quantitat i qualitat de la pol·linització). La influència mútua d'ambdós factors és rellevant quan s'analitzen dades com l'excés d'homozigots, la disminució de la diversitat al·lèlica, les taxes d'autogàmia i la depressió genètica per consanguinitat (*inbreeding depression*). Per a la caracterització genètica de les poblacions fragmentades, mitjançant l'electroforesi d'isoenzims, es van seleccionar tres espècies amenaçades i endèmiques d'àrea geogràfica reduïda, pertanyents a hàbitats mediterranis representatius i sotmeses a diferents pressions (canvi d'usos del sòl, impactes de l'activitat turística). S'han estudiat parells de poblacions gran/petita en les tres espècies seleccionades (*Delphinium bolosii*, *Petrocoptis montsiciana* i *Seseli farrenyi*) (Simon *et al.*, 1999), que requereixen un coneixement detallat dels nivells de diversitat genètica i de la seva àrea de distribució per a la seva correcta gestió.

En el marc del present treball, s'ha dut a terme una nova prospecció isoenzimàtica de *P. montsiciana* i *S. farrenyi*, amb els següents objectius generals:

1. Anàlisi dels nivells i distribució de la diversitat genètica en ambdues espècies.
2. Anàlisi de l'estructura genètica de les diferents poblacions, mitjançant mapejats en els probables veïnatsges o subpoblacions.
3. Localització de poblacions i definició de l'àrea d'ocupació i de l'extensió de presència segons els criteris de la UICN (1994), amb l'ajuda de GPS (*Global Position System*).
4. Elaboració dels mapes de distribució de les espècies.
5. Recompte de la mida de les diferents poblacions (*N*).
6. Assajos de germinació i manteniment de poblacions vives a l'hivernacle, com a font de material experimental.
7. Revaluació de la categoria d'amenaça segons la UICN a les dues espècies, amb les dades obtingudes dels punts anteriors.
8. Redacció de propostes de gestió encaminades a la conservació d'aquestes espècies.

2. ELECTROFORESI D'ISOENZIMS

2.1. GENERALITATS

Els **isoenzims** van ser originàriament descrits per Markert i Moller (1959) com a variants d'un mateix enzim, amb una funció idèntica o molt similar atès que actuen sobre el mateix substrat, i presents en un mateix individu, però que estructuralment són lleugerament diferents. Aquest fet implica que tenen diferent mobilitat electroforètica i, per tant, poden separar-se històquimicament i visualitzar-se amb l'ajuda de solucions específiques, propietat descoberta per Hunter i Markert (1957). Fou cabdal la introducció del gel de midó com a suport adient (Smithies, 1955) per poder dur a terme la separació electroforètica dels isoenzims i la seva posterior tinció.

L'aplicació dels isoenzims a la investigació va començar a desenvolupar-se a la dècada dels seixanta, quan es van realitzar nombrosos treballs tant amb animals com amb plantes, recollits per Scandalios (1969). De totes maneres, els isoenzims van jugar un paper menor en el camp de la biologia vegetal fins al descobriment, l'any 1966, del polimorfisme genètic dels isoenzims dins la mateixa població, contemporàniament per Harris (1966) en humans i Lewontin i Hubby (1966) en *Drosophila*. Per primera vegada, es podien fer estimacions quantitatives precises de variabilitat genètica basades en l'estructura molecular dels productes primaris dels mateixos gens (Stebbins, 1989). El polimorfisme en poblacions d'espècies vegetals fou ja reportat el 1970, en poblacions cultivades d'ordi i en poblacions naturals de civada (Kahler i Allard, 1970; Marshall i Allard, 1970a, 1970b). L'**electroforesi d'isoenzims**, un tipus particular d'electroforesi de proteïnes, ha tingut doncs i segueix tenint un paper força rellevant en diferents camps de la biologia, com ara la genètica de poblacions, els processos evolutius i les relacions filogenètiques (Soltis i Soltis, 1989), i també s'ha convertit en una eina important en el camp de la biologia reproductiva (Bosch, 1999).

Les tècniques bioquímiques, d'entre les quals la més notable és l'electroforesi d'isoenzims, proporcionen tot un ventall de marcadors genètics, amb molts avantatges

sobre els marcadors morfològics emprats tradicionalment. Els avantatges dels loci isoenzimàtics han estat recollits per Brown i Weir (1983), Weeden i Wendel (1989) i Hamrick (1989):

1. La majoria dels loci presenten herència mendeliana, la seva expressió és codominant i estan lliures d'interaccions epistàtiques i pleiotròpiques. Això evita el problema d'aïllar els parentals i realitzar els encreuaments corresponents.
2. L'especificitat isoenzimàtica permet atribuir al·lels a loci concrets, fet que permet la comparació entre individus o poblacions mitjançant pocs loci.
3. Les diferències al·lèliques es detecten com a diferències de mobilitat, independentment del paper funcional o del grau de variabilitat de l'enzim.
4. La codominància permet calcular les freqüències al·lèliques directament.
5. Les estimacions dels nivells i distribució de la diversitat genètica poden comparar-se directament entre poblacions i espècies.
6. La metodologia utilitzada només requereix de petites quantitats de material: normalment una fulla o una llavor és suficient, característica particularment rellevant en biologia de la conservació d'espècies rares i amenaçades.
7. La majoria dels loci s'expressen durant tots els estadis del cicle vital de la planta.
8. Els isoenzims poden ser resolts en moltes espècies vegetals amb independència de l'hàbitat, la mida o la longevitat de l'individu.
9. Aporten informació sobre l'origen híbrid, la duplicació dels gens o la poliploidia.

La tècnica electroforètica presenta però, una sèrie d'inconvenients, dels quals els més destacables són els següents (Gottlieb, 1977; Weeden i Wendel, *l.c.*):

1. Com que el codi genètic és degenerat (diferents triplets de nucleòtids poden codificar el mateix aminoàcid), només es detecten diferències de mobilitat electroforètica si els canvis de bases nucleotídiques porvoquen canvis d'aminoàcids, sempre i quan aquests produeixin o bé un canvi en la càrrega o un canvi en la conformació de la proteïna.
2. L'estudi d'alguns isoenzims pot no representar una mostra real de tot el genoma, puix que la molècula de DNA és molt grossa i aquesta metodologia n'analitza una petita fracció.

Per aquestes dues raons, els resultats de les anàlisis electroforètiques no reflecteixen tota la variabilitat genètica, i per tant les estimacions de diversitat basades en els isoenzims ho són sempre per defecte. Es recomana estudiar un mínim de 10 loci.

Un **locus isoenzimàtic** es defineix com un gen estructural que codifica per a un enzim capaç de catalitzar una reacció bioquímica específica. L'observació de l'expressió codominant evidencia que ambdós al·lels són transcrits i traduïts. Si el gen s'expressa, la tinció ens proporciona un mètode directe per visualitzar els productes d'ambdós al·lels (Weeden i Wendel, *l.c.*).

Els isoenzims, com s'ha dit anteriorment, són diferents formes moleculars d'un enzim que catalitzen la mateixa reacció, però els seus constituents polipeptídics estan codificats per loci gènics diferents. En canvi, els **al·loenzims**, que són cada una de les bandes que apareixen al zimograma, estan codificats per diferents al·lels d'un mateix locus (Gottlieb, *l.c.*). Els diferents al·loenzims són el resultat de l'acumulació de mutacions que han provocat addicions, delecions o substitucions d'aminoàcids en

l'estructura primària de les proteïnes, i com a conseqüència, presenten càrregues electrostàtiques i pesos moleculars diferents (Membrives, 2000).

Quan sotmetem els enzims a un camp elèctric a través d'un gel, les diferents formes moleculars mostren diferent mobilitat electroforètica depenent de la seva càrrega, és a dir, que migren a diferent velocitat. Quan els gels on portem a terme la separació electroforètica es submergeixen en solucions de tinció específiques per als diferents enzims, apareix un patró de bandes, el **zimograma**, que generalment consisteix en una o més bandes colorejades per cada individu analitzat. El zimograma pot ser més o menys complex depenent de nombrosos factors, com ara el tipus d'organisme analitzat, el teixit i l'enzim assajat. Podem trobar des d'una banda, en els casos més simples, fins a 15 bandes per individu. Diversos factors poden considerar-se com a determinants en el nombre de bandes observades en un gel (Wendel i Weeden, 1989):

- a) El nombre de gens codificants.
- b) L'estat al·lèlic (homozigot o heterozigot).
- c) L'estructura quaternària dels enzims.
- d) La compartimentació subcel·lular dels enzims.

L'estructura quaternària dels enzims és el factor que sol determinar el nombre de bandes que es poden observar en els genotips heterozigots: en enzims monomèrics s'esperen dues bandes, en dimèrics tres, en trimèrics quatre, en tetramèrics cinc, etc. (Gottlieb, 1981). Els casos més habituals són els dels enzims monomèrics, on als gels apareixen els heterozigots en forma de dues bandes de la mateixa intensitat, i els dels enzims dimèrics, on n'apareixen tres bandes, de les quals la central presenta doble intensitat de tinció respecte les dues marginals.

A partir de la interpretació dels zimogrames, obtenim els genotips individuals, que ens permeten calcular les freqüències al·lèliques. Si sotmetem aquestes a una anàlisi estadística, podem quantificar els nivells i la distribució de la diversitat genètica d'una població vegetal.

2.2. APLICACIONS DELS ISOENZIMS ALS ESTUDIS SOBRE GENÈTICA DE POBLACIONS

Ecòlegs i biòlegs de l'evolució estan d'acord que els vegetals no es distribueixen a l'atzar dins les comunitats. L'heterogeneïtat ambiental habitualment es cita com un factor important en aquest comportament, però també podrien intervenir-hi els patrons de colonització dels vegetals i factors estocàstics que afecten l'establiment i la mortalitat de les plantes (Hamrick, 1989). De la mateixa manera, la diversitat genètica de les poblacions vegetals tampoc és distribuïda aleatòriament (Antonovics, 1971; Allard *et al.*, 1972; Hamrick i Allard, 1972; Turkington i Harper, 1979), fet al qual hom habitualment es refereix com "estructura genètica de les poblacions" (Loveless i Hamrick, 1984). L'estudi de l'estructura genètica de les poblacions naturals dins el camp de la biologia de la conservació és molt important perquè la diversitat genètica es considera un indicador de potencial d'adaptació evolutiva (Membrives, 2000).

En els últims anys hi ha hagut diversos estudis encaminats a establir correlacions entre la diversitat genètica de les espècies vegetals i característiques biològiques, ecològiques i geogràfiques, amb l'objectiu d'explicar els nivells i la distribució de la diversitat genètica de les poblacions, destacant els estudis de Hamrick *et al.* (1979), Loveless i Hamrick (1984) i Hamrick i Godt (1990, 1996). Hamrick i Godt (1990) fan una classificació dels tàxons vegetals segons 8 categories (el gran grup filètic, el cicle vital, l'àmbit geogràfic, la distribució regional, el sistema reproductiu, el tipus de dispersió de les granes, el tipus de reproducció –sexual/asexual– i la fenologia) i analitzen les dades a tres nivells diferents: específic, interpoblacional i intrapoblacional. Segons aquests autors, les espècies que presenten un grau de variabilitat intrapoblacional més alt són les de vida llarga, de distribució àmplia, de la zona boreal temperada, al·lògames, anemòfiles, amb temps de fecunditat llargs, anemòcores i amb característiques de comunitat més complexes.

A nivell de població, les característiques que presenten més interès en el camp de la biologia de la conservació són l'àmbit geogràfic i el sistema reproductiu, atès a que són les que proporcionen un grau més alt de variació de la diversitat genètica (Hamrick i Godt, 1990). Segons això, les espècies d'àmplia distribució tendeixen a mostrar nivells de diversitat més alts que les espècies de distribució més restringida, com ara les endèmiques. Si fem cas del sistema reproductiu, les espècies al·lògames, especialment les anemòfiles, presenten més variabilitat genètica que les autògames o les de tipus mixt.

En la nostra àrea d'estudi, la tècnica de l'electroforesi d'isoenzims ha estat emprada per a la identificació de varietats comercials, com ara de clavells (Messeguer, 1987) i d'avellaners (Rovira, 1993). També s'han portat a terme estudis taxonòmics i evolutius en el gènere *Androcymbium* (Pedrola, 1993; Caujapé, 1995; Membrives, 2000), en *Cheirolophus* (Garnatje, 1995) i en *Centaurea* (Font, 1996). Són destacables els treballs en el gènere *Anthirrinum*, des del punt de vista de que comparteixen el mateix hàbitat que les dues espècies de *Petrocoptis*, *P. montsicciana* i *P. pardoii*. Torres, en el marc de la seva tesi doctoral (1999) fa un estudi de l'estructura genètica en *Antirrhinum microphyllum*, i Mateu-Andrés (1999) analitza la variació isoenzimàtica i la divergència entre tres espècies d'*Anthirrhinum*, *A. lopesianum*, *A. mollissimum* i *A. microphyllum*.

Avui dia disposem de diferents estudis de genètica de poblacions en espècies d'apiàcies, (família on s'inclou *Seseli farrenyi*): el complex de *Daucus carota* (St. Pierre *et al.*, 1990), *Aletes acaulis* i *Aletes humilis* (Linhart i Premoli, 1993), , *Sanicula odorata* (Williams, 1994), diferents espècies del gènere *Lomatium* (Soltis *et al.*, 1997), *Eryngium cuneifolium* (McDonald i Hamrick, 1996; Dolan *et al.*, 1999), i *Aciphylla glaucescens* (Mitchell *et al.*, 1999).

Els estudis de genètica de poblacions en cariofil·làcies són molt més nombrosos. Disposem de treballs sobretot en el gènere *Silene*, però també en espècies dels gèneres *Lychnis*, *Stellaria*, *Petrocoptis* i d'altres. En el gènere *Silene*, hi ha estudis de variabilitat isoenzimàtica en les següents espècies: *S. regia* (Dolan, 1994), *S. alba* (McCauley, 1996, 1997), *S. nutans* (Van Rossum *et al.*, 1997), *S. dioica* (Giles i Goudet, 1997), *S. dioica* i *S. latifolia* (Goulson i Jerrim, 1997), *S. vulgaris* i *S. uniflora* (Prentice i Giles, 1993; Runyeon i Prentice, 1996, 1997a, 1997b) i *S. acaulis* (Gehring i Delph, 1998).

Del gènere *Lychnis*, s'han estudiat *L. alpina* (Haraldsen i Wesenberg, 1993) i *L. viscaria* (Berge *et al.*, 1998), i del gènere *Stellaria*, *S. longipes* i *S. borealis* (Emery i Chinnappa, 1992) i *S. arenicola* i *S. longipes* (Purdy *et al.*, 1994). Altres espècies de *Caryophyllaceae* de les quals s'ha analitzat la diversitat genètica són *Petrohragia prolifera* (Lönn i Prentice, 1990), *Gypsophila fastigiata* (Prentice, 1992; Lönn *et al.*, 1996) i diverses espècies del gènere *Schiedea* (Weller *et al.*, 1996). Del gènere *Petrocoptis*, en el marc de la tesi de Mayol (1998) s'ha estudiat la variabilitat isoenzimàtica en totes les espècies peninsulars del gènere (*P. pyrenaica* subsp. *pyrenaica*, *P. pyrenaica* subsp. *glaucofolia*, *P. pyrenaica* subsp. *viscosa*, *P. grandiflora*, *P. hispanica*, *P. pseudoviscosa*, *P. crassifolia*, *P. montserratii*, *P. montsiciana*, *P. pardoii* i *P. guarensis*).

2.3. MATERIAL I MÈTODES

2.3.1. MATERIAL

Per tal de dur a terme l'electroforesi d'isoenzims, podem utilitzar material procedent de qualsevol part de la planta, sempre i quan presenti suficient activitat enzimàtica. D'aquesta manera, els teixits vegetals més emprats són fulles, llavors, cotiledons i material pol·línic, però alguns autors també han assajat amb branques (Chung, 1999), i fins i tot anterres (Broadhurst *et al.*, 1999) i material provinent d'herbari. Sigui quin sigui el material vegetal escollit, cal tenir en compte que les diferents mostres estiguin en les mateixes condicions fisiològiques i ontogèniques (Wendel i Weeden, 1989).

Al nostre laboratori hem utilitzat fulles, i esporàdicament llavors, procedents de la recol·lecció directa al camp de poblacions naturals. També hem realitzat proves amb material vegetal procedent de l'hivernacle de la nostra Facultat, concretament amb fulles d'individus adults de *Seseli farrenyi*, amb la finalitat de realitzar alguns assaigs per tal de posar a punt la tècnica de l'electroforesi per a determinats sistemes enzimàtics. S'ha pogut constatar empíricament que les fulles joves tenen més activitat enzimàtica que les velles: així doncs, és recomanable triar les primeres per optimitzar la visualització de les bandes.

El teixit foliar presenta una sèrie d'avantatges a l'hora de dur a terme l'electroforesi d'isoenzims :

a) El mostreig de fulles no representa cap perjudici per a la conservació de l'espècie, donat que la quantitat de teixit que requerim per a la realització dels experiments és mínima. És tracta doncs, d'un mètode conservatiu (Bosch, 1999), que no malmet les poblacions.

b) L'interval de temps disponible de recollida de mostres és molt més ampli que en d'altres teixits, com ara les granes, que solament es poden recollir en determinades èpoques de l'any.

Les granes, tot i ser un material que resol molt bé per a alguns sistemes enzimàtics, presenten una sèrie d'inconvenients (Bosch, *l.c.*) :

a) En algunes espècies són massa petites, el que fa que la quantitat de mostra sigui insuficient per tal d'obtenir una bona tinció.

b) La utilització de grans suposa la destrucció de l'individu potencial, fet que xoca amb la mateixa filosofia de la conservació d'espècies vegetals.

Un cop recollit el material vegetal del camp, el més aviat possible s'ha de guardar en refrigeració a uns 4°C, i si no s'experimenta en un curt període de temps, caldrà congelar les mostres a -40 °C.

2.3.2. METODOLOGIA DE L'ELECTROFORESI

APARELL D'ELECTROFORESI

Per a realitzar els nostres experiments hem utilitzat un aparell (fig. 2) que consta de quatre cubetes de metacrilat (dues i dues a cada banda) unides per un suport horitzontal on s'hi col·locarà posteriorment el gel (construït per Ecogen®). Les dues cubetes més interiors contindran aigua destil·lada, amb la finalitat de preservar el gel de la dessecació durant l'electroforesi (actuen com a refrigerants de la calor despresada durant el procés). A les dues cubetes exteriors, que contenen els dos electrodes (l'ànode i el càtode), s'hi aboca el tampó d'electrode. Els dos electrodes estan connectats a una font d'alimentació (model Consort E455, Bèlgica), en la que podem regular el voltatge i la intensitat.

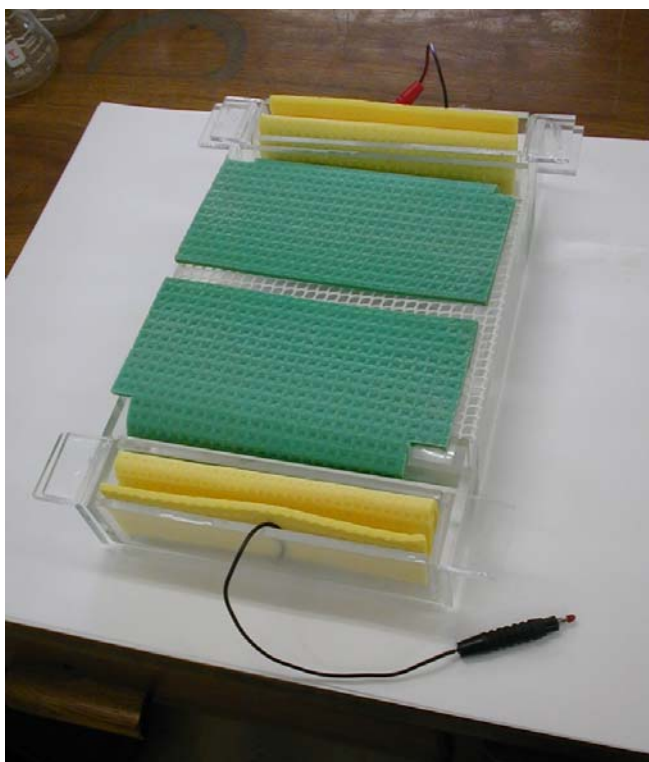


FIG. 2. Cubeta d'electroforesi

ELABORACIÓ DEL GEL

Hi ha diversos tipus de suports per a la separació electroforètica de proteïnes : gels de midó (SGE), de poliacrilamida (PAGE) i d'agarosa (AGE), i també es poden utilitzar membranes d'acetat de cel·lulosa. Els dos últims donen una resolució més aviat pobre, el que fa que siguin poc utilitzats en electroforesi d'isoenzims. Els gels de poliacrilamida en canvi sí presenten un gran poder de resolució, fet que ocasiona que siguin força més emprats.

Els gels de midó però, continuen sent els més utilitzats, a pesar del superior poder de resolució dels gels de poliacrilamida, per les següents raons: simplicitat en la seva preparació, baixa toxicitat dels materials usats, despeses relativament baixes, facilitat a l'hora de carregar les mostres, i sobretot la possibilitat d'assajar diversos sistemes enzimàtics en un mateix gel (Wendel i Weeden, 1989).

En el nostre estudi hem utilitzat únicament gels de midó. Per l'elaboració dels tampons de gel i d'electrode, s'han seguit les recomanacions de diferents autors, adaptades per Bosch (*l.c.*) a les condicions de treball del Laboratori de Botànica de la Facultat de Farmàcia. A la taula 2 s'esquematitzen les condicions òptimes d'electroforesi i les característiques dels tampons de gel i d'electrode utilitzats per als diferents enzims assajats.

Tots els gels s'han preparat a partir de 27 g de midó en pols (Sigma Starch potato, St. Louis), amb el que, un cop barrejat amb 250 ml del tampó de gel corresponent a l'enzim que volguem resoldre (taula 2) obtindrem una concentració final del gel dels voltants del 10-11%, que ens assegura una consistència adequada. Per tal de procedir a la preparació d'un gel, el midó en pols s'aboca en primer lloc en un matràs *kitasato*. A continuació afegim al *kitasato* entre 1/3 i 1/4 part de la solució de tampó de gel que haurem preparat prèviament, i agitem enèrgicament fins obtenir una suspensió homogènia. La resta del tampó de gel l'aboquem a un *erlenmeyer* i ho escalfem fins a ebullició. Seguidament es vessa el contingut de l'*erlenmeyer* sobre el *kitasato* (que no hem deixat d'agitar en cap moment), punt en el que hem d'observar la formació del gel. Ara el *kitasato* es porta uns segons a la placa calefactora per tal de fluidificar-lo una mica, i a continuació es connecta a una bomba de buit per eliminar bombolles d'aire que hagin pogut quedar en el sí del gel. Ara només ens queda abocar la massa gelatinosa en un motllo de vidre, que tindrà les mides adequades per a desenvolupar-hi posteriorment l'electroforesi, i es deixa refredar entre 12 i 16 hores a temperatura ambient, tapant-la amb una placa de vidre per evitar la dessecació.

EXTRACCIÓ I CÀRREGA DE MOSTRES

El tampó d'extracció s'ha de preparar amb una antelació mínima de 12 hores (Bosch, *l.c.*), i no s'hauria d'utilitzar passada una setmana des del moment de la seva elaboració. La composició del tampó que hem utilitzat està detallada a la taula 1. L'extracció es fa triturant mostres foliars fresques, aproximadament entre 0,25 i 0,50 g, en uns 100-200 µl del tampó d'extracció, utilitzant gresols de porcellana i una mà de morter. Cal molturar fins a l'alliberació total dels enzims del teixit vegetal. Els enzims un cop extrets són molt termolàbils, i és per això que cal fer la trituració i homogenització de

les fulles (procés que desprèn força calor) sobre una capa de gel picat. Si la càrrega del gel no és fa immediatament, cal guardar els extractes al congelador a -40°C .

TAULA 1. COMPOSICIÓ DEL TAMPÓ D'EXTRACCIÓ

50 ml de solució Tris 0,05M – Àcid cítric 0,07M
0,05 g de Cisteïna HCl
0,05 g d'Àcid ascòrbic
4 g de polivinil-pirrolidona (PVP-40)
100 μl de 2-mercaptoetanol

Les mostres que carreguem al gel són tiretes de paper de filtre *Whatman* núm.3, de 8×3 mm, que es submergeixen en l'extracte. Cal eixugar les tiretes amb paper absorbent per tal d'eliminar l'excedent d'extracte, per evitar problemes de difusió de les mostres durant l'electroforesi.

Per a passar a la fase de càrrega de les mostres, el gel de midó (que s'ha d'haver refrigerat a 4°C entre una i dues hores abans de la sembra) s'ha de tallar, perpendicularment a la seva dimensió més llarga, en dues parts asimètriques (una aproximadament el doble que l'altra) que separem uns centímetres per procedir a la càrrega o sembra de les mostres. Les tires de paper es dipositen verticalment on hem fet el tall, i en un dels extrems en posem una que es mulla amb solució de blau de bromfenol enlloc d'extracte, que farà d'indicador de la mobilitat del front. A continuació tornarem a unir els dos fragments del gel.

ELECTROFORESI

El gel, sense retirar-lo del seu motllo, es col·loca al suport horitzontal de l'aparell d'electroforesi. Cal omplir les dues cubetes exteriors (cadascuna de les quals conté un electrode) amb el tampó d'electrode corresponent, tampó que prèviament ha d'haver estat en refrigeració entre una i dues hores. Es reparteixen 400 ml de solució de tampó d'electrode entre les dues cubetes. S'assegura el contacte entre el tampó d'electrode i el gel amb una esponja, que cobreix part del gel.

Els electrodes es connecten a la font d'alimentació, i s'apliquen les condicions elèctriques adequades (taula 2). És quan comença la primera fase de l'electroforesi, fase en la que les enzims migren des de les tiretes de paper fins al gel. Una vegada ha transcorregut la primera fase, s'atura el corrent, es retiren els paperets, netegem la zona de tall de restes dels extractes, i tornem a aplicar el corrent amb les condicions elèctriques definides per la nostra pauta de treball (taula 2), per tal que comenci la segona fase. Com que durant la primera fase el gel de midó s'ha contret una mica a causa de la dessecació, potser caldrà posar una vareta de vidre en un dels extrems del motllo, per a garantir el contacte entre les dues parts del gel.

TAULA 2. CARACTERÍSTIQUES DELS DIFERENTS GELS EMPRATS

Gel	pH	Tampó de gel	Tampó d'electrode	Condicions elèctriques
Histidina-citrat	5,7	L-Histidina (base lliure) 0,067 M, ajustat a pH 5,7 amb àcid cítric monohidrat 0,3 M	Tris 0,13 M, àcid cítric monohidrat 0,04 M, ajustat a pH 5,7 amb tris o àcid cítric	1ª fase: 150 V, 40 mA, 0,3 h 2ª fase: 200 V, 40 mA, 3 h
Morfolina-citrat	6,1	Àcid cítric monohidrat 0,0015 M, ajustat a pH 6,1 amb N-(3-aminopropil)-morfolina	Àcid cítric monohidrat 0,04 M, ajustat a pH 6,1 amb N-(3-aminopropil)-morfolina	1ª fase: 150 V, 20 mA, 0,3 h 2ª fase: 200 V, 30 mA, 3 h
Borat de liti	8,2	Tris 0,03 M, àcid cítric anhidre 0,005 M, àcid bòric 0,03M, ajustat a pH 8,2 amb Li OH	Àcid bòric 0,26 M, ajustat a pH 8,3 amb Li OH	1ª fase: 150 V, 30 mA, 0,4 h 2ª fase: 300 V, 40 mA, 4 h
Tris-citrat	7,0	Àcid cítric monohidrat 0,004 M ajustat a pH 7,0 amb Tris 0,61 M	Àcid bòric 0,3 M, ajustat a pH 8,2 amb NaOH	1ª fase: 150 V, 40 mA, 0,3 h 2ª fase: 300 V, 40 mA, 3 h
Tris-citrat	8,2	Tris 0,015 M, ajustat a pH 8,2 amb àcid cítric monohidrat 0,3 M	Àcid bòric 0,3 M, ajustat a pH 8,2 amb NaOH	1ª fase: 150 V, 40 mA, 0,3 h 2ª fase: 300 V, 40 mA, 4 h

TALLAT DEL GEL

Un cop finalitzada l'electroforesi, hem de tallar el gel transversalment, obtenint diferents capes a mode de "llesques", cadascuna de les quals ens permetrà fer una tinció específica per a un enzim. Per tal de procedir al tallat del gel, aboquem aquest sobre una base de metacrilat que als vèrtexs té quatre pivots on hi encaixen unes làmines de plàstic de 1mm o bé 1,5 mm de gruix, de manera que quedi una làmina a cada costat del gel. Per tallar el gel, utilitzem una serra de marqueteria on s'ha substituït la fulla per una corda de guitarra tensada. La corda es fa lliscar sobre les dues làmines de plàstic, seccionant el gel en capes que tenen un gruix de 1mm o 1,5 mm depenent del gruix de les làmines. Per a dur a terme les tincions, quasi sempre són més adequades les capes inferiors, ja que els enzims descriuen una trajectòria curvilínia lleugerament descendent; és per aquesta raó que es sol rebutjar la capa superior.

TINCIONS ENZIMÀTIQUES

Els enzims habitualment no són visibles perquè es troben a concentracions molt baixes, però es poden visualitzar mitjançant tincions específiques per a cadascun. Els enzims es poden tenyir perquè catalitzen específicament alguna reacció bioquímica. Si afegim els substrats de l'enzim, podem visualitzar-lo amb un adequat sistema de tinció per algun dels productes de la reacció enzimàtica. Les solucions de tinció que fem es preparen segons el protocol de la taula 3, basades en les proposades per Shields *et al.* (1983), Vallejos (1983) i Wendel i Weeden (1989). S'ha fet però alguna petita modificació per adaptar-les a alguns sistemes enzimàtics que hem assajat. Els enzims es poden designar pel seu nom col·loquial i abreviatura habitual, però també indiquem llur nom sistemàtic proposat per la Unió Internacional de Bioquímica (IUB, 1984), i un número proposat per la Enzyme Commission (EC) (taula 3).

Per procedir a la tinció de les diferents capes del gel de midó, cal submergir cadascuna d'elles en la solució de tinció específica segons l'enzim que ens interessi tenyir. Es fan servir unes cubetes de metacrilat rectangulars (Ecogen®), compostes de dues cel·les comunicades entre elles, que permet fer una tinció determinada simultàniament a dues capes de gel de midó. Es fan servir 100 ml de solució de tinció per a tenyir un enzim. El temps d'incubació depèn de cada tinció en particular, però generalment està al voltant dels 30 minuts. Durant aquest temps, les cubetes es posen a l'estufa, a temperatura ambient o a les fosques depenent del protocol de cada tinció (taula 3). Un cop ha transcorregut el temps d'incubació, rentem les cubetes amb aigua, amb molta cura per tal de no trencar les llesques, amb la finalitat d'aturar la reacció enzimàtica.

INTERPRETACIÓ DELS GELS

Un cop obtenim el zimograma (el patró de bandes del gel) es disposa sobre un rectangle de vidre blanc per a fer-li una fotografia i dibuixar la interpretació. Els negatius de tots els assajos realitzats es conserven al nostre laboratori. Hi ha d'altres autors, en canvi, que fixen i posteriorment dessequen les llesques dels gels per tal de conservar-les (Torres, 1999).

Entre les dues espècies estudiades, s'ha assajat un total de 21 enzims, dels quals només s'han resolt 9 per *Seseli farrenyi* (ADH, DIA, GOT, IDH, MDH, 6PGD, PGI, PGM i RBC) i 10 per *Petrocoptis montsicciana* (ACO, ADH, DIA, GOT, MDH, ME, 6PGD, PGI, PGM i PRX). A la taula 3 només s'inclou el protocol per les tincions dels enzims que hem pogut resoldre.

A l'hora d'interpretar el patró de bandes, que de vegades és força complicat, cal establir un sistema de nomenclatura per a definir els al·lells i els locus isoenzimàtics. Per a interpretar-lo, el zimograma el dividim perpendicularment a la direcció del front en les diferents zones o regions d'activitat que apareixin per a un determinat sistema enzimàtic. Cada regió, que correspon a un isoenzim determinat, s'anomena amb l'abreviatura habitual de l'enzim (taula 3) en majúscules, seguida d'un número, en el cas que aparegui més d'una regió d'activitat (p.e. MDH-1). Es comença a numerar per les regions d'activitat més anòdiques, que correspondrà als isoenzims de migració més ràpida. Els locus isoenzimàtics (la interpretació genètica dels isoenzims) es designen amb l'abreviatura habitual de l'enzim però ara en minúscules i cursiva, seguida del número corresponent (p.e. *Mdh-1*)

Al zimograma, en cadascun dels isoenzims o regions d'activitat es poden diferenciar diferents al·loenzims, que són els equivalents dels al·lells en l'escala genètica. Tant els al·loenzims com la seva interpretació genètica -els al·lells- es designen amb minúscules en cursiva, per ordre alfabètic a partir del més anòdic.

TAULA 3. PROTOCOLS DE TINCIÓ PER ALS ENZIMS

ACO / Aconitasa / Citrat (isocitrat) hidroliaza / EC 4.2.1.3

Tris 0,1 M	100 ml
MTT	20 mg
NADP	8 mg
PMS	5 mg
MgCl ₂	5 ml
Àcid cis-aconític	60 mg
IDH	13,5 mg (70 U)

Cal escalfar la solució de tinció.

ADH / Alcohol deshidrogenasa / Alcohol; NAD⁺ òxido-reductasa / EC 1.1.1.1

Tris 0,1 M	100 ml
MTT	10 mg
NAD	20 mg
PMS	5 mg
MgCl ₂	5 ml
Alcohol etílic	7 ml

Cal escalfar la solució de tinció.

DIA / Diaforasa / NAD(P)H: (acceptor) òxido-reductasa / EC 1.6.99.-

Tris 0,1 M	100 ml
MTT	20 mg
NADH	20 mg
2,6-dicloroindofenol	4 mg

Cal escalfar la solució de tinció.

GOT o AAT / Glutamat oxalacetat transaminasa o Aspartat amino-transferasa / L-Aspartat:2-oxoglutarat amino-transferasa / EC 2.6.1.1

Tampó GOT*	100 ml
Piridoxal-5P	10 mg
Fast Blue	200 mg

*Tampó GOT: Està compostat per Tris 0,1 M, àcid cetoglutàric i àcid aspàrtic, ajustat a pH 8,0 amb HCl.

La solució de tinció és fotosensible, cal fer la mescla ràpidament i de seguida col·locar a la foscor. No escalfar.

IDH / Isocitrat deshidrogenasa / Isocitrat:NAD(P)⁺ òxido-reductasa (descarboxilant) / EC 1.1.1.42 (forma NADP); EC 1.1.1.41 (forma NAD)

Tris 0,1 M	100 ml
MTT	30 mg
NADP	12 mg
PMS	9 mg
MgCl ₂	2 ml
Àcid isocítric	60 mg

Cal escalfar la solució de tinció.

MDH / Malat deshidrogenasa / (S)-Malat:NAD⁺ òxido-reductasa / EC 1.1.1.37

Tris 0,1 M	75 ml
MTT	15 mg
NAD	15 mg
PMS	4 mg
Solució L-malat	25 ml (Àcid màlic ajustat a pH 7,5 amb NaOH)

Cal escalfar la solució de tinció.

PGI / Fosfogluoisomerasa / D-Glucosa-6-fosfat cetol-isomerasa / EC 5.3.1.9

Tris 0,1 M	100 ml
MTT	20 mg
NAD	8 mg
PMS	6 mg
Fructosa-6-P	20 mg
Glucosa-6-P-DH	4 mg (30 U)

Cal escalfar la solució de tinció.

PGM / Fosfoglucomutasa / α -D-Glucosa 1,6-fosfomutasa / EC 5.4.2.2

Tris 0,1 M	100 ml
MTT	20 mg
NADP	8 mg
PMS	6 mg
MgCl ₂	2 ml
Glucosa-1-P	25 mg
Glucosa-6-P-DH	4 mg (30 U)

Cal escalfar la solució de tinció.

PRX / Peroxidasa / Donador:peròxid d'hidrogen òxido-reductasa / EC 1.11.1.7

Solució A:	
Solució de peroxidasa	5 ml
Peròxid d'hidrògen 3 %	1 ml
Aigua destil·lada	94 ml
Solució B:	
N,N-dimetilformamida	3 ml
3-amino-9-etilcarbazol	50 mg

Les solucions A i B es barregen immediatament abans de la tinció. Cal escalfar la solució de tinció.

RBC / Ribulosa bifosfat carboxilasa (Rubisco) / 3-Fosfo-D-glicerat carboxilasa (dimeritzant) / EC 4.1.1.39

Amido Black	50 mg
Solució fixadora:	
Metanol	182 ml
Aigua destil·lada	182 ml
Àcid acètic	36 ml

Mesclar l'Amido Black amb ¼ de fixador i deixar 15-30 minuts. Rentar 3 cops amb ¼ de fixador, deixant 15 minuts entre cada rentada. No escalfar.

2.3.3. ANÀLISI DE LES DADES

Una vegada interpretats els diferents zimogrames, obtenim els genotips individuals, que ens permetran calcular les freqüències al·lèliques de cada població. Aquestes, a la vegada, ens serveixen per determinar els diferents paràmetres de diversitat genètica, descrits per Hamrick i Godt (1996). Aquests paràmetres ens donen una idea prou clara dels nivells i de la distribució de la diversitat genètica a nivell d'espècie, dins d'una població o entre diferents poblacions. En el nostre estudi hem emprat els següents:

A. Paràmetres que mesuren la diversitat genètica (*paràmetres descriptors bàsics*):

A.1. Percentatge de loci polimòrfics (P): proporció de loci polimòrfics en relació amb el total de loci estudiats. En principi, un locus és polimòrfic quan presenta més d'un al·lel. El criteri més emprat però, que és el que nosaltres prenem, és considerar un locus polimòrfic quan la freqüència de l'al·lel més comú es igual o inferior a 0,95 (Nei, 1987; Swofford i Selander, 1989). De vegades també s'empra el criteri de 0,99.

A.2. Nombre mitjà d'al·lels per locus (A): raó entre el nombre total d'al·lels observats entre tots els loci i el nombre total de loci analitzats.

A.3. Nombre mitjà d'al·lels per locus polimòrfic (A_p): raó entre el nombre total d'al·lels observats en els loci polimòrfics i el nombre de loci polimòrfics analitzats.

A.4. Heterozigosi observada (H_o): quocient entre el nombre d'heterozigots per a un gen determinat i el total de genotips estudiats.

A.5. Heterozigosi esperada (H_e) sota equilibri de Hardy-Weinberg: Aquesta mesura va en funció de la proporció de loci polimòrfics, del nombre d'al·lels per locus polimòrfic i de les freqüències al·lèliques. Aquest paràmetre també rep el nom de *diversitat gènica* (Nei, 1973), i és la mesura de diversitat més àmpliament utilitzada en genètica. Aquest paràmetre es calcula a partir de la fórmula:

$$H_e = 1 - \sum p_i^2$$

on p_i és la freqüència de l'al·lel i .

A.6. Índex de fixació de Wright (F) (Wright, 1951): Es tracta d'un paràmetre que ens compara l'heterozigosi esperada i l'observada segons la fórmula:

$$F = (H_e - H_o) / H_e$$

F pren valors que oscil·len entre -1 i 1 , de manera que els valors negatius d'aquest paràmetre indiquen un excés d'heterozigots, mentre que els valors positius n'indiquen un dèficit.

B. Paràmetres que mesuren la distribució de la diversitat genètica (*estadístics de diversitat genètica*):

B.1. *Diversitat total de l'espècie (H_T) o heterozigosi total esperada de l'espècie*: És un paràmetre derivat de l'heterozigosi esperada (H_e), que alhora es divideix en dos components (Nei, 1973): *diversitat intrapoblacional (H_S)* i *diversitat interpoblacional (D_{ST})*, que és una estimació de la distribució de la diversitat genètica:

$$H_T = H_S + D_{ST}$$

B.2. *Coefficient de diferenciació genètica (G_{ST})*: Ens descriu la proporció de diversitat total que trobem entre poblacions, i es calcula a partir de H_T i D_{ST} :

$$G_{ST} = D_{ST} / H_T$$

B.3. *Flux de gens o nombre estimat de migrants per generació (N_m)*: És un paràmetre que el calculem a partir del coeficient de diferenciació genètica (G_{ST}) (Wright, 1951):

$$N_m = 1 - G_{ST} / 4 G_{ST}$$

C. Paràmetres que ens dóna l'estadística de F:

L'estadística de l'índex de fixació de Wright ens permet calcular una sèrie de paràmetres, els anomenats coeficients d'endogàmia de Wright o estadístics-F. Formulats per Wright (1965), reflecteixen la distribució de la diversitat genètica basant-se en els índexs de fixació.

C.1. *Índex de fixació intrapoblacional (F_{IS})*: És un paràmetre que representa la desviació de la llei de Hardy-Weinberg dins de cada població.

C.2. *Índex de fixació interpoblacional (F_{ST})*: Reflexa la desviació de la llei de Hardy-Weinberg entre les diferents poblacions. És un paràmetre que s'usa com a indicador de divergència entre poblacions, i els seus valors oscil·len entre 0, que indica no-divergència, i 1, que indica la màxima divergència. És doncs un paràmetre equiparable al coeficient de diferenciació genètica (G_{ST}). De fet, numèricament els dos paràmetres donen valors idèntics en alguns casos depenent de la naturalesa de l'estudi, però conceptualment són diferents i el segon no pren en consideració les freqüències genotípiques ni la heterozigosi observada (Finkeldey i Murillo, 1999).

C.3. *Índex de fixació total (F_{IT})*: Mesura aquesta desviació dins l'espècie, considerant totes les poblacions.

F_{IS} i F_{IT} prenen valors positius si hi ha dèficit d'heterozigots i valors negatius si hi ha excés d'heterozigots.

D. Identitats i distàncies genètiques:

Les identitats genètiques i les distàncies genètiques són paràmetres que també ens permeten quantificar la divergència genètica entre poblacions, mitjançant la comparació de les freqüències al·lèliques entre parells de poblacions, en forma de matrius. A partir d'aquests paràmetres es poden elaborar clústers de poblacions i obtenir dendrogrames.

D.1. Identitat genètica de Nei (I) (Nei, 1978): Es calcula amb la fórmula següent:

$$I = \sum x_i y_i / (\sum x_i^2 \sum y_i^2)^{0.5}$$

on x_i i y_i són les freqüències de l'al·lel *i*èssim a les poblacions x i y . El valor de I oscil·la entre 0 i 1, i ens proporciona una estimació del grau de semblança genètica existent entre dues poblacions. I tindria un valor de 1 en poblacions amb freqüències al·lèliques idèntiques, mentre que obtindríem 0 en poblacions que no tenen cap al·lel en comú.

D.2. Distància genètica de Nei (D) (Nei, 1972), que és defineix com:

$$D = -\log_e I$$

i varia de 0 fins a infinit.

D.3. Similaritat genètica de Rogers (S) (Rogers, 1972), que oscil·la entre 0 i 1.

2.3.4. PROCESSAMENT DE LES DADES

A partir dels genotips de tots els individus analitzats, el programa BIOSYS-1, versió 1.7 (Swofford i Selander, 1989) ens dona les freqüències al·lèliques per a tots els loci que analitzem i permet calcular els paràmetres descriptors bàsics de diversitat genètica (P , A , A_p , H_o , H_e i F). Aquest mateix programa també ens calcula els coeficients d'endogàmia de Wright (F_{IS} , F_{ST} i F_{IT}) i ens fa l'anàlisi *xi-quadrat* (χ^2) dels valors de F per tots els loci polimòrfics analitzats. Per últim, BIOSYS-1 ens calcula tota una sèrie d'identitats i distàncies genètiques, de les que nosaltres fem la identitat genètica de Nei (I), la similaritat genètica de Rogers (S) i la distància genètica de Nei (D). El programa també ens construeix dendrogrames o anàlisis *cluster* usant el mètode d'agrupament UPGMA (*unweighted pair group method with averaging*) en base a les dades de I .

Les freqüències al·lèliques obtingudes amb el programa BIOSYS-1 ens permeten calcular els estadístics de diversitat genètica (H_S , D_{ST} , H_T i G_{ST}) mitjançant el programa GeneStat-PC, versió 3.31 (Lewis i Witkus, 1993). El flux de gens (N_m) és un paràmetre que, donada la seva senzillesa, l'hem calculat manualment.

Les comparacions entre les matrius d'identitat genètica (I) i les de distància geogràfica s'han realitzat mitjançant el test de Mantel (1967), utilitzant l'opció de distància taxonòmica en el programa NTSYS-pc. El test de Mantel determina si els elements de dues matrius simètriques presenten o no correlació

***II. SESELI
FARRENYI***

1. INTRODUCCIÓ

1.1. DESCRIPCIÓ

Seseli farrenyi Molero & Pujadas, Lagascalia, 9: 31, 1979.

(= *Seseli elatum* subsp. *farrenyii* (Molero et Pujadas) O. Bolòs et J. Vigo, Fl. Països Catalans, 2: 425, 1990).

HOLOTYPUS: BCF 20101.

Herba perenne, de 6-20 (30) cm d'alçada, glabra i glauco-pruinosa. La seva arrel és fusiforme, una mica ramificada i fibrosa a la seva part superior. La tija és més o menys gràcil, flexuosa i ramificada des de la base, on hi trobem restes de fulles mortes. Les fulles basals, de 30-100 × 15-40 mm, són ovals i oblongues, 2-3-pinnatisectes, amb els folíols oval-lanceolats a linear-lanceolats, aguts, de 0,7-1,8 (2) mm × 3-20 mm. Les fulles caulinaris són generalment bipinnades, amb lacínies de 0,7-2 × 4-23 (50) mm.

L'involucre és nul o bé presenta una sola bràctea, caduca. Les umbel·les són abundants, en cima ampla i compostades per (2) 4-8 (11) radis umbel·lars, de 5-23 (30) mm de longitud, angulosos i glabres. L'involucel·le està format per bracteòles lliures o connades fins a 1/5 de la base, més curtes que els radis, i escarioses en el marge.

Pètals blancs i glabres. Calze amb dents triangulars, de 0,4-0,6 mm, persistents en el fruit madur, inserits a l'apex del calze o una mica per sota (fins a 0,2 mm). L'estilopodi mesura de 0,4 a 0,7 mm, és de forma cònica, truncat al seu apex. Estils reflexos i una mica més llargs que l'estilopodi. Fruit ovoide, papilós-tuberculat quan és jove i glabre a la maduresa. Està format per dos mericarps (aquenis), de 1,2-1,6 × 2,7-3,3 mm, de secció pentagonal i amb la cara comissural plana, de 1,7-1,9 mm d'amplada. Cadascun dels mericarps està recorregut longitudinalment per 5 costelles bastant prominents, 2-3 (4) cops més estretes que les val·lècules (espai comprès entre 2 costelles). Cada mericarp presenta 6 vites, 4 de les quals distribuïdes a les zones val·leculars i 2 a la cara comissural (fig. 1).

S'ha observat certa tendència a la unisexualitat en algunes flors, que desenvolupen molt bé els estams i escassament l'estil. *Seseli farrenyi* floreix entre els mesos de (juny) juliol i agost, i fructifica entre agost i setembre.

Respecte a la *fitoquímica*, diferents determinacions analítiques portades a terme amb fulles de *S. farrenyi* (Muckesnsturm *et al.*, 1997), han revelat la presència d'una sèrie de compostos de naturalesa terpenoide en aquesta espècie. Mitjançant les tècniques de cromatografia de gasos-espectrometria de masses (CG-EM), cromatografia en columna (CC) i ressonància magnètica nuclear (RMN), s'han determinat els següents compostos: monoterpens (α -pinè, 3-carè, limonè, γ -terpinè, acetat de bornil), sesquiterpens (sabinè, terpinolè, D-germacrè, δ -cadinè), tetradecilacetat, tetraconasal, hexaconasal i octaconasal. Però sobretot destaca la troballa de la 2-farnesil-6-metilbenzoquinona (= 2-demetilplastoquinona-3) i el 7-demetilplastocromenol-2, un nou cromenol que ha resultat però ser un artefacte resultant del procés de determinació del primer (fig. 3).

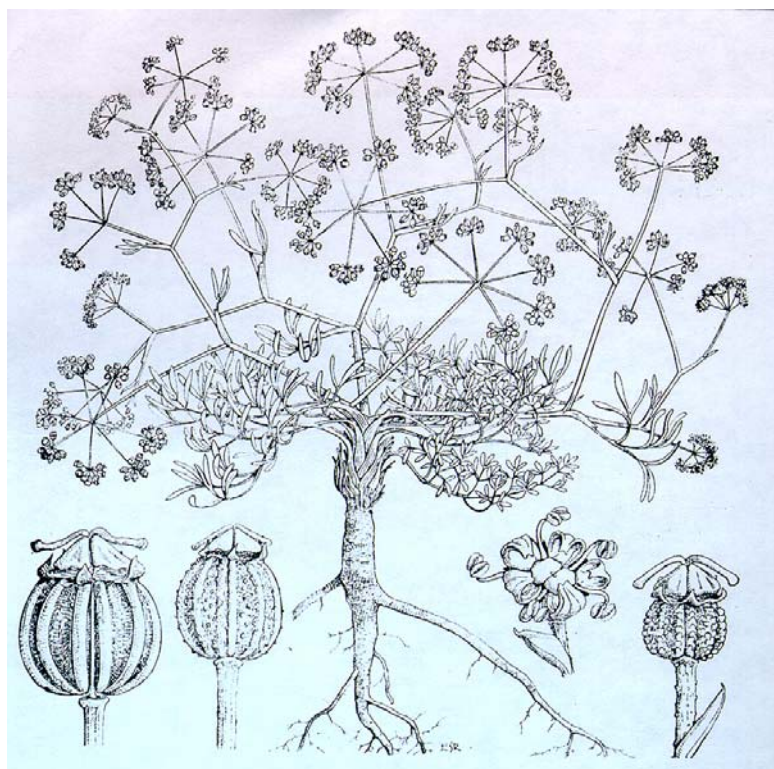


FIG. 1. *Seseli farrenyi*, aspecte general i detalls morfològics (segons Molero i Pujadas, 1979)

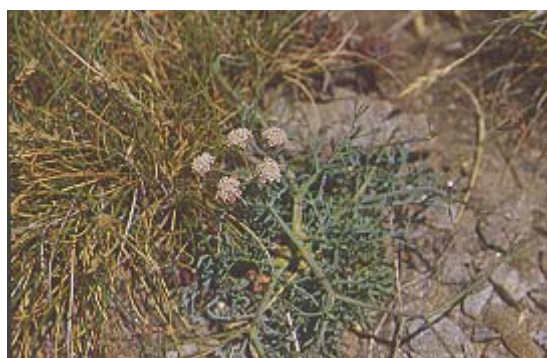


FIG. 2. Planta amb flor de *Seseli farrenyi*

Pel que fa al nombre cromosòmic de *S. farrenyi*, es disposa de dades d'un recompte cromosòmic efectuat per Fernández-Casas *et al.* (1979) a partir de botons florals recol·lectats directament del camp. Es va establir com a resultat $2n = 18$.

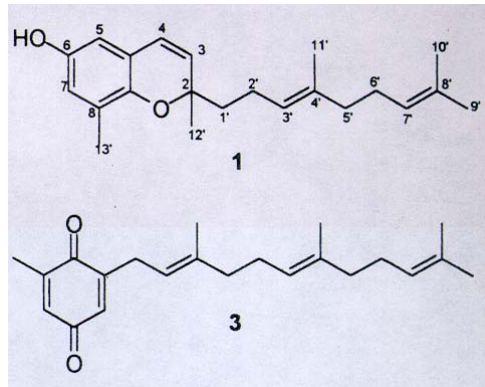


FIG. 3. Fórmula química del 7-demetilplastocromenol (1) i de la 2-farnesil-6-metilbenzoquinona (3) detectats en *S. farrenyi* (segons Muckesnsturm *et al.*, 1997).

1.2. SITUACIÓ TAXONÒMICA

El gènere *Seseli* va ser descrit per Linné (1737) a la seva obra *Genera plantarum*. El mateix autor l'inclou a *Species plantarum* (Linné, 1753), a la sèrie II *Haplozygiae*, tribu *Seselineae*, subtribu *Selineae*. Koch (1824) divideix el gènere en dues seccions, *Seselia* i *Libanotis*. Crantz (1767) havia considerat però *Libanotis* com un gènere independent de *Seseli*, tesi en la que es refermen De Candolle (1830), Reichenbach (1837) i Hayek (1932). Drude (1898) inclou el gènere *Seseli* dins la subfamília *Apioideae*, a la tribu *Ammineae*, subtribu *Seselinae*, i considera *Libanotis* com un subgènere de *Seseli*. Rothmaler (1963), Duvigneaud (1965) i Guiyot (1966) tornen a reconèixer *Libanotis* com a gènere independent. Segons Pardo (1981), *Libanotis* no es pot categoritzar com un gènere diferent de *Seseli*. Avui dia es reconeixen bàsicament dues seccions del gènere *Seseli*, la secció *Seseli* (= sect. *Euseseli* DC, 1843), que engloba la majoria de les espècies del gènere, i la secció *Libanotis* Gren. & Godr., 1848. *S. farrenyi* s'inclou a la sect. *Seseli* pel seu calze persistent de dents triangulars, pètals blancs i glabres, val·lècules amb un canal i d'altres característiques morfològiques (Molero i Pujadas, 1979).

Seseli farrenyi fou descrita per primer cop amb categoria específica per Molero i Pujadas (1979). Posteriorment, ha estat combinada erròniament com una subespècie de *Seseli elatum* L. [*Seseli elatum* subsp. *farrenyi* (Molero et Pujadas) O.Bolòs et J. Vigo], denominació taxonòmica que apareix a la Flora dels Països Catalans (Bolòs i Vigo, 1990), a la Flora Manual dels Països Catalans (Bolòs *et al.*, 1993) i al *Banc de dades de biodiversitat* de Catalunya (<http://biodiver.bio.ub.es/biocat/homepage.html>).

En una profunda revisió anatòmica del fruit de les espècies de la subfamília *Apioideae* Drude (Arenas i García, 1993), es constata la consideració de *S. farrenyi* com a espècie independent i no com a subespècie de *S. elatum*. La comparació d'algunes de les característiques morfològiques del fruit entre ambdues espècies i el dibuix de les seccions transversals dels respectius mericarps no deixa gaires dubtes que es tracta de dues espècies diferents (taula 1 i fig. 4):

TAULA 1. QUADRE COMPARATIU DE L'ANATOMIA DELS FRUITS DE *S. ELATUM* I *S. FARRENYI* (SEGONS ARENAS I GARCÍA, 1993)

Caract. morfològiques	Fruits de <i>Seseli elatum</i>	Fruits de <i>Seseli farrenyi</i>
DIMENSIONS MERICARP	3-3,25 × 1,4-1,7 mm	2,7-3,3 × 1,2-1,6 mm
FORMA	El·lipsoide-ovoide	El·lipsoide-ovoide
GRAU DE COMPRESSIÓ	0,55-0,65	0,55-0,75
GLABRE / PUBESCENT	Pubescent	Glabre
MIDA DENTS CALZE	0,2-0,4 mm	0,4-0,6 mm
AMPLADA CARA COMISSURAL	1,7-2,1 mm	1,7-1,9 mm
VITES	4 de 55-115 µm (1 a cada val·lècula); 2 de 55-115 µm a la cara comissural	4 de 60-340 µm (1 a cada val·lècula); 2 de 70-230 µm a la cara comissural

Pel que respecta a les seccions transversals dels mericarps d'ambdues espècies, destaquen una sèrie de característiques morfològiques i/o histològiques que les diferencien. En primer lloc, la secció del mericarp de *S. elatum* és molt més angulosa que la de *S. farrenyi*. Respecte a les vites (distribuïdes a les zones val·leculars) són molt més àmplies en *S. farrenyi* que en *S. elatum*. Els feixos líbero-lleñosos (situats a sota les costelles) estan també més desenvolupats a *S. farrenyi*. Un altre tret diferencial és la presència de pèls al mericarp de *S. elatum*, mentre que el mericarp de *S. farrenyi* és glabre.

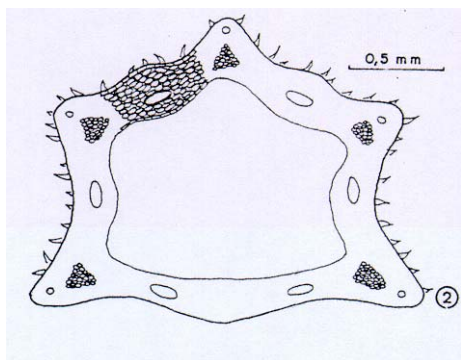
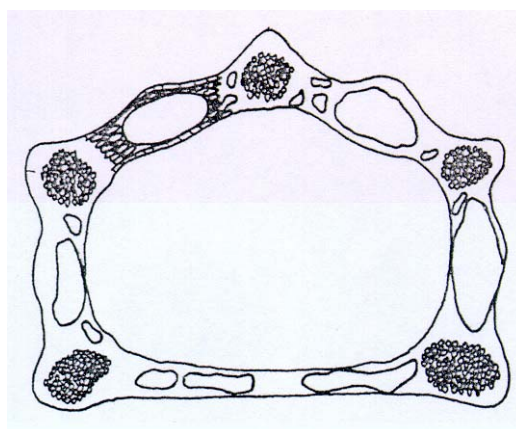


FIG. 4. Secció transversal del mericarp de *S. elatum* (segons Arenas i García, 1993).



Secció transversal del mericarp de *S. farrenyi* (segons Arenas i García, 1993).

S. farrenyi estaria més aviat relacionada amb *Seseli praecox* (Gamisans) Gamisans, espècie endèmica de les illes de Còrsega i Sardenya, amb la majoria de les poblacions situades entre les localitats corses de Calvi i Portu, a la costa occidental de l'illa (Gamisans, 1996). L'espècie havia estat descrita anteriorment pel mateix autor (Gamisans, 1972) amb el rang de subespècie, *Seseli bocconi* Guss. subsp. *praecox* Gamisans. La secció transversal del mericarp de *S. praecox* és força semblant a la de *S. farrenyi*, amb unes vites i uns feixos líbero-llenyosos bastant desenvolupats, encara que les costelles formen unes angulacions més patents que en el cas de *S. farrenyi*. Les mides del mericarp de *S. praecox* són 1,3-1,8 × 2,7-3,5 mm, pràcticament calcades a les de *S. farrenyi*, però aquest és pubescent i no glabre.

Si comparem altres característiques de la planta a part dels mericarps, veiem més afinitats entre *S. farrenyi* i *S. praecox* que entre *S. farrenyi* i *S. elatum* (taula 2):

TAULA 2. QUADRE COMPARATIU DE LES CARACTERÍSTIQUES MORFOLÒGIQUES DE *S. ELATUM*, *S. FARRENYI* I *S. PRAECOX* [DADES EXTRETES D' ARENAS I GARCÍA (1993) I GAMISANS (1972)]

Característiques morfològiques	<i>Seseli elatum</i>	<i>Seseli farrenyi</i>	<i>Seseli praecox</i>
ALÇADA DE LA PLANTA	2-5 (10) dm	0,6-2 (3) dm	1,5-3,5 dm
CARACTERÍSTIQUES DE LES FULLES	Lacínies de 10-30 mm	Lacínies de 3-20 mm	Lacínies de 1,5-6,5 mm
DIÀMETRE RADIS UMBEL·LARS	(0,5) 1-3 cm	0,5-2,3 (3,0) cm	2,2-5 cm
PERIODE DE FLORACIÓ	Juny-octubre	Juny-agost	Maig-agost
REQUERIMENTS EDÀFICS	Calcícola (sòls bàsics)	Silicícola (sòls àcids)	Silicícola (sòls àcids)

D'entre les diferències més destacables, podem veure que *S. elatum* és una planta de més envergadura que les altres dues espècies, i també amb un període de floració més dilatat. A més, creix en sòls calcaris a diferència de les altres dues espècies, que ho fan sobre roques marítimes de característiques àcides.

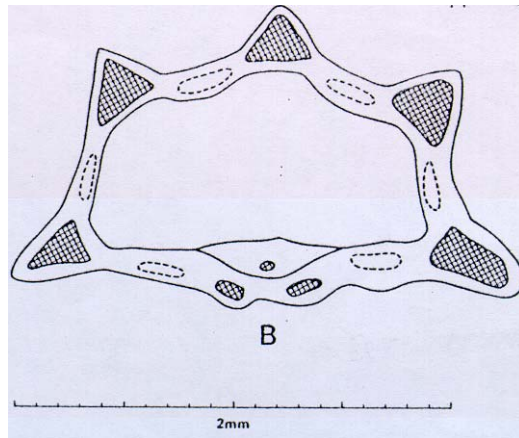


FIG. 5. Secció transversal del mericarp de *S. bocconi* ssp. *bocconi*, espècie molt pròxima a *S. praecox* (segons Gamisans, 1972).

S. farrenyi sembla doncs ser una espècie amb unes afinitats més inclinades cap a les espècies del grup *balearico-tirrenc* (*Seseli praecox* i també *Seseli bocconi* ssp. *bocconi*) que no pas a *S. elatum*, espècie relativament abundant a les comarques de l'interior i del sud de Catalunya.

Una explicació plausible podem basar-la en la història geològica tant de la zona del Cap de Creus com de les illes de Còrsega i Sardenya. Segons Westphal *et al.*, (1976), el bloc de Còrsega i Sardenya va arribar a la seva posició actual mitjançant una *deriva*, que s'hauria produït durant el miocè inferior (fig. 6). A l'oligocè, aquest bloc estava unit a la costa provençal i del Llenguadoc, formant part de l'antic arc muntanyós Hercinià, situat entre els Pirineus, els massissos de l'est de la Península Ibèrica i els massissos cristal·lins externs dels Alps. El Cap de Creus també hauria format part de l'antiga serralada Herciniana (Franquesa, 1995). L'extrem sud-est de Sardenya devia estar unit aproximadament a la zona empordanesa-rossellonesa, i és per tant probable que a l'oligocè hi hagués un nucli de poblacions d'algun tàxon de *Seseli* ancestral, que amb la deriva del bloc corso-sard s'hagués fragmentat, quedant un petit relíct a la zona continental que hauria derivat en les actuals poblacions de *S. farrenyi*. La part de les poblacions d'aquest tàxon ancestral que hauria quedat al bloc insular corso-sard, hauria evolucionat cap a *S. praecox*, espècie que en els nostres dies es troba distribuïda tant a Còrsega com a Sardenya.

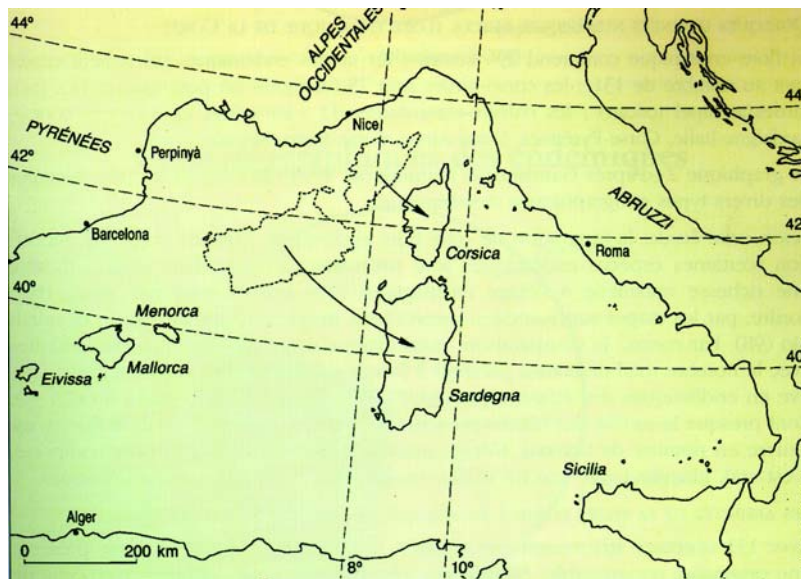


FIG. 6. Representació de la deriva de les illes de Còrsega i Sardenya (segons Gamisans, 1996).

Respecte a la *quimiotaxonomia*, la 2-farnesil-6-metilbenzoquinona (*cf.* punt 1.1), quinona sesquiterpènica present a les fulles de *S. farrenyi*, s'ha trobat també a *S. elatum* L. (= *Seseli longifolium* L.), *Seseli gouanii* Koch i a *Seseli leucospermum* Waldst. & Kit. No s'ha identificat en canvi a *Seseli libanotis* (L.) Koch, *Seseli montanum* L., *Seseli webbii* Lowe, *S. bocconi* Guss. subsp. *praecox* Gamisans, *Seseli peucedanoides* (bieb.) Kos-Pol., *Seseli glaucum* (= *Seseli galloprovinciale* Reduron) L. i *Seseli annuum* L. (Muckensturm *et al.*, 1997). Les dades fitoquímiques són encara però massa incipients per a permetre aplicacions quimiotaxonòmiques en el gènere *Seseli*.

Si penetrem en el camp de la *citogenètica*, les dades dels recomptes cromosòmics de les diferents espècies del gènere *Seseli* també ens permeten fer una aproximació de la situació taxonòmica de *S. farrenyi*.

El gènere *Seseli* comprèn aproximadament unes 140 espècies, segons la base de dades nomenclatural del *Missouri Botanical Garden* (http://mobot.mobot.org/cgi-bin/search_pick). Disposem dels recomptes cromosòmics de 51 espècies, que hem obtingut de diferents fonts bibliogràfiques, la qual cosa representa el 36 % del total de les espècies del gènere (taula 3).

TAULA 3. NOMBRES CROMOSÒMICS CONEGUTS DE LES ESPÈCIES DEL GÈNERE *SESELI*

Espècie	Recompte gametofític (n)	Recompte esporofític (2n)	Autor/s	Àrea de distribució
<i>Seseli alpinum</i> Bieberd	11	----	Vasil'eva et al., 1993	Rússia
<i>Seseli annuum</i> L.	----	16	□inkura i Hindáková, 1963 ^b	Del nord d'Espanya fins a Rússia

	8	----	Wetschnig i Leute, 1991 ^a	
	----	22	Håkansson, 1953 ^b ; Pardo, 1981	
<i>Seseli austriacum</i> (Beck.) Wohlf.	9	18	Wetschnig i Leute, 1991 ^a	Itàlia, Eslovènia,
	----	22	Bell i Constance, 1966 ^b	Hongria, Àustria, Txèquia
<i>Seseli bocconi</i> Guss.	----	18	Gardé i Malheiros-Gardé, 1949	Còrsega, Sardenya i Sicília
<i>Seseli buchtormense</i> (Fisch.) Koch	----	22	Alexeeva et al., 1994	Rússia, Xina occidental
<i>Seseli cantabricum</i> Lange	----	20	Pardo, 1981	Serralada Cantàbrica
	10+ 1s	----	Silvestre, 1993	
<i>Seseli condensatum</i> (L.) Rchb.	----	22	Retina, 1985 ^a ; Krasnikov i Schaulo., 1986 ^a	Rússia
<i>Seseli devenyense</i> Simk.	----	18	Cinkura i Hindáková, 1963 ^b	Centre i est d'Europa
<i>Seseli dichotomum</i> Pall. ex M. Bieb.	11	----	Alexeeva et al., 1994	Crimea, Càucas
	----	22	Retina, 1985 ^a ; Daushkevich et al., 1991	
<i>Seseli djianea</i> Gamisans	----	20	Verlaque et al., 1992	Còrsega
<i>Seseli elatum</i> L.	----	18	Gardé i Malheiros-Gardé, 1949; Håkansson, 1953 ^b ; Pardo, 1981	Centre i sud d'Europa Grècia
<i>Seseli farinosum</i> Quéz. et Cont.	----	32	Quézel i Contandriopoulos, 1965 ^b	
<i>Seseli farrenyi</i> Molero & Pujadas	----	18	Fernández Casas et al., 1979	Cap de Creus
<i>Seseli foliosum</i> (Somm. & Levier) Manden.	11	----	Vasil'eva et al., 1993	Càucas
<i>Seseli glabratum</i> Willd. Ex Schult. (= <i>Seseli</i> <i>tenuifolium</i> Ledeb.)	10	----	Vasil'eva et al., 1993	Rússia, Àsia central,
	----	22	Schulz-Gaebel, 1930 ^b	Xina
<i>Seseli gumniferum</i> Pall. ex Smith	----	20	Gardé i Malheiros-Gardé, 1949; Retina, 1985 ^a	Grècia, Ucraïna
	11	----	Alexeeva, et al., 1994	
	----	22	Wanscher, 1932 ^b ; Delay, 1947 ^b	
<i>Seseli hippomarathrum</i> Jacq.	----	20	Bakšay, 1956 ^b ; Cinkura i Hindáková, 1963 ^b	Centre i est d'Europa, Ucraïna i Rússia
<i>Seseli indicum</i> Wight et Arn.	----	42	Sharma i Bhattacharyya, 1959, 1960 ^b	?
<i>Seseli korovinii</i> Schischk.	10	----	Vasil'eva et al., 1991	Tadjikistan
<i>Seseli korshinskyi</i> (Schischk.) Pimenov	11	----	Pimenov et al., 1998	Àsia central
<i>Seseli lehmannianum</i> (Bunge) Boiss.	10	----	Vasil'eva et al., 1991; Vasil'eva et al., 1993	Tadjikistan
<i>Seseli leucospermum</i> Waldst. & Kit.	----	18	Gardé i Malheiros-Gardé, 1949	Hongria
	----	22	Bakšay, 1956 ^b	

<i>Seseli libanotis</i> (L.) Koch	----	18	Gardé i Malheiros-Gardé, 1949	Tot Europa excepte l'extrem nord, oest i sud
	----	22	Wanscher, 1932 ^b ; Larsen, 1954 ^b ; Retina, 1985 ^a ; Alexeeva et al., 1994	
<i>Seseli libanotis</i> subsp. <i>intermedium</i> (Rupr.) P.W. Ball	----	44	Vitek et al., 1992 ^a	Centre i est d'Europa
<i>Seseli libanotis</i> subsp. <i>libanotis</i>	11	22	Wetschnig i Leute, 1991 ^a	Oest, centre i sud d'Europa
<i>Seseli luteolum</i> Pimenov	----	22	Pimenov et al., 1998	Àsia central
<i>Seseli malyi</i> A. Kern.	----	22	Druskovic, 1995	Eslovènia, Croàcia
<i>Seseli mairei</i> H. Wolff var. <i>simplicifolium</i> Wu Zheng Yi et Sheh Meng Lan	9	----	Pimenov et al., 1999	Sud de la Xina
<i>Seseli montanum</i> subsp. <i>granatense</i> (Willk.) Pardo	----	22	Fernández Casas, 1977 ^a ; Pardo, 1981	Sud d'Espanya
<i>Seseli montanum</i> subsp. <i>montanum</i>	11	----	Silvestre, 1993	Espanya, França, Itàlia
<i>Seseli montanum</i> subsp. <i>nanum</i> (Duf.) O. Bolòs & Vigo	----	22,33	Pardo, 1981	Pirineus
<i>Seseli montanum</i> subsp. <i>peixoteanum</i> (Samp.) Laínz	----	22	Pardo, 1981	Portugal
<i>Seseli mucronatum</i> (Schrenk) Pimenov & Sdobnina	----	22	Retina, 1985 ^a ; Pimenov et al., 1998	Xina, Àsia central
<i>Seseli osseum</i> Crantz.	----	22,32,132	Vasil'eva et al., 1992 ^a	
	----	18	Gardé i Malheiros-Gardé, 1949 ; Bakšay, 1956 ^b	Centre i est d'Europa
<i>Seseli pallasii</i> Besser	----	20	Váchová, 1987 ^a ; Murín i Svobodová, 1992 ^a	Itàlia, Grècia, est d'Europa i Rússia
<i>Seseli peucedanoides</i> (Bieb.) Kos.-Pol.	----	22	Daushkevich et al., 1995	França, Itàlia, est d'Europa, Àsia menor, Armènia i Iran
<i>Seseli ponticum</i> Lipsky	10	----	Vasil'eva et al., 1993	Càucàs
<i>Seseli praecox</i> (Gamisans) Gamisans	----	22	*	Còrsega, Sardenya
<i>Seseli rigidum</i> Waldst. & Kit.	----	22	Váchová, 1987 ^a	Sud-est d'Europa
<i>Seseli rimosum</i> Pimenov	11	----	Vasil'eva et al., 1993	Àsia central
<i>Seseli rupicola</i> Woronow	10	----	Vasil'eva et al., 1993	Càucàs
<i>Seseli seravschanicum</i> Pimenov & Sdobnina	11	----	Vasil'eva et al., 1991	Àsia central
<i>Seseli schrenkianum</i> (C.A. Mey ex	11	----	Pimenov et al., 1998	Xina, Àsia central

Schischk.) Pimenov et Sdobnina				
<i>Seseli sessiliflorum</i> Schrenk, 1845	10	20	Vasil'eva et al., 1991	Àsia central
<i>Seseli strictum</i> Ledeb.	9	----	Vasil'eva et al., 1993 Alexeeva et al., 1994	Rússia, Kazakhstan
<i>Seseli tortuosum</i> L.	----	22	Gardé i Malheiros-Gardé, 1949	Sud d'Europa, nord-oest d'Àfrica
<i>Seseli turbinatum</i> Korovin	10	20	Vasil'eva et al., 1991	Kazakhstan
<i>Seseli valentinae</i> Popov, 1940	11	----	Vasil'eva et al., 1991	Kirghizistan
<i>Seseli varium</i> Trevis	----	16	Bakšay, 1956 ^b	Crimea, Càucas
	----	22	Retina, 1985 ^a	
<i>Seseli viarum</i> Calest.	----	42	Chichiricco i Tammaro, 1982 ^a	Itàlia
<i>Seseli yunnanense</i> Franch	11	----	Pimenov et al., 1998	Sud de la Xina

^a Recomptes extrets del *Index to Plant Chromosome numbers (IPCN)* del *Missouri Botanical Garden* (<http://mobot.mobot.org/Pick/Search/ipcn.html>)

^b Recomptes extrets de Fedorov, 1969

* Recompte extret de Gamisans, 1996

? Dades no disponibles

Amb les dades de què disposem, podem observar que hi ha una alta variabilitat en els nombres de base cromosòmics. Per a la majoria d'espècies de *Seseli*, el nombre de base és $x = 11$, però també trobem altres nombres de base menys freqüents (7, 8, 9, i 10). En termes de percentatges, per al nombre de base més freqüent ($x = 11$), els diploides ($2n = 22$) representen el 50 % de les espècies, els triploides ($2n = 33$) entre el 1,6 i el 4,8 %, els tetraploides ($2n = 44$) el 1,6 % i els dodecaploides ($2n = 132$) també un 1,6 %. La resta d'espècies, que presenten un nombre de base inferior, són bàsicament també diploides (taula 4).

TAULA 4. NOMBRES DE BASE I CROMOSÒMICS EN LES ESPÈCIES DEL GÈNERE *SESELI*

Nombre de base (x)	Dotació cromosòmica						
	2x	3x	4x	5x	6x	12x
7	----	----	----	----	3,2 %		----
8	3,2 %	----	0-3,2 %	----	----		----
9	16,1 %	----	----	----	----		----
10	19,3 %	----	----	----	----		----
	50 %	1,6-4,8 %	1,6 %	----	----		1,6 %

Si ens atenem a les dades exposades a la taula anterior, semblen doncs observar-se dos tipus de fenòmens que han intervingut en l'origen de la diversitat citogenètica del gènere: dispoloïdia, pressumptament *descendent* a partir del nombre de base més freqüent ($x = 11$) i poliploïdia dins de cada nombre de base. En algunes espècies ens és difícil afirmar quin tipus de fenòmen s'ha produït en la seva història evolutiva. Aquest és el cas de les dues espècies amb un recompte de $2n = 32$ (*S. farinosum* i *S. mucronatum*), en les que o bé hi ha un fenòmen de poliploïdia en forma de triploïdia, a partir de $x = 11$ i amb una posterior dispoloïdia descendent (33-1), o bé es tracta de tetraploides del nombre de base $x = 8$.

Intentar esbrinar de quina manera i en quina extensió han succeït aquests fenòmens dins del gènere *Seseli* se'ns aventura força complexe en el marc del present treball, donada la enorme diversitat en el nombre cromosòmic en les espècies de les que disposem de dades. Així, podem veure que aquest va des de $2n = 16$ de *S. annuum* i *S. varium* fins al $2n = 132$ de *S. mucronatum*. Cal destacar també el fet que de vegades els recomptes realitzats en una mateixa espècie no són coincidents entre diferents autors, raó que dificulta encara més extreure'n algun tipus de conclusió clara. Segons un estudi recent de sistemàtica molecular de la família *Apiaceae* (Downie *et al.*, 2000), el gènere *seseli* no és monofil·lètic, basant-se en l'anàlisi de les seqüències ITS del rDNA.

S. farrenyi té una dotació cromosòmica de $2n = 18$. No sembla haver-hi cap relació entre el nombre cromosòmic d'una espècie i el fet que aquesta sigui endèmica o pel contrari d'àmplia distribució. Els recomptes de les espècies endèmiques d'àrea reduïda del gènere *Seseli* són força variables: $2n = 18$ per *S. bocconi*, *S. farrenyi* i *S. leucospermum*; $2n = 20$ per *S. cantabricum* (o $n = 10 + 1$ segons l'autor) i *S. djianea*; $2n = 22$ per *S. malyi*, *S. montanum* ssp. *granatense*, *S. montanum* ssp. *nanum* (també es cita $2n = 33$), *S. montanum* ssp. *peixoteanum* i *S. praecox*, i $2n = 42$ per *S. viarum*.

1.3. CARACTERÍSTIQUES ECOLÒGIQUES

1.3.1. BIOGEOGRAFIA I DISTRIBUCIÓ

1.3.1.1. LOCALITZACIÓ I MIDA DE LES POBLACIONS

S'han localitzat fins a l'actualitat únicament tres poblacions de *Seseli farrenyi*, totes situades a la Reserva Natural Integral (RNI) del Cap de Creus, dins els límits del Parc Natural del Cap de Creus, a la comarca de l'Alt Empordà (província de Girona). Amb la visita de les poblacions, es va intentar definir l'estructuració d'aquestes en subpoblacions. També es van mesurar les seves coordenades geogràfiques mitjançant la tècnica GPS (*Global Position System*) amb l'ajuda d'un receptor GPS *Garmin 12 XL* de dotze canals, per tal d'obtenir la seva localització precisa (taula 5).

Dues de les poblacions són relativament properes, i ambdues són a la vora del Far del Cap de Creus. La més septentrional, està situada a la localitat d'**Es Camallerús**, amb un nombre comptat de 716 individus (J. Molero *et al.*, inèd.). La població més meridional, a uns 500 metres de la primera, es troba al paratge conegut com **Ses**

Estenedors. És la localitat clàssica de l'espècie, amb un nombre d'efectius de 90 (J. Molero *et al.*, inèd.).

La tercera població està situada relativament distant de les dues primeres, a uns 2,75 quilòmetres en direcció NW respecte aquestes. Situada a la localitat coneguda com **Es Bol d'Es Prim**, és la població més nombrosa, amb un nombre comptat d'efectius de 1260 (J. Molero *et al.*, inèd.).

TAULA 5. LOCALITZACIÓ, MIDA I ALTRES PARÀMETRES DESCRIPTORS DE LES POBLACIONS

Localitat	UTM 1×1 Km	Nombre d'efectius	Superfície	Alçada	Autor i data de la primera observació
Ses Estenedors	31TEG2685	90	10.000 m ²	25-40 m	Molero i Pujadas, 1979
Es Camallerús	31TEG2685	716	20.000 m ²	25-45 m	Franquesa, 1995
Es Bol d'Es Prim	31TEG2386	1260	35.000 m ²	25-65 m	Franquesa, 1995

TOTAL : 2066

La primera població descrita de l'espècie va ser la situada a la localitat de Ses Estenedors, que en un primer moment va ser avaluada entorn als 500 individus (Molero i Pujadas, 1979). Recomptes recents desprenen una xifra de 90 individus. D'entre les possibles raons d'aquest esbiaix en les dades, una pot ésser una sobreestimació en el nombre d'individus que es va cometre en un primer moment. El trànsit de persones, donada la proximitat d'aquesta població al far del cap de Creus, pot representar també una causa en la davallada del nombre d'efectius. També però poden haver influït altres factors propis de l'espècie.

L'espècie va ser retrobada posteriorment per Franquesa (1995) que cita dues localitats diferents: Sa Camalleria, prop de la localitat clàssica, i que es correspon amb la localitat d'Es Camallerús si ens atenim a la toponímia de l'Institut Cartogràfic de Catalunya (ICC), i Costa del Xiulet, que correspon a Es Bol d'Es Prim.

Hem realitzat la cartografia de les poblacions de *S. farrenyi*, primer sobre el mapa topogràfic 1:25.000 del Parc Natural del Cap de Creus (1997, ICC), i amb més detall sobre els quadrats UTM 1 × 1 km en el mapa topogràfic 1:5.000 de Catalunya (1995, ICC). Al mapa 1:25.000, els quadrats 1 × 1 km on nosaltres hem localitzat alguna població, es pinten amb un fons groc fluorescent i amb el marge de color negre. La localització precisa de les poblacions es dibuixa en ombrejat de color negre. Als mapes 1:5.000, dibuixem el perímetre de cada població amb una línia de color vermell.

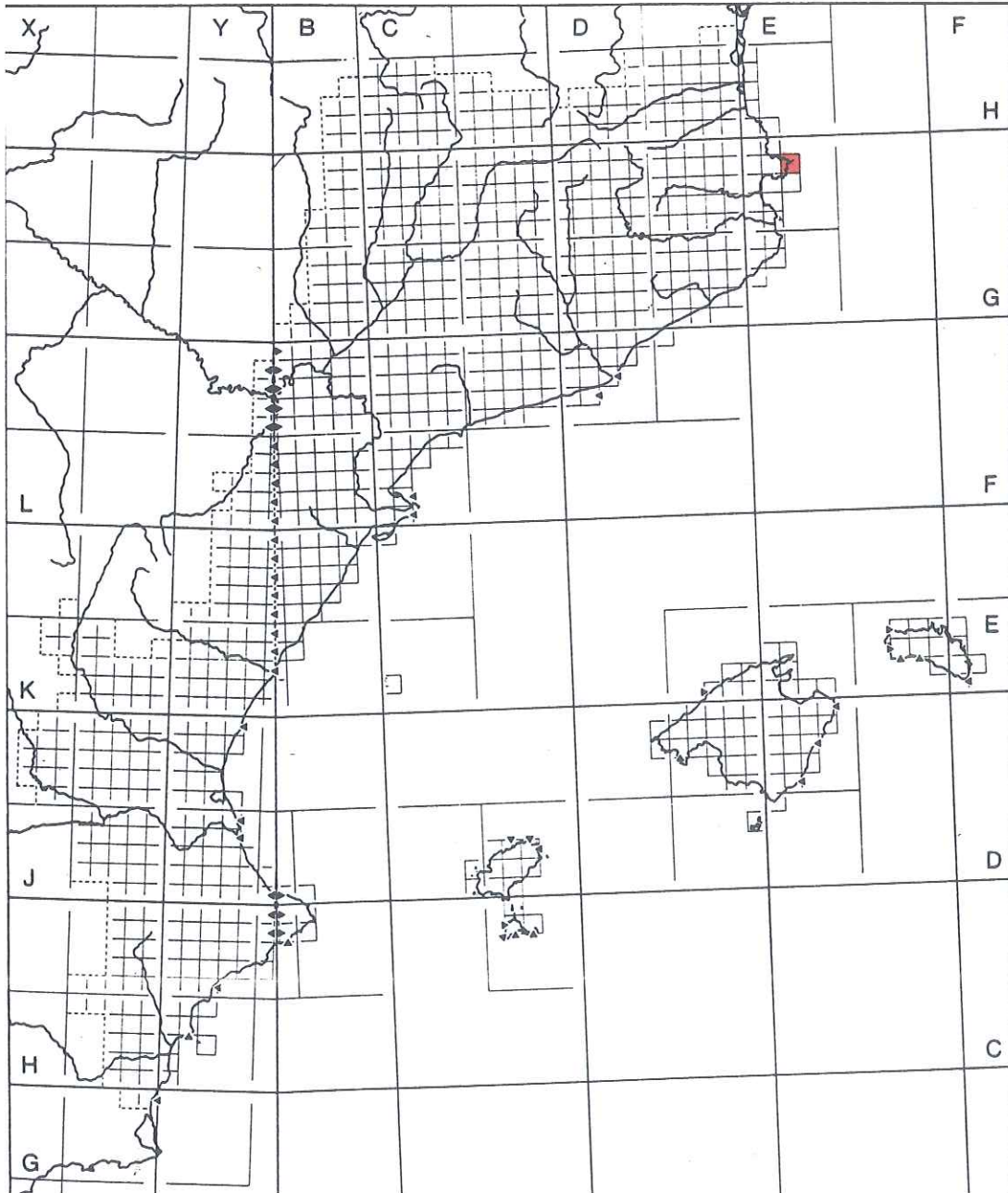

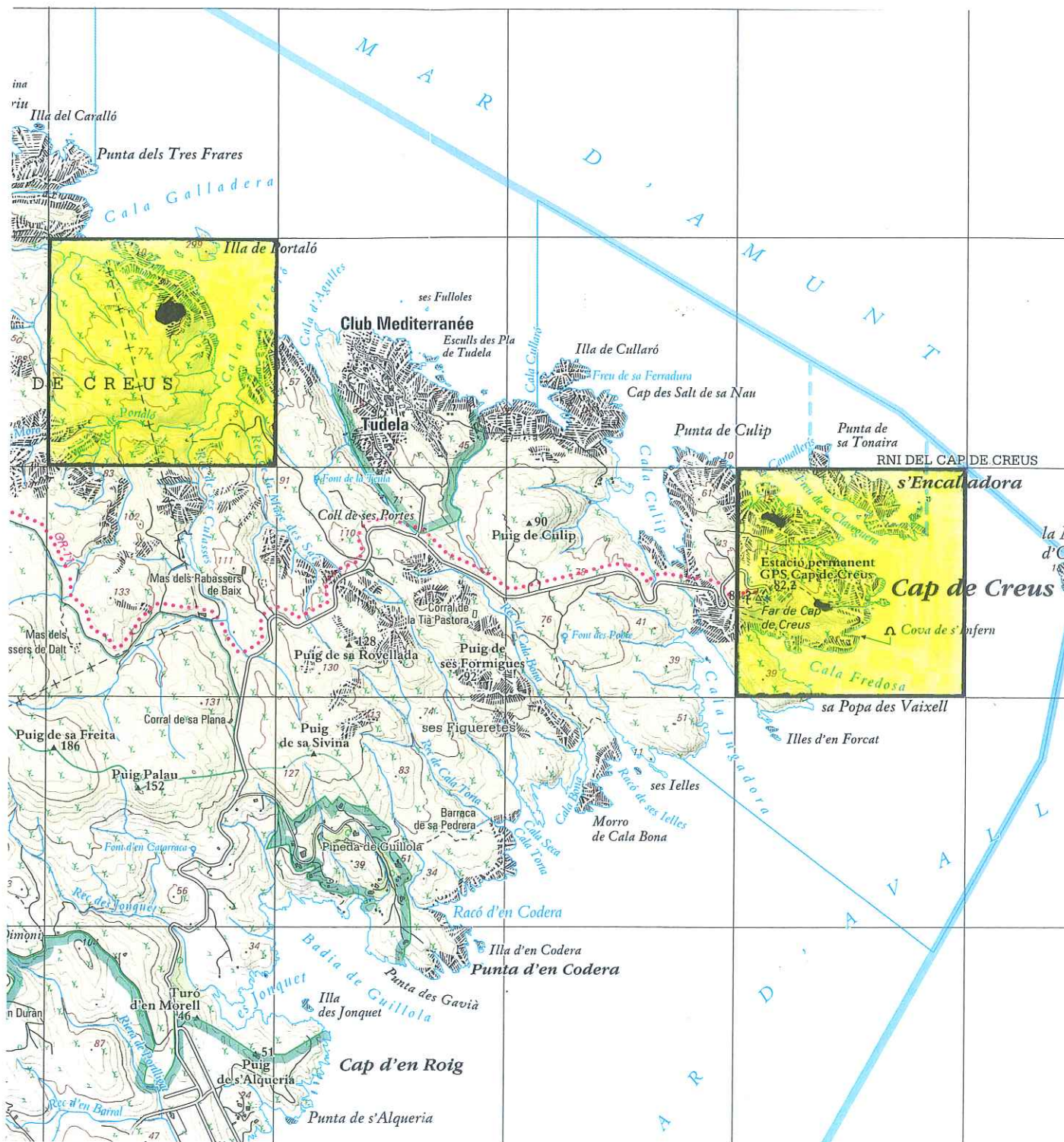


FIG. 7. Mapa dels Països catalans amb reticle UTM (amb els quadrats de 10×10 km), segons Bolòs (1985).

 Àrea de distribució de *Seseli farrenyi* (Quadrat UTM 10×10 km 31TEG28)

MAPA TOPOGRÀFIC 1:25.000 DEL PARC NATURAL DEL CAP DE CREUS

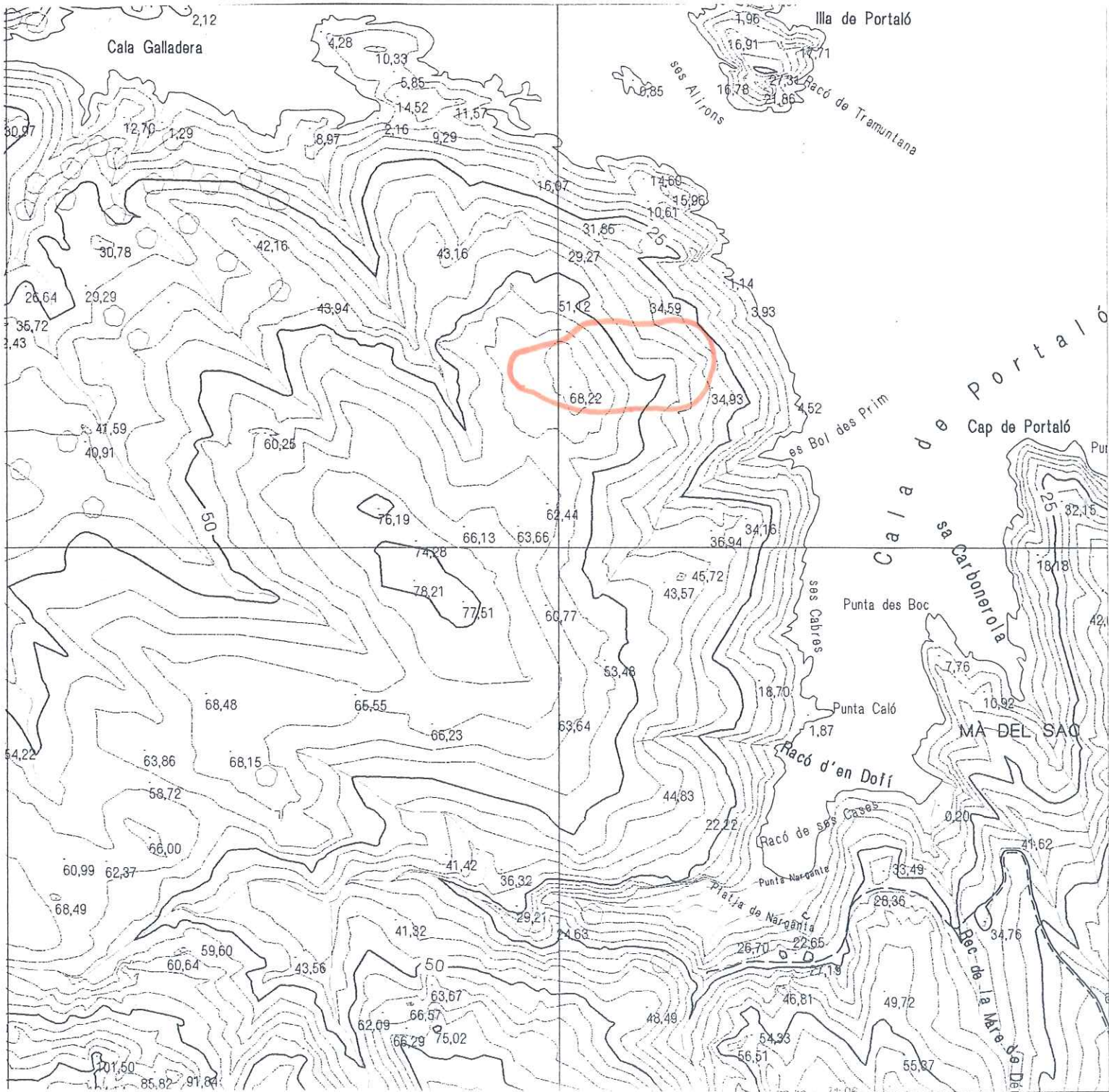


Quadrat UTM 1×1 km on hem detectat presència de la planta (1999).



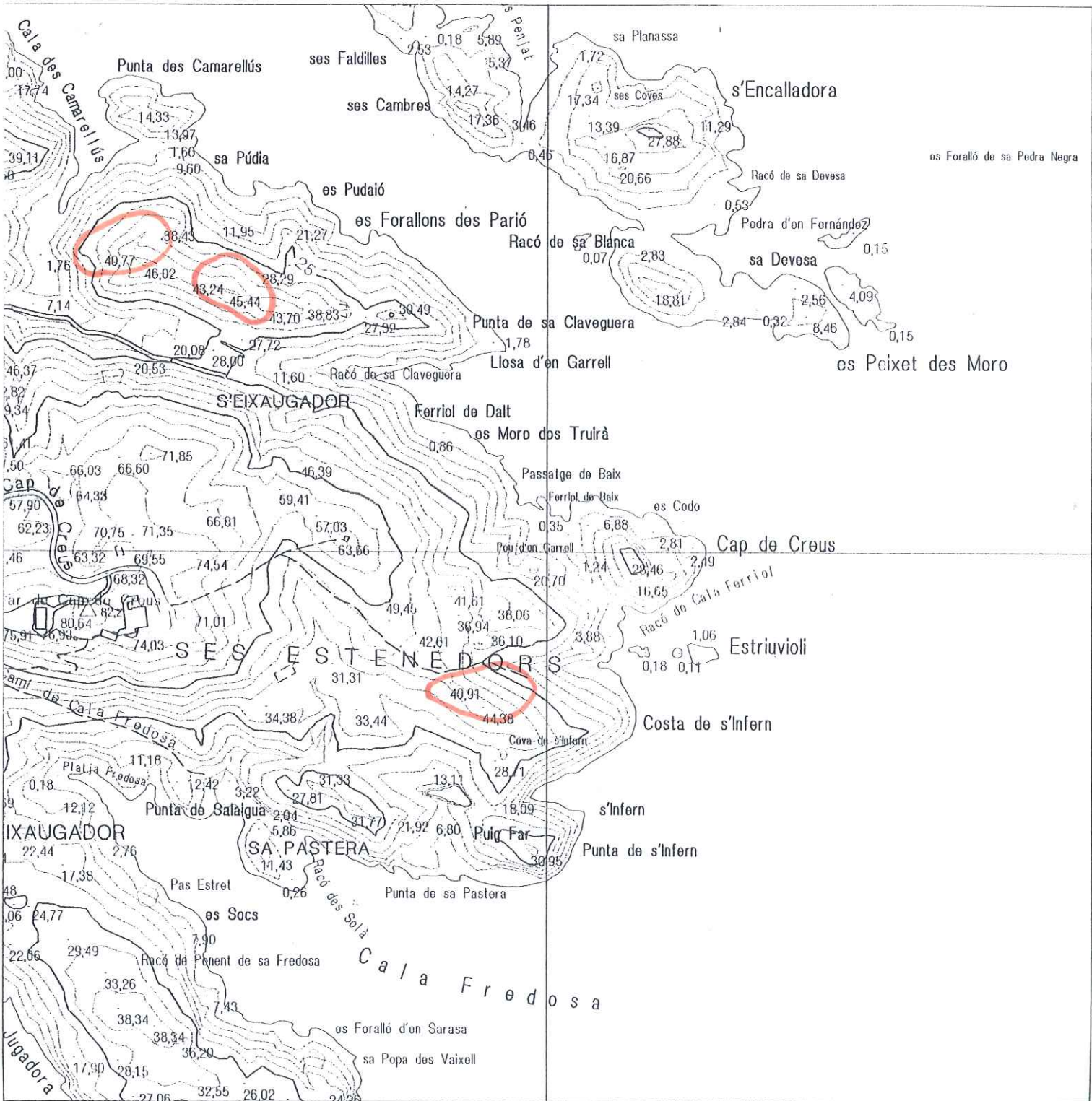
Poblacions detectades de *S. farrenyi* pel nostre equip (1999).

QUADRAT UTM 1 × 1 KM 31TEG2386



Perímetre de les poblacions detectades de *S. farrenyi* pel nostre equip (1999).

QUADRAT UTM 1 × 1 KM 31TEG2685



Perímetre de les poblacions detectades de *S. farrenyi* pel nostre equip (1999).

1.3.1.2. EXTENSIÓ DE PRESENCIA I ÀREA D'OCUPACIÓ

L'extensió de presència i l'àrea d'ocupació són dos conceptes encunyats per la UICN (1994) que ens ajuden a definir l'àrea de distribució d'una espècie vegetal.

La UICN defineix l'**extensió de presència** com "l'àrea continguda dins els límits continus i imaginaris més curts que puguin dibuixar-se per incloure tots els llocs coneguts, inferits o projectats en els que un tàxon es troba present, excloent els casos d'activitats associades al deambular. Aquesta mesura pot excloure les discontinuïtats o disjuncions en les distribucions generals dels tàxons (per exemple grans àrees d'hàbitat inadequat)". L'extensió de presència es calcula dibuixant un polígon amb una superfície mínima que contingui tots els llocs on és present l'espècie, però cap dels seus angles interns pot excedir els 180°. L'extensió de presència per *S. farrenyi* s'ha calculat dibuixant un polígon sobre el mapa topogràfic 1:25.000 del Parc Natural del Cap de Creus (1997, ICC), i calculant la seva superfície de forma manual. El resultat és de 0,47 km².

L'**àrea d'ocupació** d'una espècie es defineix com "l'àrea dins de la seva *extensió de presència* que es ocupada per l'espècie, excloent els casos d'activitats associades al deambular". És una mesura que reflecteix el fet que un tàxon habitualment no el trobem en tot l'espai de la seva extensió de presència, ja que aquest, per exemple, pot contenir hàbitats no viables. La mida de l'àrea d'ocupació és una funció de l'escala en què la mesurem. L'ideal és mesurar-la sobre quadrícules suficientment petites per tal de no cometre massa error. En el nostre cas, per procedir als càlculs de l'àrea d'ocupació, hem comptabilitzat totes les quadrícules UTM 0,5 × 0,5 km on hem localitzat l'espècie. Per a *S. farrenyi*, el resultat és de 4 quadrícules comptabilitzades amb presència de l'espècie, és a dir, 1 km², xifra que duplica la trobada en l'extensió de presència.

1.3.1.3. COROLOGIA

L'àrea de distribució de l'endemisme *Seseli farrenyi* es limita a la franja septentrional de la península del cap de Creus, al tram de costa comprès entre Cala Galladera i Cala Fredosa (veure mapa Parc Natural del Cap de Creus). És tracta d'una espècie que pertany lògicament a l'*element corològic mediterrani*.

Aquesta península es troba situada, respecte a la divisió fisiogràfica dels Països Catalans proposada per Bolòs i Vigo (1984), dins del *territori ruscínic*, i des del punt de vista fitogeogràfic (Bolòs *l.c.*), dins la *regió mediterrània*, més concretament a la província *boreomediterrània* (o *mediterrània septentrional*).

Les poblacions de *S. farrenyi* es troben localitzades en el tram més accidentat de costa de la península del cap de Creus, que és constantment rocós, i on la línia del mar és força retallada, dibuixant tot de puntes, caletes, coves i racons. El relleu interior es presenta força abrupte i trencat, on abunden fondalades, rieres, cavitats, crestes i turonets de naturalesa rocosa, que pràcticament arran de mar poden assolir 60-80 metres. Aquest tram de costa, encarat cap al nord, està fortament exposat a la tramuntana, fet que juntament amb els esquitxos de les onades i els aerosols marins que

transporta el vent, ha anat modelant el paisatge produint formes i contorns força singulars (Franquesa, 1995) (fig. 8).

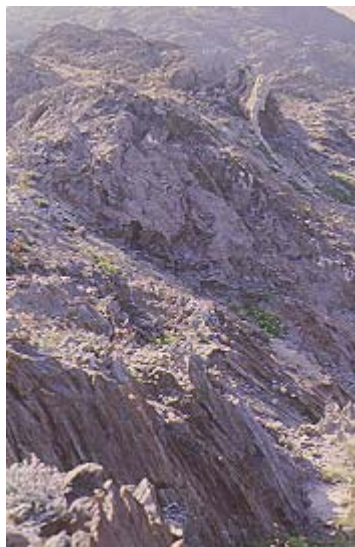


FIG. 8. Mostra del paisatge del cap de Creus

Dins la mateixa comunitat vegetal on trobem *S. farrenyi* (*Armerietum ruscinonensis*), creixen tant *Armeria ruscinonensis*, espècie endèmica de les costes de l'alt Empordà i Baix Vallespir, com *Limonium tremolsii*, planta de distribució pràcticament limitada al territori ruscínic. Sembla doncs que les condicions ambientals tant dures que han de suportar les plantes (vent, salinitat, elevada irradiació del sòl, dificultat d'ancorament, perllongada il·luminació, forta oscil·lació tèrmica), unit amb les enormes irregularitats del terreny del litoral empordanès, han generat un microambient molt particular amb presència d'espècies endèmiques altament especialitzades.

Citacions i plecs d'herbari de *Seseli farrenyi*:

31TEG28: «Península del Cap de Creus», *Molero & Pujadas*, 15-VIII-1978 (BCF 20101) – «Cap de Creus» MOLERO & PUJADAS (1979: 32) – «punta del cap de Creus, sota el far, 25 m» (FRANQUESA, 1995: 508) – «sa Camalleria, 30 m» (FRANQUESA, 1995: 508) – «entre Portaló i Galladera (costa del Xiulet), 50-60 m» (FRANQUESA, 1995: 508).

1.3.2. HÀBITAT

1.3.2.1. CARACTERÍSTIQUES CLIMÀTIQUES

La península del cap de Creus està situada, respecte a la classificació bioclimàtica proposada per Gaussen, dins el bioclima *xerotèric o mediterrani*, que es caracteritza per un llarg període estival (d'entre 1 i 8 mesos) i un hivern no gaire fred, que no sol

prolongar-se més de dos mesos. Més concretament, el clima d'aquesta zona es pot incloure dins el clima *tipus de Perpinyà* (Bolòs i Vigo, 1984). Es tracta d'un dels climes més secs dins els climes mediterranis marítics subhumits i subàrids de terra baixa. El clima tipus de Perpinyà és típic del litoral de l'extrem nord dels Països catalans (Empordà, Rosselló), amb un període subhivernal llarg (de 3 a 5 mesos) i un estiu també ampli, dins del qual trobem 2 mesos àrids i 1 de peràrid.

Dins aquesta regió climàtica, el Cap de Creus té la peculiaritat de ser un indret exposat de forma quasi permanent a la violència dels vents de component nord (*tramuntanades*), fet que augmenta la duresa de l'hivern i disminueix la humitat. A causa d'aquesta particularitat climàtica, Bolòs i Vigo (*l.c.*) han anomenat al territori ruscínic *regió de la tramuntana*.

Les estadístiques de dades climàtiques d'àmplies sèries d'anys, que descriuen la pluviositat, les temperatures i el vent de la regió, s'han prèns de Franquesa (1995). També disposem de dades del període 1997-1998, procedents dels anuaris de dades meteorològiques que es poden trobar a la pàgina *web* del Servei de Meteorologia de Catalunya (SMC) (<http://www.gencat.es/index.htm>).

Pel que respecta a les pluges, les dades de pluviometria a Cadaqués (vila situada a menys de 5 quilòmetres de les poblacions de *Seseli farrenyi*) durant 36 anys consecutius (1913-1950), aportades per Franquesa (*l.c.*), desprenen que la mitjana anual de precipitacions és de 645 mm, sent l'octubre el mes més plujós i el juliol el més sec (fig. 9). El màxim anual de pluviositat fou de 1052,2 mm i el mínim de 348,9 mm.

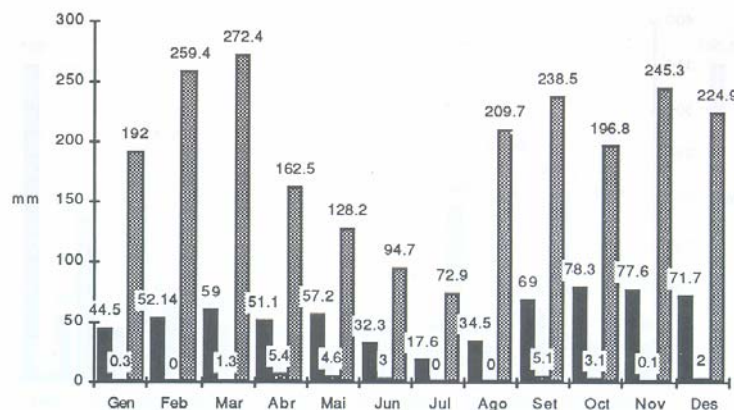


FIG. 9. Gràfic de pluviometria a Cadaqués (període 1913-50), segons Franquesa (1995).

La mitjana de neu a l'any a Cadaqués és de 1,3 dies. La mateixa autora també aporta les dades de pluviometria de Roses (a uns 12 quilòmetres de les localitats on trobem *S. farrenyi*) durant 29 anys (1928-1935 i 1940-1960). La mitjana anual de pluges és de

583,1 mm, amb màxims i mínims anuals de 1317,6 mm i 271,5 mm, respectivament (fig. 10). La mitjana de neu a Roses és de 0,55 dies.

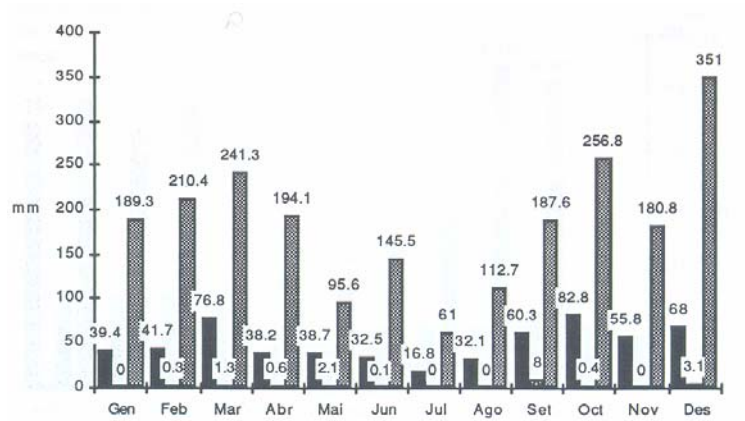


FIG. 10. Gràfic de pluviometria a Roses (període 1928-35 i 1940-60), segons Franquesa (1995).

Pel que fa a les temperatures, Franquesa ens dóna les dades de l'estació del Cap de Biarra (Cap Béar, Baix Vallespir, a uns 25 quilòmetres al NE del Cap de Creus) del període comprès entre 1967 i 1986 (fig. 11). La temperatura mitjana anual és de 15,2 °C, la mitjana de les mínimes del mes més fred (és variable segons l'any, habitualment

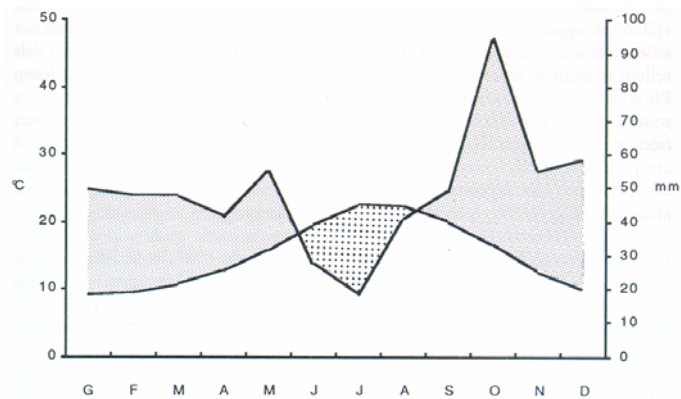


FIG. 11. Diagrama ombrotèrmic del Cap de Biarra (període 1967-86), segons Franquesa (1995).

gener o febrer) és de 5,7 °C, i la mitjana de les màximes del mes més càlid és de 32,7 °C. La temperatura màxima absoluta va ser de 38,3 °C, i la mínima absoluta de -7,6 °C.

Amb les dades proporcionades pel SMC, podem elaborar el diagrama tèrmic de Roses per al període 1997-1998 (fig. 12). Obtenim una mitjana anual de 16,9 °C, amb una mitjana de les mínimes del mes més fred de 5,1 °C i una mitjana de les màximes del mes més càlid de 31,7 °C. La temperatura màxima absoluta fou de 37,1 °C i la mínima absoluta de -1,8 °C.

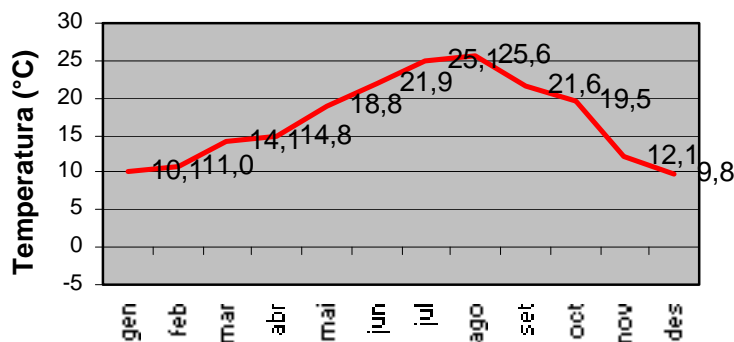


FIG. 12. Diagrama tèrmic de Roses (període 1997-98).

El vent és un factor climàtic de màxima transcendència a la zona, doncs exerceix una acció mecànica sobre la vegetació i una acció dessecadora i salinitzadora envers el substrat edàfic. No és estrany que a la zona les ràfegues de tramuntana puguin superar els 100 km/h. Disposem de dades sobre la freqüència mitjana de les direccions dels vents per grups de velocitat al Cap de Biarra, per al període 1951-1980 (Franquesa *l.c.*). La rosa dels vents mostra una alta freqüència dels vents de component nord (fig. 13). Si elaborem la rosa dels vents amb les dades del període 1997-1998 de l'estació de Roses, obtenim una rosa amb freqüències majoritàries dels vents de component nord, assolint també aquestes velocitats superiors.

L'estadística del vent de les dues estacions es podria allunyar sensiblement del que realment succeeix a la cara nord de la península del cap de Creus, on trobem les localitats de *Seseli farrenyi*. Es tracta d'un tram de costa que es troba plenament exposat a la tramuntana, on la rosa dels vents ha d'estar esbiaixada cap a freqüències superiors dels vents de component nord (fig. 14).

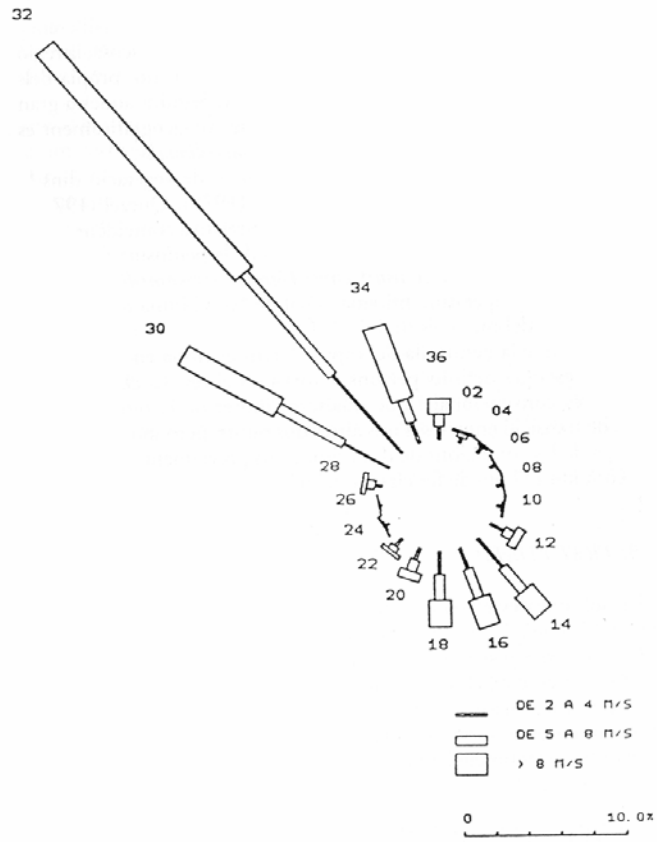


FIG. 13. Rosa dels vents del Cap de Biarra (període 1951-80), segons Franquesa (1995).

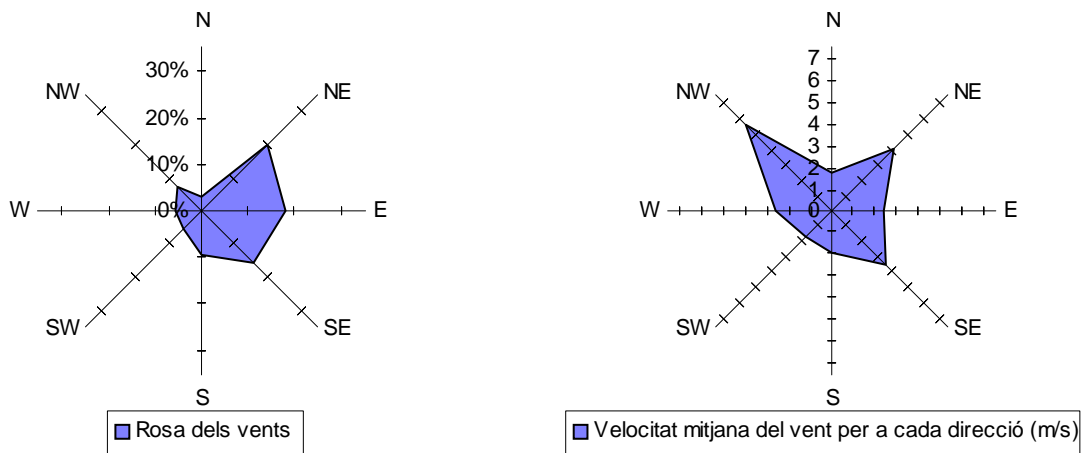


FIG. 14. Rosa dels vents de Roses (període 1997-98).

1.3.2.2. CARACTERÍSTIQUES EDÀFIQUES

El relleu de tota la península del cap de Creus és en general força trencat, amb tot de torrents, rieres, crestes i fondalades. El tram de litoral on creix *Seseli farrenyi*, és constantment rocós, amb abundància dels esquistos de colors foscos, i amb nombrosos afloraments de pegmatites de color blanc-rosat. El paisatge és força singular, amb formes i contorns de vegades ben estranys, fruit de l'acció modeladora del vent al llarg del temps. És per aquesta raó també que l'esquelet rocós del litoral es troba desproveït de coberta edàfica, i on trobem sòls, són extremadament prims, de vegades amb un cert grau de salinitat a causa dels aerosols marins que s'hi depositen (Franquesa, 1995).

S. farrenyi creix a les fisures i als replans més o menys inclinats de les roques esquistoses del litoral, substrat de tipus silícic, en una franja de penya-segat no excessivament aprop de la línia de mar (difícilment trobem individus a menys de 100 metres de l'aigua), però sota l'influència directa de l'hàlit marí.

A partir de mostres de sòl recollides a l'hàbitat on creix *S. farrenyi* (es mostrejaren les petites porcions de sòl damunt els esquistos on creix aquesta espècie), M. Salgot i J. Tapias, de la Unitat d'Edafologia de la Facultat de Farmàcia, van realitzar l'anàlisi d'una sèrie de paràmetres edàfics (taula 6) que s'enumeren a continuació (les tècniques analítiques es descriuen a l'annex 1) :

TAULA 6. ANÀLISI EDÀFICA D'UNA PORCIÓ DE SÒL MOSTREJADA A LA LOCALITAT D'ES CAMALLERÚS (UTM: 31TEG2685)

Paràmetre	Tècnica	Resultat i/o classificació del sòl
pH	Potenciometria	6,25 - <i>Lleugerament àcid</i> [criteris USDA (Soil Taxonomy System)]
Conductivitat elèctrica (CE)	Potenciometria	0,078 dS/m - <i>No salí</i> (criteris de Cros)
Matèria orgànica total (%)	Calcinació	7,28 % - Per damunt del nivell òptim (ordre de magnitud del 2,2 % en sòls arenosos, segons criteri de Jacquín)
Carboni orgànic oxidable (%)	Mètode de Walkley i Black	1,27 %
Cations majoritaris :		
NITROGEN TOTAL (N-NTK)	Variant de la tècnica de Kjeldahl	1363 mg/Kg sòl
POTASSI (K ₂ O)	Fotometria de flama	0,33 mg/Kg sòl - Valor molt baix
FÒSFOR (P ₂ O ₅)	Mètode de Bray-Kurtz	220 mg/Kg sòl - Valor excessiu, segons criteri de Yanez, 1989)
Carbonats totals (% CCE: Carbonat càlcic equivalent)	Calcímetre de pressió o de Bernard	0 % - <i>No calcari</i> (criteri de l'INRA francès)

Anàlisi granulomètrica i classificació textural	Cascada de tamissos + Mètode de Bouyoucos		
ARENA (%)		91 %	
LLIM (%)		8,5 %	- Textura arenosa
ARGILA (%)		0,5 %	

Com podem veure en els valors dels diferents paràmetres analitzats, *S. farrenyi* creix sobre petites porcions de sòl dipositades damunt de la roca, sòl que presenta un pH lleugerament àcid, és de naturalesa no calcària (no carbonatat), de textura arenosa, i amb un alt percentatge de matèria orgànica. Aquests valors elevats de matèria orgànica poden ser deguts al paper de les gavines, doncs hi ha una colònia d'aquestes aus a les proximitats de les poblacions de *S. farrenyi*. Les gavines deixen anar les seves dejeccions damunt les roques, el que podria causar un augment de la matèria orgànica a la fina coberta edàfica que cobreix la roca. Cal destacar també que es tracta d'un sòl que no presenta salinitat segons l'anàlisi edàfica, probablement com a conseqüència que la sal marina dipositada sobre els penya-segats pel vent només salinitza parcialment la petita porció edàfica que hi ha damunt de la roca, sal que posteriorment és rentada per l'aigua de la pluja.

1.3.2.3. FITOCENOLOGIA

Respecte el punt de vista de la *fitocenologia* (branca de la botànica que estudia les comunitats vegetals), *Seseli farrenyi* és una espècie que pertany a la vegetació *halòfila* o *salina*. Es tracta de comunitats vegetals adaptades als ambients costaners, on hi tenen molta incidència factors climàtics i edàfics com són el vent i la salinitat. A part de l'efecte dessecant del vent, aquest també transporta sal marina, que es diposita sobre el litoral. És evident que per a suportar aquestes dures condicions, les plantes han de presentar un cert grau d'especialització, que es tradueix en una relativa suculència de tiges i fulles. Aquest tret respon a una elevada concentració de clorurs que presenten els teixits, que produeixen un inflament de les cèl·lules conseqüència d'una elevada absorció d'aigua (Conesa, 1997). Moltes de les plantes d'aquestes comunitats també presenten glàndules excretores per eliminar l'excés de sal.

A la cara nord de la península del cap de Creus, els penya-segats on creixen aquestes comunitats halòfiles (classe *Crithmo-Limonietea* Br.-Bl. 1947) estan constantment sotmesos a l'acció mecànica de la tramuntana, que diposita sal sobre la roca. Aquesta però, només salinitza dèbilment la petita porció de sòl que hi ha damunt la roca, i les plantes són influïdes per d'altres factors com són la elevada migradesa del sòl, la dificultat d'ancorament, la perllongada il·luminació, la forta oscil·lació tèrmica, etc (Franquesa, 1995).

La comunitat vegetal més particular de la franja de penya-segat on creix *S. farrenyi* és la comunitat d'armèria marina (associació *Armerietum ruscinonensis* Br.-Bl. Et Rioux et Pign.[1952] 1955). És un conjunt d'espècies rupícoles de port polvinular

(camèfits en coixinet), de fulles gruixudes i relativament crasses, que sovint presenten glàndules secretores de sal. *Armeria ruscinoensis* és la espècie que dona el nom a la comunitat. Són també espècies característiques de la comunitat els limòniums (complex *Limonium virgato+tremolsii*) i el policarp (*Policarpon polycarpoides*). Aquesta comunitat prospera més als penya-segats baixos i replanats que no pas als verticals o amb un important grau d'inclinació.

Segons Franquesa (*l.c.*) es poden distingir dins la comunitat d'armèria diferents unitats de vegetació o subassociacions (fig. 15):

- Subass. *armerietosum*, on Franquesa (*l.c.*) reconeix una variant amb *Seseli farrenyi*. Aquesta subassociació presenta un recobriment molt baix (les mates són esparses).
- Subass. *polycarpetosum* Rioux, Roux et Pign (1955).
- Subass. *helichrysetosum* Franquesa 1995.
- Subass. *limonietosum tremolsii* Rioux et al. 1955, O. de Bolòs et Vigo 1984.
- Subass. *inuletosum crithmoidis* Franquesa 1995.

Els inventaris de la subass. *armerietosum* variant de *Seseli* elaborats per Franquesa (1995; taula 45, inv. 22 i 23) són els següents:

COMUNITAT D'ARMÈRIA MARINA. <i>Armerietum ruscinoensis</i>		
INVENTARI NÚM.	22	23
Superfície (m ²)	10	100
Recobriment (%)	50	10
Altitud (m)	60	30
Orientació	N	N
Pendent (°)	15	20
Quadrícula UTM	EG2386	EG2685
Característiques d'associació (<i>Armerietum ruscinoensis</i>)		
<i>Policarpon polycarpoides</i>	2.2	+
<i>Armeria ruscinoensis</i>	1.2	2.1
<i>Limonium virgato+tremolsii</i>	+	.
- variant de <i>Seseli</i>		
<i>Seseli farrenyi</i>	2.3	+
- subassociació <i>helicrisetosum</i>		
<i>Helicrysum stoechas</i>	1.2	1.1
Característiques de classe (<i>Crithmo-Limonietea</i>)		
<i>Daucus gingidum</i>	.	+
Companyes		
<i>Festuca gr. ovina</i>	1.2	+
<i>Reichardia picroides</i>	.	+
<i>Dactylis hispanica</i>	+	+
<i>Plantago coronopus</i>	1.1	+
<i>Juniperus oxycedrus</i>	.	+
<i>Sedum sediforme</i>	+	+

Echinops ritro . +

Espècies presents en un sol inventari

23: *Urospermum dalechampii*(+)

Procedència dels inventaris

22.- Costa del Xiulet

23.- Cap de Creus

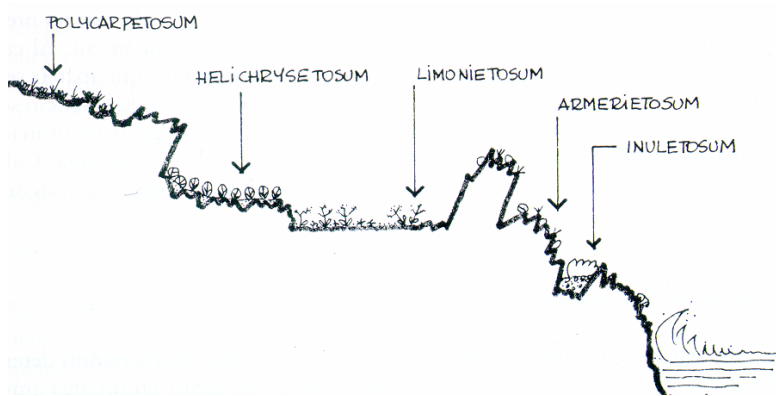


FIG. 15. Esquema de la distribució de l'associació *Armerietum ruscinonensis* (agafat de Franquesa, 1995).

1.4. CONSERVACIÓ

El reduït nombre d'efectius de *Seseli farrenyi* [2066 segons el darrer recompte (dades inèdites)] juntament amb el fet que sol es coneixen a l'actualitat tres poblacions, fa que s'hagi de considerar com a espècie amenaçada. Es tracta, doncs, d'una planta endèmica de la península del cap de Creus, amb un interès botànic de primera magnitud, i l'estudi de la seva variabilitat genètica ha de contribuir de manera decisiva a futures accions encaminades a preservar l'espècie. Els riscos a que està sotmès *S. farrenyi* poden ser els propis de l'espècie (el baix nombre d'efectius i l'àrea de distribució tant reduïda) i els antròpics, d'entre els quals l'únic que creiem que pot tenir certa importància és el trànsit de persones, atretes per la bellesa dels paratges.

Grau d'amenaça: *S. farrenyi* ha estat inclosa en un estudi recent (Sáez *et al.*, 1998) dins la categoria **en perill** (EN: *endangered*) de la UICN. La seva inclusió en dita categoria es recolza en el compliment d'algun dels criteris que estableix la UICN

(1994). Així, *S. farrenyi* compleix les premises B1 ("una extensió de presència estimada menor de 5.000 km² o una àrea d'ocupació estimada menor de 500 km², i una estimació de que l'espècie està severament fragmentada o que es sap que només existeix en no més de 5 localitats") + 2c ("en declinació contínua, observada, inferida o projectada, per àrea, extensió i/o qualitat d'hàbitat). En el darrer esborrany de la "Lista roja de la flora vascular española" (28 de juny de 2000) es torna a classificar l'espècie en la mateixa categoria.

També ha estat llistada des de l'abril de 1996 dins la base de dades de Conservació Internacional de Jardins Botànics (*Botanic Gardens Conservation International, BGCI*) com a "vulnerable" (Muckensturm *et al.*, 1997).

Figures de protecció legal i conservació *in-situ*: A nivell de Catalunya, es troba llistada dins les espècies de la flora estrictament protegides pel Pla d'Espais d'Interès Natural (PEIN; Decret 328/1992, publicat al Diari Oficial de la Generalitat de Catalunya núm. 1714, d'1 de març de 1993, annex 3). El Cap de Creus és un espai integrat al PEIN, el que confereix a aquesta zona des del 1993 ja un cert nivell de protecció medioambiental. A la normativa del PEIN es recull que totes les espècies llistades pel PEIN se'ls ha d'aplicar "el règim legal de protecció estricta, amb les conseqüents prohibicions (d'arrencada, captura, comerç, etc.) i la protecció dels seus hàbitats."

El 1998 es va crear el Parc Natural del Cap de Creus (Llei 4/1998, del 12 de març, publicat al DOGC núm. 2641, d'1 d'abril de 1998), amb el que es protegia la península del Cap de Creus i el seu entorn marí (fig 16). A la zona terrestre s'establien 3 Paratges Naturals d'Interès Nacional (PNIN). Totes les localitats de *S. farrenyi* estan incloses al PNIN de Cap Gros-Cap de Creus. Aquest PNIN a la vegada inclou la Reserva Natural Integral (RNI) del Cap de Creus, on hi trobem les tres localitats de la nostra espècie. La protecció medioambiental és més estricta a nivell de RNI que de PNIN, i recull la prohibició d'arrencar qualsevol tipus d'espècie vegetal, animal, roques i minerals, i només permet accedir dins els seus límits per a "efectuar-hi treballs científics i activitats destinades a la divulgació dels seus valors."

Conservació *ex-situ*: Al Servei d'Hivernacles i Vivers de la Facultat de Farmàcia disposem d'uns 150 individus de *S. farrenyi* en testos, provinents de granes recol·lectades a partir de les tres poblacions naturals. S'han pogut realitzar amb aquests individus estudis de germinació i es preveu realitzar en un futur creuaments experimentals. També es disposa de granes recol·lectades degudament classificades per localitats i emmagatzemades (banc de germoplasma), de les quals s'han realitzat proves de germinació recentment. El Jardí Botànic de Barcelona ha tingut durant algun temps individus cultivats de l'espècie als seus vivers (J. Molero, com. pers.).

Altres espècies del gènere *Seseli*, com és el cas de *Seseli pallasii* Bess., també estan sotmeses a un cert grau de protecció. *S. pallasii* és una espècie inclosa dins el *Llibre Vermell d'Ucraïna*, i sobre el terreny s'han delimitat una sèrie de parcel·les que assegurin la seva protecció (Andriyenko *et al.*, 1995).

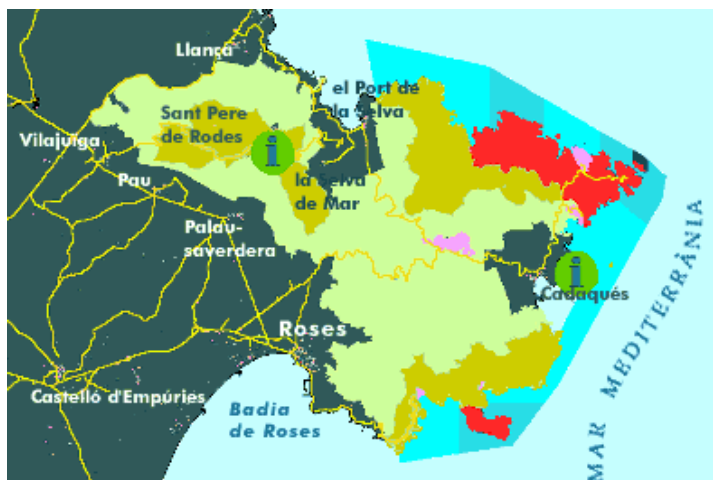


FIG. 16. Mapa del Parc Natural del Cap de Creus (segons <http://www.gencat.es/darp/madi/pein/cparcs25.htm>)

1.5. INTERÈS MEDICINAL

La família de les apiàcies es caracteritza per la seva riquesa en olis essencials. Tant les parts vegetatives de la planta com els fruits presenten conductes secretors rics en essències, resines i gomoresines. Moltes espècies de la família també contenen compostos amargants, glucòsids i alcaloides.

Degut als olis essencials que contenen, algunes espècies tradicionalment s'han usat com a carminatius i digestius: l'arrel d'angèlica (*Angelica archangelica* L.), el fruit d'anís verd (*Pimpinella anisum* L.), el fruit de coriandre (*Coriandrum sativum* L.), el fruit del fonoll (*Foeniculum vulgare* Mill.), i el comí (*Cuminum cyminum* L.). Aquesta acció carminativa està lligada a olis essencials com el *trans*-anetol, el linalol, α - i β -pinè, el camazulè i d'altres.

Moltes de les apiàcies també són riques en furanocumarines, cumarines amb efecte fotosensibilitzant i hiperpigmentant, que tenen la seva aplicació terapèutica en malalties en les que hi ha hipopigmentació (vitílig, albinisme...). Algunes d'aquestes furanocumarines són el psoralè, el bergaptè, la xantotoxina, la imperatorina i la kelina. Algunes de les umbelíferes que les contenen són l'api (*Apium graveolens* L.), la pastanaga (*Daucus carota* L.), el julivert [*Petroselinum crispum* (Mill.) Hill], *Pastinaca sativa* L., i *Ammi majus* L. Hi ha estudis recents amb l'extracte de l'arrel de l'espècie *Angelica japonica* A., que conté una furanocumarina anomenada japoangelona i diversos èters furanocumarínics de falcarindiol, que mostren certa activitat inhibidòria envers les cèl·lules canceroses MK-1 en l'adenocarcinoma gàstric (Fujioka *et al.*, 1999).

La visnaga (*Ammi visnaga* L.) també conté un tipus de cumarines, les piranocumarines, útils en el tractament de l'angina de pit degut a la seva acció vasodilatadora coronària.

Les espècies del gènere *Seseli* no tenen una tradició farmacològica a les nostres contrades. S'ha estudiat però l'activitat farmacològica dels extractes d'algunes espècies del gènere, com per exemple extractes de *Seseli strictum* Ledeb. (Shavarda, 1998). Es va comparar l'activitat antioxidant de l'extracte d'aquesta i 50 espècies més de la regió russa de l'Altai amb l'activitat antioxidant dels flavonoides luteolina i cinaròsid de les flors de *Ptarmica impatiens* (L.) DC. i l'alcaloide berberina de l'arrel de *Berberis sibirica* Pall. L'activitat antioxidant fou netament superior en els extractes de les primeres.

També es disposa de dades d'un estudi amb un poliacetilè aïllat de les arrels de *Seseli mairei* H. Wolff, el seselidiol (Hu *et al.*, 1990). S'ha demostrat una activitat citotòxica moderada del seselidiol i de l'acetat de seselidiol enfront cel·lules tumorals KB, P-388 i L-1210.

A la bibliografia també hem trobat un estudi de la composició química dels extractes de les parts subterrànies de *Seseli yunnanense* Franch (Xiao, 1995), on entre d'altres components hi trobem el β -sitosterol, l'octasulfur, l'àcid palmític, el falcarindiol (un poliacetilè), i algunes furanocumarines força comuns en les umbelíferes, com el bergaptè i la imperatorina.

De moment no es coneix cap activitat terapèutica de *Seseli farrenyi*, doncs tampoc existeixen gaires estudis de la composició química dels seus extractes. Únicament disposem d'un treball de Muckesnsturm *et al.* (1997), en el que es donen a conèixer una sèrie de compostos químics aïllats de les fulles d'individus de *S. farrenyi*. Es llisten entre d'altres, diverses essències monoterpèniques (α -pinè, 3-carè, limonè, γ -terpinè i acetat de bornil), alguns compostos sesquiterpènics, una benzoquinona (la 2-farnesil-6-metilbenzoquinona) i un cromenol (el 7-demetilplastocromenol-2).

Els olis essencials monoterpènics en general tenen una activitat carminativa, colerètica i colagoga, espasmolítica, diürètica, antisèptica i antiinflamatòria. D'aquí se'n podria derivar una possible aplicació terapèutica de la nostra espècie en cas que aquests components es trobessin en prou quantitat a la planta. Les benzoquinones s'ha vist que tenen propietats antimicrobianes, però avui el seu ús terapèutic és mínim.

Les furanocumarines tenen una activitat hiperpigmentant ben coneguda. La troballa d'aquests compostos en d'altres espècies del mateix gènere (*S. yunnanense*) permet pensar que també es puguin aïllar en extractes de *S. farrenyi*. De la mateixa manera, la troballa de seselidiol i de falcarindiol, dos compostos amb activitat citotòxica, aïllats de *S. mairei* i *S. yunnanense* respectivament, i la troballa també de β -sitosterol a *S. yunnanense*, un compost usat pel tractament de la hipertròfia benigna de pròstata, ens obren les portes a un hipotètic aprofitament medicinal en el futur de *S. farrenyi*.

2. PLANTEJAMENT I OBJECTIUS

El plantejament general del nostre estudi és l'anàlisi de la diversitat genètica de l'endemisme *Seseli farrenyi* i de la estructura genètica de les tres úniques poblacions que avui dia coneixem de l'espècie.

Els objectius que perseguim per tant en el nostre estudi són els següents:

1. Anàlisi de la diversitat genètica a nivell de població en *S. farrenyi*.
2. Comprovar que la subdivisió de les poblacions en subpoblacions o veïnatsges que nosaltres proposem té una base genètica i per tant no és artificial. En cas que existeixi aquesta estructuració, intentar discernir la seva naturalesa.
3. Inferir l'estat de conservació en el que es troben les poblacions de *S. farrenyi*, i proposar mesures per a la seva conservació.

3. MATERIAL I MÈTODES

3.1. MATERIAL

El material vegetal emprat per a realitzar els assajos d'electroforesi d'isoenzims en l'espècie *Seseli farrenyi* ha estat sempre fulles fresques, procurant que procedissin d'individus joves i sans, recol·lectades al camp de poblacions naturals. S'han realitzat també alguns experiments amb fulles provinents d'individus que han germinat sota condicions controlades a l'hivernacle de la Facultat de Farmàcia, per a posar a punt la tècnica de l'electroforesi per a alguns sistemes enzimàtics.

Respecte a les poblacions naturals, es van mostrejar les 3 poblacions de *Seseli farrenyi* que hi ha localitzades fins a l'actualitat, entre els mesos d'octubre i de novembre de 1999. La mida de la mostra va dependre tant del nombre d'individus com de l'estructura per subpoblacions que s'ha proposat per a cada població. Així, de la localitat de Sa Pastera, es van mostrejar 30 individus dels 90 que té la població. De la població situada a la localitat d'Es Camallerús, es van mostrejar 112 individus d'un total de 716 individus. La presa de mostres es va fer seguint un patró de les presumptes subpoblacions, recol·lectant fulles d'uns 25 individus per subpoblació, en base a criteris de proximitat microtopogràfica. Finalment, de la localitat d'Es Bol d'Es Prim, es van mostrejar també al voltant de 25 individus per cada una de les sis subpoblacions proposades, sumant en total 135 individus d'una població que disposa de 1260 efectius (taula 7). Globalment, s'ha mostrejat el 13,4 % del nombre total d'efectius de *S. farrenyi*, percentatge prou elevat per garantir-nos que els resultats siguin representatius.

TAULA 7. POBLACIONS I SUBPOBLACIONS DE SESELI FARRENYI ESTUDIADES

Codi	Població i/o subpoblació/ns	Nombre d'individus mostrejats
SES	Ses Estenedors	30
SCM1	Es Camallerús subpoblació 1	40
SCM2	Es Camallerús subpoblació 2	22
SCM3	Es Camallerús subpoblació 3	24
SCM4	Es Camallerús subpoblació 4	26
EBP1	Es Bol d'Es Prim subpoblació 1	26
EBP2	Es Bol d'Es Prim subpoblació 2	22
EBP3	Es Bol d'Es Prim subpoblació 3	20
EBP4	Es Bol d'Es Prim subpoblació 4	25
EBP5	Es Bol d'Es Prim subpoblació 5	21
EBP6	Es Bol d'Es Prim subpoblació 6	21
		TOTAL = 277

El material vegetal es va mostrejar seguint un *transecte*, abraçant tota l'extensió de la població, amb la finalitat de recollir tota la variabilitat existent. Al mateix temps que es recollien les fulles, es mesurava la distància entre parells d'individus mostrejats amb una cinta mètrica, conjuntament amb la determinació de les seves coordenades geogràfiques mitjançant la tècnica GPS (*Global Position System*). Es va utilitzar un receptor GPS *Garmin 12XL* de dotze canals, aconseguint una precisió de $\sqrt{15}$ metres. L'objectiu d'aquestes mesures va ser doble: establir la posició geogràfica de les poblacions per a poder-les dibuixar després sobre un mapa amb una elevada exactitud (*cf.* punt 1.3.1.1), i utilitzar les dades de distància geogràfica entre subpoblacions per provar de correlacionar-la amb la identitat genètica de Nei (1978) entre aquestes, mitjançant el test de Mantel (1967).

A part de recollir material fol·liar, es van marcar amb l'ajuda de cinta adhesiva tots els individus mostrejats, identificant-los amb un número escrit en aquesta. També es van dibuixar mapes dels individus mostrejats. Això ens permet fer el seguiment de la seva evolució i tenir una font de material idèntic en cas d'haver de repetir algun experiment.

Les fulles mostrejades es van dipositar dins de petits sobres de paper, perfectament retolats, i van ser transportades al nostre laboratori on es van deixar a la nevera a 4°C fins al moment de començar l'electroforesi. Un cop realitzats els assajos d'aquesta tècnica, la mostra restant -ja en forma d'extracte- es va guardar al congelador a -40°C per permetre la seva conservació a llarg termini.

3.2. METODOLOGIA

Tota la metodologia de l'electroforesi (des de l'elaboració del gel fins als protocols de tinció) s'ha dut a terme tal com s'explica al punt 2.3.2. del capítol *Introducció*.

Durant el període 1999-2000 vàrem dur a terme tota una bateria d'experiments amb *S. farrenyi*, en els que vàrem assajar un total de 21 sistemes enzimàtics, dels quals es

van resoldre amb suficient nitidesa 14 loci pertanyents a 9 sistemes enzimàtics diferents. La resta de loci assajats no va permetre la seva interpretació, de vegades senzillament perquè no vèiem cap banda en el gel, altres cops sí que apareixien les bandes però eren massa dèbils o difuses per a ser interpretades. En altres ocasions, però, les bandes d'un isoenzim sortien amb prou potència, però quedaven molt a prop o fins i tot s'encavalcaven amb les d'un altre isoenzim, el que complicava extremadament la interpretació. En el cas específic de la peroxidasa (PRX), en alguns individus les bandes sortien prou nítides, però en canvi no apareixien a la resta d'individus. A la taula 8 es recullen tots els enzims que es van assajar, amb èxit o no.

TAULA 8. ENZIMS ASSAJATS AMB *SESELI FARRENYI*

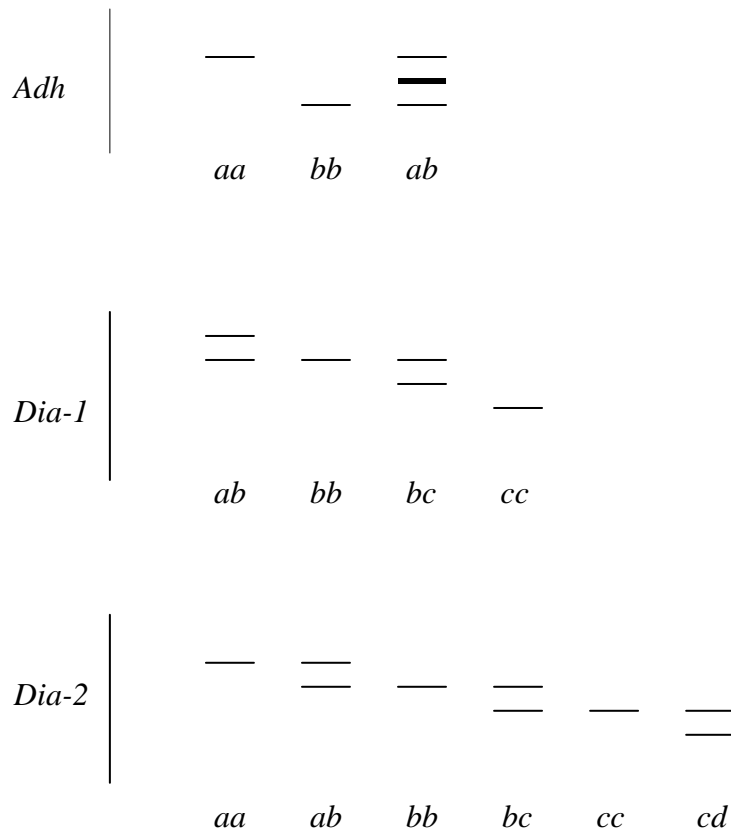
Enzims assajats (Abreviatura habitual, nom col·loquial, nom IUB i nom EC)	Resultats obtinguts	Gel emprat
ACO / Aconitasa / Citrat (isocitrat) hidrolasa / EC 4.2.1.3	No result	----
ACP / Fosfatasa àcida / Ortofosfòrico-monoèster fosfohidrolasa / EC 3.1.3.2	No result	----
ADH / Alcohol deshidrogenasa / Alcohol; NAD ⁺ òxido-reductasa / EC 1.1.1.1	Result	Borat de liti 8.2
CAT / Catalasa / Peròxid d'hidrogen:peròxid d'hidrogen òxido-reductasa / EC 1.11.1.6	No result	----
DIA / Diaforasa / NAD(P)H: (acceptor) òxido-reductasa / EC 1.6.99.-	Result	Borat de liti 8.2
EST / Estearasa / -- / EC 3.1.1.-	No result	----
FDH / Format deshidrogenasa / Format; NAD ⁺ òxido-reductasa / EC 1.2.1.2	No result	----
GDH / Glutamat deshidrogenasa / L-Glutamat:NAD ⁺ òxido-reductasa (desaminada) / EC 1.4.1.2	No result	----
GOT o AAT / Glutamat oxalacetat transaminasa o Aspartat amino-transferasa / L-Aspartat:2-oxoglutarat amino-transferasa / EC 2.6.1.1	Result	Borat de liti 8.2
IDH / Isocitrat deshidrogenasa / Isocitrat:NAD(P) ⁺ òxido-reductasa (descarboxilant) / EC 1.1.1.42 (forma NADP); EC 1.1.1.41 (forma NAD)	Result	Morfolina-citrat 6.1
LAP / Leucina amino-peptidasa / α -Aminoacil pèptid hidrolasa / EC 3.4.11.1	No result	----
LDH / Lactat deshidrogenasa / (S)-Lactat:NAD ⁺ òxido-reductasa / EC 1.1.1.27	No result	----
MDH / Malat deshidrogenasa / (S)-Malat:NAD ⁺ òxido-reductasa / EC 1.1.1.37	Result	Morfolina-citrat 6.1
ME / Enzim màlic / (S)-Malat:NADP ⁺ òxido-reductasa (oxalacetat-descarboxilant) / EC 1.1.1.40	No result	----
PGD o 6PGD / Fosfogluconat deshidrogenasa / 6-Fosfo-D-gluconat / NADP ⁺ 2-òxido-reductasa / EC 1.1.1.44	Result	Histidina-citrat 5.7
PGI / Fosfoglucoisomerasa / D-Glucosa-6-fosfat cetol-isomerasa / EC 5.3.1.9	Result	Borat de liti 8.2
PGM / Fosfoglucomutasa / α -D-Glucosa 1,6-fosfomutasa / EC 5.4.2.2	Result	Histidina-citrat 5.7
PRX / Peroxidasa / Donador:peròxid d'hidrogen òxido-reductasa / EC 1.11.1.7	No result	----

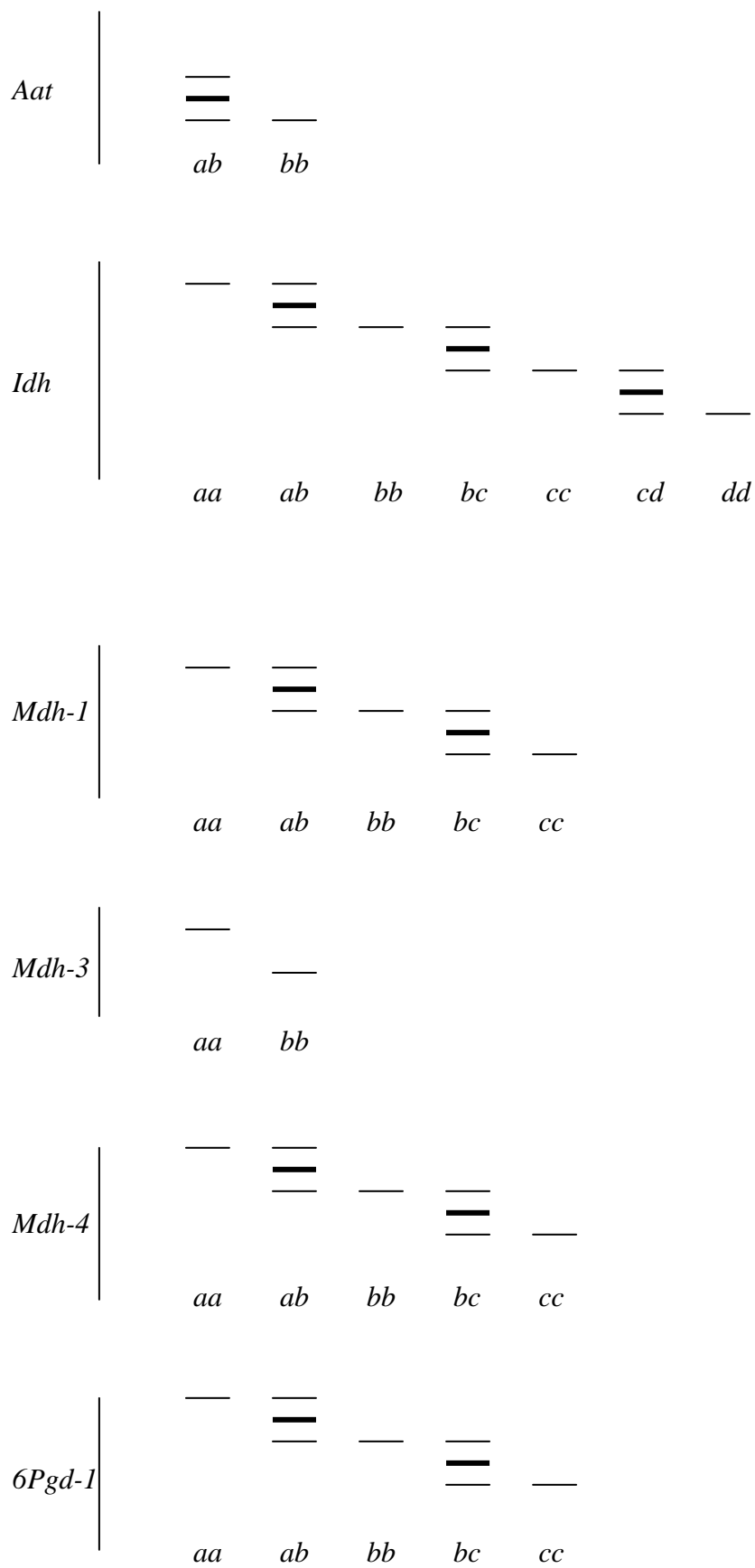
RBC / Ribulosa bifosfat carboxilasa (Rubisco) / 3-Fosfo-D-glicerat carboxilasa (dimeritzant) / EC 4.1.1.39	Result	Borat de líti 8.2
SKD / Xiquimat deshidrogenasa / Xiquimat: NADP+ 3-òxido-reductasa / EC 1.1.1.25	No result	----
TPI / Triosa-fosfat isomerasa / D-Gliceraldehid-3-fosfat cetol-isomerasa / EC 5.3.1.1	No result	----

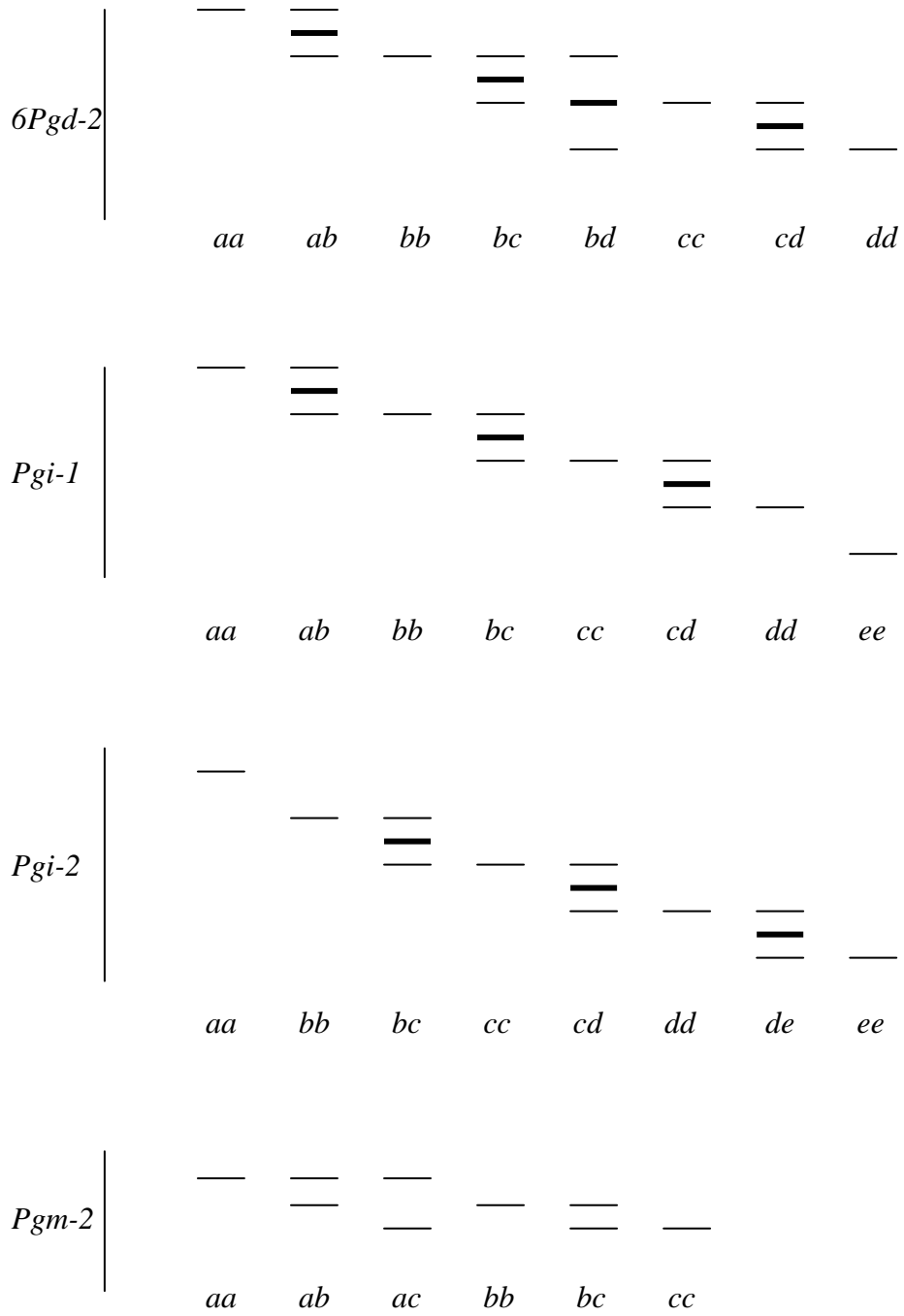
4. RESULTATS

4.1. INTERPRETACIÓ DELS ZIMOGRAMES

Els fenotips isoenzimàtics s'han interpretat genèticament d'acord amb els principis estàndard (Wendel i Weeden, 1989) (fig. 17). Dels 21 enzims assajats, se n'han resolt 9 amb un total de 14 loci, els zimogrames dels quals s'analitzen a continuació.







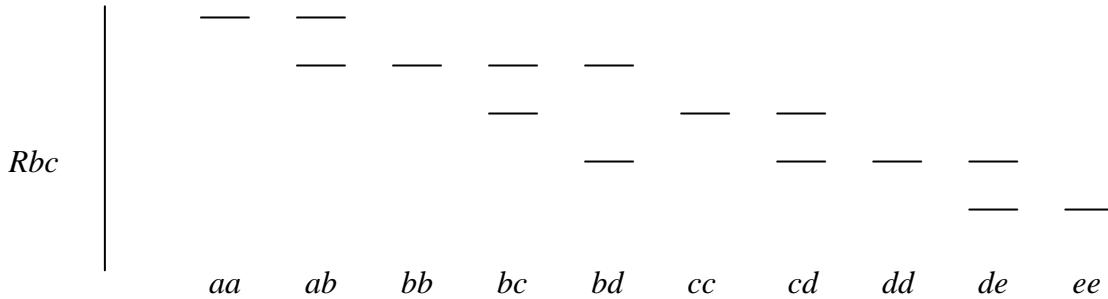


FIG. 17. Zimogrames obtinguts per als isoenzims assajats en *S. farrenyi*, amb la seva interpretació genotípica

Alcohol deshidrogenasa (ADH):

L'ADH a les plantes diploides és un enzim dimèric (la seva estructura quaternària consta de dues subunitats estructurals), que sol presentar entre una i tres regions d'activitat (isoenzims) localitzades al citosol. En *S. farrenyi*, únicament es detecta un isoenzim, que surt amb prou nitidesa. Com a enzim dimèric que és, apareixen tres bandes en els fenotips heterozigots. Per a complir amb la hipòtesi de la codominància, la banda intermèdia hauria de tenyir-se amb doble intensitat que la de dalt i la de baix, fenòmen difícilment observable en els nostres zimogrames. L'ADH és monomòrfic en els individus de la població d'Es Bol d'Es Prim, mentre a les dues poblacions restants presenta únicament dos al·lels (fig. 18).

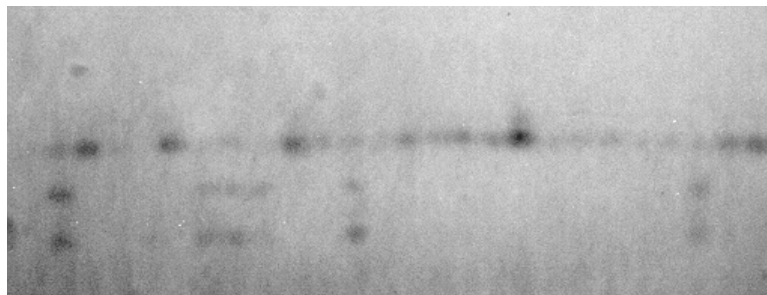


FIG. 18. Zimograma de l'enzim ADH.

Diaforasa (DIA):

La diaforasa és un enzim que es pot presentar en forma de monòmer, de dímer o de tetràmer, que pot presentar entre 1 i 4 isoenzims, els quals poden estar localitzats en diferents compartiments subcel·lulars (citosol, plastidis i mitocondris). En la nostra

espècie, als gels de midó podem observar dues regions d'activitat (DIA-1 i DIA-2) amb una mobilitat electroforètica força diferent (fig. 19).

L'isoenzim més anòdic (DIA-1) és polimòrfic en totes les poblacions, en les quals presenta tres al·lels. Aquest isoenzim té una estructura quaternària dimèrica, atès que els individus heterozigots tan sols mostren dues bandes.

L'isoenzim més catòdic (DIA-2) també mostra polimorfisme en totes les poblacions de *S. farrenyi*, amb un màxim de 4 al·lels a la població d'Es Bol d'Es Prim. Cal destacar que l'isoenzim *d* únicament s'ha detectat a la població d'Es Bol d'Es Prim.

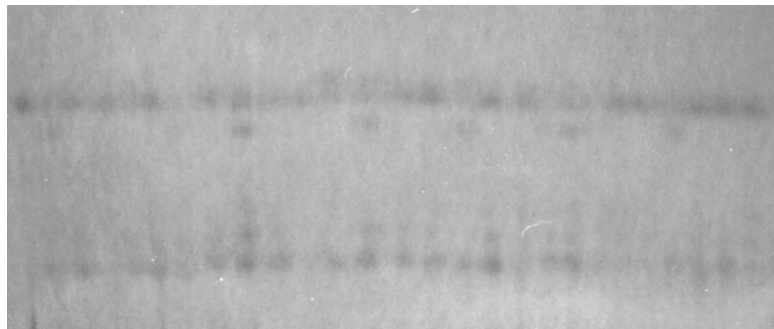


FIG. 19. Zimograma de l'enzim DIA.

Aspartat amino-transferasa (AAT):

Es tracta d'un enzim dimèric que pot presentar fins a quatre zones d'activitat i de localització subcel·lular diversa (citosòlica, plastidial, mitocondrial i als microcossos). En *S. farrenyi*, sol s'observa una zona d'activitat, molt fixada en les tres poblacions de l'espècie. De fet, tots els individus analitzats són homozigots per a un únic al·lel (el *b*) amb l'excepció de dos individus d'Es Bol d'Es Prim, que presenten una banda molt més allargada que la resta d'individus i que hem interpretat com a heterozigots heterodimèrics (fig. 20).

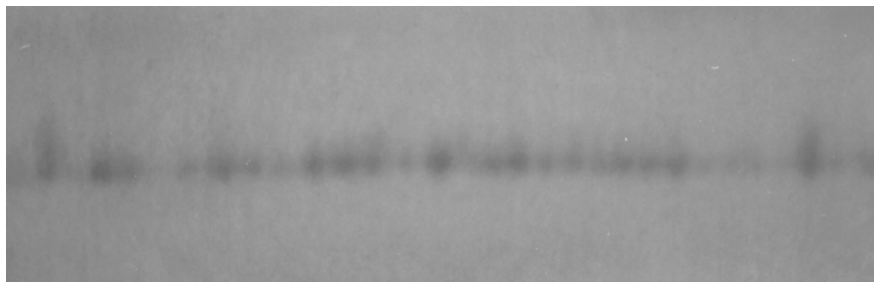


FIG. 20. Zimograma de l'enzim AAT.

Isocitrat deshidrogenasa (IDH):

La IDH és un enzim sempre dimèric en les plantes diploides, que fenotípicament tan sols mostra una regió d'activitat i és de localització citosòlica. En l'espècie que estudiem, només hem observat una única regió d'activitat, de difícil interpretació degut a les dificultats de tinció i a la proximitat de les bandes respecte l'origen de migració.

Tot i això, hem pogut concloure que és un enzim amb un patró de bandes força variable, que presenta fins a quatre al·lels (fig. 21). A la població de Ses Estenedors no hi ha cap individu que presenti l'al·loenzim *d*, que sí que es presenta a les altres dues poblacions. És remarcable el fet que les bandes d'aquest isoenzim es destenyeixen ràpidament, per tant no s'hauria d'esperar massa per procedir a l'interpretació dels fenotips.



FIG. 21. Zimograma de l'enzim IDH.

Malat deshidrogenasa (MDH):

La MDH és un enzim dimèric amb un patró de bandes que sol presentar tres isoenzims. La localització subcel·lular d'aquest enzim és variable (citosòlica, mitocondrial i als microcossos). La interpretació genètica del patró de bandes d'aquest enzim habitualment resulta extremadament complexa, fet que es deu a tota una sèrie de factors. En primer lloc, és freqüent que alguns loci d'aquest enzim presentin duplicacions (Gottlieb, 1982), com també són molt comuns els encavalcaments que es produeixen entre bandes de diferents regions com a conseqüència de petites diferències entre els individus (Doebley *et al.*, 1986). Aquestes irregularitats poden ser atribuïdes a un possible canvi de conformació post-transcripcional de la proteïna (Goodman *et al.*, 1981; Doebley *et al.*, *l.c.*), però també podrien estar associades a artefactes provocats per les condicions d'extracció, a anomalies del mateix gel o a distorsions a causa del corrent elèctric (Crawford i Wilson, 1977; Gottlieb, 1981; Tanskley, 1984; Weeden, 1984; Harry, 1986). La complexitat dels fenotips pot incrementar-se també per l'aparició de bandes secundàries produïdes per complexos amb cofactors o ions (Arulsekar *et al.*, 1986), la formació de dímers intergènics entre gens actius en el mateix compartiment cel·lular (Gottlieb, *l.c.*) i la presència d'al·lels nuls (Goodman *et al.*, *l.c.*).

En *S. farrenyi*, hem detectat quatre regions d'activitat, les tres més anòdiques (MDH-1, MDH-2 i MDH-3) amb una mobilitat electroforètica molt similar, de manera que pràcticament no hi ha separació entre elles, i la més catòdica (MDH-4) amb una mobilitat molt menor. Donada la complexitat de les bandes, hem descartat la interpretació de l'isoenzim MDH-2. La MDH-1 presenta 3 al·lels, dels quals l'al·lel *a* sol apareix a la població d'Es Camallerús. El sistema MDH-3 presenta 2 al·lels en totes les poblacions, mentre que MDH-3 sempre presenta 3 al·lels, excepte a Ses Estenedors (fig. 22). L'al·lel més comú dels tres isoenzims sempre és el mateix en totes les poblacions.

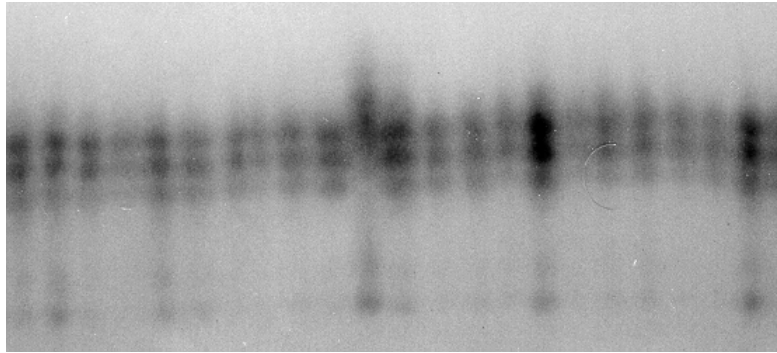


FIG. 22. Zimograma de l'enzim MDH.

Fosfogluconat deshidrogenasa (6PGD):

És un enzim dimèric que generalment presenta dues regions d'activitat distribuïdes al citosol i als plastidis. Els zimogrames de *S. farrenyi* mostren dues regions d'activitat (6PGD-1 i 6PGD-2) no massa separades entre elles.

Hem identificat 3 al·lels al sistema 6PGD-1, dels quals l'*a* no apareix mai a Ses Estenedors. El sistema 6PGD-2 mostra més riquesa al·loenzimàtica, ja que s'han identificat fins a 5 al·lels no sempre presents en totes les poblacions. Únicament Es Bol d'Es Prim presenta tots els al·lels. Els fenotips heterozigots per aquest isoenzim mostren nítidament les tres bandes amb la central tenyida amb més intensitat (fig. 23).

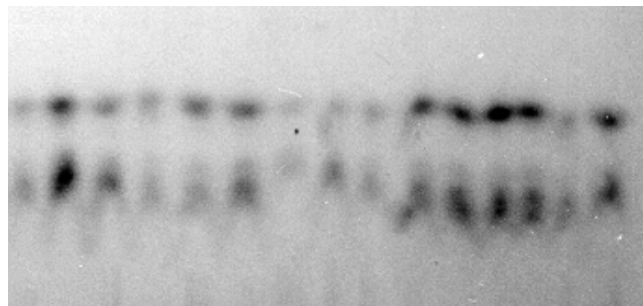


FIG. 23. Zimograma de l'enzim 6PGD.

Fosfoglucoisomerasa (PGI):

La PGI és un enzim dimèric en plantes diploides, que presenta habitualment dos isoenzims de localització citosòlica i plastídica. En l'espècie que ens ocupa, en els gels de midó podem observar dos sistemes de mobilitat electroforètica molt similar (PGI-1 i PGI-2), el que complica en alguns casos la seva interpretació, puix que les bandes dels dos isoenzims podem arribar a solapar-se.

A l'isoenzim més anòdic (PGI-1) podem visualitzar fins a 5 al·loenzims. L'al·lel *e* però sol és present a la població d'Es Camallerús. Tot i l'estructura dimèrica de la PGI, no ens és possible observar tres bandes en els individus heterozigots. És remarcable el fet que la PGI-1 és l'únic isoenzim dels estudiats en *S. farrenyi* on l'al·lel més freqüent no es repeteix en totes les poblacions (*c* és l'al·lel més freqüent en Ses Estenedors i Es

Camallerús, *b* a Es Bol d'Es Prim). El sistema PGI-2 també presenta 5 al·lels, dels quals l'*a* només el presenten alguns individus d'Es Camallerús (fig. 24).

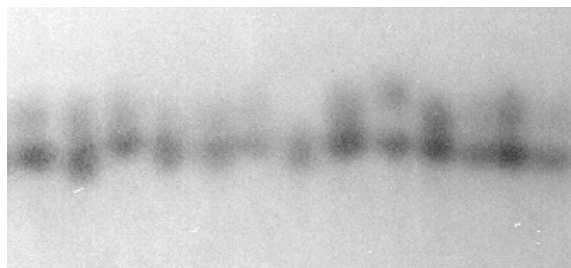


FIG. 24. Zimograma de l'enzim PGI.

Fosfoglucomutasa (PGM):

Es tracta d'un enzim de naturalesa monomèrica, que sol presentar dues regions d'activitat de localització citosòlica i plastídica. En *S. farrenyi* detectem dues zones d'activitat que hem identificat com a dos isoenzims (PGM-1 i PGM-2). El sistema enzimàtic més anòdic (PGM-1) no sempre l'hem pogut resoldre, de vegades perquè no surt amb prou nitidesa, les bandes apareixen patinades o simplement aquestes no es tenyeixen. Per tant, aquest sistema no s'ha tingut en compte en l'anàlisi isoenzimàtica.

Sí que hem resolt la PGM-2, que mostra 3 al·loenzims en totes les poblacions de l'espècie estudiada. L'al·lel majoritari és el *b*, l'*a* i el *c* es presenten en freqüències molt petites. Cal ressenyar també la presència de nombrosos al·lells nuls (fig. 25). Lleugerament per sota les bandes perfectament nítides de la PGM-2, s'entreveuen unes bandes rudimentàries que fan sospitar un tercer sistema que no es resol (poc probable puix que no tenim constància de la descripció de tres sistemes per la PGM) o bé, tal com descriu Garnatje (1995), podria tractar-se de la 6PGD, que es tenyeix a quan s'utilitza com a substrat el 6-fosfogluconat, que és un producte format en la reacció que catalitza la PGM.

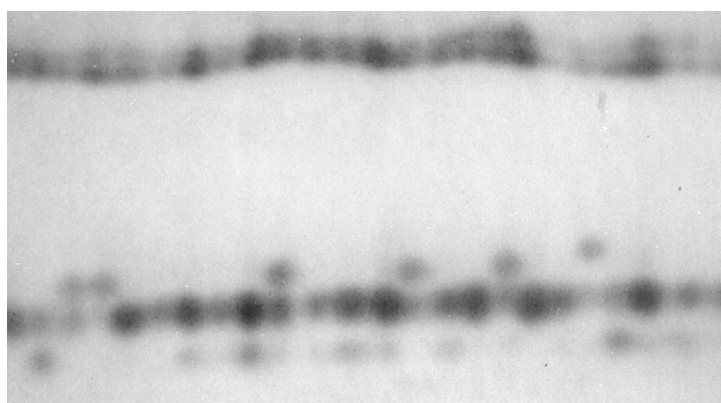


FIG. 25. Zimograma de l'enzim PGM.

Ribulosa bifosfat carboxilasa (Rubisco, RBC):

Per a revelar-la hem utilitzat una tinció inespecífica, on a part de la rubisco poden apareixer bandes de les proteïnes més abundants dels extractes (Weeden, 1984; Wendel i Weeden, 1989). En *S. farrenyi*, detectem un únic sistema enzimàtic, en què el patró de bandes és prou complex ja que detectem fins a 5 al·lels, dels quals el més freqüent en les tres poblacions és el *c* (fig. 26).

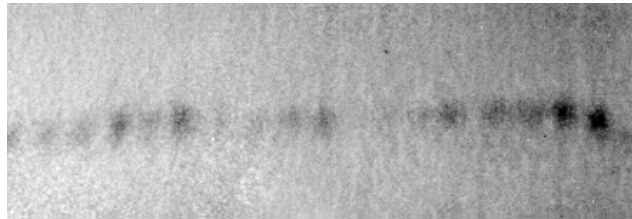


FIG. 26. Zimograma de l'enzim RBC.

4.2. VARIABILITAT GENÈTICA

Riquesa i distribució al·lèliques: En el nostre estudi hem detectat un total de 49 al·lels repartits entre els 14 loci interpretables (taula 9). Si seguim el criteri que un locus és polimòrfic quan presenta més d'una variant al·lèlica, 12 loci són polimòrfics per a totes les poblacions (*Dia-1*, *Dia-2*, *Idh*, *Mdh-1*, *Mdh-3*, *Mdh-4*, *6Pgd-1*, *6Pgd-2*, *Pgi-1*, *Pgi-2*, *Pgm-2* i *Rbc*). Dels 2 loci restants, *Adh* sol és monomòrfic a la població d'Es Bol d'Es Prim, mentre que *Aat* presenta polimorfisme a Es Bol d'Es Prim, i resta monomòrfic a les poblacions de Ses Estenedors i Es Camallerús. Els loci més variables són *6Pgd-2*, *Pgi-1*, *Pgi-2* i *Rbc*, amb 5 al·lels cadascun, mentre que els menys variables són *Adh*, *Aat* i *Mdh-3*, que presenten únicament 2 al·lels. L'al·lel majoritari en els diferents loci sempre es repeteix en totes les poblacions, exceptuant la *Pgi-1*, que mostra com a al·lel més comú el *b* a es Bol d'Es Prim i el *c* a les dues poblacions restants.

TAULA 9. FREQUÈNCIES AL·LÈLIQUES OBSERVADES PER 14 LOCI A LES 3 POBLACIONS DE *SESELI FARRENYI*
SES: SES ESTENEDORS; SCM: ES CAMALLERÚS; EBP: ES BOL D'ES PRIM

Locus	Al·lel	POBLACIONS		
		SES (N=30)	SCM (N=112)	EBP (N=135)
<i>Adh</i>	<i>a</i>	<u>0,833</u>	<u>0,946</u>	<u>1,000</u>
	<i>b</i>	0,167	0,054	0,000
<i>Dia-1</i>	<i>a</i>	0,017	0,009	0,004
	<i>b</i>	<u>0,833</u>	<u>0,813</u>	<u>0,948</u>
	<i>c</i>	0,150	0,179	0,048
<i>Dia-2</i>	<i>a</i>	0,017	0,004	0,030

	<i>b</i>	0,133	0,138	0,289
	<i>c</i>	<u>0,850</u>	<u>0,857</u>	<u>0,670</u>
	<i>d</i>	0,000	0,000	0,011
<i>Aat</i>	<i>a</i>	0,000	0,000	0,007
	<i>b</i>	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>	<u>0,993</u>
<i>Idh</i>	<i>a</i>	0,017	0,018	0,059
	<i>b</i>	0,300	0,188	0,248
	<i>c</i>	<u>0,683</u>	<u>0,786</u>	<u>0,663</u>
	<i>d</i>	0,000	0,009	0,030
<i>Mdh-1</i>	<i>a</i>	0,000	0,013	0,000
	<i>b</i>	0,083	0,085	0,196
	<i>c</i>	<u>0,917</u>	<u>0,902</u>	<u>0,804</u>
<i>Mdh-3</i>	<i>a</i>	0,067	0,018	0,126
	<i>b</i>	<u>0,933</u>	<u>0,982</u>	<u>0,874</u>
<i>Mdh-4</i>	<i>a</i>	0,100	0,018	0,074
	<i>b</i>	<u>0,900</u>	<u>0,938</u>	<u>0,896</u>
	<i>c</i>	0,000	0,045	0,030
<i>6Pgd-1</i>	<i>a</i>	0,000	0,013	0,004
	<i>b</i>	<u>0,967</u>	<u>0,915</u>	<u>0,937</u>
	<i>c</i>	0,033	0,071	0,059
<i>6Pgd-2</i>	<i>a</i>	0,033	0,000	0,044
	<i>b</i>	0,233	0,098	0,304
	<i>c</i>	<u>0,717</u>	<u>0,683</u>	<u>0,507</u>
	<i>d</i>	0,017	0,214	0,141
	<i>e</i>	0,000	0,004	0,004
<i>Pgi-1</i>	<i>a</i>	0,017	0,027	0,026
	<i>b</i>	0,333	0,232	<u>0,433</u>
	<i>c</i>	<u>0,383</u>	<u>0,496</u>	0,422
	<i>d</i>	0,267	0,228	0,119
	<i>e</i>	0,000	0,018	0,000
<i>Pgi-2</i>	<i>a</i>	0,000	0,018	0,000
	<i>b</i>	0,117	0,277	0,015
	<i>c</i>	<u>0,750</u>	<u>0,451</u>	<u>0,737</u>
	<i>d</i>	0,133	0,219	0,230
	<i>e</i>	0,000	0,036	0,019
<i>Pgm-2</i>	<i>a</i>	0,000	0,125	0,004
	<i>b</i>	<u>0,983</u>	<u>0,848</u>	<u>0,889</u>
	<i>c</i>	0,017	0,027	0,107
<i>Rbc</i>	<i>a</i>	0,000	0,022	0,000
	<i>b</i>	0,167	0,281	0,107
	<i>c</i>	<u>0,533</u>	<u>0,478</u>	<u>0,689</u>

<i>d</i>	0,300	0,174	0,159
<i>e</i>	0,000	0,045	0,044

N: Mida de la mostra per població

L'al·lel més freqüent de cada locus està subratllat

El nombre d'al·lells *privats* per població és també un paràmetre indicatiu de la distribució al·lèlica a les diferents poblacions. Un al·lel privat és aquell que es troba únicament en una població. Si repassem la taula 10, observem que Es Camallerús presenta 4 al·lells privats (*Mdh-1 a*, *Pgi-1 e*, *Pgi-2 a* i *Rbc a*) i Es Bol d'Es Prim en presenta 2 (*Dia-2 d* i *Aat a*). Ses Estenedors és l'única població que no en mostra cap.

Els al·lells *rars* són aquells que es presenten en una freqüència molt baixa, i per tant les poblacions pateixen un risc elevat de perdre'ls del seu *pool* al·lèlic, com a conseqüència de processos de deriva genètica principalment. Nosaltres hem pres dos possibles criteris per considerar un al·lel com a rar: un de més ampli, en què considerem que un al·lel és rar si es presenta amb una freqüència inferior o igual a 0,05, i un de més estricte, en què el llindar de raresa que es pren és de 0,01. La població que presenta més al·lells rars seguint el criteri ampli és la d'Es Camallerús, però si atenem al criteri més estricte, seria Es Bol d'Es Prim.

TAULA 10. ANÀLISI AL·LÈLICA PER LOCUS EN LES DIFERENTS POBLACIONS DE S. FARRENYI

Locus	SES				SCM			
	A. més comú	A. privats*	A. rars ^a	A.rars ^b	A. més comú	A. privats*	A. rars ^a	A.rars ^b
<i>Adh</i>	<i>a</i>	---	---	---	<i>a</i>	---	---	---
<i>Dia-1</i>	<i>b</i>	---	<i>a</i>	---	<i>b</i>	---	<i>a</i>	<i>a</i>
<i>Dia-2</i>	<i>c</i>	---	<i>a</i>	---	<i>c</i>	---	<i>a</i>	<i>a</i>
<i>Aat</i>	<i>b</i>	---	---	---	<i>b</i>	---	---	---
<i>Idh</i>	<i>c</i>	---	<i>a</i>	---	<i>c</i>	---	<i>a,d</i>	---
<i>Mdh-1</i>	<i>c</i>	---	---	---	<i>c</i>	<i>a</i>	<i>a</i>	---
<i>Mdh-3</i>	<i>b</i>	---	---	---	<i>b</i>	---	<i>b</i>	---
<i>Mdh-4</i>	<i>b</i>	---	---	---	<i>b</i>	---	<i>a,c</i>	---
<i>6Pgd-1</i>	<i>b</i>	---	<i>c</i>	---	<i>b</i>	---	<i>a</i>	---
<i>6Pgd-2</i>	<i>c</i>	---	<i>a,d</i>	---	<i>c</i>	---	<i>e</i>	<i>e</i>
<i>Pgi-1</i>	<i>c</i>	---	<i>a</i>	---	<i>c</i>	<i>e</i>	<i>a,e</i>	---
<i>Pgi-2</i>	<i>c</i>	---	---	---	<i>c</i>	<i>a</i>	<i>a,e</i>	---
<i>Pgm-2</i>	<i>b</i>	---	<i>c</i>	---	<i>b</i>	---	<i>c</i>	---
<i>Rbc</i>	<i>c</i>	---	---	---	<i>c</i>	<i>a</i>	<i>a,e</i>	---

TAULA 10. (Cont.)

Locus	EBP			
	A. més comú	A. privats*	A. rars ^a	A.rars ^b
<i>Adh</i>	<i>a</i>	---	---	---
<i>Dia-1</i>	<i>b</i>	---	<i>a,c</i>	<i>a</i>
<i>Dia-2</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>a,d</i>	---
<i>Aat</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>a</i>	<i>a</i>
<i>Idh</i>	<i>c</i>	---	<i>d</i>	---
<i>Mdh-1</i>	<i>c</i>	---	---	---
<i>Mdh-3</i>	<i>b</i>	---	---	---
<i>Mdh-4</i>	<i>b</i>	---	<i>c</i>	---
<i>6Pgd-1</i>	<i>b</i>	---	<i>a</i>	<i>a</i>
<i>6Pgd-2</i>	<i>c</i>	---	<i>a,e</i>	<i>e</i>
<i>Pgi-1</i>	<i>b</i>	---	<i>a</i>	---
<i>Pgi-2</i>	<i>c</i>	---	<i>b,e</i>	---
<i>Pgm-2</i>	<i>b</i>	---	<i>a</i>	<i>a</i>
<i>Rbc</i>	<i>c</i>	---	<i>e</i>	---

*Al·lels privats: aquells únicament presents en aquella població

Al·lels rars: per a considerar un al·lel rar hem pres dos criteris: que es trobi en una freqüència < 0.05 (^a) i en una freqüència < 0.01 (^b)

Paràmetres descriptors bàsics de diversitat genètica: La diversitat genètica s'ha quantificat per cada una de les tres poblacions de *S. farrenyi* (taula 11). Els paràmetres descriptors bàsics desprenen uns valors força elevats si calculem la mitjana de les tres poblacions ($P = 83,3 \%$, $A = 3,0$, $A_p = 3,1$, $H_o = 0,120$ i $H_e = 0,297$), molt superiors als esperats per espècies endèmiques (Hamrick i Godt, 1990). Si considerem cada població de forma independent, P varia entre el 78,6 % de Ses Estenedors i el 85,7 % d'Es Camallerús i Es Bol d'Es Prim. Els valors de A i A_p també són força elevats. Ses Estenedors, la població més petita, presenta els valors més baixos (2,6 tant per a A com per a A_p), i Es Camallerús els valors més alts (3,3 per a A i 3,5 per a A_p). Els valors d'heterozigosi observada (H_o) són molt inferiors als d'heterozigosi esperada (H_e) a les tres poblacions.

TAULA 11. PARÀMETRES DESCRIPTORS BÀSICS DE DIVERSITAT GENÈTICA DE LES DIFERENTS POBLACIONS DE *S. FARRENYI*.

Població	<i>N</i>	<i>P</i>	<i>A</i>	<i>A_p</i>	<i>H_o</i>	<i>H_e</i>
SES	30	78,6	2,6 (0,2)	2,6	0,124 (0,029)	0,285 (0,056)
SCM	112	85,7	3,3 (0,3)	3,5	0,137 (0,023)	0,302 (0,062)
EBP	135	85,7	3,1 (0,3)	3,3	0,100 (0,020)	0,305 (0,057)
Mitjana	92,3	83,3	3,0	3,1	0,120	0,297

N: mida de la mostra; *P*: percentatge de loci polimòrfics; *A*: nombre mitjà d'al·lels per locus; *A_p*: nombre mitjà d'al·lels per locus polimòrfic; *H_o*: heterozigosi observada; *H_e*: heterozigosi esperada.

Equilibri de Hardy-Weinberg: Hem estudiat les desviacions de les freqüències genotípiques observades respecte a les esperades sota equilibri de Hardy-Weinberg, per a cada locus polimòrfic a totes les poblacions, mitjançant els valors de H_o , H_e i F (índex de fixació de Wright). Les diferències estadístiques del valor de F respecte 0 s'han evaluat utilitzant el test *xi-quadrat* (χ^2) (taula 12), aplicant-se la correcció de Levene (1949) per a mides mostrals petites. S'han efectuat 39 tests, dels quals 11 han mostrat conformitat amb l'equilibri Hardy-Weinberg (aquells casos on $P \geq 0.05$), on els valors de F obtinguts no són significativament diferents de 0. La resta de casos revelen diferències significatives respecte a les proporcions esperades sota equilibri Hardy-Weinberg, i en tots ells el valor de F és positiu, el que indica deficiència d'heterozigots. Com podem comprovar a la taula 12, hi ha una sèrie de loci que estan en equilibri de Hardy-Weinberg en totes o algunes de les poblacions (*Adh-1*, *Dia-1*, *Dia-2*, *Aat*, *Mdh-1* i *Pgm-2*), mentre que d'altres loci mostren un important dèficit d'heterozigots. Sembla doncs haver-hi una sèrie de loci que contribueixen en més gran mesura als valors tant baixos de H_o que trobem a totes les poblacions (*Idh*, *Mdh-2*, *Mdh-3*, *6Pgd-1*, *6Pgd-2*, *Pgi-1*, *Pgi-2* i *Rbc*). Aquesta divergència entre comportament dels loci suggereix la idea d'una estructuració genètica de les poblacions en subpoblacions en *S. farrenyi*, tal com també troben Williamson i Werth (1999) en *Abronia macrocarpa* com a conseqüència d'encreuaments no totalment a l'atzar.

TAULA 12. HETEROZIGOSI OBSERVADA (H_o), HETEROZIGOSI ESPERADA (H_e) I ÍNDEX DE FIXACIÓ DE WRIGHT (F) PER A TOTS ELS LOCI POLIMÒRFICS EN CADA UNA DE LES POBLACIONS DE *S. FARRENYI*.

Locus	SES			SCM			EBP		
	H_o	H_e	F	H_o	H_e	F	H_o	H_e	F
<i>Adh</i>	0,267	0,282	0,040 ns	0,089	0,102	0,119 ns	0,000	0,000	---
<i>Dia-1</i>	0,267	0,288	0,057 ns	0,250	0,309	0,188 ns	0,104	0,099	-0,051 ns
<i>Dia-2</i>	0,267	0,264	-0,028 ns	0,241	0,247	0,021 ns	0,141	0,468	0,698 ns
<i>Aat</i>	0,000	0,000	---	0,000	0,000	---	0,015	0,015	-0,007 ns
<i>Idh</i>	0,200	0,450	0,548 **	0,107	0,349	0,691 ***	0,141	0,496	0,715 ***
<i>Mdh-1</i>	0,167	0,155	-0,091 ns	0,152	0,180	0,154 ***	0,230	0,317	0,272 **
<i>Mdh-3</i>	0,000	0,127	1,000 ***	0,000	0,035	1,000 ***	0,000	0,221	1,000 ***
<i>Mdh-4</i>	0,000	0,183	1,000 ***	0,018	0,119	0,850 ***	0,000	0,191	1,000 ***
<i>6Pgd-1</i>	0,000	0,066	1,000 ***	0,116	0,158	0,261 ***	0,067	0,119	0,437 ***
<i>6Pgd-2</i>	0,233	0,438	0,458 ***	0,259	0,480	0,458 ***	0,200	0,631	0,682 ***
<i>Pgi-1</i>	0,067	0,682	0,901 ***	0,170	0,651	0,738 ***	0,096	0,622	0,844 ***
<i>Pgi-2</i>	0,100	0,413	0,754 ***	0,152	0,674	0,774 ***	0,089	0,405	0,780 ***
<i>Pgm-2</i>	0,033	0,033	-0,017 ns	0,170	0,265	0,358 ***	0,178	0,199	0,104 ***
<i>Rbc</i>	0,133	0,608	0,777 ***	0,196	0,663	0,702 ***	0,141	0,488	0,711 ***
Mitjana	0,124	0,285		0,137	0,302		0,100	0,305	

La conformitat amb l'equilibri Hardy-Weinberg s'ha calculat amb l'anàlisi xi-quadrat: ns $P \geq 0.05$,

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Distribució de la diversitat genètica: En genètica de poblacions s'utilitzen dos grans tipus de paràmetres per a mesurar la distribució de la diversitat genètica dins i entre les poblacions d'espècies vegetals. El primer gran grup de paràmetres són els estadístics de diversitat gènica de Nei (1973), que són també els més utilitzats (taula 13). En *S. farrenyi*, la diversitat intrapoblacional (H_S) desprèn un valor molt alt (0,297), que representa el 96 % de la diversitat total de l'espècie ($H_T = 0,310$). La diversitat interpoblacional (D_{ST}) representa per tant el 4 % restant (0,013). El coeficient de diferenciació gènica (G_{ST}) és també molt petit (0,041), i el flux gènic (N_m), estimat a partir del valor de G_{ST} , ens dóna un valor de 5,85 migrants per generació, que ens indica un veritable intercanvi genètic entre les poblacions. De fet, un valor de $N_m = 1.0$ és suficient per contrarestar la divergència resultant d'un procés de deriva genètica (Wright, 1951).

El segon gran grup de paràmetres són els coeficients d'endogàmia de Wright (1965) (taula 14), encara que l'únic paràmetre que realment indica distribució de la diversitat genètica és F_{ST} . El valor que obtenim de F_{ST} és molt baix (0.033), el que ens indica molt poca divergència entre les poblacions de *S. farrenyi*. F_{IT} i F_{IS} donen valors elevats i positius (0,592 i 0,606 respectivament), el que es tradueix en un excés d'homozigots a nivell d'espècie i dins les poblacions.

TAULA 13. DISTRIBUCIÓ DE LA DIVERSITAT GENÈTICA DINS I ENTRE POBLACIONS DE *S. FARRENYI*

Locus	H_T	H_S	D_{ST}	G_{ST}
<i>Adh</i>	0,141	0,128	0,013	0,095
<i>Dia-1</i>	0,240	0,232	0,008	0,034
<i>Dia-2</i>	0,343	0,327	0,017	0,048
<i>Aat</i>	0,005	0,005	0,000	0,000
<i>Idh</i>	0,436	0,432	0,005	0,011
<i>Mdh-1</i>	0,223	0,217	0,006	0,028
<i>Mdh-3</i>	0,133	0,128	0,005	0,036
<i>Mdh-4</i>	0,166	0,164	0,001	0,009
<i>6Pgd-1</i>	0,114	0,114	0,000	0,001
<i>6Pgd-2</i>	0,546	0,517	0,030	0,055
<i>Pgi-1</i>	0,665	0,651	0,014	0,021
<i>Pgi-2</i>	0,542	0,497	0,045	0,083
<i>Pgm-2</i>	0,178	0,167	0,011	0,061
<i>Rbc</i>	0,608	0,586	0,022	0,036
Mitjana	0,310	0,297	0,013	0,041
Error estàndard	0,057	0,054	---	---

H_T : diversitat total de l'espècie; H_S : diversitat intrapoblacional; D_{ST} : diversitat interpoblacional; G_{ST} : coeficient de diferenciació gènica.

TAULA 14. ESTADÍSTICA F DE TOTS ELS LOCI POLIMÒRFICS DE *S. FARRENYI*

Locus	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}
<i>Adh</i>	0,061	0,071	0,128
<i>Dia-1</i>	0,100	0,028	0,126
<i>Dia-2</i>	0,333	0,038	0,358
<i>Aat</i>	-0,007	0,005	-0,002
<i>Idh</i>	0,651	0,013	0,656
<i>Mdh-1</i>	0,154	0,024	0,174
<i>Mdh-3</i>	1,000	0,030	1,000
<i>Mdh-4</i>	0,963	0,011	0,964
<i>6Pgd-1</i>	0,463	0,006	0,466
<i>6Pgd-2</i>	0,550	0,042	0,569
<i>Pgi-1</i>	0,828	0,020	0,832
<i>Pgi-2</i>	0,770	0,062	0,784
<i>Pgm-2</i>	0,231	0,047	0,268
<i>Rbc</i>	0,730	0,030	0,738
Mitjana	0,592	0,033	0,606

F_{IS} : índex de fixació intrapoblacional; F_{ST} : índex de fixació interpoblacional; F_{IT} : índex de fixació total.

Identitats i distàncies genètiques: En el nostre estudi hem calculat tres paràmetres, la identitat genètica de Nei (I) (Nei, 1978), la similaritat genètica de Rogers (S) (Rogers, 1972) i la distància genètica de Nei (D) (Nei, 1972). Tant I (mitjana de $I = 0,982$, interval de valors: 0,973-0,987) com S (mitjana de $S = 0,897$, interval de valors: 0,879-0,901) donen valors força alts (taula 15), tal com s'espera per poblacions conespecífiques (mitjana de 0,950 i interval entre 0,900 i 1) (Gottlieb, 1981; Crawford, 1983; Membrives, 2000). Lògicament els valors de D (taula 16) són molt baixos (mitjana de $D = 0,018$, interval de valors: 0,013-0,027). Els valors de I , S i D concorden amb els baixos nivells de diversitat genètica trobats entre poblacions ($D_{ST} = 0,013$). La gran proximitat geogràfica de les tres poblacions entre sí (les dues més distants tant sols es troben a 2,9 quilòmetres) referma aquesta hipòtesi de semblança genètica entre les poblacions. El dendrograma resultant de l'anàlisi UPGMA a partir de I (fig. 27) ens mostra que les dues poblacions més emparentades són Ses Estenedors i Es Camallerús, que també són les més properes geogràficament (tan sols estan separades 500 metres).

TAULA 15. MATRIU DE LA IDENTITAT GENÈTICA DE NEI (1978)(PER SOBRE LA DIAGONAL) I DE LA SIMILARITAT GENÈTICA DE ROGERS (1972)(PER SOTA LA DIAGONAL) ENTRE POBLACIONS DE *S. FARRENYI*

Poblacions	SES	SCM	EBP
SES	---	0,987	0,986
SCM	0,912	---	0,973
EBP	0,901	0,879	---

TAULA 16. DISTÀNCIA GENÈTICA DE NEI (1972) ENTRE POBLACIONS DE *S. FARRENYI*

Poblacions	SES	SCM	EBP
SES	---		
SCM	0,013	---	
EBP	0,014	0,027	---

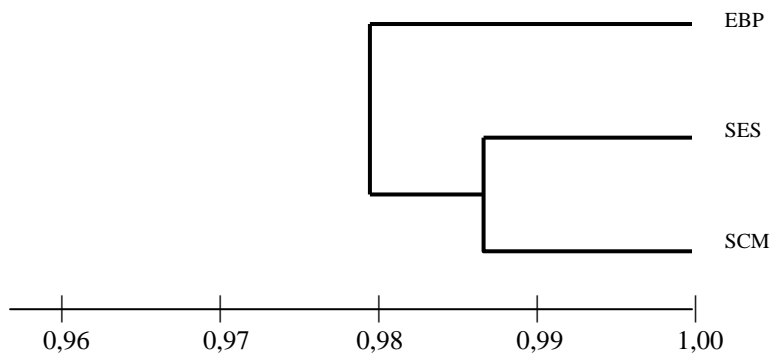


FIG. 27. Dendrograma resultent de l'anàlisi UPGMA basat en la identitat genètica de Nei (1978) de les poblacions de *S. farrenyi*.
 Percentatge de desviació estàndard = 0,657
 Correlació cofenètica = 0,552

Divergència entre subpoblacions: Per tal d'avaluar el grau i els patrons d'una suposada estructuració genètica de les poblacions de *S. farrenyi* en subpoblacions, tal com s'ha comentat abans, hem realitzat l'anàlisi jeràrquica de F_{ST} mitjançant el programa BIOSYS-1. Dita jerarquia ha consistit en dividir cadascuna de les tres poblacions en les suposades subpoblacions sobre el terreny. D'aquesta manera, la població d'Es Bol d'Es Prim s'ha dividit en 6 subpoblacions, Es Camallerús en 4 i Ses Estenedors, donat el nombre d'efectius tant reduït, les petites dimensions que té i la seva homogeneïtat, no s'ha cregut convenient subdividir-la. Tal i com es pot veure a la taula 17, la proporció més gran de divergència (F_{XY}) és deguda a la que es produeix entre subpoblacions dins les poblacions ($F_{XY} = 0,045$) i una proporció molt més petita és la que es dona entre poblacions respecte el total ($F_{XY} = 0,015$). És a dir, que tot i que hi ha molt poca divergència entre poblacions ($F_{ST} = 0,033$), aquesta és deguda majoritàriament a diferències entre subpoblacions (aproximadament el 75 %) que no pas a diferències entre les pròpies poblacions.

TAULA 17. ANÀLISI JERÀRQUICA DE F_{ST} EN SESELI FARRENYI. COMPONENTS DE VARIANÇA I ESTADÍSTICA F COMBINADA ENTRE LOCI

Comparació			Component de varianza	F_{XY}
X		Y		
Subpoblació	—	Població	0,19524	0,045
Subpoblació	—	Total	0,26205	0,060
Població	—	Total	0,06681	0,015

Si realitzem una anàlisi més acurada de la identitat genètica de Nei (I) i de la distància genètica de Nei (D), en base a una estructuració per subpoblacions, I mostra uns valors força elevats (mitjana de $I = 0,970$, interval de valors: 0,936-0,994) mentre que els valors de D (taula 18) són molt baixos (mitjana de $D = 0,030$, interval de valors: 0,006-0,066). Les subpoblacions més pròximes segons I són SCM1 i SCM3 ($I = 0,994$), mentre les menys *idèntiques* són EBP4 i SCM4 ($I = 0,936$). Anàlogament, les subpoblacions menys distants genèticament són SCM1 i SCM3 ($D = 0,006$), mentre les més distants són també EBP4 i SCM4 ($D = 0,066$). El dendrograma resultant de l'anàlisi UPGMA a partir de I (fig. 28) situa com a molt properes a tres subpoblacions d'Es Bol d'Es Prim, EBP1, EBP2 i EBP3 (mitjana de $I = 0,988$) i a tres subpoblacions d'Es Camallerús, SCM1, SCM3 i SCM4 (mitjana de $I = 0,992$). Hi ha un *cluster* que també emparenta en gran mesura les 3 subpoblacions restants d'Es Bol d'Es Prim, EBP4, EBP5 i EBP6 (mitjana de $I = 0,984$). Aquests tres *clusters* esmentats no ens sorprenen gens, puix que en els tres casos són subpoblacions geogràficament molt properes. Sí que és més sorprenent que el dendrograma situï com a molt properes genèticament dues subpoblacions relativament allunyades entre sí, SCM2 i Ses Estenedors (0,450 km), que a més genèticament queden més a prop de les subpoblacions d'Es Bol d'Es Prim que respecte a les d'Es Camallerús, quan ambdues (SCM2 i SES) són més properes a aquestes últimes. Hem dut a terme el test de Mantel (1967), que permet discernir si els elements de dues matrius simètriques presenten correlació, entre els valors d'identitat genètica (I) i les distàncies geogràfiques entre les subpoblacions (taula 19). Obtenim un resultat de $r = -0,56$, del que se'n pot derivar que no existeix una correlació significativa entre la variabilitat genètica i la distribució geogràfica de les subpoblacions. Sí es pot afirmar però que les subpoblacions més properes són més semblants isoenzimàticament que les més allunyades en el sentit que $r \neq 0$.

TAULA 18. MATRIU DE LA DISTÀNCIA GENÈTICA DE NEI (1978)(PER SOBRE LA DIAGONAL) I DE LA IDENTITAT GENÈTICA DE NEI (1978)(PER SOTA LA DIAGONAL) ENTRE SUBPOBLACIONS DE *S. FARRENYI*

Subpoblacions	EBP1	EBP2	EBP3	EBP4	EBP5	EBP6	SES	SCM1	SCM2	SCM3	SCM4
EBP1	---	0,011	0,013	0,028	0,046	0,027	0,027	0,029	0,034	0,042	0,054
EBP2	0,989	---	0,012	0,021	0,034	0,016	0,013	0,025	0,028	0,045	0,055
EBP3	0,987	0,988	---	0,014	0,029	0,013	0,014	0,016	0,021	0,033	0,048
EBP4	0,972	0,979	0,986	---	0,011	0,017	0,025	0,038	0,040	0,053	0,066
EBP5	0,955	0,967	0,972	0,989	---	0,019	0,030	0,035	0,048	0,057	0,048
EBP6	0,973	0,984	0,987	0,983	0,981	---	0,027	0,038	0,041	0,065	0,065
SES	0,974	0,987	0,986	0,975	0,971	0,973	---	0,008	0,018	0,028	0,026
SCM1	0,972	0,975	0,984	0,963	0,965	0,963	0,992	---	0,011	0,006	0,008
SCM2	0,967	0,973	0,979	0,961	0,953	0,960	0,982	0,989	---	0,028	0,036
SCM3	0,958	0,956	0,967	0,948	0,944	0,937	0,972	0,994	0,973	---	0,009
SCM4	0,948	0,947	0,953	0,936	0,953	0,937	0,974	0,992	0,965	0,991	---

TAULA 19. MATRIU DE LA IDENTITAT GENÈTICA DE NEI (1978)(PER SOBRE LA DIAGONAL) I DE LA DISTÀNCIA GEOGRÀFICA* (PER SOTA LA DIAGONAL) ENTRE SUBPOBLACIONS DE *S. FARRENYI*

Subpoblacions	EBP1	EBP2	EBP3	EBP4	EBP5	EBP6	SES	SCM1	SCM2	SCM3	SCM4
EBP1	---	0,989	0,987	0,972	0,955	0,973	0,974	0,972	0,967	0,958	0,948
EBP2	0,050	---	0,988	0,979	0,967	0,984	0,987	0,975	0,973	0,956	0,947
EBP3	0,075	0,037	---	0,986	0,972	0,987	0,986	0,984	0,979	0,967	0,953
EBP4	0,135	0,090	0,055	---	0,989	0,983	0,975	0,963	0,961	0,948	0,936
EBP5	0,135	0,090	0,065	0,040	---	0,981	0,971	0,965	0,953	0,944	0,953
EBP6	0,100	0,060	0,045	0,050	0,037	---	0,973	0,963	0,960	0,937	0,937
SES	3,150	3,125	3,125	3,075	3,075	3,100	---	0,992	0,982	0,972	0,974
SCM1	2,850	2,825	2,800	2,775	2,775	2,800	0,425	---	0,989	0,994	0,992
SCM2	2,850	2,825	2,800	2,750	2,750	2,775	0,450	0,037	---	0,973	0,965
SCM3	2,800	2,775	2,775	2,750	2,700	2,750	0,525	0,100	0,075	---	0,991
SCM4	2,775	2,750	2,750	2,700	2,675	2,725	0,537	0,137	0,115	0,075	---

*La distància geogràfica està expressada en km.

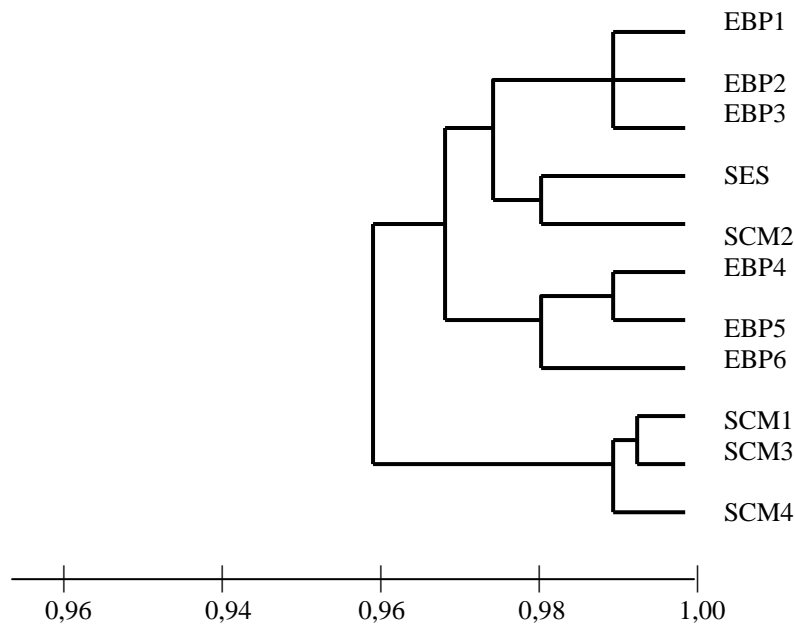


FIG. 28. Dendrograma resultant de l'anàlisi UPGMA basat en la identitat genètica de Nei (1978) de les subpoblacions de *S. farrenyi*.
 Percentatge de desviació estàndard = 1,238
 Correlació cofenètica = 0,644

5. DISCUSSIÓ

Diversitat genètica en *S. farrenyi*: En els últims anys hi ha hagut diversos intents de realitzar prediccions dels nivells i distribució de la diversitat genètica en espècies vegetals, partint de la literatura que existeix sobre genètica de poblacions. Cada cop més però, s'evidencia que la proporció d'espècies vegetals de les quals es pot predir la seva variabilitat genètica mitjançant unes quantes generalitats és relativament petita (Hamrick i Godt, 1996). Aquest fenomen s'ha detectat també a nivell de les espècies endèmiques, on en moltes ocasions la diversitat genètica que trobem s'allunya molt de la que s'espera a priori. És ben conegut el recull de dades que van fer Hamrick i Godt (1990), en base a la informació disponible publicada fins a la data sobre diversitat isoenzimàtica de plantes. Aquests autors van classificar les espècies vegetals segons vuit característiques (el gran grup filètic, el cicle vital, l'abast geogràfic, la distribució regional, el sistema reproductiu, el tipus de dispersió de les granes, el tipus de reproducció –sexual o asexual– i la fenologia). Les dues característiques que més interès presenten en el camp de la biologia de la conservació, són l'abast geogràfic i el sistema reproductiu, puix que són les que proporcionen un grau més alt de variació de la diversitat genètica (Hamrick i Godt, 1990). Respecte a la primera, les espècies de distribució àmplia tendeixen a mostrar nivells de diversitat més alts que les espècies de

distribució més restringida, com ara les endèmiques. Si atenem al sistema reproductiu, les espècies al·lògames tenen més alta diversitat genètica que les autògames o les de tipus mixt. Dins de les al·lògames, les espècies amb més diversitat són les anemòfiles. Ben poc coneixem de les característiques reproductives de *S. farrenyi* en el moment de redactar aquesta memòria, però atenent a la distribució geogràfica tant restringida que presenta aquest tàxon, ens sorprenen els valors tant alts que presenten els paràmetres descriptors bàsics de diversitat genètica (mitjana de les tres poblacions: $P = 83,3 \%$, $A = 3,0$ i $H_e = 0,297$). Els valors mitjans de diversitat genètica per espècies endèmiques són, segons el recull de Hamrick i Godt (1990), molt baixos ($P = 26,3 \%$, $A = 1,39$ i $H_e = 0,063$). És poc comú que espècies *rars* o endèmiques posseeixin alts nivells de variabilitat genètica (Ranker *et al.*, 1994; Lewis i Crawford, 1995; Smith i Pham, 1996), tot i això hi ha casos d'endemismes d'àrea restringida a la regió mediterrània occidental que mostren nivells de diversitat genètica força elevats, com són els casos de *Delphinium bolosii* (Bosch *et al.*, 1998), *Petrocoptis montsicciana* (Simon *et al.*, 1999) i *Antirrhinum microphyllum* (Torres, 1999). La mida efectiva de les poblacions, i sobretot la història evolutiva d'un tàxon (que hagi sofert per exemple algun coll d'ampolla) que difícilment pot ser desxifrada, poden ser les causes de la variació dels nivells de diversitat genètica entre espècies endèmiques (Williamson i Werth, 1999).

Generalment s'assumeix que poblacions grans d'espècies vegetals mantenen nivells més alts de diversitat genètica que poblacions petites (Wright, 1931; Kimura i Crow, 1964). Encara que moltes espècies endèmiques estan depauperades genèticament a causa de la seva reduïda mida poblacional, sembla massa agosarat assumir-ho com una característica general dels endemismes (Stebbins, 1980; Griggs i Jain, 1983; Nickrent i Wiens, 1989; Barrett i Kohn, 1991). Les espècies endèmiques poden arribar a la seva *habitual* depauperació genètica a través de diferents vies (Barrett i Kohn, *l.c.*): passant en algun moment per una mida poblacional molt petita (que pot ser conseqüència d'un coll d'ampolla o d'un efecte fundador), sofrint selecció natural per adaptació a un medi molt concret i homogeni, o per una combinació d'aquests factors. El fet que una determinada població sofreixi durant un període més o menys llarg de temps una petita mida poblacional desemboca en una pèrdua d'al·lels (deriva genètica), que produeix una disminució en P , A i A_p . L'heterozigosi també disminueix però en menor escala (Barrett i Kohn, *l.c.*). La població de Ses Estenedors, que compta amb 90 individus, presenta uns índexs de polimorfisme (P , A i A_p) més baixos respecte les altres dues poblacions, ambdues amb un tamany poblacional molt superior. Les diferències de diversitat, tot i ser molt minses, poden ser degudes a la diferent mida poblacional, però també les podem atribuir a d'altres causes. La primera és que Ses Estenedors s'hagi originat per un efecte fundador a partir d'individus d'una de les altres dues poblacions, probablement a partir d'Es Camallerús (veure fig. 27). Una altra possibilitat és que Ses Estenedors sigui un relict d'una població antigament més àmplia que està sofrint un coll d'ampolla (la seva mida poblacional va ser estimada entorn als 500 individus per Molero i Pujadas, 1979), o fins i tot en algun moment formés part de la població d'Es Camallerús, molt propera geogràficament. En aquest darrer cas s'hauria d'interpretar com a resultat de la fragmentació de la població d'Es Camallerús.

Els valors d'heterozigosi observada (H_o mitjana de les tres poblacions = 0,120) són molt inferiors als de l'heterozigosi esperada (H_e mitjana de les tres poblacions = 0,297) en *S. farrenyi*. La causa més factible per explicar aquest excés d'homozigots, que té una extensió similar en les tres poblacions que es coneixen del tàxon, és un excés de consanguinitat o endogàmia. L'endogàmia comporta una preferència dels individus a encreuar-se amb d'altres genèticament similars, bé a causa del sistema reproductiu d'aquell tàxon (l'espècie sigui autocompatible i autògama, estricta o facultativa), bé per la subdivisió d'una població en subunitats petites dins de les quals els individus no tenen altra elecció que encreuar-se entre ells (estructuració en subpoblacions) o per una dispersió limitada de pol·len i granes. El test xi-quadrat realitzat en tots els loci polimòrfics de les tres poblacions (39 tests en total) desprèn un resultat de 11 loci pròxims a les proporcions Hardy-Weinberg i 28 loci que exhibeixen deficiència d'heterozigots. Quan una població és endògama, es produeix un augment de les proporcions d'homozigosi que sempre afecta a tots els loci de la població per igual. Això ens porta a pensar que les deficiències d'heterozigots en els 28 loci no es puguin explicar per una situació "intensa" d'endogàmia, atès que aquesta afectaria a tots els loci (Williamson i Werth, 1999). Tal i com també proposen Williamson i Werth (*l.c.*), aquest fet pot explicar-se per una estructuració de les poblacions en subpoblacions o *veinatges* genètics (en l'espai o en el temps), que seria la responsable de les diferències detectades entre loci. Aquesta deficiència d'heterozigots també es pot observar en els coeficients d'endogàmia de Wright ($F_{IS} = 0,592$ i $F_{IT} = 0,606$)

Distribució de la diversitat genètica: Les espècies d'àrea de distribució àmplia mantenen uns nivells de diversitat genètica dins les poblacions superiors als de les endèmiques (Hamrick i Godt, 1990). La magnitud de l'àrea de distribució d'una espècie en canvi no juga un paper determinant en la distribució de la diversitat genètica entre poblacions. La diversitat intrapoblacional en les espècies d'àmplia distribució i les endèmiques van en la mateixa direcció ($G_{ST} = 0,210$ i $0,248$, respectivament) (Hamrick i Godt, 1990). El valor trobat de G_{ST} en *S. farrenyi* és molt menor al reportat en espècies endèmiques ($G_{ST} = 0,041$), el que indica que existeix un elevat flux gènic ($N_m = 5,85$) entre les tres poblacions que no es veu contrarrestat pel clàssic aïllament que pateixen les poblacions d'espècies endèmiques. Cal recordar que el flux de gens és produït a través de la pol·linització i de la dispersió de les granes. Si les distàncies de dispersió del pol·len i les granes són importants, i no hi ha cap barrera geogràfica que impedeixi aquest flux de material genètic, la divergència entre poblacions hauria de ser mínima. En el moment de la redacció d'aquesta memòria es coneix ben poc del sistema reproductiu de *S. farrenyi*. Sabem quin tipus de pol·linització té l'espècie –entomòfila– però no sabem si és autògama o al·lògama. Tampoc es coneix el tipus de dispersió que sofreixen les granes. La pol·linització la realitzen formigues i petits insectes que, per les seves característiques, no permeten una dispersió del pol·len a gran distància (Bosch i Rovira, com. pers.). Tot sembla indicar que l'elevat valor de N_m sigui conseqüència d'un alt grau de dispersió de les granes, prou factible si es té en compte la freqüència i la intensitat amb què bufa el vent al cap de Creus (*cf.* punt 1.3.2.1.). Els valors de les identitats genètiques refermen aquesta tesi, indicant un molt petit grau de divergència entre les poblacions.

McCauley *et al.* (1996), analitzant la distribució de la variació genètica dels gens nuclears dins les poblacions de *Silene alba*, fan una classificació de les espècies vegetals en quatre categories respecte a les distàncies de dispersió del pol·len i les granes: 1) distàncies elevades de dispersió del pol·len i de les granes, 2) distàncies petites de dispersió de pol·len i granes, 3) alta dispersió de pol·len i baixa dispersió de granes, i 4) baixa dispersió de pol·len i alta dispersió de granes. *S. farrenyi* sembla encaixar dins la quarta categoria on, segons els autors, les conseqüències de la dispersió de pol·len i de llavors dependrien del sistema de reproducció de la planta. Sigui quin sigui aquest, una dispersió baixa de pol·len implica un alt percentatge d'endogàmia per creuaments forçosos freqüents entre veïns propers que estan emparentats genèticament, el que provoca un agrupament espacial de genotips similars i comporta una desviació de l'equilibri Hardy-Weinberg. Aquest efecte, però, es veu compensat per la dispersió extensiva de les granes, que redueix la probabilitat de que dos individus que es creuin estiguin emparentats genèticament. Així doncs, l'estructuració en subpoblacions genètiques *espacials* conseqüència de la baixa dispersió de pol·len es veu atenuada per la dispersió a llarga distància de les granes. D'aquí se'n pot derivar que, tot i que la majoria de loci mostren un excés d'heterozigots fruit del predomini dels creuaments entre individus del mateix veïnatge, una petita minoria està en equilibri Hardy-Weinberg (taula 12), pels creuaments entre individus allunyats genèticament a causa de la dispersió de granes pel vent. Aquests últims però, han de tenir un pes específic prou important per explicar l'alt valor de N_m . Cal tenir en compte també que, partint de les dades de què disposem sobre el cicle biològic de l'espècie, únicament una minoria dels individus de *S. farrenyi* floreix i fructifica cada any (en un percentatge que pot anar entre el 10 i el 25 %, segons hem pogut comprovar). Això comporta que tan sols s'encreuen els individus que comparteixen fenologia, establint-se veïnatsges o subpoblacions genètiques *temporals*, fet detectat anteriorment en *Apiaceae* (P. Arús, com. pers.). Si es vol afinar en el desxiframent d'aquesta estructura genètica subpoblacional, en la que confluirien les components espacial i temporal, potser caldria plantejar-se un mostreig i una anàlisi isoenzimàtica més detallada dels individus que es creuen cada any entre sí. L'anàlisi jeràrquica de F_{ST} (taula 17) recolza numèricament l'estructuració subpoblacional de les poblacions de *S. farrenyi*.

Els valors de D_{ST} i F_{ST} van també en concordància amb N_m , indicant que la gran majoria de la variabilitat genètica és a dins de les poblacions i no entre les poblacions. Resultats similars els obté Torres (1999) amb *Antirrhinum microphyllum* ($D_{ST} = 0,013$, $G_{ST} = 0,026$, $F_{ST} = 0,054$, $N_m = 9,4$). La identitat genètica, la similaritat genètica i la distància genètica entre poblacions no fan altra cosa que corroborar aquests resultats (mitjana de $I = 0,982$, mitjana de $S = 0,897$ i mitjana de $D = 0,018$). A escala subpoblacional, tornem a trobar que la diferenciació genètica entre subpoblacions és molt minsa (mitjana de $I = 0,970$, mitjana de $D = 0,030$) i no ens resulta gens estrany per tant que amb el test de Mantel no trobem cap correlació entre les distàncies geogràfiques i les identitats genètiques entre subpoblacions. És probable que originàriament hi hagués una única població de *S. farrenyi* que recentment s'hauria fragmentat en dues o les tres unitats actuals, donada la poca diferenciació genètica que existeix entre les poblacions. Sembla poc factible que les poblacions d'Es Camallerús i

Es Bol d'Es Prim derivin una de l'altra, doncs ambdues presenten al·lels privats. Com s'ha apuntat anteriorment, sí que sembla factible que Ses Estenedors tingui el seu origen en la població d'Es Camallerús. Els dendrograma de poblacions ens les agrupa molt estretament i el dendrograma de subpoblacions situa en un mateix clúster Ses Estenedors i una subpoblació d'Es Camallerús (SCM2).

6. IMPLICACIONS PER A LA CONSERVACIÓ

6.1. REVISIÓ DE LA CATEGORIA UICN

Seseli farrenyi es va incloure dins el “Catàleg de plantes vasculares endèmiques, rares o amenaçades de Catalunya” (Sáez *et al.*, 1998) amb la categoria **en perill** (EN: *endangered*). En el darrer esborrany de la “Lista roja de la flora vascular española” (28 de juny de 2000) es torna a classificar l'espècie en la mateixa categoria.

Segons els criteris de la UICN (1994), un tàxon està *en perill* quan no es troba *en perill crític*, però està davant un risc molt alt d'extinció en estat silvestre en un futur pròxim, definit per qualssevol dels següents criteris:

A. Reducció de la població per qualssevol de les formes següents:

1. Reducció per observació, estimació, inferència o sospita d'almenys el 50 % durant els últims 10 anys o 3 generacions, seleccionant la que sigui més llarga, basada en qualssevol dels següents elements:
 - a. observació directa
 - b. un índex d'abundància apropiat pel tàxon
 - c. una reducció de l'àrea d'ocupació, extensió de presència i/o qualitat de l'hàbitat
 - d. nivells d'explotació reals o potencials
 - e. efectes de tàxons introduïts, hibridació, patògens, contaminants, competidors o paràsits.
2. Reducció d'almenys un 50 % projectada o que se sospita que s'assolirà en els pròxims 10 anys o 3 generacions, seleccionant la que sigui més llarga, basada en qualssevol dels punts anteriors excepte el primer.

B. Una extensió de presència estimada menor de 5.000 km² o una àrea d'ocupació estimada menor de 500 km², i estimacions que estan succeint almenys dues de les següents característiques:

1. Severament fragmentat o que només existeix en un màxim de 5 localitats.
2. En declinació contínua, observada, inferida o projectada, per qualssevol dels següents elements:
 - a. extensió de presència
 - b. àrea d'ocupació

- c. àrea, extensió i/o qualitat de l'hàbitat
 - d. nombre de localitats o subpoblacions
 - e. nombre d'individus madurs.
3. Fluctuacions extremes en qualsevol dels següents components:
- a. extensió de presència
 - b. àrea d'ocupació
 - c. nombre de localitats o subpoblacions
 - d. nombre d'individus madurs.
- C. Població estimada inferior a 2.500 individus madurs i qualssevol dels següents elements:
1. En declinació contínua estimada d'almenys un 20 % en un període de 5 anys o en el temps de 2 generacions, seleccionant el que sigui major dels dos.
 2. En declinació contínua, observada, projectada o inferida, en el nombre d'individus madurs i amb una estructura poblacional de qualssevol de les següents formes:
 - a. severament fragmentada
 - b. tots els individus estiguin en una única subpoblació.
- D. Població estimada en un nombre menor de 250 individus madurs.
- E. Una anàlisi quantitativa mostra que la probabilitat d'extinció en estat silvestre és d'almenys el 20 % dins els següents 20 anys o 5 generacions, seleccionant el que sigui major dels dos.

La inclusió de *S. farrenyi* dins la categoria *en perill* es recolza en el compliment de les premisses B1+2c, tant en el "Catàleg de plantes vasculares endèmiques, rares o amenaçades de Catalunya" com en la "Lista roja de la flora vascular española". Les dades que hem obtingut en el nostre estudi confirmen dita classificació (àrea d'ocupació = 1 km², extensió de presència = 0,47 km², nombre total de poblacions = 3, cf. punt 1.3.1.1).

6.2. VALORACIÓ DE LES AMENACES

Tal com s'apunta al punt 1.4., els riscos de conservació que pot sofrir una espècie vegetal poden ser d'origen natural (factors ambientals, evolutius o propis de l'espècie en qüestió) o antròpic. *S. farrenyi* no sembla patir cap tipus d'amenaça d'origen natural de forma imminent, per una sèrie de raons: (1) El nombre d'individus és superior a 500, valor suficientment elevat per minimitzar l'efecte de l'estocasticitat demogràfica (Menges, 1992). (2) Els alts nivells de diversitat genètica que mostren les tres poblacions de l'espècie suposen una alta capacitat de resposta enfront a esdeveniments estocàstics de tipus ecològic o climàtic, i també a la presència de patògens (Torres, 1999).

Respecte a les amenaces derivades de l'activitat humana, l'única que pot repercutir d'alguna manera sobre la salut de les poblacions és el trànsit de persones, atretes per la

bellesa dels paratges del cap de Creus. La població més amenaçada en aquest sentit és Ses Estenedors, ja que al seu través hi passa un sender que condueix al paratge de S'Infern, molt visitat per la cova i la punta que porten el mateix nom. La mida d'aquesta població va ser estimada entorn als 500 individus per Molero i Pujadas (1979), mentre els censos actuals desprenen valors força menors (90 efectius, dades inèdites). El trànsit de persones pot ésser la responsable d'aquesta davallada poblacional, però també pot deure's a factors demogràfics, com ara que la població estigui sofrint un coll d'ampolla. La població d'Es Camallerús també és pròxima a un camí habitualment transitat per pescadors, que de vegades travessen pel mig de la població per apropar-se a la vora de l'aigua (C. Blanché, com. pers.). La població que presenta menys riscos de caràcter antròpic es Es Bol d'Es Prim, a causa de la seva inaccessibilitat, si es manté l'actual xarxa de camins i carreteres del cap de Creus.

A l'hora de finalitzar aquestes línies ha tingut lloc un incendi forestal (agost de 2000) que ha cremat unes 6.000 Ha. al cap de Creus. Tot i que no ha afectat la façana litoral on viu *S. farrenyi*, ha estat una nota d'alerta sobre el perill real que un foc d'aquestes característiques –d'altra banda freqüent a la zona (cf. Franquesa, 1995)– arribi a destruir totalment una, o les tres poblacions.

6.3. MESURES DE CONSERVACIÓ PROPOSADES

6.3.1. CONSERVACIÓ *IN-SITU*

A) Sembla indiscutible que el mecanisme més efectiu i eficient per a conservar una espècie és la **protecció del seu hàbitat natural**. En primer lloc és la forma més econòmica de conservació, i a més és una mesura que permet mantenir els nivells existents de diversitat genètica i les interaccions existents entre l'espècie i l'ecosistema sense detenir el procés evolutiu (Torres, *l.c.*). El manteniment dels nivells de variació genètica, juntament amb la preservació de l'hàbitat, són uns dels principals objectius de molts programes de conservació d'espècies rares o amenaçades (Frankel i Soulé, 1981; Simberloff, 1988). Les tres poblacions de *S. farrenyi* estan situades dins la Reserva Natural Integral (RNI) del Cap de Creus, dins el perímetre del Parc Natural del Cap de Creus. La zona també pertany al Pla d'Espais d'Interès Natural (PEIN), però aquesta és una figura de protecció menys definida. Tot i que la totalitat dels individus estan dins una RNI, és una protecció insuficient donat el caràcter únic de l'espècie en qüestió. Creiem que seria necessària la creació d'una *microreserva botànica* focalitzada cap a la protecció de l'espècie específicament. Aquesta novedosa figura de protecció ja es duu a terme en d'altres Comunitats Autònomes com ara el País Valencià (Decret 218/1994, de 17 d'octubre, de creació de les microreserves vegetals) o a les Illes Canàries (cf. Francisco-Ortega *et al.*, 2000). N'és un bon exemple la població més important en quant a nombre d'individus de *Petrocoptis pardoii*, al País Valencià (fig. 29).



FIG. 29. Placa d'una microreserva de flora al País Valencià.

Si s'hagués de prioritzar la conservació d'alguna de les tres poblacions, la menys interessant és la població de Ses Estenedors, tot i que es tracta de la localitat clàssica de l'espècie. En primer lloc cal dir es troba en franca regressió en quant a nombre d'individus (la mida poblacional actual és de 90 individus), altrament és la menys diversa genèticament i no té cap al·lel privat. La fàcil accessibilitat és un altre factor que no aconsella la seva prioritització a l'hora d'establir un pla de conservació de l'espècie.

La població d'Es Camallerús presenta uns nivells de diversitat genètica lleugerament superiors als de la població d'Es Bol d'Es Prim, i presenta 4 al·lells privats per 2 que en presenta la segona. Però l'accessibilitat d'Es Camallerús i la mida poblacional més petita aconsellen que, si s'ha de crear una microreserva botànica, es faci a Es Bol d'Es Prim. Tot i això creiem que, en tractar-se d'un endemisme de distribució tant limitada, cal fer esforços encaminats a la conservació de totes tres poblacions. La ubicació d'aquestes dins una RNI en el marc d'un Parc Natural ha d'afavorir aquesta tasca, que en altres espècies es veu força complicada perquè la localització de les poblacions és en terrenys no protegits.

La proporció d'al·lells rars amb una freqüència inferior a 0,05 és força alta (22 % a Ses Estenedors, 37 % a Es Camallerús i 34 % a Es Bol d'Es Prim), situació que cal tenir molt en compte des del punt de vista de la conservació perquè una reducció a la mida de les poblacions conduiria a una ràpida pèrdua de riquesa al·lèlica (Torres, *l.c.*).

B) En segon lloc, cal esmentar que seria aconsellable fer **un seguiment regular de l'estat de les poblacions**. Caldria comprovar si la població de Ses Estenedors segueix en regressió en un futur, i si les altres dues poblacions mantenen o no la seva aparent estabilitat demogràfica, així com mantenir el control sobre els percentatges de floració anuals i en particular realitzar l'estudi de la distribució de la diversitat genètica al llarg del temps, durant un període d'almenys 5 anys. En aquest sentit, la recent aprovació del Parc Natural del Cap de Creus, hauria de comportar, al nostre entendre, una prioritització

de les seves actuacions cap a les espècies exclusives del Parc, sobre la conservació de les quals tenen la màxima responsabilitat.

6.3.2. CONSERVACIÓ *EX-SITU*

A) El mètode més senzill i econòmic de conservació *ex-situ* és la recol·lecció de granes i el seu emmagatzemament a llarg termini (**banc de germoplasma**). Sempre és recomanable la distribució de granes a altres bancs de germoplasma, nacionals i internacionals. Actualment, el Laboratori de Botànica de la Facultat de Farmàcia disposa d'una col·lecció de granes de *S. farrenyi* provinents de les tres poblacions existents de l'espècie.

A l'hora de dissenyar una estratègia de recol·lecció de granes per elaborar un banc de germoplasma, la primera qüestió que cal plantejar-se és el nombre de poblacions a mostrejar (Torres, *l.c.*). Hamrick *et al.* (1991) proposa una fórmula per calcular-ho a partir del valor mitjà del coeficient de diferenciació gènica (G_{ST}):

$$n = \ln(1-P) / \ln G_{ST}$$

on n és el nombre de poblacions a mostrejar i P és el percentatge de diversitat gènica que es vol conservar. Quan l'interval de variació de G_{ST} entre els diferents loci és important (com és el cas de *S. farrenyi*), cal utilitzar el valor màxim de G_{ST} . Si apliquem la fórmula en la nostra espècie, considerant que volem conservar el 99 % de diversitat gènica, caldria mostrejar en dues poblacions. Escollirem lògicament les que presenten una major riquesa al·lèlica, Es Camallerús i Es Bol d'Es Prim, que a més són les úniques poblacions amb al·lèls privats.

La segona qüestió és decidir el nombre de plantes per població a mostrejar i el nombre de granes que cal recol·lectar. Les recomanacions varien molt segons els autors, però en general es pot parlar que amb valors baixos de G_{ST} i F_{IS} , poques poblacions i pocs individus són necessaris per preservar els nivells de diversitat gènica (Hamrick *et al.*, *l.c.*). Segons Bengtsson *et al.* (1995) mostres no superiors als 25 individus ja són suficients per representar la variabilitat genètica en una població, en canvi Marshall i Brown (1975) proposen una mida mostral de 50-100 individus. L'abundància d'al·lèls rars però fa necessari un mostratge més ampli de les poblacions, per tal de preservar la capacitat d'evolució d'una espècie (Templeton, 1997). Ara bé, segons Brown i Briggs (1991) i Lawrence *et al.* (1995) l'esforç que suposa mantenir els al·lèls rars en un banc de germoplasma és major que el benefici que proporcionen aquests al potencial evolutiu de l'espècie. Per a Holsinger i Gottlieb (1991) i Lawrence *et al.* (*l.c.*) només cal conservar els al·lèls amb una freqüència $\geq 0,05$. Segons aquest criteri, una mostra de 67 llavors seria suficient per conservar, amb una probabilitat de 0,999, els al·lèls que es troben amb freqüències $\geq 0,05$ (taula 20), suposant un percentatge de germinació del 100 %. Com que aquest percentatge habitualment és inferior a les espècies vegetals, el *Center for Plant Conservation* de Saint Louis (Missouri, EUA) proposa una fórmula per calcular el nombre de llavors a recol·lectar (Torres, *l.c.*):

$$C_p = I (1/T)$$

on C_p és el nombre de llavors a recol·lectar, I és el nombre de granes que volem conservar suposant una taxa de germinació del 100 % i T és la taxa de germinació. En els diferents assajos de germinació amb *S. farrenyi*, s'han obtingut taxes de germinació des del 86,9 % (M. Pont-Guerra, 1999; I. Niubó-Eslava, 1999) fins al 56,2 % trobat per nosaltres (López-Pujol, dades inèdites). Aplicant la fórmula amb la taxa més baixa de germinació, s'hauria de recol·lectar un total de 119 granes.

TAULA 20. MIDA MOSTRAL NECESSÀRIA PER A CONSERVAR ALMENYS UNA CÒPIA DE L'AL·LEL, AMB DIFERENTS PROBABILITATS, SEGONS TORRES (1999)

P (Probabilitat)	Freqüència al·lèlica					
	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,05
0,95	3	4	5	7	15	30
0,99	4	5	7	11	22	45
0,999	6	7	10	16	33	67
0,9999	7	9	13	19	42	86

En el cas de la nostra espècie, cal tenir en compte dos aspectes molt importants a l'hora de realitzar una hipotètica recol·lecció de granes:

- (1) El mostreig dels individus s'hauria de fer de forma lineal a nivell de població, sense diferenciar les diferents subpoblacions geogràfiques, puix que en el nostre estudi no hem trobat al·lells privats a nivell de subpoblació.
- (2) Com que hem detectat en l'espècie una estructuració en subpoblacions temporals (cf. punt 5), en cada període de fructificació de l'espècie caldria fer un mostreig per tal d'abastar el màxim de diversitat genètica, durant diversos anys consecutius.

B) Un segon mètode de conservació ex-situ és el **cultiu d'exemplars** a partir de granes, en diversos jardins botànics com a mesura preventiva enfront a situacions crítiques que sofreixin les poblacions naturals de l'espècie. Aquests individus podrien ser utilitzats per tal d'efectuar eventuais reintroduccions o reforçaments de les poblacions existents. El Servei d'hivernacles i Vivers de la Facultat de Farmàcia de la nostra universitat disposa d'uns 150 individus en testos de *S. farrenyi*, fruit d'una sembra de granes. El Jardí Botànic de Barcelona també ha mantingut durant algun temps individus d'aquesta espècie als seus vivers (J. Molero, com. pers.). El cultiu d'exemplars és un mètode de conservació perfectament factible en *S. farrenyi*, degut a l'elevada taxa de germinació de l'espècie, que varia entre el 56,2 i el 86,9 %.

***III. PETROCOPTIS
MONTSICCIANA***

1. INTRODUCCIÓ

1.1. DESCRIPCIÓ

Petrocoptis montsicciana O. Bolòs & Rivas Martínez, Anales Inst. Bot. Cavanilles 26: 56 (1970).

≡ *Petrocoptis crassifolia* subsp. *montsicciana* (O. Bolòs & Rivas Mart.) O. Bolòs & Vigo, Butll. Inst. Catalana Hist. Nat. 38: 87 (1974)

≡ *Petrocoptis pardoi* subsp. *montsicciana* (O. Bolòs & Rivas Mart.) P. Monts., Bull. Soc. Echange Pl. Vasc Eur. Occid. Bassin Médit. 16: 72 (1976).

HOLOTYPUS: BC 602985

Planta herbàcia perenne, de 10-40 cm d'alçada, bastant robusta i glabra. La base de la tija és llenyosa, de fins a 1 cm de diàmetre. Càudices penjants, amb fulles peciolades i agrupades en falses rosetes. Les fulles basals són oposades, senceres i sense estípules, amb el limbe de 10-12 × 3-5 mm. Fulles caulinars subsèssils, en general agudes, de 9-11 × 3-5 mm. Flors poc nombroses, pentàmeres i hipògines, disposades en cimes dicòtomes terminals. El calze és campanulat, d'una sola peça, de 9-11 (12) mm, i amb 10 nervis, 5 d'ells comissurals. Els pètals són rosats, de 15-18 mm; lígules de la corona de 3-4 mm, denticulades. 10 estams i 5 estils, episèpals. Càpsula unilocular, amb carpòfor, dehiscent per 5 dents episèpals. Llavors de 1,4-1,6 (1,8) mm, amb un estrofíol de 1,5-2 mm, amb pèls filiformes i alguns d'engruixits.



FIG. 1. Planta amb flor de *Petrocoptis montsicciana*.

Molt similar morfològicament parlant és l'espècie *Petrocoptis pardoï* Pau, que tradicionalment s'ha relacionat amb *P. montsicciana*, fins al punt que Mayol (Mayol, 1998; Mayol i Rosselló, 1999) les considera com una mateixa espècie sota una nova denominació, *Silene pardoï* Pau (Mayol & Rosselló) subsp. *pardoï* (cf. punt 1.2.).

Pel que fa a la citogenètica, s'han dut a terme recomptes cromosòmics en la majoria de les espècies del gènere *Petrocoptis*, obtenint sempre $2n = 24$. Es disposa dels recomptes tant de *P. pardoï* (Merxmüller i Grau, 1968; Fernández Casas i Ruiz Rejón, 1974) com de *P. montsicciana* (Fernández Benito, R., 1999).

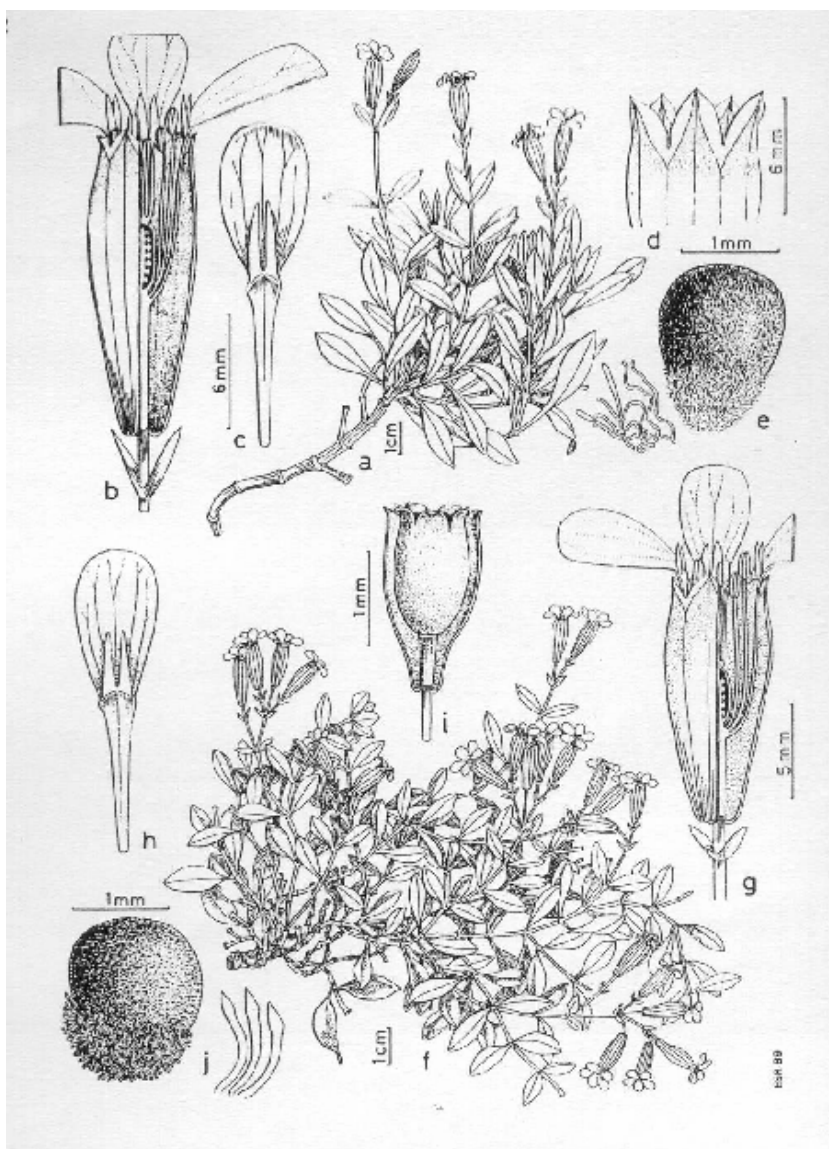


FIG. 2. *P. montsicciana* (a-e) i *P. pardoï* (f-j), segons Montserrat i Fernández Casas (1990).

1.2. SITUACIÓ TAXONÒMICA

Petrocoptis A. Braun ex Endl. (*Caryophyllaceae*) és un petit gènere de casmòfits perennes, endèmics de les muntanyes del nord i nord-est de la Península Ibèrica. Les seves característiques morfològiques i reproductives permeten la seva inclusió dins la subfamília *Caryophylloideae*, tribu *Sileneae* DC.

El gènere *Petrocoptis* fou descrit per primera vegada per Braun (1842), encara que alguns autors anteriors ja havien referenciat alguns tàxons lleugerament diferents de *Lychnis* i *Silene*, encara que els acabaven incloent en algun d'aquests dos gèneres. De fet, *Petrocoptis* s'ha mantingut com un gènere independent respecte a ambdós gèneres pel tipus particular de llavor que presenta, amb un estrofiol de pèls, gens habitual en les cariofil·làcies. El nombre d'espècies incloses dins el gènere així com la seva denominació ha anat variant constantment al llarg dels anys. A Flora Ibèrica (1990) es proposa la inclusió de 9 espècies dins el gènere *Petrocoptis*; Mayol (Mayol, 1998; Mayol i Rosselló, 1999) defensa en canvi la inclusió de les espècies de *Petrocoptis* com a subgènere de *Silene* [*Silene* subgènere *Petrocoptis* (A. Braun ex Endl.) Mayol & Rosselló]. Mayol basa aquesta nova combinació en una sèrie de dades morfològiques (anàlisi de diferents caràcters morfològics en les espècies de *Petrocoptis*) i moleculars [comparació de la regió ITS (Internal Transcribed Space) del DNA ribosòmic entre tàxons de *Petrocoptis*, *Silene*, *Lychnis*, *Cucubalus*, *Agrostemma* i *Uebelinia*]. La mateixa autora referma la seva tesi en el fet que la possessió de llavors amb estrofiol no és un caràcter exclusiu del gènere dins les cariofil·làcies, atès que el gènere *Moehringia* i l'espècie *Silene acaulis* també el presenten (tot i que en aquesta última és residual).

TAULA 1. CLASSIFICACIÓ DE LA FAMÍLIA *CARYOPHYLLACEAE* SEGONS BITTRICH (1993)

CARYOPHYLLACEAE A. L. de Jussieu

- I. Subfam. *Paronychioideae*
- II. Subfam. *Alsinoideae*
- III. Subfam. *Caryophylloideae*
 - 1. Tribu *Cariophylleae*
 - 2. Tribu *Drypideae*
 - 3. Tribu *Sileneae*
 - Silene* L.
 - Lychnis* L.
 - Petrocoptis* A. Braun ex Endl.
 - Cucubalus* L.
 - Agrostemma* L.
 - Uebelinia* Hochst.

Petrocoptis montsicciana fou descrita per primera vegada amb categoria d'espècie per O. Bolòs i Rivas Martínez (1970). Posteriorment, la espècie apareix combinada com

a subespècie, *Petrocoptis crassifolia* subsp. *montsiciana* (O. Bolòs & Rivas Mart.) O. Bolòs & Vigo, tant a la Flora dels Països Catalans (Bolòs i Vigo, 1990), com a la Flora Manual dels Països Catalans (Bolòs *et al.*, 1993) i al *Banc de dades de biodiversitat de Catalunya* (<http://biodiv.bio.ub.es/biocat/homepage.html>). Apareix en canvi com a espècie independent a Flora Ibèrica (Montserrat i Fernández-Casas, 1990). Recentment, Mayol (Mayol, *l.c.*; Mayol i Rosselló, *l.c.*) ha proposat la inclusió de la espècie dins el gènere *Silene* i la unificació d'aquesta amb *Petrocoptis pardoii* Pau, donant lloc a un sol tàxon, *Silene pardoii* subsp. *pardoii*. De fet, les afinitats que hom reconeix entre *P. montsiciana* i *P. pardoii* no són noves, puix que per descriure *P. montsiciana*, O. Bolòs i Rivas Martínez van considerar la mateixa planta que Font i Quer (1898) ja havia anomenat *Petrocoptis pardoii* Pau var. *pauciflora*. Amb posterioritat, Montserrat (1976a, 1976b) també ha combinat *P. montsiciana* com a subespècie de *P. pardoii*, *P. pardoii* subsp. *montsiciana* (O. Bolòs & Rivas Mart.) P. Monts.

TAULA 2. TAXONOMIA SUBGENÈRICA DEL GÈNERE *PETROCOPTIS* SEGONS MONTSERRAT I FERNÁNDEZ CASAS (1990)

***Petrocoptis* A. Braun ex Endl.**

1. *Petrocoptis pyrenaica* (J. Bergeret) A. Braun ex Walpers
 - a. subsp. *pyrenaica*
 - b. subsp. *glaucifolia* (Lag.) P. Monts & Fernández Casas
 2. *Petrocoptis grandiflora* Rothm.
 3. *Petrocoptis hispanica* (Willk.) Pau
 4. *Petrocoptis pseudoviscosa* Fernández Casas
 5. *Petrocoptis crassifolia* Rouy
 6. *Petrocoptis montserratii* Fernández Casas
 7. *Petrocoptis montsiciana* O. Bolòs & Rivas Martínez
 8. *Petrocoptis pardoii* Pau
 9. *Petrocoptis guarensis* Fernández Casas
-

TAULA 3. TAXONOMIA SUBGENÈRICA DEL SUBGÈNERE *PETROCOPTIS* SEGONS MAYOL (MAYOL, 1998; MAYOL I ROSSELLÓ, 1999)

***Silene* subg. *Petrocoptis* (A. Braun ex Endl.) Mayol & Rosselló**

1. *Silene glaucifolia* Lag.
 - a. subsp. *glaucifolia*
 - b. subsp. *pseudoviscosa* (Fern. Casas) Mayol & Rosselló
 2. *Silene laxipruinosa* Mayol & Rosselló
 3. *Silene montserratii* (Fern. Casas) Mayol & Rosselló
 - a. subsp. *montserratii*
 - b. subsp. *crassifolia* (Rouy) Mayol & Rosselló
 4. *Silene pardoii* (Pau) Mayol & Rosselló
 - a. subsp. *pardoii*
 - b. subsp. *guarensis*
-

1.3. CARACTERÍSTIQUES ECOLÒGIQUES

1.3.1. BIOGEOGRAFIA I DISTRIBUCIÓ

1.3.1.1. ÀREA DE DISTRIBUCIÓ DE *PETROCOPTIS MONTSICCIANA* I *P. PARDOI*

Durant la primavera de 1999 i del 2000, s'han realitzat campanyes de camp per a la localització actualitzada de les diferents poblacions de *P. montsicciana*. Les prospeccions s'han portat a terme en diferents zones del pre-Pirineu català i aragonès, de vegades amb l'objectiu de relocalitzar cites preexistents, però en la majoria de les ocasions aquest ha estat la recerca de noves poblacions d'aquesta cariofil·làcia.

Les diferents prospeccions han tingut lloc a la primavera, i no en una altra època de l'any, amb l'objectiu de coincidir aquesta amb l'etapa de floració de la planta. Es tracta de l'estadi on més visible és la planta en el seu hàbitat natural, atès al viu color violat o rosat que presenta la flor. Amb certa freqüència les parets i extraploms on creix l'espècie són inaccessibles, i la localització de poblacions s'ha de realitzar forçosament amb l'ajuda d'uns prismàtics.

Respecte a *P. pardoi*, l'única campanya que vam realitzar va estar encaminada a mostrejar individus d'algunes localitats per a realitzar posteriorment estudis isoenzimàtics, i no a la localització de poblacions. Els estudis de la Generalitat Valenciana (1992, *s.d.*) ja ens descriuen amb gran detall les localitats on es troba *P. pardoi* i també el seu estat de conservació.

En el marc del present treball, s'ha realitzat la cartografia de les poblacions tant de *P. montsicciana* com de *P. pardoi*, detallada per quadrícules UTM de 10 × 10 quilòmetres, sobre els mapes del Servicio Geográfico del Ejército, escala 1:50.000. Els quadrats UTM 1 × 1 km on tenim alguna cita prèvia, sigui bibliogràfica, plec d'herbari o fruit d'una comunicació personal, s'indiquen mitjançant una traçada negra gruixuda al marge de la quadrícula. Les quadrícules on nosaltres hem localitzat alguna població, estiguin citades ja anteriorment o siguem nosaltres els primers en fer-ho, es pinten amb un fons groc fluorescent i amb el marge també negre. La localització precisa de les poblacions es dibuixa en ombrejat de color negre. A l'àrea de distribució de *P. pardoi*, els quadrats UTM 1 × 1 km on hi ha poblacions descrites en les estudis de la Generalitat Valenciana (1992, *s.d.*), s'emmarquen amb una traçada gruixuda de color vermell.

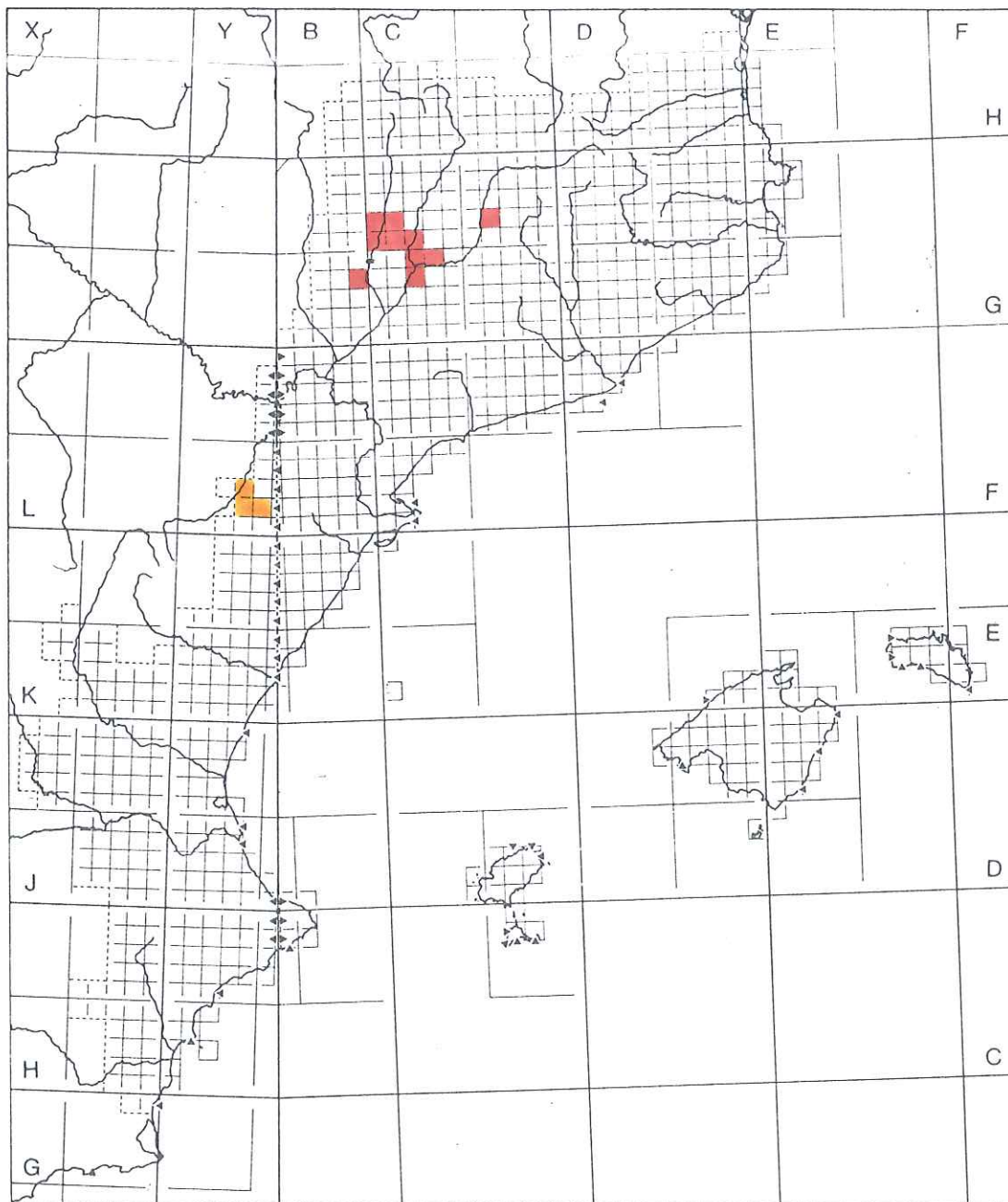


FIG. 3. Mapa dels Països catalans amb reticle UTM (amb els quadrats de 10 × 10 km), segons Bolòs (1985).



Àrea de distribució de *P. montsicciana*. Comprèn les següents quadrícules UTM 10 × 10 km (per ordre alfanumèric):

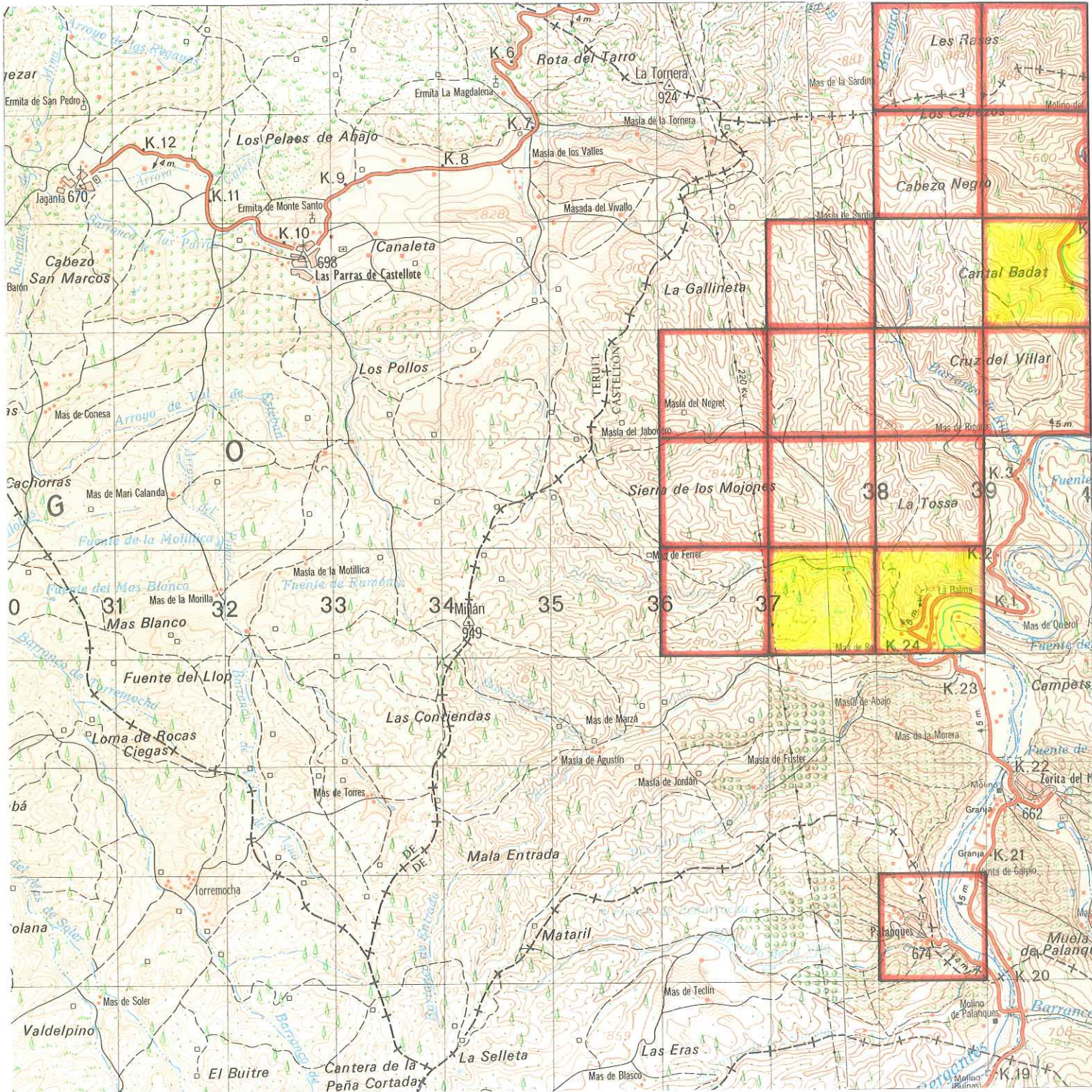
BG 93	CG 23
CG 05	CG 24
CG 06	CG 25
CG 15	CG 34
CG 16	CG 66



Àrea de distribució de *P. pardoi*. Comprèn les següents quadrícules UTM 10 × 10 km (per ordre alfanumèric):

YL 31
YL 32
YL 41

QUADRAT UTM 10 × 10 KM 30TYL31



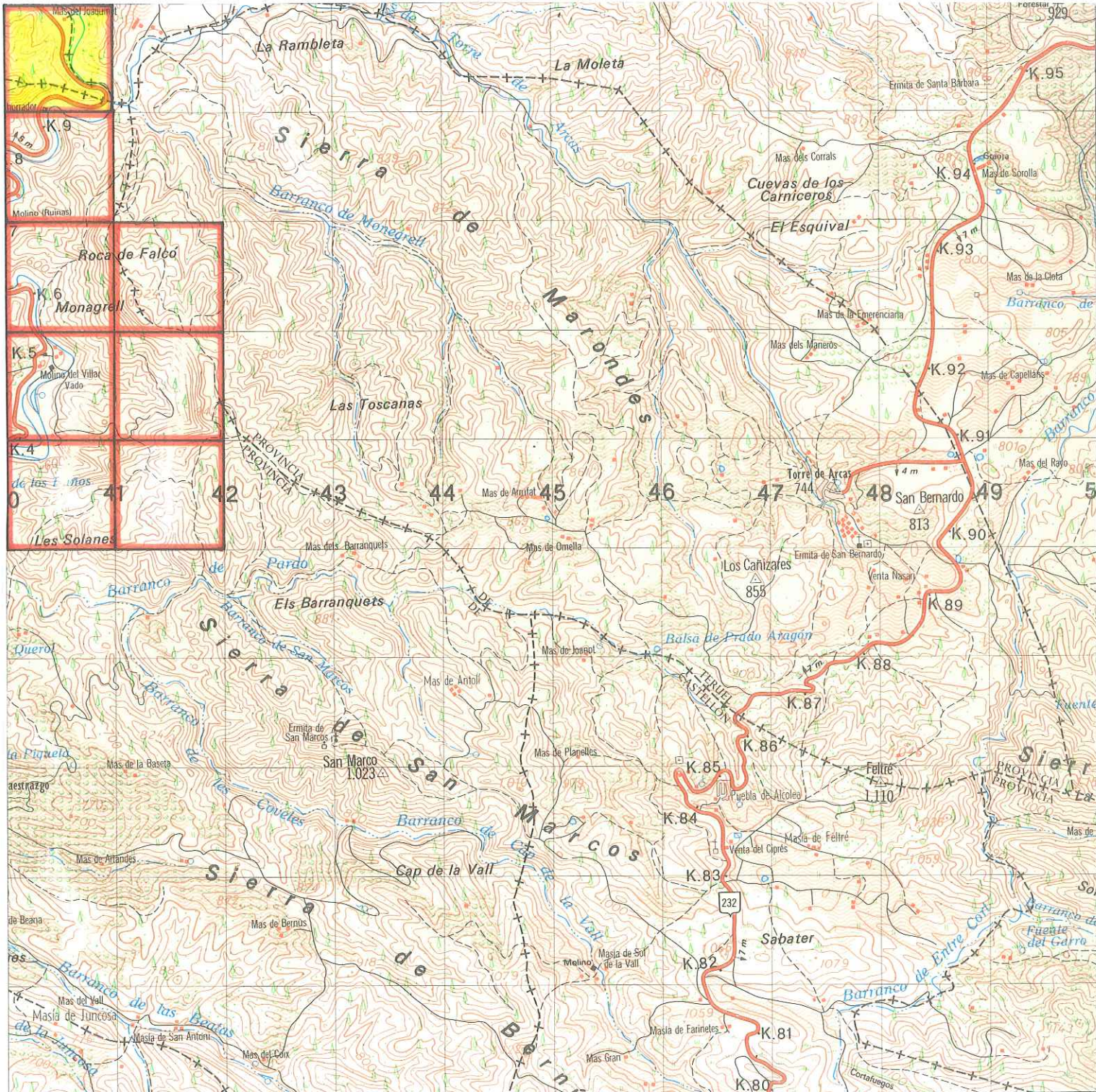
- Quadrat UTM 1×1 km on es referència la planta per: cita bibliogràfica, plec d'herbari o comunicació personal.
- Quadrat UTM 1×1 km on hem detectat presència de la planta (1999-2000).
- Quadrat UTM 1×1 km on trobem les poblacions descrites de *P. pardoii* en els estudis de la Generalitat Valenciana (1992, s.d.).

QUADRAT UTM 10 × 10 KM 30TYL32



- Quadrat UTM 1×1 km on es referència la planta per: cita bibliogràfica, plec d'herbari o comunicació personal.
- Quadrat UTM 1×1 km on hem detectat presència de la planta (1999-2000).
- Quadrat UTM 1×1 km on trobem les poblacions descrites de *P. pardoi* en els estudis de la Generalitat Valenciana (1992, *s.d.*).

QUADRAT UTM 10 × 10 KM 30TYL41



- Quadrat UTM 1×1 km on es referencia la planta per: cita bibliogràfica, plec d'herbari o comunicació personal.
- Quadrat UTM 1×1 km on hem detectat presència de la planta (1999-2000).
- Quadrat UTM 1×1 km on trobem les poblacions descrites de *P. pardoii* en els estudis de la Generalitat Valenciana (1992, s.d.).

QUADRAT UTM 10 × 10 KM 31TBG93



Quadrat UTM 1×1 km on es referència la planta per: cita bibliogràfica, plec d'herbari o comunicació personal.

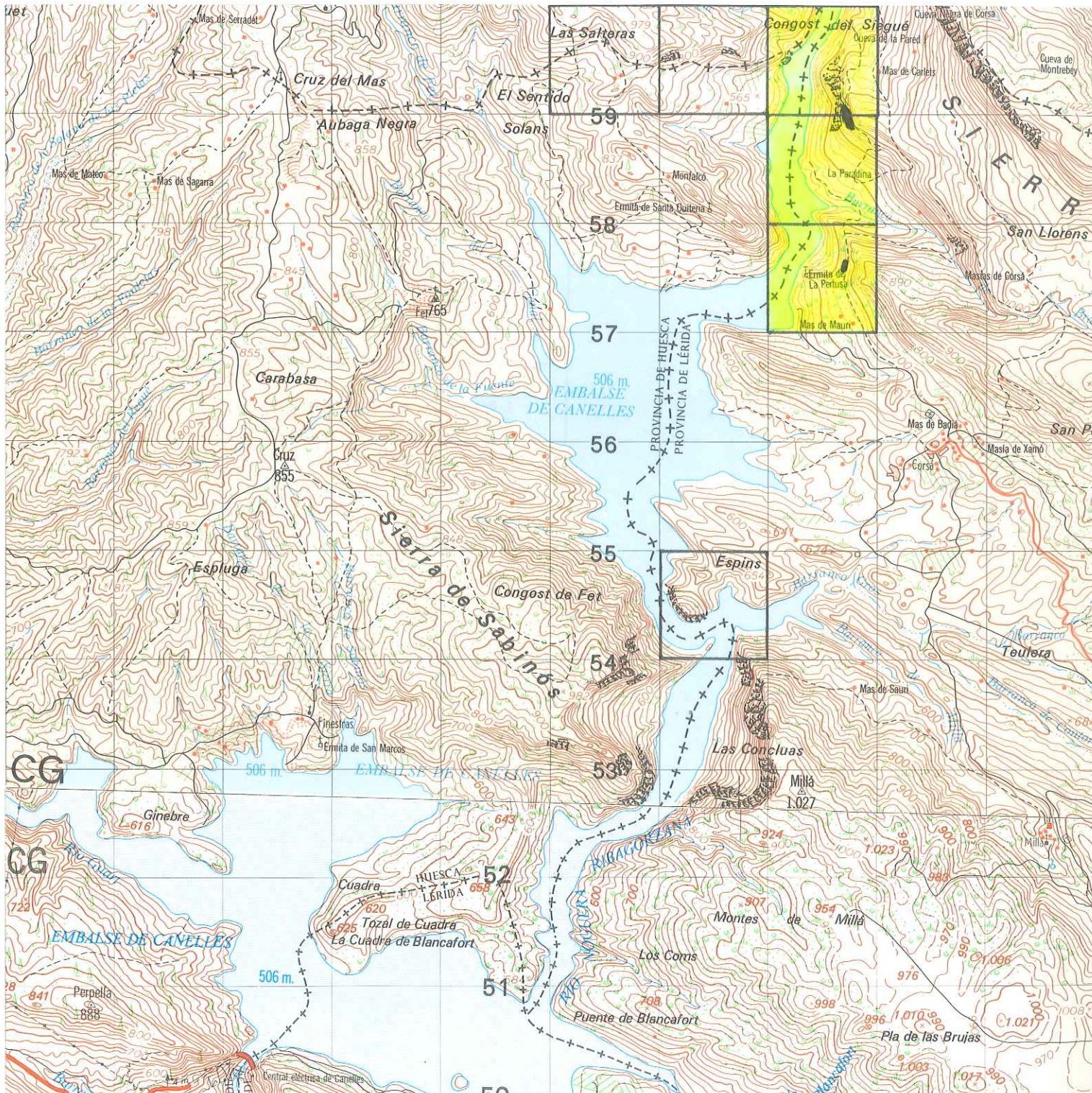


Quadrat UTM 1×1 km on hem detectat presència de la planta (1999-2000).



Poblacions detectades de *P. montsiciana* pel nostre equip (1999-2000).

QUADRAT UTM 10 × 10 KM 31TCG05



Quadrat UTM 1×1 km on es referència la planta per: cita bibliogràfica, plec d'herbari o comunicació personal.



Quadrat UTM 1×1 km on hem detectat presència de la planta (1999-2000).



Poblacions detectades de *P. montsicciana* pel nostre equip (1999-2000).

QUADRAT UTM 10 × 10 KM 31TCG06



Quadrat UTM 1×1 km on es referència la planta per: cita bibliogràfica, plec d'herbari o comunicació personal.

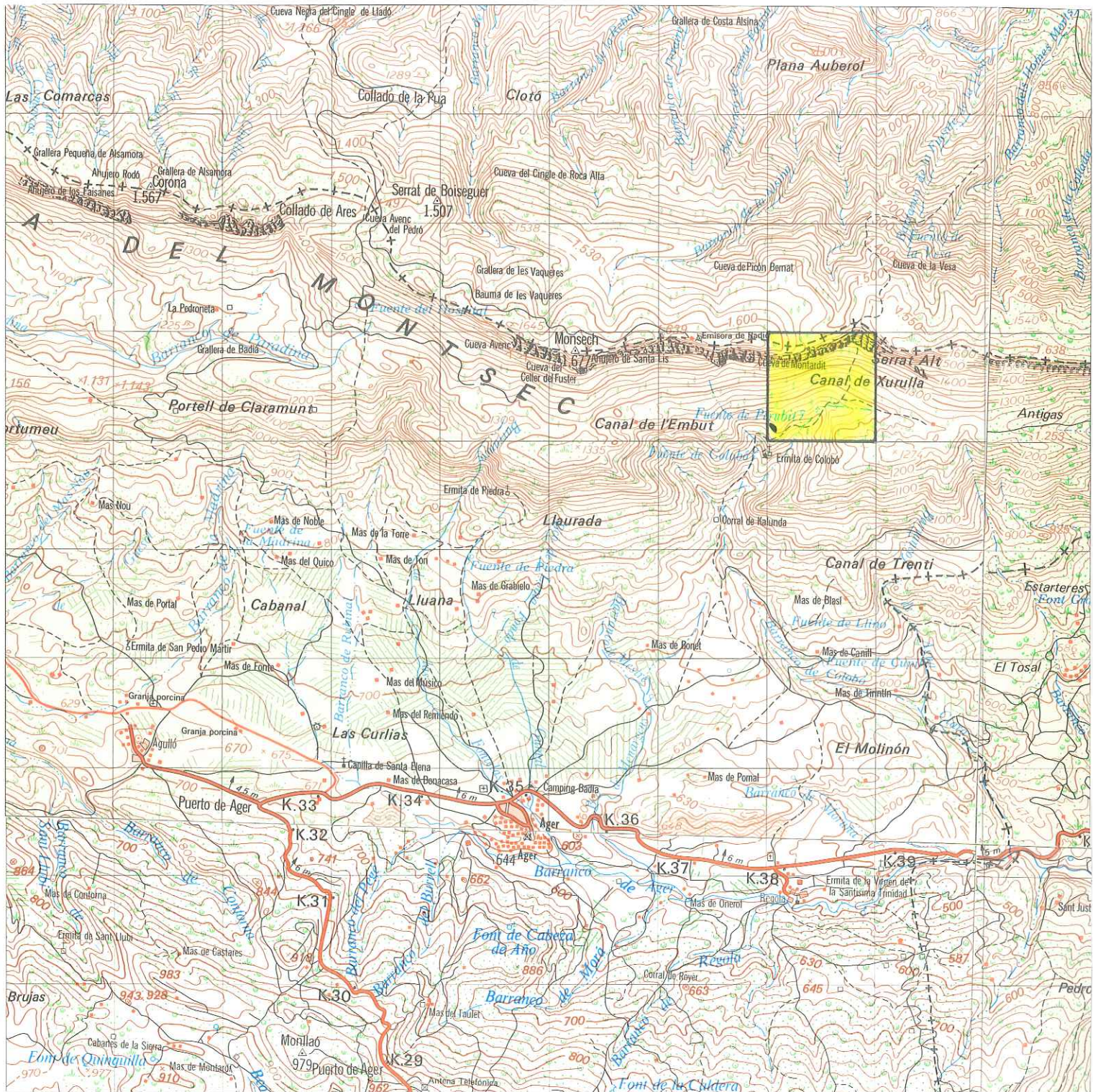





Quadrat UTM 1×1 km on hem detectat presència de la planta (1999-2000).



Poblacions detectades de *P. montsicciana* pel nostre equip (1999-2000).

QUADRAT UTM 10 × 10 KM 31TCG15



-  Quadrat UTM 1×1 km on es referència la planta per: cita bibliogràfica, plec d'herbari o comunicació personal.
-  Quadrat UTM 1×1 km on hem detectat presència de la planta (1999-2000).
-  Poblacions detectades de *P. montsiciana* pel nostre equip (1999-2000).

QUADRAT UTM 10 × 10 KM 31TCG16



Quadrat UTM 1×1 km on es referència la planta per: cita bibliogràfica, plec d'herbari o comunicació personal.

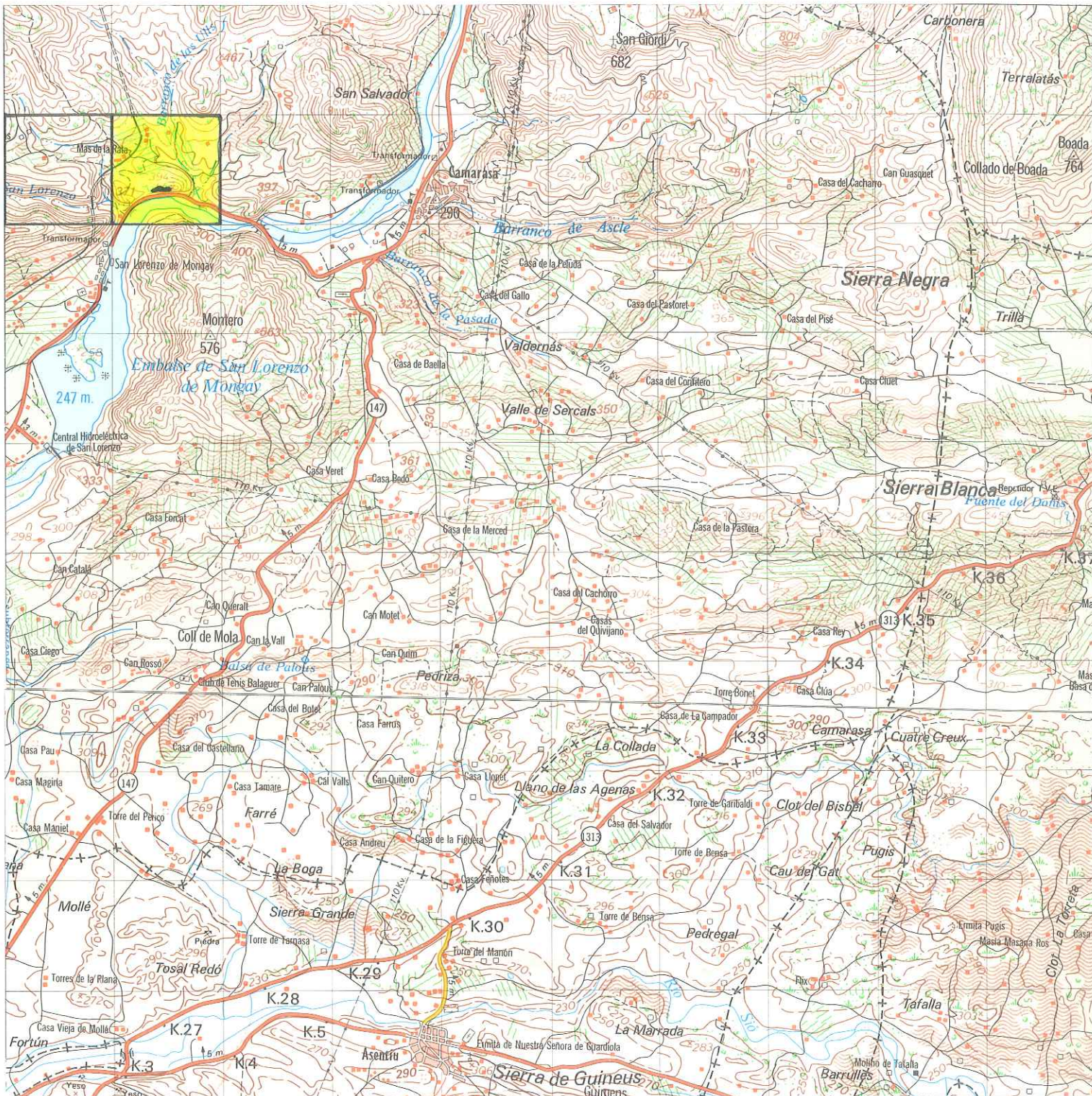


Quadrat UTM 1×1 km on hem detectat presència de la planta (1999-2000).



Poblacions detectades de *P. montsicciana* pel nostre equip (1999-2000).

QUADRAT UTM 10 × 10 KM 31TCG23



Quadrat UTM 1×1 km on es referència la planta per: cita bibliogràfica, plec d'herbari o comunicació personal.

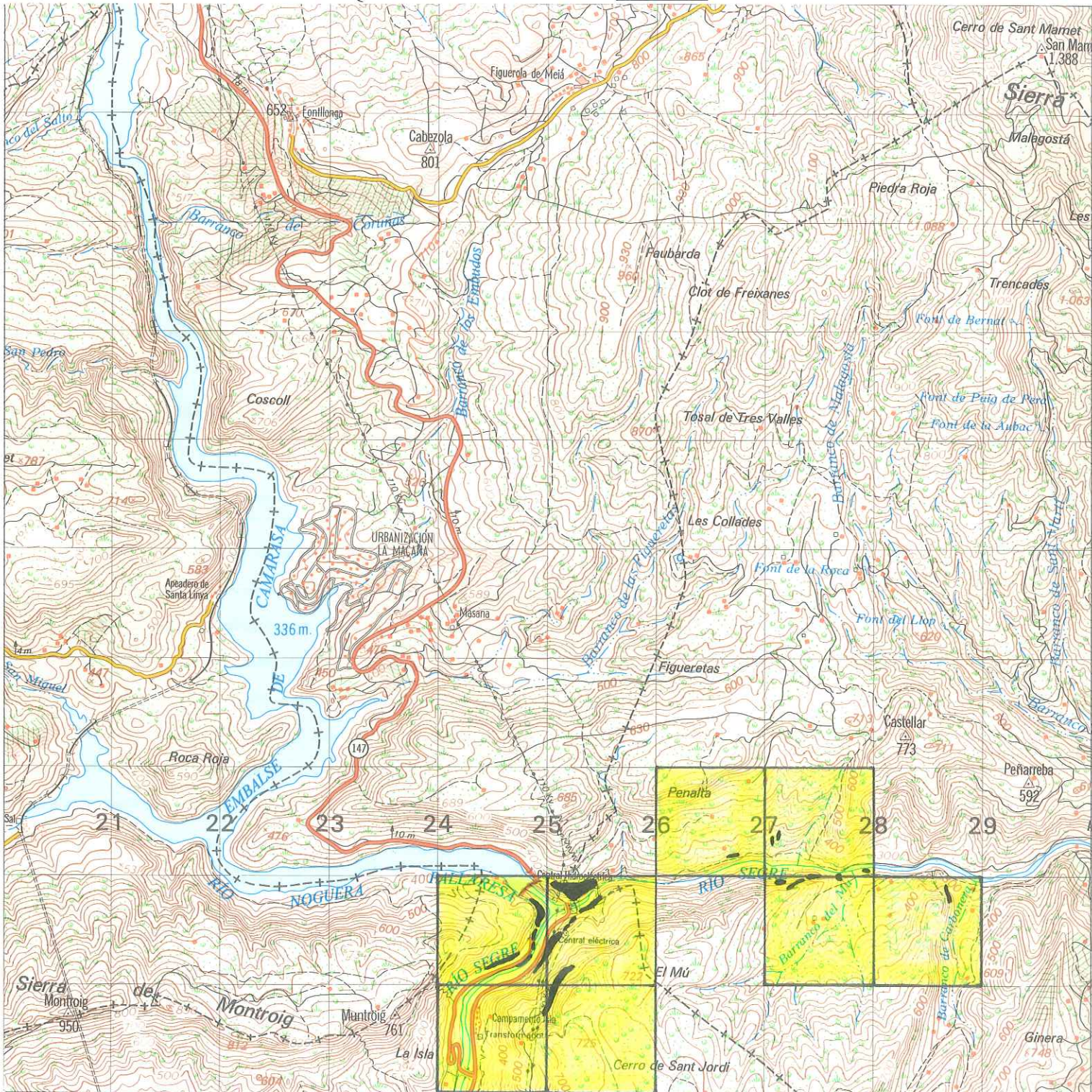


Quadrat UTM 1×1 km on hem detectat presència de la planta (1999-2000).



Poblacions detectades de *P. montsiciana* pel nostre equip (1999-2000).

QUADRAT UTM 10 × 10 KM 31TCG24



Quadrat UTM 1×1 km on es referència la planta per: cita bibliogràfica, plec d'herbari o comunicació personal.

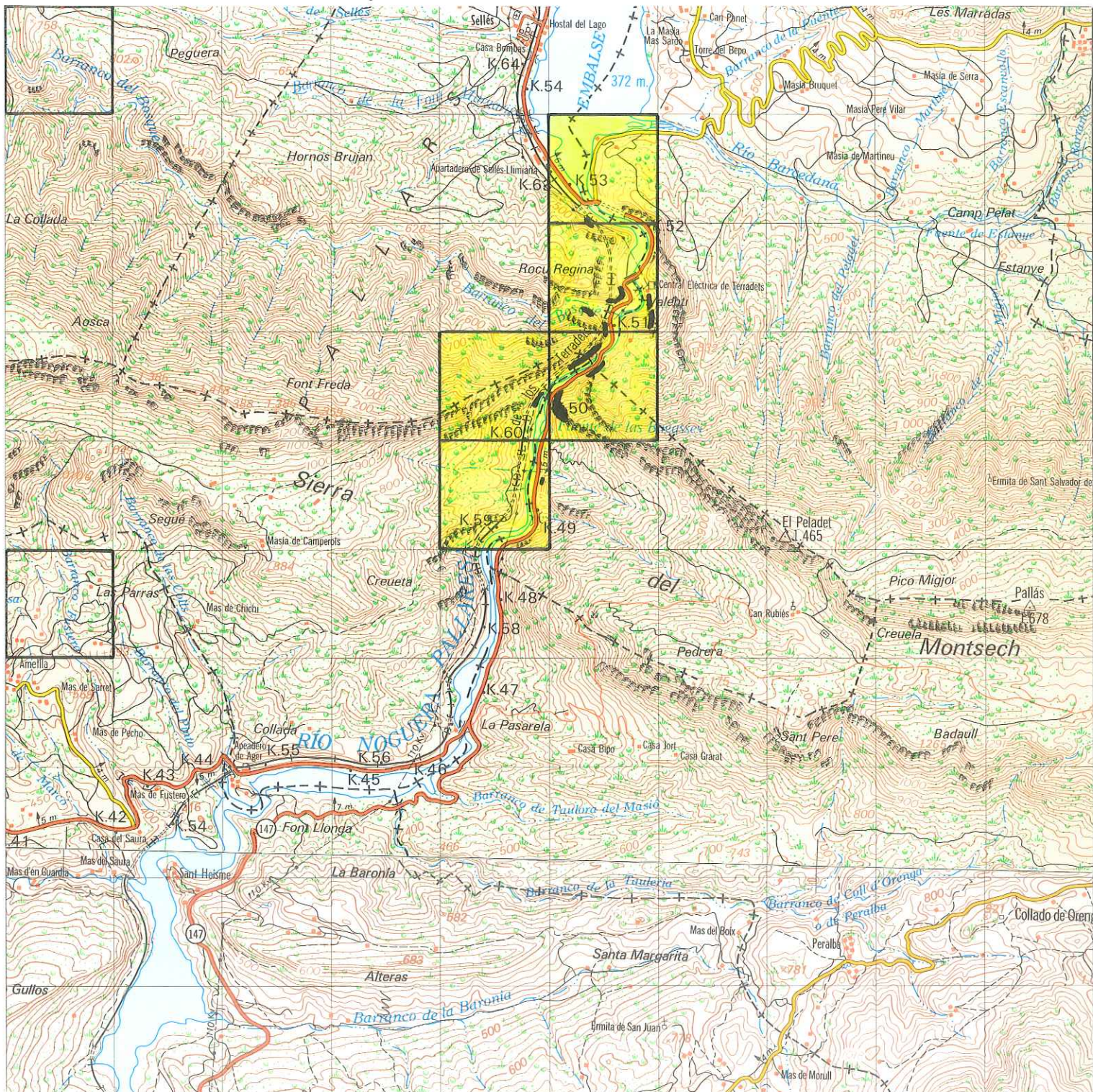


Quadrat UTM 1×1 km on hem detectat presència de la planta (1999-2000).



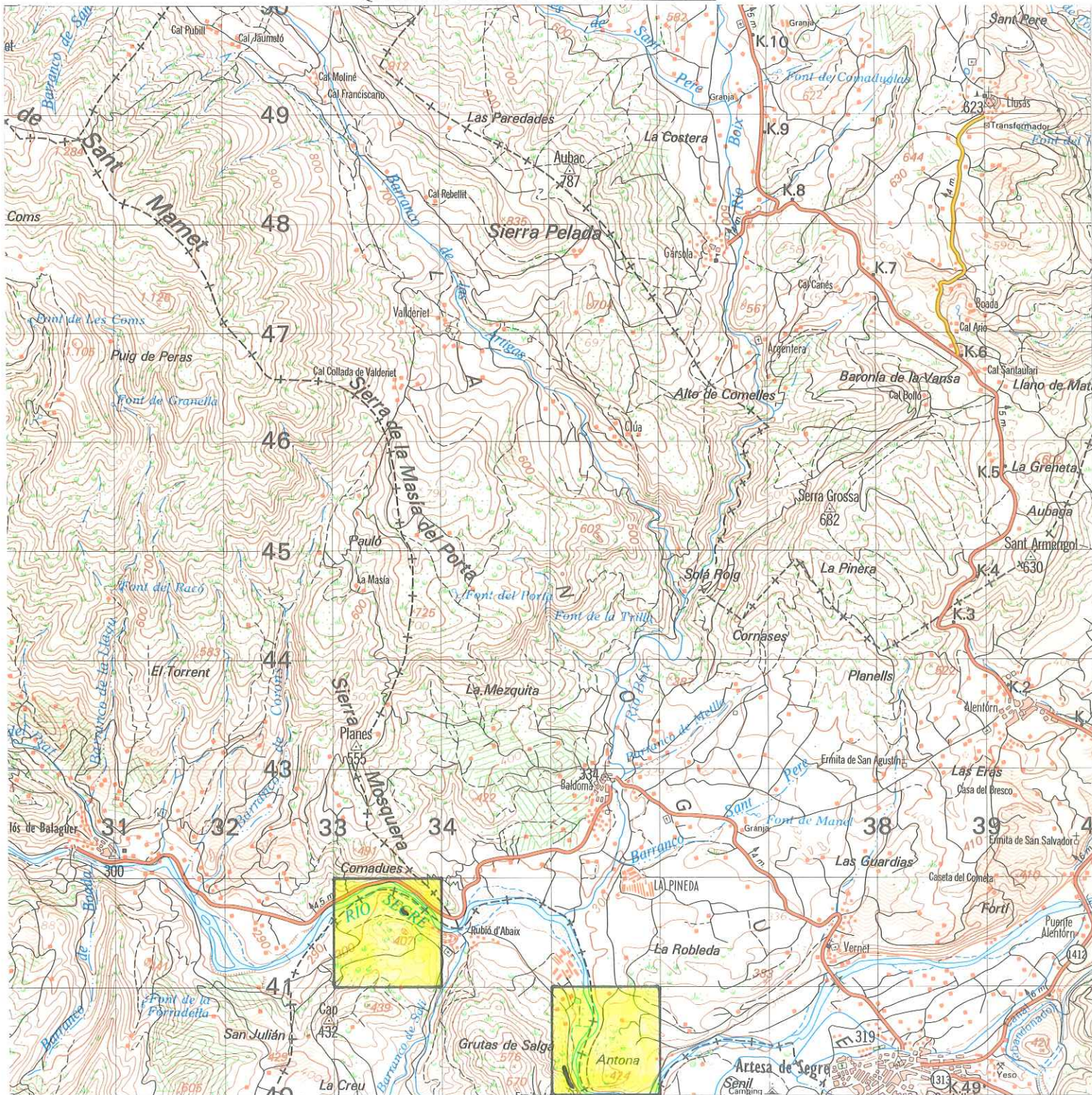
Poblacions detectades de *P. monticciana* pel nostre equip (1999-2000).

QUADRAT UTM 10 × 10 KM 31TCG25



- Quadrat UTM 1×1 km on es referència la planta per: cita bibliogràfica, plec d'herbari o comunicació personal.
- Quadrat UTM 1×1 km on hem detectat presència de la planta (1999-2000).
- Poblacions detectades de *P. montsicciana* pel nostre equip (1999-2000).

QUADRAT UTM 10 × 10 KM 31TCG34

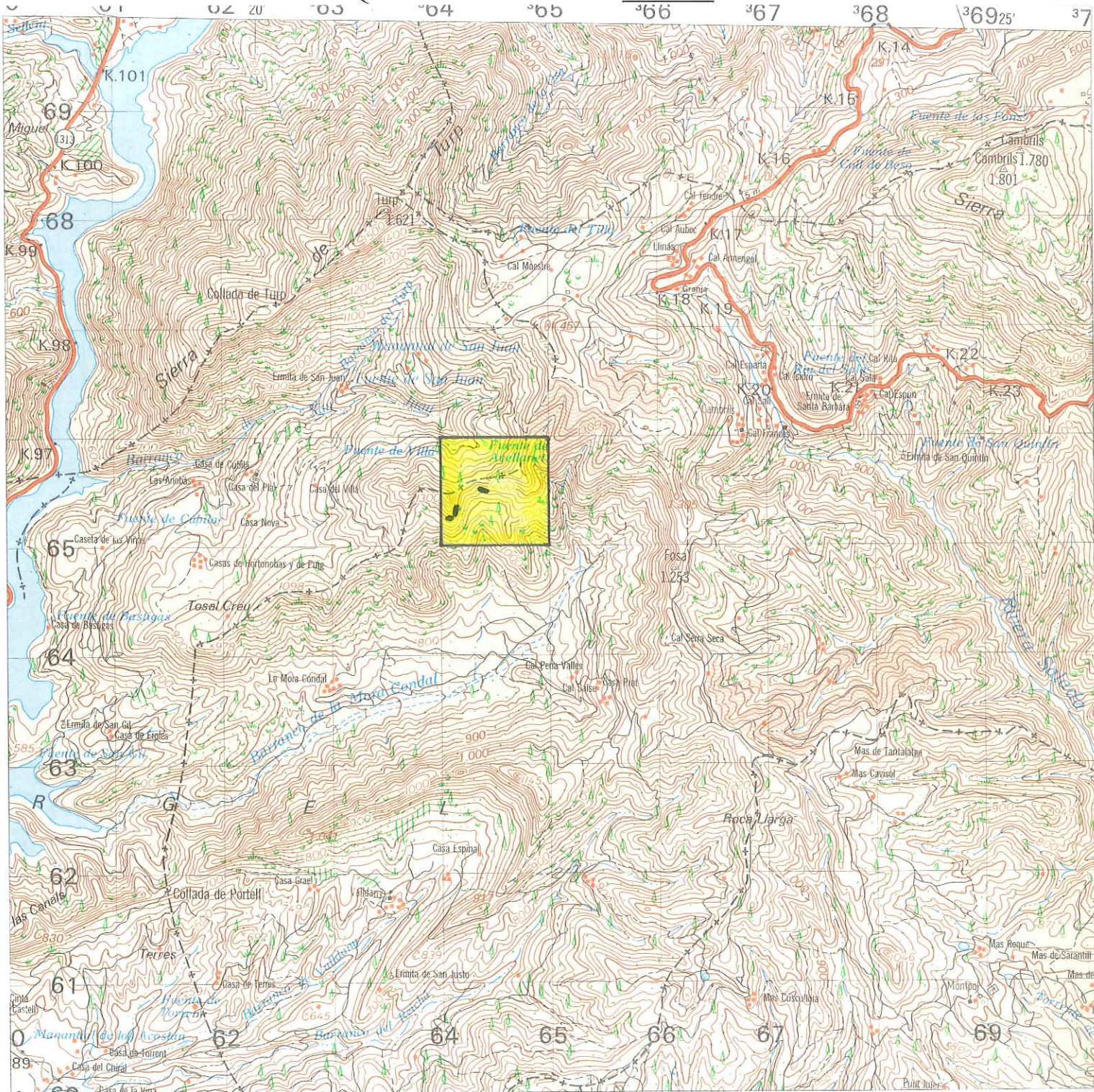


□ Quadrat UTM 1×1 km on es referència la planta per: cita bibliogràfica, plec d'herbari o comunicació personal.

■ Quadrat UTM 1×1 km on hem detectat presència de la planta (1999-2000).

● Poblacions detectades de *P. montsiciana* pel nostre equip (1999-2000).

QUADRAT UTM 10 × 10 KM 31TCG66



- Quadrat UTM 1×1 km on es referència la planta per: cita bibliogràfica, plec d'herbari o comunicació personal.
- Quadrat UTM 1×1 km on hem detectat presència de la planta (1999-2000).
- Poblacions detectades de *P. montsicciana* pel nostre equip (1999-2000).

1.3.1.2. EXTENSIÓ DE PRESENCIA I ÀREA D'OCUPACIÓ

L'extensió de presència i l'àrea d'ocupació són dos conceptes que proposa la UICN (1994) per tal de definir l'àrea de distribució d'una espècie vegetal (veure les definicions del punt 1.3.1.2 del capítol *Seseli farrenyi*).

L'extensió de presència per a *P. montsicciana* s'ha calculat dibuixant un polígon sobre el mapa oficial de carreteres de Catalunya 1:250.000 (1995, Institut Cartogràfic de Catalunya) calculant la seva superfície de forma manual. El resultat és de 909,8 km². De forma homòloga es va calcular l'extensió de presència per *P. pardoii*, sobre un mapa del Servicio Geográfico del Ejército, escala 1:50.000, sent aquesta força menor, 225,66 km².

Per procedir en canvi als càlculs de l'àrea d'ocupació, hem comptabilitzat totes les quadrícules UTM 1 × 1 km on hem localitzat l'espècie o bé disposavem d'una cita prèvia o plec d'herbari. Per *P. montsicciana*, el resultat és de 32 quadrícules comptabilitzades amb presència de l'espècie, és a dir, 32 km², xifra molt inferior a la que obtenim de l'extensió de presència. Per *P. pardoii* l'àrea d'ocupació també és molt menor a l'extensió de presència, 27 km².

1.3.1.3. ESTIMACIÓ DEL NOMBRE D'EFFECTIUS DE *P. MONTSICCIANA*

Durant les campanyes de camp dutes a terme per a localitzar les poblacions de *P. montsicciana* (primavera del 1999 i del 2000), alhora s'ha fet una estimació del nombre d'individus per població i del nombre total d'individus de l'espècie. Sempre s'ha procedit de la següent manera: en primer lloc es fa un recompte directe dels individus a peu de població, i després al nombre resultant apliquem un factor de correcció que ens permet fer una aproximació prou bona al nombre real d'efectius que pot tenir la població.

$$\text{Nombre estimat d'individus} = \text{individus comptats} \times \text{factor de correcció}$$

(per població o total de l'espècie)

Al factor de correcció li hem donat un valor de 2,785, puix en parcel·les controlades hem pogut comprovar que de cada quasi tres individus que creixen en una determinada àrea, solament n'és visible a certa distància (quan és necessària l'ajuda d'uns prismàtics) un. En determinats casos, quan l'accessibilitat i el tamany de les poblacions ens ho permeten, els dos nombres (recompte directe i estimació) poden coincidir.

El resultat dels nostres recomptes és el següent:

TAULA 4. RECOMPTE D'INDIVIDUS EN LES DIFERENTS POBLACIONS DE *P. MONTSICCIANA*.

QUADRE UTM 1×1 KM	LOCALITAT	DESCRIPCIÓ DE L'HÀBITAT	NOMBRE COMPTAT D'EFECTIUS	NOMBRE ESTIMAT D'EFECTIUS
31TBG9939	Presa del canal de Pinyana	Bauma a la vora del riu	6	6
31TCG0757	Ermita de La Pertusa	Bauma	75	208,8
31TCG0759	La Pardina	Bauma	500	1392,5
31TCG0861	Congost de Montrebei	Baumes, parets i extraploms a ambdues bandes del congost	750	2088,7
31TCG1756	Ermita del Colobor	Bauma	30	83,5
31TCG2138	Sant Llorenç de Montgai	Paret de roca	6	16,7
31TCG2440, 2441, 2540, 2541	Presa de Camarasa	Baumes, parets i extraploms	1170	3258,5
31TCG2642, 2741, 2742, 2841	Congost d'Alòs	En baumes i parets a ambdues bandes del congost	175	487,4
31TCG2455, 2456, 2556, 2557, 2558	Congost de Terradets	Parets, baumes i extraploms	630	1754,5
31TCG3341	Castell de Rubió	Paret de roca	2	5,6
31TCG3540	Ermita de Santa Maria de Salgar	Baumes i extraploms	507	1411,9
31TCG6465	Roques Blanques	Baumes i parets	80	222,8
TOTAL			3931	10948

A aquesta xifra, caldria sumar els 25 individus comptats a la població aragonesa de les Salteres (Sainz *et al.*, 1996), amb el que obtindriem un recompte final de **10.973** individus de *P. montsicciana*. El nombre d'efectius és doncs molt similar al de *P. pardoi*, que, sumant els individus reportats pels estudis de la Generalitat Valenciana (1992, s.d.) i de Sainz *et al.* (*l.c.*), restaria en **9.826** individus.

1.3.1.4. COROLOGIA

Tant *Petrocoptis montsicciana* com *P. pardoi* creixen a les balms, parets i extraploms de roca de naturalesa calcària, compacta o més o menys conglomerada. Ambdues espècies pertanyen a l'element corològic mediterrani. Respecte a la divisió fisiogràfica dels Països Catalans proposada per Bolòs i Vigo (1984), l'àrea de distribució de *P. montsicciana* es troba dins el territori pirenaic, mentre l'àrea de distribució de *P. pardoi* pertany al territori catalanídic. Fitogeogràficament parlant (Bolòs i Vigo, *l. c.*), l'àrea de distribució d'ambdues espècies pertany a la regió mediterrània.

Pel que fa a *P. montsicciana*, es tracta d'un endemisme del Pre-pirineu central-oriental, amb la majoria de les poblacions a Catalunya (comarques de la Noguera,

Pallars Jussà i el Solsonès), però amb les poblacions més occidentals a l'Aragó, a les comarques de la Llitera i la Baixa Ribagorça (província d'Osca). El marge altitudinal en que la podem trobar és molt ampli, des dels 280 m de les poblacions que hi ha a la vora de l'embassament de Camarasa fins als 1200 m de la Móra Comdal (la localitat més septentrional i alhora la més oriental) (fig. 4).



FIG. 4. La Móra Comdal (Solsonès).

Podem dividir l'àrea de distribució d'aquesta espècie en tres zones principals: les serres marginals pre-pirinenques al sud del Montsec, la serra del Montsec i la vall de la Móra Comdal. A les petites serres situades al sud del Montsec, la presència de l'espècie s'extén, d'oest a est, des del congost de Santa Anna, a la Llitera, fins a Santa Maria de Salgar, a la Noguera. A la serra del Montsec, les localitats més occidentals les trobem al Montsec d'Estall, ja dins l'Aragó (Congost de Fet i Congost del Seguer). L'espècie també es troba al Montsec d'Ares, i la localitat més occidental és la del pas de Terradets, que també és la localitat clàssica de l'espècie. Per últim, el límit oriental de l'espècie està localitzat a la Móra Comdal, la serra de les Agulles, prop d'Odèn (a l'extrem nord del Solsonès).

P. pardoi és també una espècie endèmica, localitzada a la vall del riu Bergantes, en conglomerats calcaris a banda i banda del riu, als límits de les províncies de Castelló i Terol. Totes les localitats les trobem en un interval de 18 quilòmetres de la carretera que comunica Aiguaviva (Terol) amb Sorita del Maestrat (Castelló), la majoria de les quals són a la banda de Castelló. El marge d'altitud de les poblacions varia entre els 550 m i els 850 m. La localitat clàssica és la situada al Santuari de Nostra Senyora de la Balma (Castelló).

Citacions i plecs d'herbari de *P. montsicciana*:**OSCA:**

Comarca de la Llitera: 31TBG93: 31TBG93: «Congost de Sta. Anna, 300 m», CONESA (1991: 119!).

Comarca de la Baixa Ribagorça: 31TCG05: 31TCG0559: «Salteras», GOÑI (com. pers.). 31TCG0654: «Congost de Fet, 540 m», ROMO (1989: 92). 31TCG0659: «paredes cercanas a las Salteras», SAINZ *et al.* (1996: 117). **31TCG06:** 31TCG0760: «Congost de Sigüe», FERNÁNDEZ CASAS *et al.* (1986: 14) – «Portell de Mont-Rebei, a ambdues bandes del riu, 580 m», ROMO (1989: 92). 31TCG0860: «Portell de Mont-Rebei, a ambdues bandes del riu, 580 m», ROMO (1989: 92).

LLEIDA:

Comarca de la Noguera: 31TCG05: 31TCG0654: «Congost de Fet, 540 m», ROMO (1989: 92). 31TCG0757: «sobre el Mas de la Pardina, 700 m», ROMO (1989: 92!). 31TCG0758: «sobre el Mas de la Pardina, 700 m», *Romo*, 25-V-1979 (BC 656055!). **31TCG06:** 31TCG0760: «Portell de Mont-Rebei, a ambdues bandes del riu, 580 m», ROMO (1989: 92). 31TCG0860: «Portell de Mont-Rebei, a ambdues bandes del riu, 580 m», ROMO (1989: 92). **31TCG15:** 31TCG15: «nahe Colobor, Montsech d'Ager», *il-legible*, 14-V-1927 (S). 31TCG1756: «sobre Colobó, 1100 m a una balma, vers la Font de Perubít», *Romo*, 12-VI-1980 (BC 656063!) – «sobre Colobor, vers la font de Perubít, 1100 m», ROMO (1989: 92!). **31TCG23:** 31TCG23: «B. de Llorenç de Montgai, 320 m», CONESA (1991: 119!) – «congost d'Alòs, 280 m», CONESA (1991: 119!) – «congost de Camarasa, 290 m», CONESA (1991: 119!) – «obaga i solana del Mont-roig, 500 m», CONESA (1991: 119!). 31TCG2038: «Barranc de Llorenç», CONESA (1991: 489). **31TCG24:** 31TCG24: «Camarasa, roquedos junto a la presa», *Losa España & P. Montserrat*, 3-VIII-1947 (BC 103246!) – «Camarasa (Noguera), carretera de la presa (entrada al túnel)», *Camarasa*, 1-XI-1966 (BC 596861!) – «Camarasa, paret minicentral, obaga», *Molero & Simon, s.d.* (BCF 47849!). 31TCG2441: «Congost de Camarasa», CONESA (1991: 489!) – «serra de Mont-Roig, a prop de l'embassament de Camarasa, vers la desembocadura de la Noguera Pallaresa, 280 m», ROMO (1989: 92!). 31TCG2541: «La Noguera, a prop de la presa de Camarasa, vores del Segre, 280 m», *Romo*, 20-IV-1979 (BC 656061!) – «Serra de Mont-Roig: vers la Central del Pantà de Camarasa, 300 m», *Romo*, 23-IV-1979 (BC 656056!) – «La Noguera, vers el pantà de camarasa, parets dels extraploms, 300 m», *Romo*, 23-XI-1979 (BC 656062!) – «Congost de Camarasa», CONESA (1991: 489!) – «serra de Mont-Roig, a prop de l'embassament de Camarasa, vers la desembocadura de la Noguera Pallaresa, 280 m», ROMO (1989: 92!). **31TCG25:** 31TCG25: «Montsech d'Ager, Terradets», *G. Kretschmer 316(32)*, 16-V-1932 (S,W) – «pas dels Terradets, inter Ager et Tremp», *A. Bolòs & Font Quer*, 29-VI-1948 (BC 106583!, 595938!) – «Terradets, roques d'ombra», *A. Bolòs & Font Quer*, 29-VI-1948 (BC 656057!) – «pas de Terradets», *A. Bolòs & Font Quer*, 10-IV-1962 (BC 374593!) – «desfiladero de Terradets, Montsec, 450 m», *Rivas Martínez*, 11-V-1969 (BC 602985, *Holotypus BC!*) – «pared de Terradets (Montsech)», *Rivas Martínez*, 11-V-1969 (MAF 103234, BCF 36937, *Isotypus del MAF!*) – «Terradets», *Rivas Martínez & Costa Talens*, 1-VII-1969 (BCF 36938!) – «Terradets, salida meridional», *P. Montserrat* 844/1971, 4-V-1971 (JACA 84471, Herb. LAÍN Z) – «fuente de les Bagasses», *V. H. Heywood* 30, 16-V-1971 (RNG) – «desfiladero de Terradets, 350 m», *Greuter 10000*, 16-V-1972 (M) – «Sierra del Montsec, desfiladero de Terradets, 400 m», *Fernández Casas*, 21-VIII-1972 (C, Herb. LAÍN Z, M, MA 208448, 395204, MAF 120047, SALA 11774) – «inter oppidula Ràgola et Sellés, congosto de Terradets, 400 m», *Fernández Casas* 2002, *Leal, Muñoz Garmendia & Pueche*, 8-VII-1977 (MA 411519) – «congosto de Terradets, 370 m», *Aizpuru & Catalán*, 25-VI-1986 (ARAN 1574) – «Terradets: parets ombrívols sobre la font de les Bagasses», *Simon et al., s.d.* (BCF 47850!). 31TCG2054: «sobre l'Ametlla, 850 m», ROMO (1989: 92). 31TCG2455: «Montsec d'Ares, 800 m», *J. Pedrol* 138, 1-V-1985 (MA 326224). 31TCG2556: «Montsec de Rubies, pas dels Terradets, 370 m», *Romo*, 9-III-1979 (BC 656060!) – «Serra del Montsec, portell dels Terradets, 350 m», *Romo*, 30-IV-1979 (BC 656058!) – «Montsec de Rubies, 350m, pas de Terradets pr. Forat de l'Or», *Romo*, 17-VI-1978 (BC 656059!) – «Pas de Terradets, 350-380 m, vers el Forat de l'Or», ROMO (1989: 92 !) – «Congost dels Terradets, vers el Forat de l'Or», ROMO (1989: 404 !). **31TCG34:** 31TCG34: «Salgar prop del santuari, 320 m», CONESA (1991: 119!). 31TCG3540: «Salgar, a prop del santuari», CONESA (1991: 489!).

Comarca del Pallars Jussà: 31TCG06: 31TCG0860: «Portell de Mont-Rebei, a ambdues bandes del riu, 580 m», ROMO (1989: 92). **31TCG16:** 31TCG1960: «Barranc del Bosc, sota Moror», ROMO (1989:

404). **31TCG25**: 31TCG25: «Montsech d'Ager, Terradets», *G. Kretschmer 316(32)*, 16-V-1932 (S,W) – «pas dels Terradets, inter Ager et Tremp», *A. Bolòs & Font Quer*, 29-VI-1948 (BC 106583!, 595938!) – «Terradets, roques d'ombra», *A. Bolòs & Font Quer*, 29-VI-1948 (BC 656057!) – «pas de Terradets», *A. Bolòs & Font Quer*, 10-IV-1962 (BC 374593!) – «desfiladero de Terradets, Montsec, 450 m», *Rivas Martínez*, 11-V-1969 (BC 602985, *Holotypus BC!*) – «pared de Terradets (Montsech)», *Rivas Martínez*, 11-V-1969 (MAF 103234, BCF 36937, *Isotypus del MAF!*) – «Terradets», *Rivas Martínez & Costa Talens*, 1-VII-1969 (BCF 36938!) – «desfiladero de Terradets, 350 m», *Greuter 10000*, 16-V-1972 (M) – «Sierra del Montsec, desfiladero de Terradets, 400 m», *Fernández Casas*, 21-VIII-1972 (C, Herb. LAÍNIZ, M, MA 208448, 395204, MAF 120047, SALA 11774) – «inter oppidula Ràgola et Sellés, congosto de Terradets, 400 m», *Fernández Casas 2002, Leal, Muñoz Garmendia & Pueche*, 8-VII-1977 (MA 411519) – «congosto de Terradets, 370 m», *Aizpuru & Catalán*, 25-VI-1986 (ARAN 1574). 31TCG2059: «Montsec d'Ares: voltants de Moror; vers el Barranc del Bosc, 700 m», *Romo*, 26-V-1982 (BC 656054!) – «sota Moror, vers el barranc del Bosc, 700 m», ROMO (1989: 92). 31TCG2556: «Montsec de Rubies, pas dels Terradets, 370 m», *Romo*, 9-III-1979 (BC 656060!) – «Serra del Montsec, portell dels Terradets, 350 m», *Romo*, 30-IV-1979 (BC 656058!) – «Montsec de Rubies, 350m, pas de Terradets pr. Forat de l'Or», *Romo*, 17-VI-1978 (BC 656059!) – «Pas de Terradets, 350-380 m, vers el Forat de l'Or», ROMO (1989: 92 !) – «Congost dels Terradets, vers el Forat de l'Or», ROMO (1989: 404 !). 31TCG2557: «Terradets, bajo la presa, 370-400 m», *P. Montserrat 4706/1986 & G. Montserrat*, 6-VII-1986 (JACA 470686) – «barranc del Bosc, 420 m», ROMO (1989: 92!) – «Barranc del Bosc, a prop de Roca Regina», ROMO (1989: 404!). 31TCG2558: «Terradets, junto a la presa, en la cueva, próx. a la carretera, 400 m», *P. Montserrat 1196/1972*, 16-V-1972 (JACA 119672). **31TCG26**: 31TCG26: «Sierra del Montsech, desfiladero de Terradets, 400 m», *O. Bolòs & Rivas Martínez*, 21-VIII-1972 (BC 626469!, BCF 36936!).

Comarca del Solsonès: **31TCG66**: «Solsonès: Odèn, vall de la Mora Comdal, les Agulles, 1200 m», *Nuet*, 18-IV-1984 (BC 649115!) – «Solsonès, a la vall de la Móra Comdal (Odèn) a la serra de les Agulles, a 1200 m d'altitud», NUET (1985: 237!).

Citacions i plecs d'herbari de *P. pardoi*:

TEROL:

Comarca de Matarranya: **30TYL32**: «Límites de Aragón y Valencia», PAU (1898: 196!) – «entre la Balma y Aguaviva», FERNÁNDEZ CASAS (1974: 93!) – «Aguaviva», AGUILLELLA *et al.* (1983: 9!) – *Ibid.*, MATEO (1990: 73!) – *Ibid.*, FERNÁNDEZ CASAS & P. MONTSERRAT (1990: 311!). 30TYL3820: «km. 36 de la carretera que une Aguaviva con Zorita, crestón de conglomerados casi perpendicular a la carretera», SAINZ *et al.* (1996: 126). 30TYL3920: «km. 36 de la carretera que une Aguaviva con Zorita, crestón de conglomerados casi perpendicular a la carretera», SAINZ *et al.* (1996: 126). **30TYL41**: «Aguaviva, carretera hacia Zorita», *Mateo*, 29-IV-1989 (VAB 890652). 30TYL4019: «km. 34 de la carretera que une Aguaviva con Zorita, en los paredones al borde de la carretera», SAINZ *et al.* (1996: 126!).

Comarca dels Ports: **30TYL31**: «Santuario de Nuestra Señora de la Balma, frente a Zorita», *Pau*, 1-IX-1898 (MA 32304, *Typus*) – «Aragonia: in fissuris siccis sterilibusque rupium et murorum calcareum monasterii Nuestra Señora de la Balma dicti, pr. Zurita, ad 700 m», *Font Quer & Rothmaler*, 19-VI-1935 (MA 32303) – *Id.* recol·lecció (BCF 36941!, BCF 36939, BC 602992!, BC 86541!, BC 86542!, BCC!, MAF 05262, Herb. SENNEN!) – «Castellón: pr. oppidulum Zorita del Maestrazgo, Santuario de la Virgen de la Balma, 700 m», *Fernández Casas*, 20-VIII-1972 (MA 208449) – *Id.* recol·lecció (MA 395169, MA 395170, BCF 36940!, BC 626470!, MAF 119406) – «La Balma (Sorita) Castelló», *M.A. Cardona*, 9-X-1972 (BC 607582!) – *Ibid.*, *Aguilella & Mateo*, V-1981 (VAB 10476) – *Ibid.*, *Aguilella & García*, *s.d.* (VAL 00616) – *Ibid.*, *Aguilella & García-Fayos*, *s.d.* (VAL 07089) – «Zorita del Maestrazgo», *Mateo & Aguilella*, VI-1981 (VAB 81/109) – *Ibid.*, *s.r.*, 29-IV-1989 (VAB 890654) – «Santuario de Nuestra Señora de la Balma, frente a Zorita», LOSCOS & PARDO (1866!) – *Ibid.*, WILLKOMM & LANGE (1880!) – *Ibid.*, PAU (1898!) – *Idem*, ROTHMALER (1941!) – *Ibid.*, FERNÁNDEZ CASAS (1974!) – *Ibid.*, FERNÁNDEZ CASAS (1978!) – «Zorita, cerca del Bergantes»,

AGUILELLA *et al.* (1983). 30TYL3614: «Barranc de la Mare de Deu», GEN. VAL. (*s.d.*). 30TYL3615: «Barranc de la Mare de Deu», GEN. VAL. (*s.d.*). 30TYL3616: «Barranc de la Mare de Deu», GEN. VAL. (*s.d.*). 30TYL3714: «Barranc de la Mare de Deu», GEN. VAL. (*s.d.* !). 30TYL3715: «Barranc de la Mare de Deu», GEN. VAL. (*s.d.*). 30TYL3716: «Barranc de la Mare de Deu», GEN. VAL. (*s.d.*) – «Ombria de Pere», GEN. VAL. (*s.d.*) – «Racó d'En Vinadé», GEN. VAL. (*s.d.*). 30TYL3717: «Ombria de Pere», GEN. VAL. (*s.d.*). 30TYL3811: «Zorita del Maestrazgo, 720 m», GEN. VAL. (1992: 7). 30TYL3814: «Santuario de Nuestra Señora de la Balma, 720 m», GEN. VAL. (1992: 9!). 30TYL3815: «Racó d'En Vinadé», GEN. VAL. (*s.d.*). 30TYL3816: «Barranco de Rigores, 675 m», GEN. VAL. (1992: 11) – «Racó d'En Vinadé», GEN. VAL. (*s.d.*). 30TYL3818: «Les Contientes», GEN. VAL. (*s.d.*). 30TYL3819: «Les Contientes», GEN. VAL. (*s.d.*). 30TYL3916: «Cruz del Villar, 775 m», GEN. VAL. (1992: 13). 30TYL3917: «Cantal Badat (Camping de Zorita), 640 m», GEN. VAL. (1992: 17!). 30TYL3918: «Estribaciones de Los Cabezos, junto a la carretera, 565 m», GEN. VAL. (1992 : 19) – «Les Contientes», GEN. VAL. (*s.d.*). 30TYL3919: – «Les Contientes», GEN. VAL. (*s.d.*). **30TYL41:** «Zorita del Maestrazgo», *Fernández Casas & Muñoz Garmendia*, 16-VI-1978 (SANT 018444) – *Ibid.*, *Fernández Casas & Muñoz Garmendia*, 16-VI-1978 (MA 409419) – «ca. 6 km. Südöstl. Aigua Viva», MERXMÜLLER & GRAU (1968). 30TYL4015: «Les Canalisses», GEN. VAL. (*s.d.*). 30TYL4016: «Peñascos cercanos al Monagrell, 820 m», GEN. VAL. (1992 : 15). 30TYL4017: «Les Canalisses», GEN. VAL. (*s.d.*). 30TYL4018: «Les Contientes», GEN. VAL. (*s.d.*). 30TYL4019: «Les Contientes», GEN. VAL. (*s.d.* !). 30TYL4115: «Les Canalisses», GEN. VAL. (*s.d.*). 30TYL4116: «Les Canalisses», GEN. VAL. (*s.d.*). 30TYL4117: «Les Canalisses», GEN. VAL. (*s.d.*).

GEN. VAL.: Generalitat Valenciana

!: Plecs d'herbari vistos i localitats on hem observat la planta

1.3.2. HÀBITAT

Petrocoptis montsicciana és una espècie rupícola que creix exclusivament sobre roca de naturalesa calcària, a les esclatxes i fissures de parets, balmes, coves i extraploms, en llocs sotmesos a una forta insolació i protegits de la pluja directa. El més habitual es trobar aquestes formacions rocoses en grans congostos amb forts desnivells, com és el cas dels congostos de Mont-Rebei (fig. 5), Camarasa i Terradets, encara que de vegades la planta creix sobre petits afloraments de roca aïllats o fins i tot sobre fragments de roca despresada (com succeeix a la localitat de Cantal Badat, fig. 6). L'interval altitudinal en el que trobem la planta varia entre els 250 i els 1200 metres.



Fig. 5. Congost de Mont-Rebei (Pallars Jussà).



Fig. 6. Fragment de roca despresa, Cantal Badat (Castelló).

1.3.2.1. CARACTERÍSTIQUES CLIMÀTIQUES

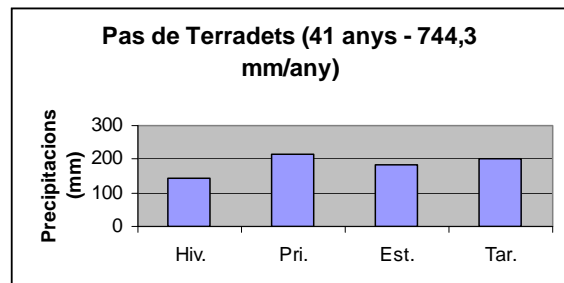
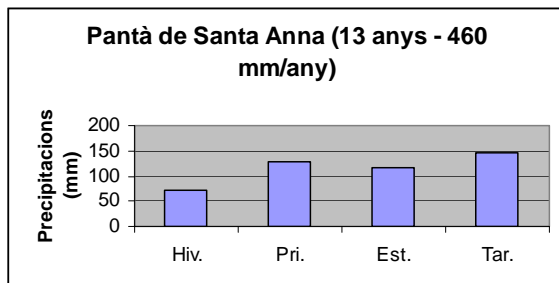
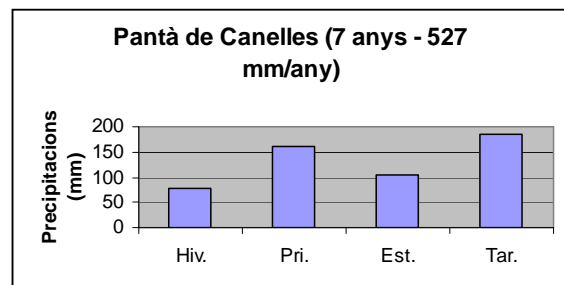
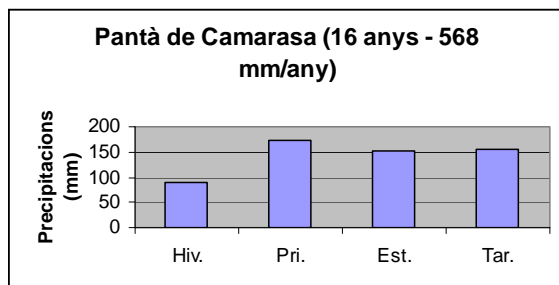
A l'àrea de distribució de *Petrocoptis montsiciana* trobem dos bioclims diferents, l'*axeromèric o medioeuropeu* i el *xerotèric o mediterrani*. El primer inclou les localitats més septentrionals de l'espècie, mentre el segon és el que domina a les localitats meridionals, que presenten una altitud inferior. La serra del Montsec es pot considerar com una barrera bioclimàtica i biogeogràfica, presentant el sud de la serra (plana de la Noguera) un clima mediterrani, i al nord un clima submediterrani (Romo, 1989). El clima submediterrani, que s'inclou, segons la classificació bioclimàtica de Gausen *et al.* (1953), dins el bioclima axeromèric o medioeuropeu, es caracteritza per la presència d'un període hivernal més o menys llarg i per l'existència d'un període subhúmit o subàrid corresponent als mesos de temperatura més elevada (Bolòs i Vigo, 1984). Aquest clima submediterrani es pot considerar per a la majoria de localitats de *Petrocoptis* com del tipus de *Solsona*, amb l'existència de 2 mesos estivals i 1-2 mesos estivals subàrids (Bolòs i Vigo, *l.c.*). La localitat de la Móra Comdal també es pot classificar dins aquest clima. El clima mediterrani, que es presenta fonamentalment a les

localitats de la plana de la Noguera, es pot considerar del *tipus de Balaguer*, amb 0-1 mesos hivernals, 2 mesos àrids i 1 de peràrid (Bolòs i Vigo, *l.c.*).

Les localitats de *P. pardoï* estàn situades dins el bioclima xerotèric o mediterrani, i concretament podem dir que pertanyen al clima *tipus de Morella* (Bolòs i Vigo, *l.c.*). L'hivern dura uns 3 mesos, i el període subestival 4 mesos, però no hi ha cap mes tèrmicament estival. És un clima relativament fred, amb un eixut estival poc accentuat.

Les dades climatològiques que es mostren a continuació s'han prèss tant de Romo (1989) com de Conesa (1991) i Agelet (1999). Alguns gràfics s'han pogut realitzar també a partir dels anuaris meteorològics del Servei de Meteorologia de Catalunya (SMC) (<http://www.gencat.es/index.htm>).

Pel que fa a la pluviometria de l'àrea de distribució de *P. montsicciana*, veiem que aquesta varia entre els 460 mm de l'estació meteorològica de Santa Anna fins als 744,3 mm de l'estació de Terradets (752 mm a l'estació d'Organyà, uns 7 km al nord de la Móra Comdal, però sols tenim els valors de pluviometria del període 1997-98). Sembla doncs, observar-se una clara tendència d'augment de les precipitacions en sentit sud-nord (fig. 7). La primavera i la tardor són les estacions en que cauen més pluges, sent l'hivern i l'estiu les estacions més seques de l'any. Respecte a les nevades, disposem de molt poques dades. Romo (1989) fa una estimació de 8-10 dies de neu a l'any per la part mitjana i superior del Montsec. Terradets té una mitjana de 2 dies de neu a l'any (Conesa, 1991).



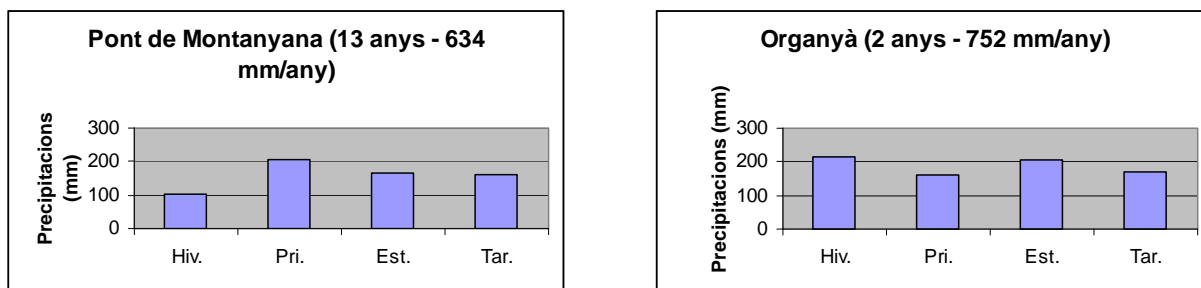


FIG. 7. Pluviometria mitjana estacional a diferents punts de l'àrea de distribució de *P. montsicciana*, segons Romo (1989).

Les temperatures varien segons l'altitud i la topografia. En general, però, es pot dir que la tendència és a disminuir de nord a sud. Això es pot observar amb els valors de temperatura mitjana anual, que a les estacions més meridionals de l'àrea de distribució de *P. montsicciana* són sensiblement superiors que a les estacions més septentrionals (14 °C al pantà de Camarasa i 12,8 °C al pas de Terradets, 30 km més al nord) (figs. 8 i 9).

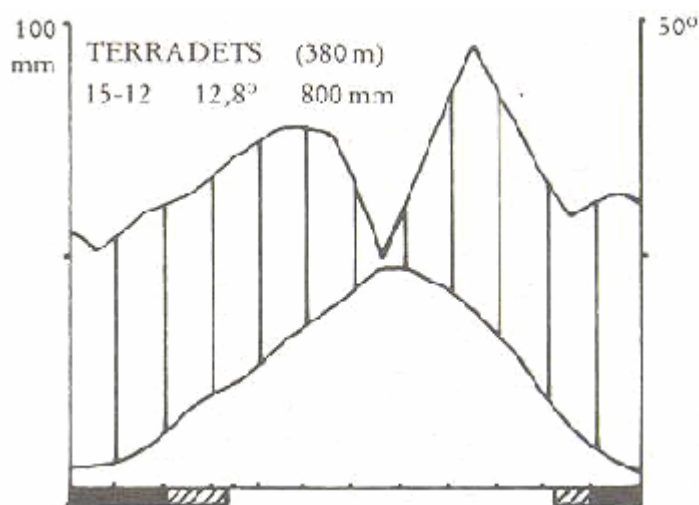


FIG. 8. Diagrama ombrotèrmic de l'estació del Pas de Terradets, segons Romo (1989).

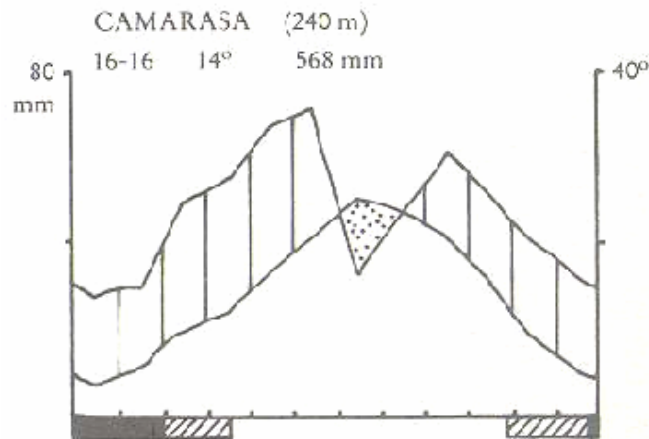


FIG. 9. Diagrama ombrotèrmic de l'estació del pantà de Camarasa, segons Romo (1989).

L'estació meteorològica d'Organyà, uns 7 km. al nord de la Móra Comdal (la localitat més septentrional de l'espècie) registra una mitjana 12,9 °C. La mateixa tendència s'observa amb la mitjana de les màximes del mes més càlid (33,8 °C a Camarasa, 29,9 °C a Terradets) i amb la mitjana de les mínimes del mes més fred (-0,1 °C a l'estació de Camarasa, -1,6 °C a Terradets).

La boira és un fenomen meteorològic bastant freqüent a les fondalades i a les depressions del Pre-pirineu i també a la plana de la Noguera. Aquestes boires són un exponent d'una inversió tèrmica que la vegetació reflecteix fidelment (Romo, 1989; Conesa, 1991; Agelet, 1999).

Finalment, també cal fer una breu consideració sobre el vent, que afecta sobretot a les comunitats vegetals de les carenes. Les carenes i els espadats produeixen un increment en la velocitat del vent, el que fa augmentar la transpiració de les plantes (que es manifesta amb un efecte dessecant sobre la vegetació) (Romo, 1989). Les úniques dades de velocitat i direcció del vent de què disposem són les de l'estació d'Organyà, però la sèrie és molt curta (1997-98) (fig. 10).

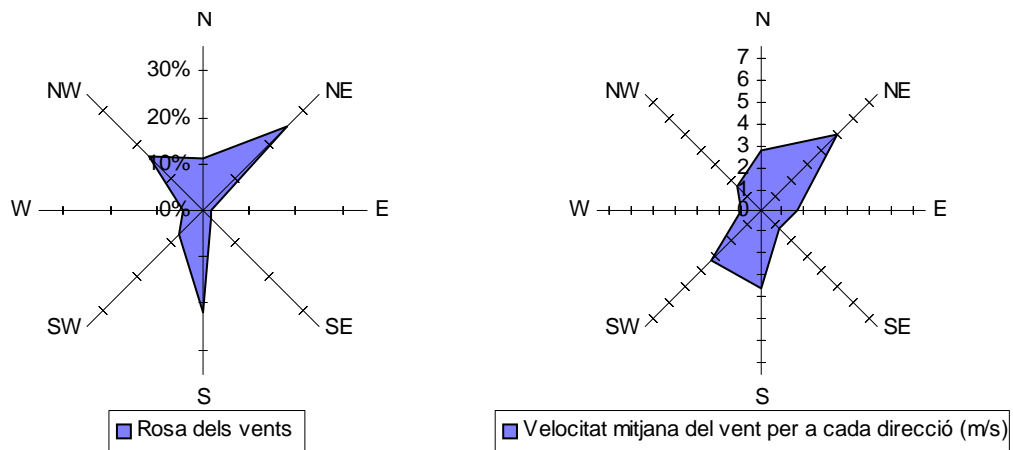


FIG. 10. Rosa dels vents d'Organyà (període 1997-98).

Pel que fa a l'àrea de distribució de *P. pardoi*, els diagrames d'isotermes i isohietes de la Flora dels Països Catalans (Bolòs i Vigo, 1984) desprenen una pluviositat aproximada de 400-500 mm/any i una temperatura mitjana anual de 11 °C.

1.3.2.2. CARACTERÍSTIQUES EDÀFIQUES

Petrocoptis montsiciana creix bàsicament a les esclotxes i fissures de roca de naturalesa calcària, quasi sempre en parets, balmes, coves i extraploms. Aquest espècie es desenvolupa directament sobre la roca, habitualment de tipus calcari i compacta. A les poblacions de la serra de les Agulles (Solsonès) creixen, però, sobre conglomerats roigs de l'oligocè (Nuet, 1985).

A partir de mostres de sòl recollides a l'hàbitat on creix *P. montsiciana* (es mostrejà la petita porció de sòl damunt la roca on creix aquesta espècie), M. Salgot i J. Tapias, de la Unitat d'Edafologia de la Facultat de Farmàcia, van realitzar l'anàlisi d'una sèrie de paràmetres edàfics (taula 5) que s'enumeren a continuació (les tècniques analítiques es descriuen a l'annex 1) :

TAULA 5. ANÀLISI EDÀFICA D'UNA PORCIÓ DE SÒL MOSTREJADA PROP DE L'EMBASSAMENT DE CAMARASA (UTM: 31TCG2542)

Paràmetre	Tècnica	Resultat i/o classificació del sòl
pH	Potenciometria	7,89 - <i>Moderadament bàsic</i> [criteris USDA (Soil Taxonomy System)]
Conductivitat elèctrica (CE)	Potenciometria	0,197 dS/m - <i>No salí</i> (criteris de Cros)
Matèria orgànica total (%)	Calcinació	29,32 % - Per damunt del nivell òptim (ordre de magnitud del 2,2 % en sòls arenosos, segons criteri de Jacquín)
Carboni orgànic oxidable (%)	Mètode de Walkley i Black	0,11 %
Cations majoritaris :		
NITROGEN TOTAL (N-NTK)	Variant de la tècnica de Kjeldahl	160 mg/Kg sòl
POTASSI (K ₂ O)	Fotometria de flama	0,07 mg/Kg sòl - Valor molt baix
FÒSFOR (P ₂ O ₅)	Mètode de Bray-Kurtz	105 mg/Kg sòl - Valor excessiu, segons criteri de Yanez, 1989)
Carbonats totals (% CCE: Carbonat càlcic equivalent)	Calcímetre de pressió o de Bernard	4,33 % - <i>Poc calcari</i> (criteri de l'INRA francès)

Anàlisi granulomètrica	Cascada de tamissos +	
i classificació textural	Mètode de Bouyoucos	
ARENA (%)		90 %
LLIM (%)		9 % - Textura arenosa
ARGILA (%)		1 %

Tal com podem observar en el valor dels diferents paràmetres analitzats, *P. montsicciana* creix sobre petites porcions de sòl dipositades a les esclletxes de la roca amb un pH moderadament bàsic, és de naturalesa calcària, de textura arenosa, no salí i amb un alt percentatge de matèria orgànica. Aquests valors elevats de matèria orgànica els podem atribuir a la presència de nius d'aus rapinyaires i de passeriformes en moltes de les parets on creix *Petrocoptis*. Les restes orgàniques que deixen anar aquestes aus poden ser les causants dels alts nivells de matèria orgànica que trobem en l'anàlisi edàfica, a més de les restes originades per les pròpies plantes.

1.3.2.3. FITOCENOLOGIA

Petrocoptis montsicciana i *P. pardoii* són dues espècies que pertanyen a la vegetació rupícola, concretament a la de tipus casmofític de substrat calcari. Les plantes casmofítiques (o fissurícoles) són aquelles que arrelen a les esquerdes i fissures de les roques. En general es pot afirmar que la vegetació rupícola es caracteritza per (Conesa, 1997): a) abundància de les espècies endèmiques i relictas, b) l'hàbitat on es desenvolupen és força inhòspit: grans pendents, sòl nul o quasi inexistent, dificultat per a la captació d'aigua, radiació solar perllongada, etc. i c) són espècies molt sensibles a la variabilitat de les condicions físiques i climatològiques.

P. montsicciana la trobem dins la l'associació *Petrocoptido-Antirrhinetum mollis* O. de Bolòs 1954. El marge altitudinal en que podem trobar aquesta comunitat és molt ampli, des dels 250-260 m fins als 1200 m (és el cas de les poblacions de *P. montsicciana* de la Móra Comdal). L'interval més habitual, però, és el comprès entre els 260 i els 700 m. Aquesta comunitat es desenvolupa en balms i extraploms de roca calcària, en llocs sotmesos a una forta insolació i protegits de la pluja directa (Romo, 1989). Tal com reconeix Conesa (1991), l'aigua és un factor crític a l'hora d'establir-se les diferents espècies de la comunitat i competir aquestes per l'espai. Aquesta arriba a les plantes per infiltració a través de la roca o directament de la pluja. Es tracta d'una comunitat amb un grau de recobriment molt baix i molt pobra florísticament parlant, però és molt rica en canvi en quant a endemismes, com són: *Anthirrinum molle*, *Brassica repanda* subsp. *cadevallii* i *Petrocoptis montsicciana*.

Conesa (1991) descriu a la serra de Guara (Pre-Pirineu aragonès) l'associació *Valeriano longiflorae-Petrocoptidetum hispanicae (montsicciana)* on cita *P. montsicciana*. Montserrat Martí (1986) afirma, però, que l'espècie de *Petrocoptis* descrita en dita comunitat no és *P. montsicciana* sinó *P. guarensis*, espècie pròpia de la serra de Guara.

L'associació *Petrocoptido-Antirrhinetum mollis* O. de Bolòs 1954 pertany a l'aliança *Saxifragion mediae* Br.-Bl. 1934, a l'ordre *Potentilletalia caulescentis* Br.-Bl. 1926, i a la classe *Asplenieta rupestris* Br.-Bl. et Meier 1934 (Romo, 1989).

Els inventaris de l'associació *Petrocoptido-Antirrhinetum mollis* on trobem *P. montsicciana* realitzats per Romo (1989; taula XII), són els següents:

Associació *Petrocoptido-Antirrhinetum mollis* :

INVENTARI NÚM.	1	2	3	5
Superfície (m ²)	50	40	50	30
Recobriment (%)	25	10	20	10
Altitud (m)	620	400	370	360
Orientació	S	NW	SW	W
Pendent (°)	90	90	90	90
Quadrícula UTM	CG1960	CG2557	CG2556	CG2556

Característiques d'associació

<i>Antirrhinum molle</i>	2.3	+	2.1.	2.2
<i>Petrocoptis montsicciana</i>	1.1	1.2	1.2	1.2
<i>Brassica repanda</i> subsp. <i>cadevallii</i>	+	.	.	+

Característiques d'aliança

<i>Lonicera pyrenaica</i>	+	.	.	.
<i>Thymelaea dioica</i>	.	+	+	.

Característiques d'ordre i classe

<i>Potentilla caulescens</i>	+	1.1	.	.
<i>Erinus alpinus</i>	+	+	.	.
<i>Asplenium ruta-muraria</i>	+	.	.	+
<i>Asplenium fontanum</i>	.	+	.	.
<i>Silene saxifraga</i>	+	.	+	.
<i>Asplenium petrarcae</i>	+	.	.	.
<i>Jasonia saxatilis</i>	1.1	+	.	.
<i>Asplenium trichomanes</i>	.	+	.	.
<i>Sarcocapnos enneaphylla</i>	+	.	+	+
<i>Ceterach officinarum</i>	+	.	.	.
<i>Hieracium praecox</i>	.	.	+	.

Companyes

<i>Parietaria diffusa</i>	.	+	.	.
---------------------------	---	---	---	---

Procedència dels inventaris

- 1.- Montsec d'Ares, barranc del Bosc, sota Moror
- 2.- Montsec d'Ares, barranc del Bosc, a prop de Roca Regina
- 3 i 5.- Congost de Terradets, vers el Forat de l'Or

Els inventaris de Conesa (1991; taula 22) són els següents:

Associació *Petrocoptido-Antirrhinetum mollis* :

INVENTARI NÚM.	1	2	4	5	6
Superfície (m ²)	20	5	5	6	5
Recobriment (%)	10	20	5	25	40
Altitud (m)	290	280	320	325	320
Orientació	N	N	N	NE	NE
Pendent (°)	90	90	90	90	90
Quadrícula UTM	CG2441	CG2541	CG2038	CG3540	CG3540

Característiques d'associació

<i>Antirrhinum molle</i>	+	+	+	+	.
<i>Petrocoptis montsicciana</i>	1.2	+	+2	2.1	+

Característiques d'aliança

<i>Sarcocapnos enneaphylla</i> subsp. <i>enneaphylla</i>	+	1.2	+	+	+
<i>Potentilla caulescens</i>	.	.	+	.	.2

Característiques d'ordre i classe

<i>Linaria origanifolia</i> subsp. <i>cadevallii</i>	+
<i>Jasonia saxatilis</i>	+	.	+	+	+
<i>Melica minuta</i> subsp. <i>minuta</i>	.	.	+	.	.
<i>Ficus carica</i>	+

Companyes

<i>Adiantum capillus-veneris</i>	+	.	+	+	+
----------------------------------	---	---	---	---	---

Espècies presents en un sol inventari

- 1: *Ulmus minor* (+)
 2: *Parietaria diffusa* (+)
 6: *Fumana ericoides* (1.1)

Procedència dels inventaris

- 1 i 2.- Congost de Camarasa
 4.- Barranc de Llorenç
 5 i 6.- Salgar, a prop del Santuari

Segons Fernández Casas (1974), *P. pardoii* està inclosa dins l'associació *Petrocoptidetum pardoii* Fernández Casas, que es classifica dins l'aliança *Sarcocapnion enneaphyllae* Fernández Casas, ordre *Sarcocapnetalia enneaphyllae* Fernández Casas, classe *Asplenieta rupestris* Br.-Bl. Els inventaris de l'associació *Petrocoptidetum pardoii* on trobem *P. pardoii* realitzats per Fernández Casas (1974; taula I), són els següents:

Associació *Petrocoptidetum pardoii* :

INVENTARI NÚM.	1	2	3	4	5	6	7
Superfície (m ²)	100	10	40	10	10	50	10
Recobriment (%)	Entre 1 i 10 %						
Orientació	---	SE	E	E	NE	N	---
Pendent (°)	90	160	90	130	120	90	180

Característiques d'associació

<i>Petrocoptis pardoï</i>	×	1.2	×	1.1	1.2	1.2	+2
---------------------------	---	-----	---	-----	-----	-----	----

Característiques d'aliança i ordre

<i>Sarcocapnos enneaphylla</i>	×	+	×	.	+2	+	+2
--------------------------------	---	---	---	---	----	---	----

Característiques de classe

<i>Ceterach officinarum</i>	×	.	×	.	.	+	.
<i>Jasonia saxatilis</i>	.	.	×	.	+	.	.
<i>Asplenium trichomanes</i>	.	.	×	.	.	×	.
<i>Polygala rupestris</i>	×	.	.	.	+	.	.
<i>Hieracium sp.</i>	.	.	×
<i>Sedum dasyphyllum</i>	×	+	.
<i>Ficus carica</i>	×	+	.

Companyes

<i>Juniperus phoenicea</i>	×
<i>Antirrhinum majus</i>	×

Procedència dels inventaris

1,2 i 3.- Voltants del Santuari de Nostra Senyora de la Balma

4,5,6 i 7.- Entre el Santuari de Nostra Senyora de la Balma i Aiguaviva

1.4. CONSERVACIÓ

Petrocoptis montsicciana és una espècie endèmica dels Pre-pirineus centrals i orientals, amb una àrea de distribució que ocupa una superfície aproximada de 900 km², repartida entre Catalunya i Aragó, i amb un nombre d'aproximadament 10.000 efectius. *P. pardoï* és també un endemisme però d'àrea més reduïda, que és limita a una franja de conglomerats a banda i banda del riu Bergantes, entre les localitats d'Aiguaviva (la Matarranya, Terol) i Sorita del Maestrat (els Ports, Castelló). La seva àrea de distribució abarca uns 200 km², i el nombre estimat d'individus ronda també els 10.000 (Generalitat Valenciana, *s.d.*). Ambdues espècies presenten una sèrie d'amenaques i riscos de conservació destacables, que els podem dividir en dos tipus:

- Problemes propis de l'espècie:

Segons alguns autors (Montserrat, 1979; Quézel, 1985), el gènere *Petrocoptis* és un relict del Terciari, el que fa que aquestes plantes es considerin altament especialitzades i el seu desenvolupament està per tant lligat a la existència de microambients adequats. Aquest fet comporta dos problemes principals (Generalitat Valenciana, *s.d.*): 1) a aquestes espècies els és força difícil competir amb d'altres millor adaptades a les actuals condicions climàtiques a l'hora de colonitzar nous espais, i 2) tenen una pobre capacitat de resposta davant algun tipus de pertorbació ambiental. Cal esmentar també que la taxa de germinació, instal·lació i pervivència de plàntules és força reduïda (Generalitat Valenciana, 1992, *s.d.*), fet que complica la recuperació d'una població davant una hipotètica agressió d'origen natural o antròpic.

- Problemes externs a l'espècie:

Un dels problemes “clàssics” comuns a totes les espècies que es consideren rares és el de les herboritzacions massives. La inaccessibilitat de moltes de les poblacions de *Petrocoptis* ha evitat eficaçment aquest fenomen. La llista de material d'herbari, però, (cf. punt 1.3.1.4.) demostra la pressió de les recol·leccions sobre les poblacions més accessibles, on, efectivament, en el moment de redactar aquesta memòria, és una planta força rara. Aquest és el cas de la localitat clàssica de *P. pardoii*, el Santuari de Nostra Senyora de la Balma, que ha estat literalment “expoliada” durant el present segle. Durant la nostra visita, que va tenir lloc al febrer de 2000, no vam comptabilitzar més d'una vintena d'individus. El mateix fenomen ha succeït amb la localitat clàssica de *P. montsicciana*, el pas de Terradets. Un altre dels problemes que es deriven de l'activitat humana és el risc d'incendis forestals, doncs moltes vegades les parets que ocupa *Petrocoptis* estan rodejades d'una densa vegetació.

P. montsicciana també presenta una sèrie de riscos particulars, com és la presència de nombroses vies d'escalada a l'hàbitat de l'espècie, que poden malmetre alguns dels individus. Un altre dels perills és la recent instal·lació d'una passarel·la metàl·lica, força transitada, al marge esquerra del Segre, molt a prop de la presa de Camarasa, i a on molts individus queden a l'abast de la mà (fig. 11). Un altre factor de risc són les obres de millora de la carretera que comunica Tremp amb Balaguer, on recentment s'ha dut a terme una modificació d'aquesta. Fruit d'aquestes obres s'ha produït la desaparició física de l'indret conegut com la Font de les Bagasses –localitat citada tradicionalment– i la instal·lació de xarxes de contenció d'enderrocaments a algunes de les parets on viu l'espècie. D'altres obres de gran abast previstes, com ara la millora de la via fèrria Balaguer-Pobla de Segur, i la possible creació de nous embassaments o modificació dels actuals, signifiquen una amenaça evident per a les poblacions de *P. montsicciana*. Cal mencionar també que la realització de preses i embassaments en els estrets pre-pirinencs ha afectat, per inundació, un nombre indeterminat d'individus.

Problemes de conservació similars es presenten amb les localitats de *P. pardoii*. A la carretera que uneix Aiguaviva amb Sorita s'han eixamplat alguns trams, i es preveuen noves obres, que podrien afectar les poblacions que estan més a la vora de la carretera.

Grau d'amenaça: *P. montsicciana* ha estat inclosa per Sáez *et al.* (1998) dins la categoria **vulnerable** (VU) de la UICN. Dita inclusió es recolza en el compliment de la premisa D2 (UICN, 1994): “població caracteritzada per una aguda restricció en la seva àrea d'ocupació (típicament menor a 100 km²) o en el nombre de localitats (típicament menys de 5). D'aquesta manera el tàxon té possibilitats d'ésser afectat per les activitats humanes (o per esdeveniments estocàstics amb un impacte ageujat per l'home) dins un període de temps molt curt en un futur imprevisible, arribant a estar en *perill crític* o *extingit* en un temps molt breu”. A l'Aragó, tant *P. montsicciana* com *P. pardoii* estan inclosos dins la categoria vulnerable (Sainz *et al.*, 1996) de la IUCN.



FIG. 11. Passarel·la metàl·lica a la presa de Camarasa.

Figures de protecció legal i conservació *in-situ*: A nivell de Catalunya, *P. montsicciana* està llistada dins els tàxons de la flora estrictament protegits pel Pla d'Espais d'Interès Natural (PEIN; Decret 328/1992, publicat al DOGC núm. 1714, d'1 de març de 1993, annex 3). Algunes de les localitats on trobem l'espècie estan incloses dins el llistat d'espais protegits pel PEIN, el que els dona un cert nivell de protecció a nivell de territori. La normativa del PEIN recull una sèrie de prohibicions i normes de protecció per a aquests espais. La serra del Montsec, on trobem el major nombre de localitats de *P. montsicciana*, és un espai inclòs dins el PEIN, però no s'inclou la part de la serra que és administrativament aragonesa. També és un espai del PEIN l'anomenat Aiguabarreig Segre-Noguera Pallaresa, on trobem les localitats properes a l'embassament de Camarasa i la localitat de Sant Llorenç de Montgai. L'espai PEIN serra del Montsec inclou la Reserva Natural *Noguera Ribagorçana-Montrebei*, on hi ha algunes poblacions de *P. montsicciana*, i actualment adquirida per la Fundació Territori i Paisatge (Caixa de Catalunya) (J. Sargatal, com. pers.).

D'altra banda, *P. montsicciana* està inclosa a l'annex 2 de la Directiva Hàbitats (Directiva 92/43/CEE, de 21 de maig de 1992). La Directiva hàbitats representa una de les figures de protecció més importants en el territori de la Unió europea per a la conservació dels hàbitats naturals i de la fauna i flora silvestres. Posteriorment, el Consell de les Comunitats Europees ha aprovat la Directiva 97/62/CE, de 27 d'octubre de 1997, que modifica la Directiva 92/43/CEE. *P. montsicciana* també és una espècie inclosa en l'annex I de la revisió del Conveni de Berna (Stuttgart, 6 de març de 1992). En el darrer esborrany de la "Lista roja de la flora vascular española" (28 de juny de 2000) es torna a classificar l'espècie en la mateixa categoria.

Cal destacar especialment la estratègia de conservació *in-situ* que s'ha posat en marxa recentment en la localitat més nombrosa de *P. pardoii* (5000 individus estimats,

segons la Generalitat Valenciana, *s.d.*), el Barranc de la Mare de Déu, molt a prop del Santuari de Nostra Senyora de la Balma. Es tracta de la creació d'una *microreserva botànica* dins el projecte LIFE (finançat per fons de la Unió Europea).

Conservació *ex-situ*: Al laboratori de Botànica de la Facultat de Farmàcia es disposa de granes de *P. montsicciana* recol·lectades directament del camp degudament classificades i emmagatzemades (banc de germoplasma), de les quals es van dur a terme recentment assajos de germinació. També hi ha grana disponible de la mateixa espècie a l'Escola Tècnica Superior d'Enginyers Agrònoms de Madrid (Sainz *et al.*, *l.c.*).

1.5. INTERÈS MEDICINAL

La família de les cariofil·làcies no ha destacat tradicionalment pel seu aprofitament medicinal. No obstant, estudis recents de farmacologia experimental han posat en evidència que alguns membres d'aquesta família tenen valuoses propietats terapèutiques.

Tenim un exemple en els extractes metanòlics de *Drymaria cordata* Willd., que han demostrat una activitat antitussiva comparable al fosfat de codeïna (Mukherjee *et al.*, 1997). D'altra banda, els extractes de les llavors de *Vaccaria segetalis* (Neck.) Garcke ex Asch. i els pèptids cíclics que s'obtenen d'aquests, presenten activitat estrogènica (Itokawa *et al.*, 1995).

El gènere *Petrocoptis* presenta un enorme interès des del punt de vista medicinal, donat que s'han aïllat de diferents espècies del gènere una sèrie de proteïnes inactivadores de ribosomes (les anomenades RIP's) amb potencials aplicacions en la terapèutica del càncer i de la SIDA (Arias, 1994). Les RIP's són N-glicosidases que depurinen el rRNA 28 S als mamífers, el que produeix una inhibició irreversible de la síntesi proteica. Algunes RIP's també depurinen el rRNA 25 S en plantes i el rRNA 23 S en bacteris. Les RIP's es classifiquen en tres categories:

- Tipus 1: són enzims d'una sola cadena, generalment sense toxicitat.
- Tipus 2: són enzims formats per dues cadenes, unides mitjançant ponts disulfur, de les quals una és una lectina mentre que l'altra és una N-glicosidasa equivalent a una RIP de tipus 1. Algunes són tòxiques i d'altres no.
- Tipus 4: formades per quatre cadenes organitzades en dos dímers, cadascun dels quals és equivalent a una RIP de tipus 2. Poden ser tòxiques o no tòxiques.

Les RIP's estan àmpliament distribuïdes dins la família de les cariofil·làcies. S'han aïllat a arrels, fulles i llavors de *Saponaria officinalis* L. (Ferreras *et al.*, 1993), a les llavors de *Saponaria ocymoides* L. i *Vaccaria pyramidata* Medik. i a la planta sencera de *Petrocoptis grandiflora* Rothm. i *Petrocoptis glaucifolia* (Lag.) Boiss.

La funció de les RIP's a la planta no es coneix amb exactitud. Es pensa que poden actuar com a part d'un mecanisme de defensa enfront de virus i fongs, donades les seves propietats antivirals i antifúngiques.

Sembla existir una àmplia homologia de les seqüències aminoacídiques amino-terminals entre les RIP's d'espècies de plantes que pertanyen a una mateixa família, però aquesta disminueix molt quan comparem RIP's entre diferents famílies. Aquesta mancança d'homologia entre famílies indica que el seu mecanisme d'acció no està gaire relacionat amb l'estructura primària de l'extrem amino-terminal de la proteïna.

Actualment s'han pogut aïllar 3 RIP's de les espècies del gènere *Petrocoptis*. De *P. grandiflora* s'ha obtingut la *petrograndina*, i de *P. glaucifolia* la *petroglaucina 1* i la *petroglaucina 2*. En estudis de farmacologia experimental, les 3 RIP's, que són de tipus 1, inhibien àmpliament la síntesi proteica en reticulòcits lisats de conill i en d'altres sistemes lliures de cèl·lules eucariòtiques, però es mostraven totalment inactives en ribosomes bacterians (Arias *et al.*, 1992, 1994).

Les RIP's s'estan usant avui com a components d'immunotoxines que s'administren en teràpia experimental de malalties com el càncer i la SIDA. De fet, RIP's del tipus I es troben a la fase II d'assaigs clínics en pacients que pateixen la SIDA (Arias *et al.*, 1994). S'està pensant també en introduir la seva seqüència en el genoma de plantes per protegir aquestes enfront malalties de caire parasític (Arias *et al.*, 1992, 1994). Finalment, cal esmentar que les RIP's podrien ser útils per a la realització d'estudis bioquímics de ribosomes, especialment de plantes, però també d'altres organismes (Arias *et al.*, 1992).

2. PLANTEJAMENT I OBJECTIUS

El plantejament general del nostre estudi és l'anàlisi de la diversitat genètica en diferents poblacions de dues espècies molt similars morfològicament del gènere *Petrocoptis*, *P. montsiciana* i *P. pardoi*. Estudis recents (Mayol, 1998; Mayol i Rosselló, 1999) semblen indicar que en realitat es tractaria d'una única espècie, motiu pel qual el processat de les dades s'ha fet conjuntament per les diferents poblacions d'ambdues espècies. A més, en l'extrem que es tractés de dues espècies diferents, el mode d'actuar tampoc seria incorrecte perquè l'estudi de la variabilitat isoenzimàtica el portem a terme a nivell de població i no a nivell d'espècie, el que tracta les diferents poblacions com a unitats específiques d'estudi sense tenir en compte a quina espècie pertanyen.

Els objectius específics del nostre estudi són els següents:

1. Analitzar la diversitat genètica de quatre poblacions de *P. montsiciana* representatives de la seva àrea de distribució.
2. Analitzar la diversitat genètica de tres poblacions de *P. pardoi*.
3. Intentar discernir, en base a les dades de variabilitat isoenzimàtica, si ambdues espècies són en realitat la mateixa espècie o, pel contrari, es manté la tradicional barrera taxonòmica entre aquestes.

4. Inferir l'estat de conservació en el que es troben les poblacions de *P. montsicciana* i *P. pardoi*, i proposar mesures per a la seva conservació.

3. MATERIAL I MÈTODES

3.1. MATERIAL

Les fulles d'individus, preferentment joves, ha estat el material que hem emprat per a dur a terme els assajos d'electroforesi d'isoenzims en les dues espècies de *Petrocoptis*, *P. montsicciana* i *P. pardoi*. La recol·lecció de mostres i la realització dels experiments es féu en dues etapes, una primera durant els primers mesos del 1999 i una segona a l'any present. Durant el 1999 es mostrejaren dues de les quatre poblacions de *P. montsicciana* objecte dels nostre estudi, la primera situada a les immediacions de la presa de Camarasa i la segona a les parets del congost de Terradets. Durant els mesos de febrer i març de 2000 s'han mostrejat dues poblacions més de l'espècie, una localitzada al congost de Mont-rebei i l'altra a prop de la Móra Comdal (nord de la comarca del Solsonès). Les quatre poblacions de *P. montsicciana* es troben suficientment allunyades entre sí (les dues més properes estan separades per 15 km) per ser prou representatives de l'àrea de distribució de l'espècie (taula 6). Respecte *P. pardoi*, el mostreig s'ha dut a terme en tres localitats diferents de la conca del riu Bergantes. La localitat més al nord l'hem anomenat Aiguaviva, per la proximitat a aquesta població, administrativament aragonesa. La segona població, més al sud, és la localitzada al paratge conegut com Cantal Badat. La localitat més meridional de les mostrejades és el Barranc de la Mare de Déu, molt a prop de la localitat clàssica de l'espècie (el Santuari de Nostra Senyora de la Balma). Aquestes dues últimes localitats ja són dins el País Valencià (taula 7).

El nombre d'individus analitzats en cada població és similar, al voltant dels 30 individus. L'ecologia de *Petrocoptis*, gènere de fort caràcter rupícola, ha ocasionat que el mostreig hagi estat, en la majoria dels casos, forçosament *lineal*. Els individus no sempre són a l'abast de la mà, el que comporta que els que creixen a una alçada considerable des de la base de la paret no es puguin mostrejar.

Les fulles mostrejades es van dipositar dins uns sobres de paper perfectament rotulats, i un cop al laboratori, es guardaren a la nevera a 4°C fins al moment de realitzar els nostres experiments. Un cop realitzats, la mostra restant, en forma d'extracte, es va dipositar al frigorífic a -40°C per poder-la conservar a llarg termini.

TAULA 6. POBLACIONS DE *P. MONTSICCIANA* ESTUDIADAES

Codi	Població	Nombre d'individus mostrejats
CAM	Pantà de Camarasa	31
TER	Congost de Terradets	21
MRB	Congost de Mont-rebei	46
MCO	La Móra Comdal	42
		TOTAL = 140

TAULA 7. POBLACIONS DE *P. PARDOI* ESTUDIADES

Codi	Població	Nombre d'individus mostrejats
CBD	Cantal Badat	31
BAR	Barranc de la Mare de Déu	30
AGV	Aiguaviva	22
		TOTAL = 83

3.2. METODOLOGIA

La metodologia que hem seguit per a dur a terme els nostres experiments s'explica detalladament en el punt 2.3.2 del capítol *Introducció*. Amb *P. montsicciana*, durant la primera fase experimental (1999), es van assajar 21 enzims diferents amb les poblacions de Camarasa i Terradets, dels quals se'n van resoldre 9 (14 loci en total). A la segona fase experimental, han resultat amb suficient nitidesa tots aquests loci tant per les dues poblacions restants de *P. montsicciana* com per les tres de *P. pardoi*. A més, hem aconseguit interpretar 2 isoenzims més, DIA-1 i DIA-2, dels quals s'ha realitzat l'electroforesi específica per aquests dos loci amb extractes que guardàvem congelats a -40°C de les mostres de Camarasa i Terradets.

TAULA 8. ENZIMS ASSAJATS AMB *P. MONTSICCIANA* I *P. PARDOI*

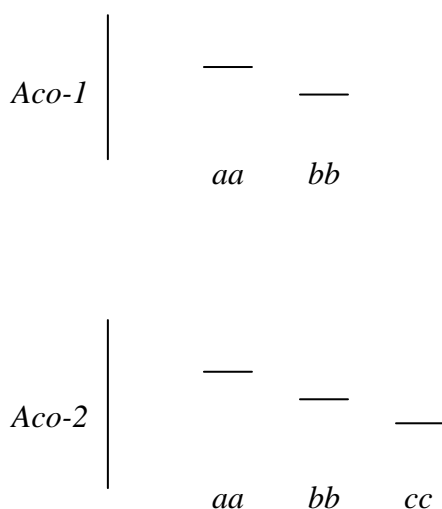
Enzims assajats (Abreviatura habitual, nom col·loquial, nom IUB i nom EC)	Resultats obtinguts	Gel emprat
ACO / Aconitasa / Citrat (isocitrat) hidrolasa / EC 4.2.1.3	Result	Tris-citrat 7.0
ACP / Fosfatasa àcida / Ortofosfòrico-monoèster fosfohidrolasa / EC 3.1.3.2	No result	----
ADH / Alcohol deshidrogenasa / Alcohol; NAD ⁺ òxido-reductasa / EC 1.1.1.1	Result	Borat de liti 8.2
CAT / Catalasa / Peròxid d'hidrogen:peròxid d'hidrogen òxido-reductasa / EC 1.11.1.6	No result	----
DIA / Diaforasa / NAD(P)H: (acceptor) òxido-reductasa / EC 1.6.99.-	Result	Borat de liti 8.2
EST / Estearasa / -- / EC 3.1.1.-	No result	----
FDH / Format deshidrogenasa / Format; NAD ⁺ òxido-reductasa / EC 1.2.1.2	No result	----
GDH / Glutamat deshidrogenasa / L-Glutamat:NAD ⁺ òxido-reductasa (desaminada) / EC 1.4.1.2	No result	----
GOT o AAT / Glutamat oxalacetat transaminasa o Aspartat amino-transferasa / L-Aspartat:2-oxoglutarat amino-transferasa / EC 2.6.1.1	Result	Borat de liti 8.2
IDH / Isocitrat deshidrogenasa / Isocitrat:NAD(P) ⁺ òxido-reductasa (descarboxilant) / EC 1.1.1.42 (forma NADP); EC 1.1.1.41 (forma NAD)	No result	----
LAP / Leucina amino-peptidasa / α -Aminoacil pèptid hidrolasa / EC 3.4.11.1	No result	----
LDH / Lactat deshidrogenasa / (S)-Lactat:NAD ⁺ òxido-reductasa / EC 1.1.1.27	No result	----

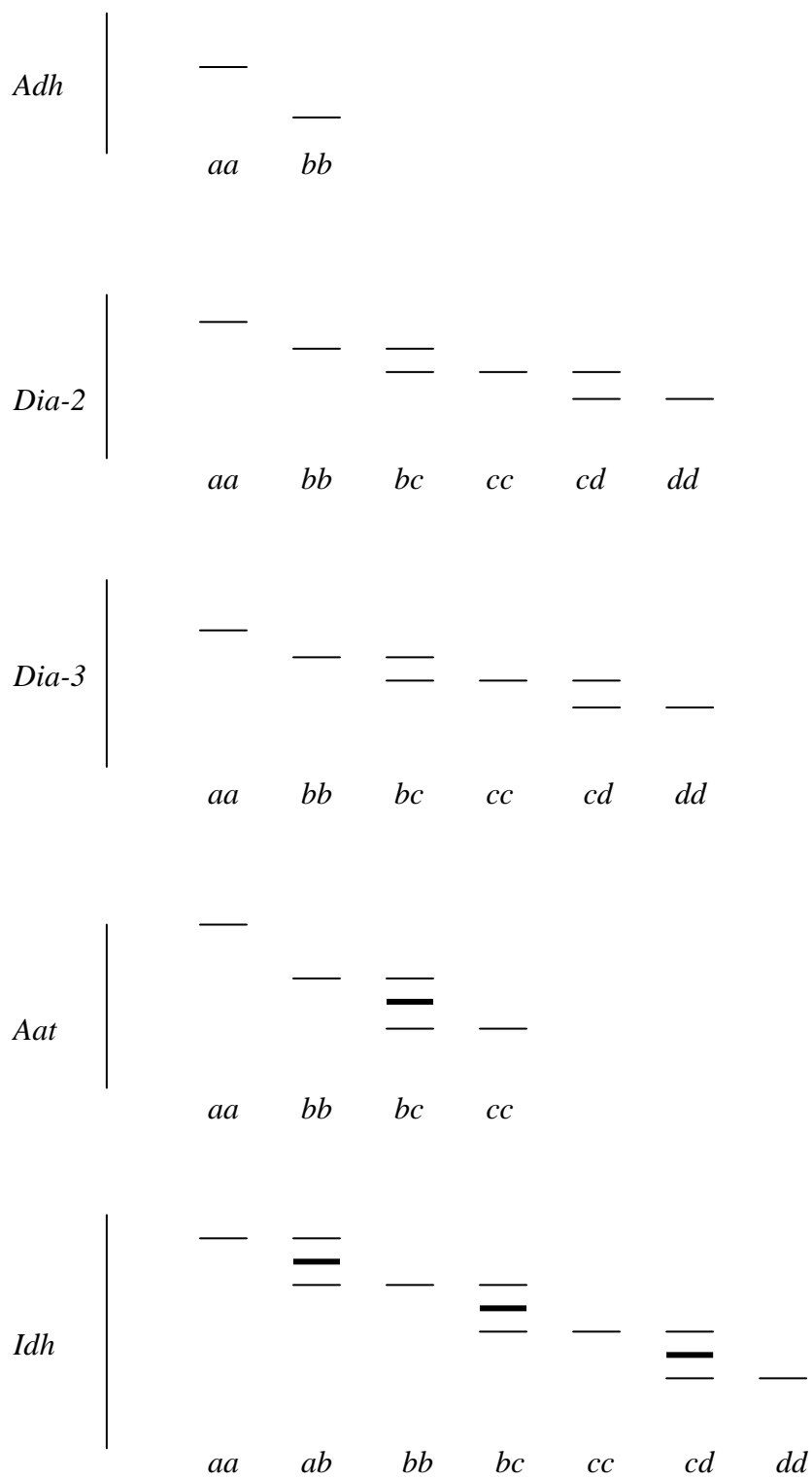
MDH / Malat deshidrogenasa / (S)-Malat:NAD ⁺ òxido-reductasa / EC 1.1.1.37	Result	Histidina-citrat 5.7
ME / Enzim màlic / (S)-Malat:NADP ⁺ òxido-reductasa (oxalacetat-descarboxilant) / EC 1.1.1.40	Result	Tris-citrat 7.0
PGD o 6PGD / Fosfogluconat deshidrogenasa / 6-Fosfo-D-gluconat / NADP ⁺ 2-òxido-reductasa / EC 1.1.1.44	Result	Histidina-citrat 5.7
PGI / Fosfoglucoisomerasa / D-Glucosa-6-fosfat cetol-isomerasa / EC 5.3.1.9	Result	Tris-citrat 7.0
PGM / Fosfoglucomutasa / α -D-Glucosa 1,6-fosfomutasa / EC 5.4.2.2	Result	Histidina-citrat 5.7
PRX / Peroxidasa / Donador:peròxid d'hidrogen òxido-reductasa / EC 1.11.1.7	Result	Tris-citrat 7.0
RBC / Ribulosa bifosfat carboxilasa (Rubisco) / 3-Fosfo-D-glicerat carboxilasa (dimeritzant) / EC 4.1.1.39	No result	----
SKD / Xiquimat deshidrogenasa / Xiquimat: NADP ⁺ 3-òxido-reductasa / EC 1.1.1.25	No result	----
TPI / Triosa-fosfat isomerasa / D-Gliceraldehid-3-fosfat cetol-isomerasa / EC 5.3.1.1	No result	----

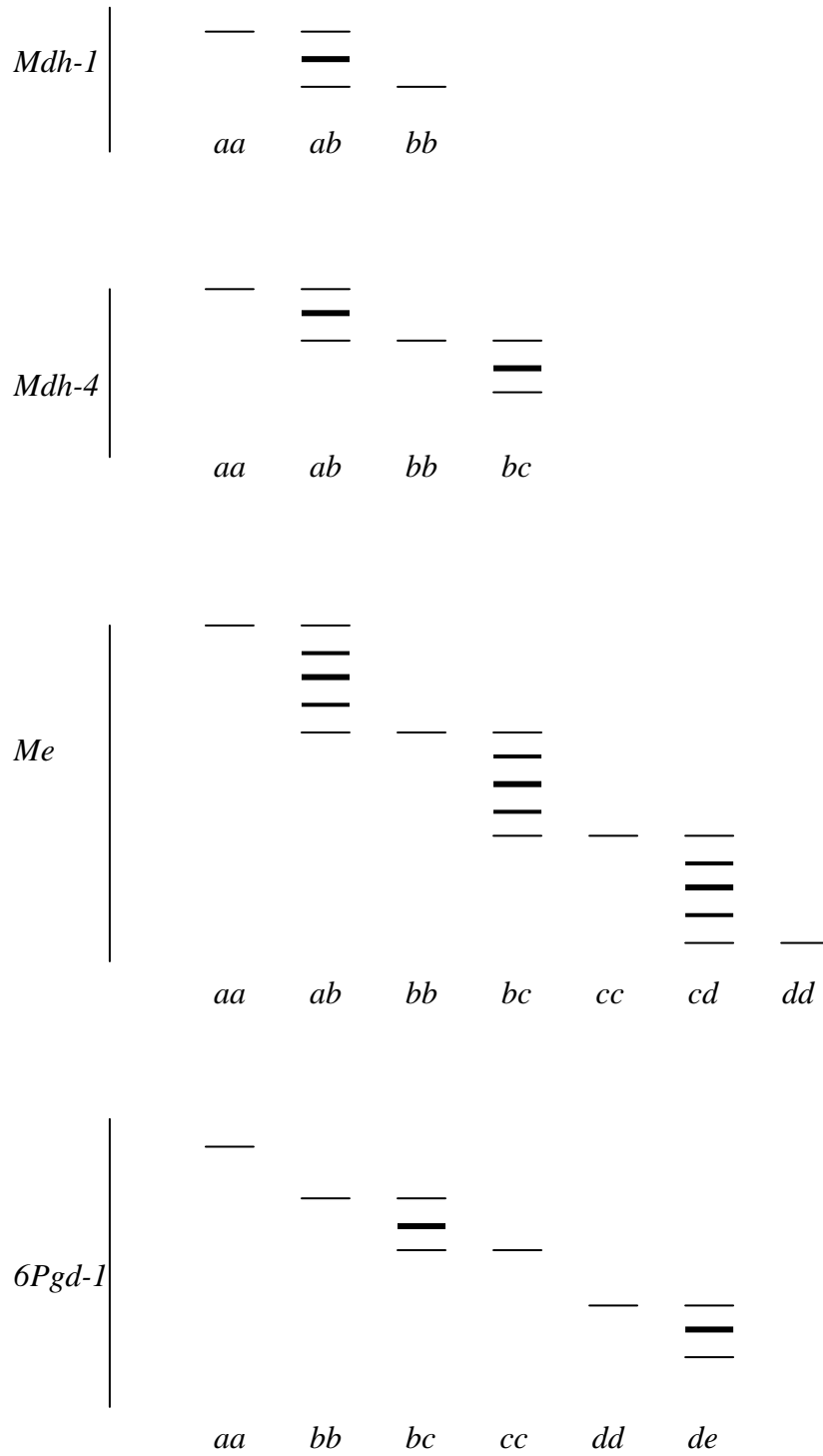
4. RESULTATS

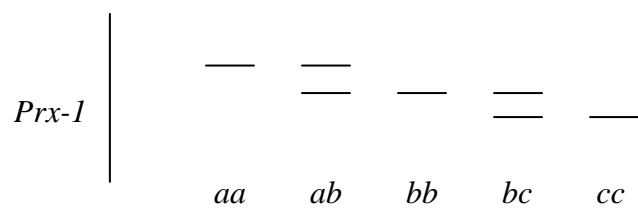
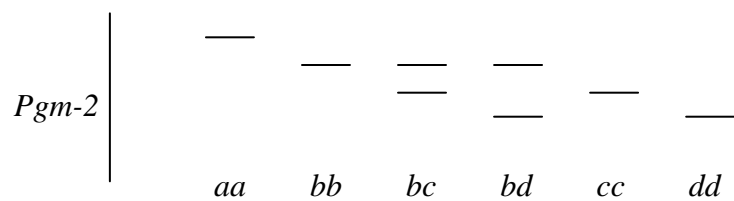
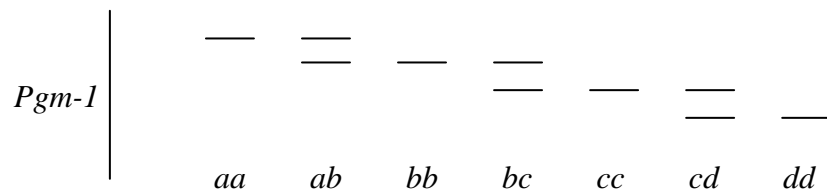
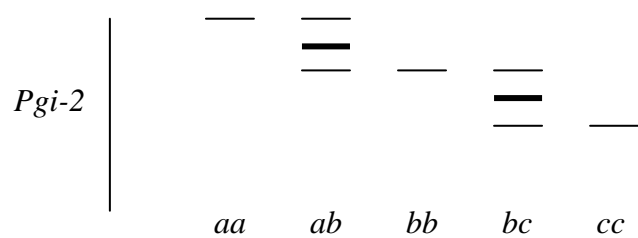
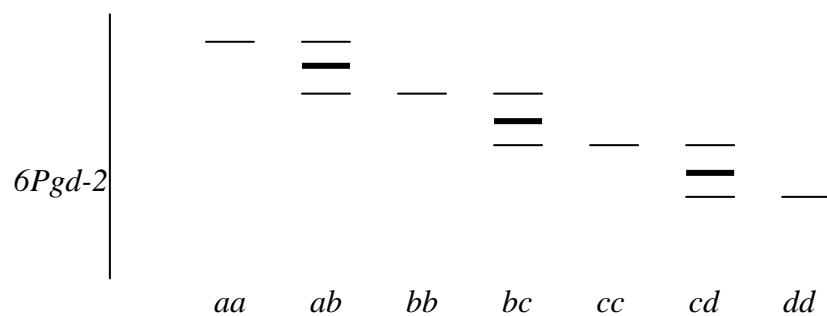
4.1. INTERPRETACIÓ DELS ZIMOGRAMES

Els fenotips isoenzimàtics s'han interpretat genèticament d'acord amb els principis estàndard (Wendel i Weeden, 1989) (fig. 12). Dels 21 enzims assajats, se n'han resolt i pogut interpretar 10 amb un total de 16 loci, els zimogrames dels quals s'analitzen a continuació.









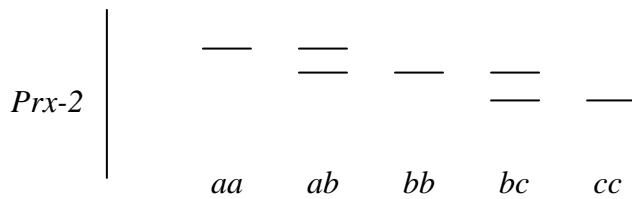


FIG. 12. Zimogrames obtinguts per als isoenzims assajats en *P. montsicciana* i *P. pardoi*, amb la seva interpretació genotípica.

Aconitasa (ACO):

L'ACO a les plantes diploides és un enzim monomèric (la seva estructura quaternària consta d'una única subunitat estructural), que sol presentar entre una i tres regions d'activitat (isoenzims) distribuïdes al citosol i als mitocondris. Els zimogrames de l'aconitasa, tal com apunta Garnatje (1995), sovint són difícils d'interpretar per diverses raons, com ara la complexitat dels patrons de bandes, la comigració de les bandes i la poca intensitat de tinció. A les dues espècies de *Petrocoptis*, detectem dos isoenzims (ACO-1 i ACO-2), amb una mobilitat electroforètica molt similar (fig. 13). Els al·lels dels dos sistemes de vegades s'encavalquen parcialment, fet que, juntament amb la poca intensitat amb que es tenyeixen les bandes, ens ha complicat la interpretació d'alguns gels. Cal destacar el fet que no detectem individus heterozigots per als dos isoenzims en cap de les poblacions estudiades.

L'isoenzim més anòdic (ACO-1) és polimòrfic en totes les poblacions de *Petrocoptis* excepte a la població de Terradets, on sol presenta l'al·lel *a*.

L'isoenzim més catòdic (ACO-2) també mostra polimorfisme en totes les poblacions excepte a Terradets, amb un màxim de 3 al·lels a les poblacions de Mont-rebei, la Móra Comdal i Cantal Badat.

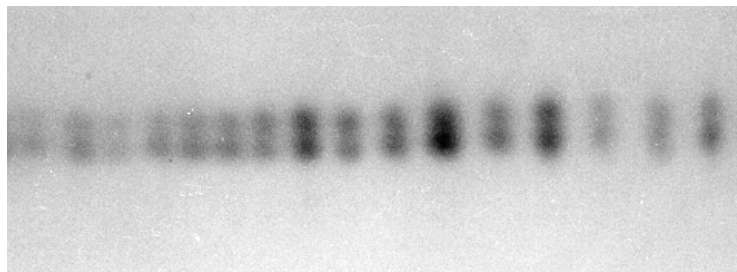


FIG. 13. Zimograma de l'enzim ACO.

Alcohol deshidrogenasa (ADH):

L'ADH a les plantes diploides és un enzim dimèric (la seva estructura quaternària consta de dues subunitats estructurals), que sol presentar entre una i tres regions d'activitat (isoenzims) localitzades al citosol. En *Petrocoptis*, únicament es detecta un isoenzim, que surt amb prou nitidesa. Cal destacar dos fets de prou rellevància: (1) l'absència de fenotips heterozigots en cap de les poblacions, i (2) que totes set poblacions són monomòrfiques. Ara bé, totes les poblacions presenten l'al·lel *a* excepte Camarasa, que mostra exclusivament l'al·lel *b* (fig. 14). El locus *Adh* pot esdevenir un bon marcador d'origen geogràfic, fet ja observat anteriorment en *P. montsicciana* (Simon *et al.*, 1999).

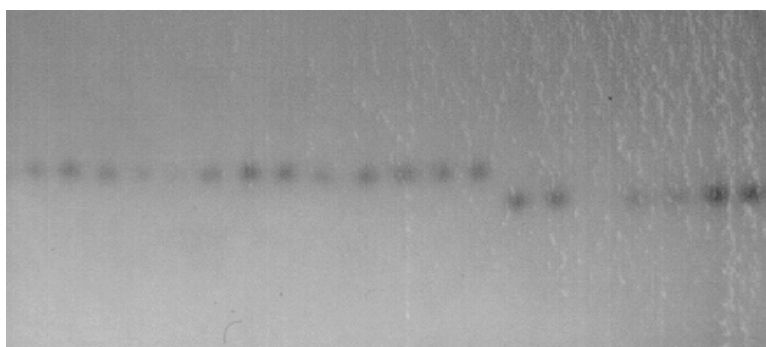


FIG. 14. Zimograma de l'enzim ADH.

Diaforasa (DIA):

La diaforasa és un enzim que es pot presentar en forma de monòmer, de dímer o de tetràmer, que pot presentar entre 1 i 4 isoenzims, els quals poden estar localitzats en diferents compartiments subcel·lulars (citosol, plastidis i mitocondris). En les dues espècies de *Petrocoptis*, als gels de midó podem observar tres regions d'activitat, de les quals únicament dues són interpretables (DIA-2 i DIA-3) amb una mobilitat electroforètica bastant similar. L'isoenzim més anòdic (DIA-1) no l'hem pogut interpretar perquè no sempre es tenia adequadament (fig. 15).

L'isoenzim més anòdic dels interpretables (DIA-2) és polimòrfic en totes les poblacions excepte a Aiguaviva, on sol presenta un al·loenzim. Presenta un màxim de 4 al·lells a Mont-rebei, única població que mostra l'al·lel *a*.

L'isoenzim més catòdic (DIA-3) mostra polimorfisme en totes les poblacions de *Petrocoptis*. Cal destacar que l'al·loenzim *a* únicament s'ha detectat a la població de Barranc de la Mare de Déu.

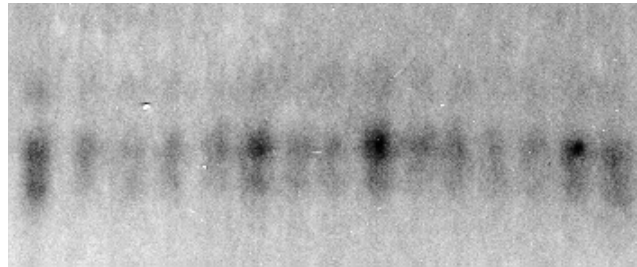


FIG. 15. Zimograma de l'enzim DIA.

Aspartat amino-transferasa (AAT):

Es tracta d'un enzim dimèric que pot presentar fins a quatre zones d'activitat i de localització subcel·lular diversa (citosòlica, plastidial, mitocondrial i als microcossos). En les dues espècies de *Petrocoptis*, sol s'observa una zona d'activitat, fixada en sis de les set poblacions de l'espècie. La població de Camarasa és l'única que presenta tres al·loenzims diferents i també l'única que presenta fenotips heterozigots (fig. 16). La resta d'individus analitzats són tots homozigots per a un únic al·lel (el *c*).

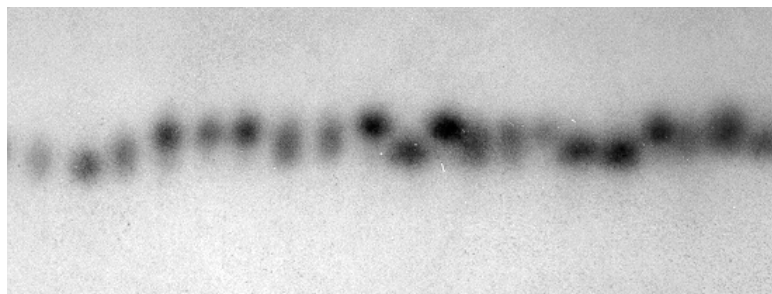


FIG. 16. Zimograma de l'enzim AAT.

Malat deshidrogenasa (MDH):

La MDH és un enzim dimèric amb un patró de bandes que sol presentar tres isoenzims. La localització subcel·lular d'aquest enzim és variable (citosòlica, mitocondrial i als microcossos). La interpretació genètica del patró de bandes d'aquest enzim habitualment resulta extremadament complexa, fet que es deu a tota una sèrie de factors. En primer lloc, és freqüent que alguns loci d'aquest enzim presentin duplicacions (Gottlieb, 1982), com també són molt comuns els encavalcaments que es produeixen entre bandes de diferents regions com a conseqüència de petites diferències entre els individus (Doebley *et al.*, 1986). Aquestes irregularitats poden ser atribuïdes a un possible canvi de conformació post-transcripcional de la proteïna (Goodman *et al.*, 1981; Doebley *et al.*, *l.c.*), però també podrien estar associades a artefactes provocats per les condicions d'extracció, a anomalies del mateix gel o a distorsions a causa del

corrent elèctric (Crawford i Wilson, 1977; Gottlieb, 1981; Tanskley, 1984; Weeden, 1984; Harry, 1986). La complexitat dels fenotips pot incrementar-se també per l'aparició de bandes secundàries produïdes per complexos amb cofactors o ions (Arulsekar *et al.*, 1986), la formació de dímers intergènics entre gens actius en el mateix compartiment cel·lular (Gottlieb, *l.c.*) i la presència d'al·lels nuls (Goodman *et al.*, *l.c.*).

En les dues espècies de *Petrocoptis*, hem detectat quatre regions d'activitat (MDH-1, MDH-2, MDH-3 i MDH-4) amb una mobilitat electroforètica molt similar, de manera que pràcticament no hi ha separació entre elles. Donada la complexitat de les bandes, hem descartat la interpretació dels isoenzims MDH-2 i MDH-3. La MDH-1 presenta únicament 2 al·lels, mentre que el sistema MDH-4 presenta 3 al·loenzims (fig. 17).

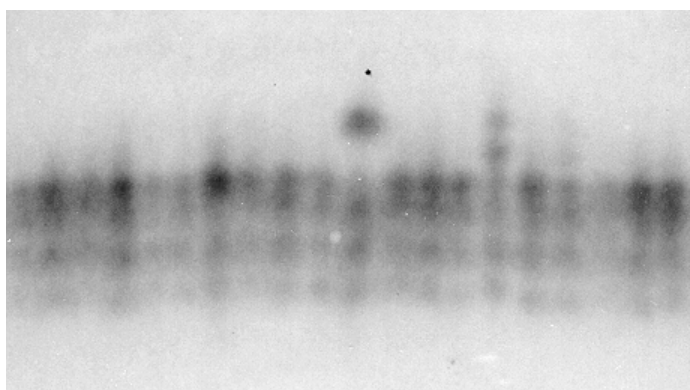


FIG. 17. Zimograma de l'enzim MDH.

Enzim màlic (ME):

És tracta d'un enzim sempre tetramèric (format per quatre subunitats estructurals) en les plantes diploides, que fenotípicament tan sols mostra una regió d'activitat de localització citosòlica. En les espècies que estudiem, només hem observat una única regió d'activitat, de difícil interpretació degut a que les bandes apareixen poc nítides i lleugerament patinades. Tot i això, hem pogut concloure que és un enzim amb un patró de bandes força variable, que presenta fins a quatre al·lels (fig. 18). És remarcable el fet que les bandes d'aquest isoenzim es destenyeixen ràpidament, per tant no s'hauria d'esperar massa per procedir a l'interpretació dels fenotips. Caujapé (1995), Bosch (1999) i Membrives (2000) han reportat una absència d'individus heterozigots en espècies anuals; Bosch (*l.c.*) però troba fenotips heterozigots en espècies perennes com *Delphinium bolosii* i *Delphinium montanum*. Nosaltres trobem alguns individus heterozigots en els gels, no obstant *P. montsicciana* i *P. pardoii* són dues espècies perennes. Teòricament s'esperarien 5 bandes en els individus heterozigots però la resolució que obtenim no és suficient per comprovar-ho.

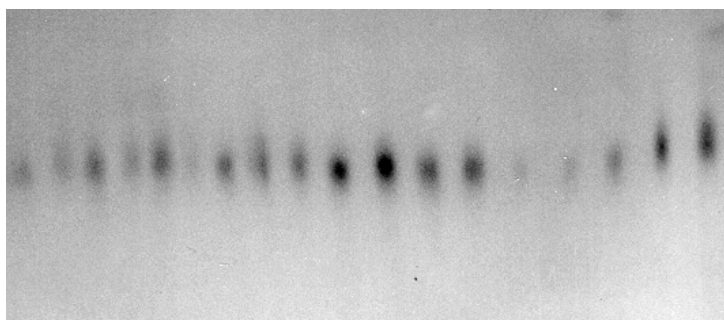


FIG. 18. Zimograma de l'enzim ME.

Fosfogluconat deshidrogenasa (6PGD):

És un enzim dimèric que generalment presenta dues regions d'activitat distribuïdes al citosol i als plastidis. Els zimogrames de *Petrocoptis* mostren dues regions d'activitat (6PGD-1 i 6PGD-2) força separades entre elles (fig. 19).

Hem identificat 5 al·lels al sistema 6PGD-1, dels quals *d* i *e* són exclusius de la població de Mont-rebei. Al sistema 6PGD-2 s'han identificat 4 al·lels; l'única població on hi són presents tots quatre és Aiguaviva, i és un isoenzim monomòrfic a Camarasa i Terradets. La 6PGD és en general un enzim de fàcil interpretació puix que les bandes surten força nítides.

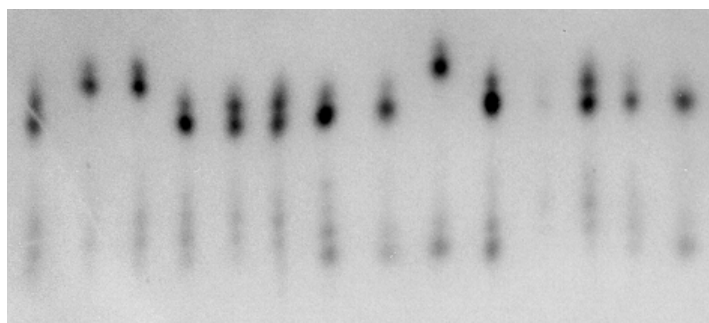


FIG. 19. Zimograma de l'enzim 6PGD.

Fosfoglucoisomerasa (PGI):

La PGI és un enzim dimèric en plantes diploides, que presenta habitualment dos isoenzims de localització citosòlica i plastídica. En les dues espècies de *Petrocoptis*, en els gels de midó podem observar dos sistemes de mobilitat electroforètica relativament diferent (PGI-1 i PGI-2), dels quals sol hem pogut interpretar la PGI-2 (fig. 20). El sistema enzimàtic més anòdic (PGI-1) no sempre l'hem pogut resoldre, de vegades perquè no surt amb prou nitidesa, les bandes apareixen patinades o simplement aquestes no es tenyeixen. Per tant, aquest sistema no s'ha tingut en compte en l'anàlisi isoenzimàtica.

A la PGI-2 podem visualitzar 3 al·loenzims. És un isoenzim que presenta polimorfisme a les poblacions de Camarasa, Terradets i la Móra Comdal, però és monomòrfic a Mont-rebei (població fixada per l'al·lel *b*) i a les tres poblacions de *P. pardoii* (fixades per l'al·lel *a*).

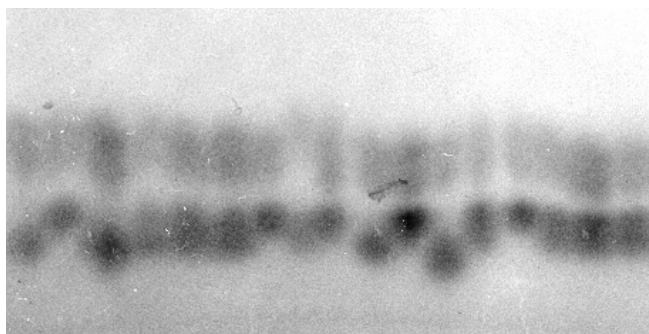


FIG. 20. Zimograma de l'enzim PGI.

Fosfoglucomutasa (PGM):

Es tracta d'un enzim de naturalesa monomèrica, que sol presentar dues regions d'activitat de localització citosòlica i plastídica. En *P. montsicciana* i *P. pardoi* detectem dues zones d'activitat que hem identificat com a dos isoenzims (PGM-1 i PGM-2) (fig. 21). L'isoenzim més anòdic (PGM-1), és polimòrfic en totes les poblacions, i presenta un màxim de 4 al·loenzims, mai presents tots quatre dins una sola població. L'isoenzim més catòdic (PGM-2) també mostra polimorfisme en totes les poblacions de *Petrocoptis*. Cal destacar que totes les poblacions presenten el mateix al·loenzim (el *b*) com el més comú.

Lleugerament per sota les bandes perfectament nítides de la PGM-2, s'entreveuen unes bandes rudimentàries que fan sospitar un tercer sistema que no es resol (poc probable puix que no tenim constància de la descripció de tres sistemes per a la PGM) o bé, tal com descriu Garnatje (1995), podria tractar-se de la 6PGD, que es tenyeix a quan s'utilitza com a substrat el 6-fosfogluconat, que és un producte format en la reacció que catalitza la PGM

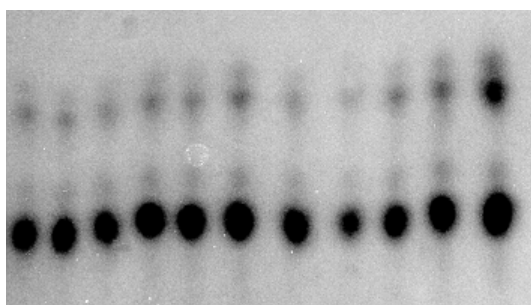


FIG. 21. Zimograma de l'enzim PGM.

Peroxidasa (PRX):

La peroxidasa és un enzim que pot tenir una estructura quaternària monomèrica o dimèrica, i amb un nombre d'isoenzims molt variable (entre 2 i 13), que poden estar localitzats tant al citosol com a la paret cel·lular. En les dues espècies de *Petrocoptis* estudiades, hem detectat dues zones d'activitat, destacant el fet que una ha presentat la

migració anòdica habitual (PRX-1) mentre que l'altra ha mostrat una migració catòdica (PRX-2), gens habitual en els experiments d'electroforesi d'isoenzims (figs. 22 i 23).

La PRX-1 és un isoenzim que presenta polimorfisme en totes les poblacions excepte Barranc de la Mare de Déu i Aiguaviva, on és monomòrfic per l'al·loenzim *b*. La PRX-2 en canvi és polimòrfica en totes les poblacions. Ambdós isoenzims mostren fins a 3 al·loenzims cadascun. Tant en un com en l'altre isoenzim és difícil de discernir si són de naturalesa monomèrica o dimèrica, puix que no s'observa clarament si els fenotips heterozigots presenten dues o tres bandes.

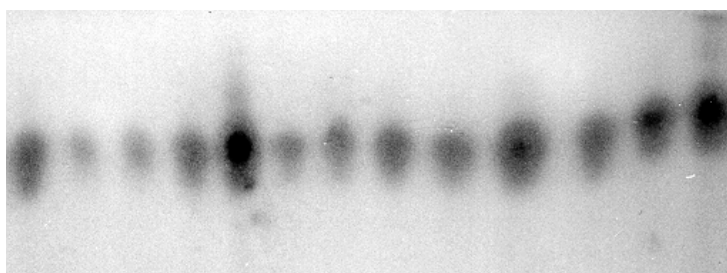


FIG. 22. Zimograma de l'isoenzim PRX-1 (migració anòdica).

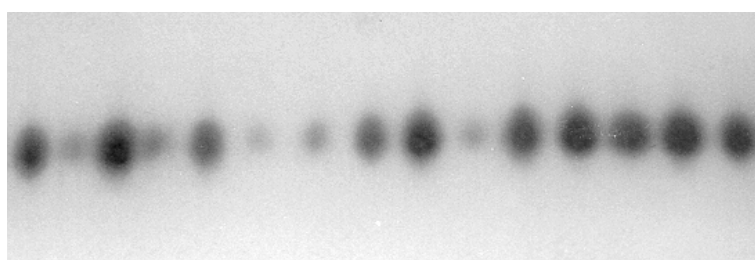


FIG. 23. Zimograma de l'isoenzim PRX-2 (migració catòdica).

4.2. VARIABILITAT GENÈTICA

Riquesa i distribució al·lèliques: Entre les dues espècies estudiades, s'han detectat un total de 53 al·lèls, distribuïts entre els 16 loci que hem interpretat (taula 9). Si fem l'anàlisi al·lèlica separant les dues espècies, *P. montsicciana* presenta 49 al·lèls, mentre que *P. pardoi* en presenta 39, i són 35 els al·lèls comuns a les dues espècies. Podem parlar d'al·lèls *privats* tant a nivell d'espècie com a nivell de població. *P. montsicciana* mostra 14 al·lèls que no trobem a *P. pardoi*, mentre només hi ha 4 al·lèls de *P. pardoi* que no apareixen a les diferents poblacions de *P. montsicciana*. Si contemplem els al·lèls privats a nivell de població considerant les dues espècies com a una sola, hi ha tres poblacions que no en tenen (Terradets, Móra Comdal i Cantal Badat). La població de Camarasa és la que mostra més al·lèls privats, quatre concretament (*Adh b*, *Aat a*, *Aat b* i *Mdh-4 c*). Mont-rebei té tres al·lèls privats (*Dia-2 a*, *6Pgd-1 d* i *6Pgd-1 e*),

mentre que les dues poblacions restants, el Barranc de la Mare de Déu i Aiguaviva, sol en poseeixen un (*Dia-3 a* i *6Pgd-2 d*, respectivament) (taula 10). La població més rica en quant a nombre d'al·lells és la Móra Comdal (39 al·lells), mentre les més pobres són Terradets i Barranc de la Mare de Déu (29 al·lells). En posicions intermèdies figuren Aiguaviva (31), Camarasa i Cantal Badat (33) i Mont-rebei (38 al·lells).

TAULA 9. FREQUÈNCIES AL·LÈLIQUES OBSERVADES PER 16 LOCI A LES 5 POBLACIONS DE *PETROCOPTIS*. CAM: CAMARASA; TER: TERRADETS; MRB: MONT-REBEI; MCO: MÓRA COMDAL; CBD: CANTAL BADAT; BAR: BARRANC MARE DE DÉU; AGV: AIGUAVIVA.

Locus	Al·lel	POBLACIONS						
		<i>P. montsicciana</i>				<i>P. pardoi</i>		
		CAM (N=31)	TER (N=21)	MRB (N=46)	MCO (N=42)	CBD (N=31)	BAR (N=30)	AGV (N=22)
<i>Aco-1</i>	<i>a</i>	<u>0,935</u>	<u>1,000</u>	<u>0,848</u>	<u>0,929</u>	<u>0,903</u>	<u>0,933</u>	<u>0,955</u>
	<i>b</i>	0,065	0,000	0,152	0,071	0,097	0,067	0,045
<i>Aco-2</i>	<i>a</i>	0,065	0,000	0,087	0,095	0,323	0,067	0,045
	<i>b</i>	<u>0,935</u>	<u>1,000</u>	<u>0,891</u>	<u>0,857</u>	<u>0,645</u>	<u>0,933</u>	<u>0,955</u>
	<i>c</i>	0,000	0,000	0,022	0,048	0,032	0,000	0,000
<i>Adh</i>	<i>a</i>	0,000	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>
	<i>b</i>	<u>1,000</u>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>Dia-2</i>	<i>a</i>	0,000	0,000	0,022	0,000	0,000	0,000	0,000
	<i>b</i>	0,048	0,024	0,043	<u>0,702</u>	0,000	0,000	0,000
	<i>c</i>	<u>0,952</u>	<u>0,881</u>	<u>0,913</u>	0,298	<u>0,871</u>	<u>0,917</u>	<u>1,000</u>
	<i>d</i>	0,000	0,095	0,022	0,000	0,129	0,083	0,000
<i>Dia-3</i>	<i>a</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,167	0,000
	<i>b</i>	0,065	0,000	0,043	0,155	0,194	0,200	0,000
	<i>c</i>	<u>0,935</u>	<u>0,762</u>	<u>0,924</u>	<u>0,821</u>	<u>0,806</u>	<u>0,633</u>	<u>0,864</u>
	<i>d</i>	0,000	0,238	0,033	0,024	0,000	0,000	0,136
<i>Aat</i>	<i>a</i>	0,032	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	<i>b</i>	<u>0,548</u>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	<i>c</i>	0,419	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>
<i>Mdh-1</i>	<i>a</i>	0,000	0,000	0,000	0,357	<u>1,000</u>	0,050	<u>0,955</u>
	<i>b</i>	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>	<u>0,643</u>	0,000	<u>0,950</u>	0,045
<i>Mdh-4</i>	<i>a</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	<u>0,984</u>	0,000	<u>0,955</u>
	<i>b</i>	<u>0,871</u>	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>	0,016	<u>1,000</u>	0,045
	<i>c</i>	0,129	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>Me</i>	<i>a</i>	0,177	0,095	0,076	0,024	0,065	0,000	0,068
	<i>b</i>	<u>0,710</u>	<u>0,833</u>	<u>0,652</u>	<u>0,679</u>	<u>0,710</u>	<u>0,800</u>	<u>0,545</u>
	<i>c</i>	0,113	0,071	0,250	0,238	0,226	0,200	0,386

	<i>d</i>	0,000	0,000	0,022	0,060	0,000	0,000	0,000
<i>6Pgd-1</i>	<i>a</i>	<u>0,839</u>	0,143	0,000	0,071	0,000	0,133	0,182
	<i>b</i>	0,161	<u>0,857</u>	0,043	0,095	0,097	0,150	0,341
	<i>c</i>	0,000	0,000	<u>0,870</u>	<u>0,833</u>	<u>0,903</u>	<u>0,717</u>	<u>0,477</u>
	<i>d</i>	0,000	0,000	0,076	0,000	0,000	0,000	0,000
	<i>e</i>	0,000	0,000	0,011	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>6Pgd-2</i>	<i>a</i>	0,000	0,000	0,076	0,429	0,065	0,000	0,045
	<i>b</i>	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>	<u>0,685</u>	<u>0,571</u>	<u>0,726</u>	0,050	0,182
	<i>c</i>	0,000	0,000	0,239	0,000	0,210	<u>0,950</u>	<u>0,523</u>
	<i>d</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,250
<i>Pgi-2</i>	<i>a</i>	<u>0,548</u>	<u>0,619</u>	0,000	0,000	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>
	<i>b</i>	0,435	0,381	<u>1,000</u>	0,107	0,000	0,000	0,000
	<i>c</i>	0,016	0,000	0,000	<u>0,893</u>	0,000	0,000	0,000
<i>Pgm-1</i>	<i>a</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,355	<u>0,583</u>	0,364
	<i>b</i>	0,000	0,357	0,467	0,262	<u>0,629</u>	0,417	<u>0,636</u>
	<i>c</i>	<u>0,839</u>	<u>0,500</u>	<u>0,533</u>	<u>0,726</u>	0,016	0,000	0,000
	<i>d</i>	0,161	0,143	0,000	0,012	0,000	0,000	0,000
<i>Pgm-2</i>	<i>a</i>	0,000	0,048	0,109	0,048	0,000	0,000	0,000
	<i>b</i>	<u>0,758</u>	<u>0,762</u>	<u>0,891</u>	<u>0,833</u>	<u>0,903</u>	<u>0,967</u>	<u>0,932</u>
	<i>c</i>	0,226	0,190	0,000	0,071	0,097	0,000	0,068
	<i>d</i>	0,016	0,000	0,000	0,048	0,000	0,033	0,000
<i>Prx-1</i>	<i>a</i>	0,145	0,000	0,043	0,071	0,000	0,000	0,000
	<i>b</i>	<u>0,855</u>	<u>0,643</u>	<u>0,837</u>	0,440	<u>0,968</u>	<u>1,000</u>	<u>1,000</u>
	<i>c</i>	0,000	0,357	0,120	<u>0,488</u>	0,032	0,000	0,000
<i>Prx-2</i>	<i>a</i>	<u>0,565</u>	0,310	0,109	0,036	0,032	0,000	0,000
	<i>b</i>	0,435	<u>0,690</u>	<u>0,859</u>	<u>0,810</u>	<u>0,871</u>	<u>0,800</u>	<u>0,932</u>
	<i>c</i>	0,000	0,000	0,033	0,155	0,097	0,200	0,068

N: Mida de la mostra per població

L'al·lel més freqüent de cada locus està subratllat

Parlant en termes de *rarsa al·lèlica*, en totes les poblacions trobem al·lells rars si prenem en consideració que un al·lel rar és aquell que es troba en freqüència < 0.05. En canvi, si prenem com a llindar de raresa una freqüència < 0.01, no trobem al·lells rars en cap de les poblacions analitzades (taula 10). La població més prolífica en quant a al·lells rars és Móra Comdal (7 al·lells rars), mentre la que en presenta menys és Barranc de la Mare de Déu, amb un únic al·lel rar (*Pgm-2 d*).

Si prenem el criteri que un locus és polimòrfic quan presenta més d'un al·lel, Camarasa i Móra Comdal són les poblacions amb més loci polimòrfics (13 dels 16 loci totals). Cantal Badat té 12 loci polimòrfics, i Mont-rebei, Barranc de la Mare de Déu i Aiguaviva 11. La població amb més loci fixats és Terradets (9 loci polimòrfics i 7 loci fixats). 6 loci són polimòrfics en totes les poblacions (*Dia-3*, *Me*, *6Pgd-1*, *Pgm-1*, *Pgm-*

2 i *Prx-2*), mentre que només hi ha un locus monomòrfic comú a totes 7 poblacions (*Adh*). És força curiós el monomorfisme de *Adh*, on la població de Camarasa presenta l'al·lel *a* i la resta de poblacions mostren l'al·lel *b*. El locus *Adh* pot esdevenir un bon marcador d'origen geogràfic, fet ja observat anteriorment en *P. montsicciana* (Simon *et al.*, 1999). Si fem l'anàlisi del polimorfisme separant les dues espècies, *P. montsicciana* no té cap loci estrictament monomòrfic, sí en canvi *P. pardoi*, que en té tres (*Adh*, *Aat* i *Pgi-2*).

El locus més variable és *6Pgd-1*, que presenta un màxim de 5 al·lells, i els loci menys variables són *Aco-1*, *Adh* i *Mdh-1*, amb 2 al·lells.

TAULA 10. ANÀLISI AL·LÈLICA PER LOCUS EN LES DIFERENTS POBLACIONS DE *PETROCOPTIS* ESTUDIADAES

Locus	CAM				TER			
	A. més comú	A. privats*	A. rars ^a	A.rars ^b	A. més comú	A. privats*	A. rars ^a	A.rars ^b
<i>Aco-1</i>	<i>a</i>	---	---	---	<i>a</i>	---	---	---
<i>Aco-2</i>	<i>b</i>	---	---	---	<i>b</i>	---	---	---
<i>Adh</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	---	---	<i>a</i>	---	---	---
<i>Dia-2</i>	<i>c</i>	---	<i>b</i>	---	<i>c</i>	---	<i>b</i>	---
<i>Dia-3</i>	<i>c</i>	---	---	---	<i>c</i>	---	---	---
<i>Aat</i>	<i>b</i>	<i>a,b</i>	<i>a</i>	---	<i>c</i>	---	---	---
<i>Mdh-1</i>	<i>b</i>	---	---	---	<i>b</i>	---	---	---
<i>Mdh-4</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	---	---	<i>b</i>	---	---	---
<i>Me</i>	<i>b</i>	---	---	---	<i>b</i>	---	---	---
<i>6Pgd-1</i>	<i>a</i>	---	---	---	<i>b</i>	---	---	---
<i>6Pgd-2</i>	<i>b</i>	---	---	---	<i>b</i>	---	---	---
<i>Pgi-2</i>	<i>a</i>	---	<i>c</i>	---	<i>a</i>	---	---	---
<i>Pgm-1</i>	<i>c</i>	---	---	---	<i>c</i>	---	---	---
<i>Pgm-2</i>	<i>b</i>	---	<i>c</i>	---	<i>b</i>	---	<i>a</i>	---
<i>Prx-1</i>	<i>b</i>	---	---	---	<i>b</i>	---	---	---
<i>Prx-2</i>	<i>a</i>	---	---	---	<i>b</i>	---	---	---

TAULA 10. (Continuació)

Locus	MRB				MCO			
	A. més comú	A. privats*	A. rars ^a	A.rars ^b	A. més comú	A. privats*	A. rars ^a	A.rars ^b
<i>Aco-1</i>	<i>a</i>	---	---	---	<i>a</i>	---	---	---
<i>Aco-2</i>	<i>b</i>	---	<i>c</i>	---	<i>b</i>	---	<i>c</i>	---
<i>Adh</i>	<i>a</i>	---	---	---	<i>a</i>	---	---	---
<i>Dia-2</i>	<i>c</i>	<i>a</i>	<i>a,b,d</i>	---	<i>b</i>	---	---	---
<i>Dia-3</i>	<i>c</i>	---	<i>b,d</i>	---	<i>c</i>	---	<i>d</i>	---
<i>Aat</i>	<i>c</i>	---	---	---	<i>c</i>	---	---	---
<i>Mdh-1</i>	<i>b</i>	---	---	---	<i>b</i>	---	---	---
<i>Mdh-4</i>	<i>b</i>	---	---	---	<i>b</i>	---	---	---
<i>Me</i>	<i>b</i>	---	<i>d</i>	---	<i>b</i>	---	<i>a</i>	---
<i>6Pgd-1</i>	<i>c</i>	<i>d,e</i>	<i>b</i>	---	<i>c</i>	---	---	---
<i>6Pgd-2</i>	<i>b</i>	---	---	---	<i>b</i>	---	---	---
<i>Pgi-2</i>	<i>b</i>	---	---	---	<i>c</i>	---	---	---
<i>Pgm-1</i>	<i>c</i>	---	---	---	<i>c</i>	---	<i>d</i>	---
<i>Pgm-2</i>	<i>b</i>	---	---	---	<i>b</i>	---	<i>a,d</i>	---

<i>Prx-1</i>	<i>b</i>	---	<i>a</i>	---	<i>c</i>	---	---	---
<i>Prx-2</i>	<i>b</i>	---	<i>c</i>	---	<i>b</i>	---	<i>a</i>	---

TAULA 10. (Continuació)

Locus	CDB				BAR			
	A. més comú	A. privats*	A. rars ^a	A.rars ^b	A. més comú	A. privats*	A. rars ^a	A.rars ^b
<i>Aco-1</i>	<i>a</i>	---	---	---	<i>a</i>	---	---	---
<i>Aco-2</i>	<i>b</i>	---	<i>c</i>	---	<i>b</i>	---	---	---
<i>Adh</i>	<i>a</i>	---	---	---	<i>a</i>	---	---	---
<i>Dia-2</i>	<i>c</i>	---	---	---	<i>c</i>	---	---	---
<i>Dia-3</i>	<i>c</i>	---	---	---	<i>c</i>	<i>a</i>	---	---
<i>Aat</i>	<i>c</i>	---	---	---	<i>c</i>	---	---	---
<i>Mdh-1</i>	<i>a</i>	---	---	---	<i>b</i>	---	---	---
<i>Mdh-4</i>	<i>a</i>	---	<i>b</i>	---	<i>b</i>	---	---	---
<i>Me</i>	<i>b</i>	---	---	---	<i>b</i>	---	---	---
<i>6Pgd-1</i>	<i>c</i>	---	---	---	<i>c</i>	---	---	---
<i>6Pgd-2</i>	<i>b</i>	---	---	---	<i>c</i>	---	---	---
<i>Pgi-2</i>	<i>a</i>	---	---	---	<i>a</i>	---	---	---
<i>Pgm-1</i>	<i>b</i>	---	<i>c</i>	---	<i>a</i>	---	---	---
<i>Pgm-2</i>	<i>b</i>	---	---	---	<i>b</i>	---	<i>d</i>	---
<i>Prx-1</i>	<i>b</i>	---	<i>c</i>	---	<i>b</i>	---	---	---
<i>Prx-2</i>	<i>b</i>	---	<i>a</i>	---	<i>b</i>	---	---	---

TAULA 10. (Continuació)

Locus	AGV			
	A. més comú	A. privats*	A. rars ^a	A.rars ^b
<i>Aco-1</i>	<i>a</i>	---	<i>b</i>	---
<i>Aco-2</i>	<i>b</i>	---	<i>a</i>	---
<i>Adh</i>	<i>a</i>	---	---	---
<i>Dia-2</i>	<i>c</i>	---	---	---
<i>Dia-3</i>	<i>c</i>	---	---	---
<i>Aat</i>	<i>c</i>	---	---	---
<i>Mdh-1</i>	<i>a</i>	---	<i>b</i>	---
<i>Mdh-4</i>	<i>a</i>	---	<i>b</i>	---
<i>Me</i>	<i>b</i>	---	---	---
<i>6Pgd-1</i>	<i>c</i>	---	---	---
<i>6Pgd-2</i>	<i>c</i>	---	<i>a</i>	---
<i>Pgi-2</i>	<i>a</i>	---	---	---
<i>Pgm-1</i>	<i>b</i>	---	---	---
<i>Pgm-2</i>	<i>b</i>	---	---	---
<i>Prx-1</i>	<i>b</i>	---	---	---
<i>Prx-2</i>	<i>b</i>	---	---	---

*Al·lels privats: aquells únicament presents en aquella població

Al·lels rars: per a considerar un al·lel rar hem pres dos criteris: que es trobi en una freqüència < 0.05 (^a) i en una freqüència < 0.01 (^b)

Paràmetres descriptors bàsics de diversitat genètica: La diversitat genètica s'ha calculat per a totes les poblacions objecte del nostre estudi. De les 7 poblacions

estudiades, la que presenta més variabilitat genètica és la de la Móra Comdal ($P = 81,3$, $A = 2,4$, $A_p = 2,8$, $H_o = 0,100$, $H_e = 0,291$) i la que en presenta menys és la població d'Aiguaviva ($P = 43,8$, $A = 1,9$, $A_p = 2,4$, $H_o = 0,068$, $H_e = 0,175$). Les fluctuacions en els valors de P són elevades entre poblacions (taula 11), així també com les de A i A_p . Cal destacar el fet que, en totes les poblacions, els valors de H_e superen amb escreix els de H_o . H_o mostra uns valors força baixos a les poblacions de Barranc de la Mare de Déu i Aiguaviva (0,069 i 0,068, respectivament). Si calculem la mitjana de les 7 poblacions, els valors que obtenim són prou elevats per tractar-se d'espècies endèmiques de distribució restringida ($P = 64,3$, $A = 2,1$, $A_p = 2,5$, $H_o = 0,100$, $H_e = 0,217$). Si fem la mitjana de les poblacions separant-les per espècie, els valors de diversitat serien lleugerament més elevats en *P. montsicciana* que en *P. pardoii* (taula 11).

TAULA 11. PARÀMETRES DESCRIPTORS BÀSICS DE DIVERSITAT GENÈTICA DE LES DIFERENTS POBLACIONS DE *PETROCOPTIS*.

Població	N	P	A	A_p	H_o	H_e
CAM	31	75,0	2,1 (0,2)	2,3	0,127 (0,043)	0,243 (0,047)
TER	21	56,3	1,8 (0,2)	2,4	0,146 (0,061)	0,221 (0,055)
MRB	46	68,8	2,4 (0,3)	3,0	0,111 (0,059)	0,202 (0,045)
MCO	42	81,3	2,4 (0,2)	2,8	0,100 (0,039)	0,291 (0,046)
CBD	31	62,5	2,1 (0,2)	2,4	0,079 (0,039)	0,204 (0,046)
BAR	30	62,5	1,8 (0,2)	2,2	0,069 (0,043)	0,175 (0,047)
AGV	22	43,8	1,9 (0,2)	2,4	0,068 (0,040)	0,198 (0,060)
Mitjana	31,8	64,3	2,1	2,5	0,100	0,217
Mitjana de <i>P. montsicciana</i>	35	70,3	2,2	2,6	0,121	0,239
Mitjana de <i>P. pardoii</i>	27,7	56,3	1,9	2,3	0,072	0,192

N : mida de la mostra; P : percentatge de loci polimòrfics; A : nombre mitjà d'al·lels per locus; A_p : nombre mitjà d'al·lels per locus polimòrfic; H_o : heterozigosi observada; H_e : heterozigosi esperada.

Equilibri de Hardy-Weinberg: Les proporcions genotípiques s'han comparat amb les esperades sota equilibri de Hardy-Weinberg, mitjançant els paràmetres H_o , H_e i F , per a tots els loci polimòrfics en totes les poblacions estudiades. Hem utilitzat el test *xi-quadrat* (χ^2) per avaluar les diferències estadístiques dels valors de F respecte a 0. De 80 tests efectuats entre les 7 poblacions, 19 mostren conformitat amb l'equilibri de Hardy-Weinberg (quan $P \geq 0,05$, és a dir, no hi ha diferències significatives de F respecte a 0). La resta de casos (61) són significativament diferents de les proporcions esperades sota equilibri de Hardy-Weinberg, i en la majoria d'ells el valor de F és positiu, que indica una deficiència d'heterozigots. Únicament el locus *Pgi-1* de Terradets i el *Pgm-1* de Mont-rebei presenten excés d'heterozigots. (taula 12).

TAULA 12. HETEROZIGOSI OBSERVADA (H_o), HETEROZIGOSI ESPERADA (H_e) I ÍNDEX DE FIXACIÓ DE WRIGHT (F) PER A TOTS ELS LOCI POLIMÒRFICS EN CADA UNA DE LES POBLACIONS DE *PETROCOPTIS* ESTUDIADAES

Locus	CAM			TER			MRB		
	H_o	H_e	F	H_o	H_e	F	H_o	H_e	F
<i>Aco-1</i>	0,000	0,123	1,000 ***	0,000	0,000	---	0,000	0,261	1,000 ***
<i>Aco-2</i>	0,000	0,123	1,000 ***	0,000	0,000	---	0,000	0,200	1,000 ***
<i>Adh</i>	0,000	0,000	---	0,000	0,000	---	0,000	0,000	---
<i>Dia-2</i>	0,032	0,094	0,650 ns	0,048	0,220	0,778 **	0,000	0,165	1,000 ***
<i>Dia-3</i>	0,000	0,123	1,000 ***	0,000	0,372	1,000 ***	0,065	0,145	0,545 ***
<i>Aat</i>	0,323	0,531	0,382 **	0,000	0,000	---	0,000	0,000	---
<i>Mdh-1</i>	0,000	0,000	---	0,000	0,000	---	0,000	0,000	---
<i>Mdh-4</i>	0,258	0,228	-0,148 ns	0,000	0,000	---	0,000	0,000	---
<i>Me</i>	0,258	0,460	0,429 **	0,333	0,298	-0,144 ns	0,261	0,511	0,484 ***
<i>6Pgd-1</i>	0,000	0,275	1,000 ***	0,000	0,251	1,000 ***	0,022	0,239	0,908 ***
<i>6Pgd-2</i>	0,000	0,000	---	0,000	0,000	---	0,065	0,473	0,861 ***
<i>Pgi-2</i>	0,548	0,518	-0,077 ns	0,762	0,483	-0,615 *	0,000	0,000	---
<i>Pgm-1</i>	0,000	0,275	1,000 ***	0,333	0,617	0,446 ns	0,935	0,503	-0,878 ***
<i>Pgm-2</i>	0,290	0,380	0,224 ns	0,000	0,390	1,000 ***	0,000	0,196	1,000 ***
<i>Prx-1</i>	0,032	0,252	0,870 ***	0,238	0,470	0,481 ns	0,196	0,286	0,309 ***
<i>Prx-2</i>	0,290	0,500	0,410 *	0,619	0,438	-0,448 ns	0,239	0,253	0,043 ns
Mitjana	0,127	0,243		0,146	0,221		0,111	0,202	

TAULA 12. (Continuació)

Locus	MCO			CBD			BAR		
	H_o	H_e	F	H_o	H_e	F	H_o	H_e	F
<i>Aco-1</i>	0,000	0,134	1,000 ***	0,000	0,178	1,000 ***	0,000	0,127	1,000 ***
<i>Aco-2</i>	0,000	0,257	1,000 ***	0,000	0,487	1,000 ***	0,000	0,127	1,000 ***
<i>Adh</i>	0,000	0,000	---	0,000	0,000	---	0,000	0,000	---
<i>Dia-2</i>	0,071	0,423	0,829 ***	0,000	0,228	1,000 ***	0,033	0,155	0,782 ***
<i>Dia-3</i>	0,071	0,304	0,762 ***	0,000	0,317	1,000 ***	0,000	0,540	1,000 ***
<i>Aat</i>	0,000	0,000	---	0,000	0,000	---	0,000	0,000	---
<i>Mdh-1</i>	0,000	0,465	1,000 ***	0,000	0,000	---	0,033	0,097	0,649 *
<i>Mdh-4</i>	0,000	0,000	---	0,032	0,032	-0,016 ns	0,000	0,000	---
<i>Me</i>	0,238	0,485	0,503 ***	0,000	0,448	1,000 ***	0,000	0,325	1,000 ***
<i>6Pgd-1</i>	0,000	0,295	1,000 ***	0,065	0,178	0,631 **	0,033	0,454	0,925 ***
<i>6Pgd-2</i>	0,143	0,496	0,708 ***	0,161	0,432	0,621 ***	0,033	0,097	0,649 *
<i>Pgi-2</i>	0,024	0,194	0,876 ***	0,000	0,000	---	0,000	0,000	---
<i>Pgm-1</i>	0,548	0,409	-0,356 ns	0,613	0,486	-0,282 ns	0,633	0,494	-0,303 ns
<i>Pgm-2</i>	0,000	0,299	1,000 ***	0,129	0,178	0,262 ns	0,000	0,066	1,000 ***
<i>Prx-1</i>	0,214	0,569	0,619 ***	0,065	0,063	-0,033 ns	0,000	0,000	---
<i>Prx-2</i>	0,286	0,323	0,106 ns	0,194	0,235	0,162 **	0,333	0,325	-0,042 ns
Mitjana	0,100	0,291		0,079	0,204		0,069	0,175	

TAULA 12. (Continuació)

Locus	AGV		
	H_o	H_e	F

<i>Aco-1</i>	0,000	0,089	1,000 **
<i>Aco-2</i>	0,000	0,089	1,000 **
<i>Adh</i>	0,000	0,000	---
<i>Dia-2</i>	0,000	0,000	---
<i>Dia-3</i>	0,000	0,241	1,000 ***
<i>Aat</i>	0,000	0,000	---
<i>Mdh-1</i>	0,000	0,089	1,000 **
<i>Mdh-4</i>	0,000	0,089	1,000 **
<i>Me</i>	0,091	0,561	0,834 ***
<i>6Pgd-1</i>	0,045	0,637	0,927 ***
<i>6Pgd-2</i>	0,045	0,644	0,928 ***
<i>Pgi-2</i>	0,000	0,000	---
<i>Pgm-1</i>	0,636	0,474	-0,375 ns
<i>Pgm-2</i>	0,136	0,130	-0,073 ns
<i>Prx-1</i>	0,000	0,000	---
<i>Prx-2</i>	0,136	0,130	-0,073 ns
Mitjana	0,068	0,198	

La conformitat amb l'equilibri Hardy-Weinberg s'ha calculat amb l'anàlisi xi-quadrat: ns $P \geq 0.05$,

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Distribució de la diversitat genètica: Els paràmetres més emprats per calibrar la distribució de la diversitat genètica dins i entre les poblacions d'espècies vegetals són els estadístics de diversitat genètica de Nei (1973) (taula 13). Si fem l'anàlisi d'aquests paràmetres sense diferenciar les 7 poblacions entre dues espècies, obtenim uns valors de diversitat total (H_T) força elevats per tractar-se d'espècies endèmiques (0,399). La diversitat intrapoblacional (H_S) dona un valor de 0,219, mentre que la diversitat interpoblacional és lleugerament inferior ($D_{ST} = 0,180$). És a dir, que la diversitat és reparteix més o menys a parts iguals entre els components intra i interpoblacional (55 % i 45 %, respectivament). El coeficient de diferenciació genètica reflecteix aquest 45 % ($G_{ST} = 0,451$), i el flux genètic (N_m) desprèn un xifra molt petita (0,304).

Si fem l'anàlisi dels estadístics de Nei separant les poblacions entre les dues espècies, obtenim uns valors força similars, essent lleugerament superiors els de *P. montsiciana* ($H_T = 0,384$, $H_S = 0,239$, $D_{ST} = 0,144$ i $G_{ST} = 0,376$) respecte als de *P. pardoii* ($H_T = 0,298$, $H_S = 0,192$, $D_{ST} = 0,105$ i $G_{ST} = 0,354$).

Per intentar discernir fins a quin punt les 7 poblacions objecte del nostre estudi pertanyen a la mateixa espècie o pel contrari ho fan a dues espècies diferents, s'ha dut a terme l'anàlisi jeràrquica de F_{ST} mitjançant el programa BIOSYS-1. Els nivells de jerarquia designats han estat el de població i el d'espècie. Com es pot comprovar a la taula 15, la proporció més alta de divergència (F_{XY}) és la que es produeix entre les poblacions respecte el total ($F_{XY} = 0,370$), mentre la component de divergència entre el nivell d'espècie i el total és mínima ($F_{XY} = 0,067$). Això ens indica que una subdivisió de les poblacions en dues espècies tindria molt poc pes segons aquest paràmetre, atès que la proporció de divergència entre ambdues espècies representaria únicament al voltant del 16 % del total de F_{ST} , mentre que la resta de divergència és deuria a diferències entre les pròpies poblacions.

TAULA 13. DISTRIBUCIÓ DE LA DIVERSITAT GENÈTICA DINS I ENTRE POBLACIONS DE *PETROCOPTIS*.

Locus	H_T	H_S	D_{ST}	G_{ST}
<i>Aco-1</i>	0,132	0,130	0,002	0,016
<i>Aco-2</i>	0,205	0,184	0,022	0,106
<i>Adh</i>	0,286	0,000	0,286	1,000
<i>Dia-2</i>	0,308	0,184	0,124	0,404
<i>Dia-3</i>	0,318	0,292	0,026	0,081
<i>Aat</i>	0,166	0,076	0,090	0,542
<i>Mdh-1</i>	0,506	0,093	0,413	0,816
<i>Mdh-4</i>	0,489	0,050	0,440	0,898
<i>Me</i>	0,457	0,441	0,016	0,034
<i>6Pgd-1</i>	0,651	0,332	0,319	0,490
<i>6Pgd-2</i>	0,595	0,306	0,289	0,486
<i>Pgi-2</i>	0,618	0,170	0,447	0,724
<i>Pgm-1</i>	0,703	0,465	0,237	0,338
<i>Pgm-2</i>	0,247	0,234	0,012	0,050
<i>Prx-1</i>	0,318	0,235	0,083	0,261
<i>Prx-2</i>	0,388	0,315	0,073	0,189
Mitjana	0,399	0,219	0,180	0,451
Error estàndard	0,045	0,034	---	---
Mitjana de <i>P. montsicciana</i>	0,384	0,239	0,144	0,376
Mitjana de <i>P. pardoii</i>	0,298	0,192	0,105	0,354

H_T : diversitat total de l'espècie; H_S : diversitat intrapoblacional; D_{ST} : diversitat interpoblacional; G_{ST} : coeficient de diferenciació gènica.

En genètica de poblacions també s'empren els coeficients d'endogàmia de Wright (1965), dels quals, però, l'únic paràmetre que indica distribució de diversitat és F_{ST} . (taula 14). El valor que obtenim per a les 7 poblacions de F_{ST} és molt elevat (0,422), que indica una important divergència entre les poblacions. Els paràmetres F_{IT} i F_{IS} donen valors elevats i positius (0,536 i 0,732), que assenyalen un excés d'homozigots a nivell d'espècie i dins de les poblacions, respectivament. Si fem els càlculs separant les poblacions per espècie, els valors que obtenim van en la mateixa direcció en les dues espècies. Els valors de F_{IT} i F_{IS} indiquen excés d'heterozigots en una extensió similar, i la divergència entre poblacions és un xic més elevada en *P. montsicciana* ($F_{ST} = 0,321$) que en *P. pardoii* ($F_{ST} = 0,277$).

TAULA 14. ESTADÍSTICA F DE TOTS ELS LOCI POLIMÒRFICS DE *PETROCOPTIS*.

Locus	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}
<i>Aco-1</i>	1,000	0,028	1,000

<i>Aco-2</i>	1,000	0,105	1,000
<i>Adh</i>	---	1,000	1,000
<i>Dia-2</i>	0,854	0,377	0,909
<i>Dia-3</i>	0,932	0,084	0,938
<i>Aat</i>	0,382	0,512	0,699
<i>Mdh-1</i>	0,948	0,795	0,989
<i>Mdh-4</i>	0,154	0,885	0,903
<i>Me</i>	0,611	0,044	0,628
<i>6Pgd-1</i>	0,928	0,460	0,961
<i>6Pgd-2</i>	0,787	0,456	0,884
<i>Pgi-2</i>	-0,138	0,697	0,655
<i>Pgm-1</i>	-0,155	0,315	0,209
<i>Pgm-2</i>	0,655	0,057	0,675
<i>Prx-1</i>	0,539	0,244	0,651
<i>Prx-2</i>	0,032	0,179	0,205
Mitjana	0,536	0,422	0,732
Mitjana de <i>P. montsiciana</i>	0,486	0,321	0,651
Mitjana de <i>P. pardoi</i>	0,620	0,277	0,725

F_{IS} : índex de fixació intrapoblacional; F_{ST} : índex de fixació interpoblacional; F_{IT} : índex de fixació total.

TAULA 15. ANÀLISI JERÀRQUICA DE F_{ST} EN *PETROCOPTIS*. COMPONENTS DE VARIANÇA I ESTADÍSTICA F COMBINADA ENTRE LOCI

	Comparació		Component de varianza	F_{XY}
	X	Y		
Població	—	Espècie	2,06202	0,370
Població	—	Total	2,46153	0,413
Espècie	—	Total	0,39951	0,067

Identitats i distàncies genètiques: En el nostre estudi hem calculat tres paràmetres diferents que comparen les 7 poblacions mostrejades. Per una banda, dues identitats, la identitat genètica de Nei (I) (Nei, 1978) i la similaritat genètica de Rogers (S) (Rogers, 1972), i per l'altra banda un paràmetre de distància genètica, la distància genètica de Nei (D) (Nei, 1972) (taules 16 i 17). Tant I (mitjana de $I = 0,769$, interval de valors: 0,586-0,963) com S (mitjana de $S = 0,706$, interval de valors: 0,546-0,884) mostren uns valors relativament petits de semblança genètica. Els valors de D , en conseqüència, són elevats (mitjana de $D = 0,269$, interval de valors: 0,038-0,535), i corroboren l'alt valor de diversitat interpoblacional ($D_{ST} = 0,180$) trobat entre les 7 poblacions. Les poblacions més properes segons I són Cantal Badat i Aiguaviva ($I = 0,963$), mentre les

més allunyades genèticament són Camarasa i Cantal Badat ($I = 0,586$). Emprant el paràmetre S , els resultats són anàlegs, sent Cantal Badat i Aiguaviva les més similars ($S = 0,884$) i Camarasa i Cantal Badat les més divergents ($S = 0,546$). Una anàlisi simplista conclouria que les poblacions estudiades pertanyen a dues espècies diferents, doncs les poblacions més idèntiques, genèticament parlant, pertanyerien a la mateixa espècie, *P. pardoii*, mentre que les poblacions més diferenciades pertanyerien cadascuna a una espècie diferent (Camarasa a *P. montsicciana* i Cantal Badat a *P. pardoii*). Si fem, però, una anàlisi amb més profunditat, veiem que, per exemple, el valor de I entre dues poblacions teòricament pertanyents a una mateixa espècie, Cantal Badat i Aiguaviva, és força baix (0,595), mentre que la identitat entre Barranc de la Mare de Déu i Montrebei, dues poblacions en l'àmbit d'espècies diferents, és prou elevada ($I = 0,853$).

TAULA 16. MATRIU DE LA DISTÀNCIA GENÈTICA DE NEI (1978)(PER SOBRE LA DIAGONAL) I DE LA SIMILARITAT GENÈTICA DE ROGERS(1972)(PER SOTA LA DIAGONAL) ENTRE POBLACIONS DE *PETROCOPTIS*.

Poblacions	CAM	TER	MRB	MCO	CDB	BAR	AGV
CAM	---	0,188	0,261	0,389	0,535	0,370	0,519
TER	0,753	---	0,114	0,197	0,316	0,182	0,295
MRB	0,695	0,804	---	0,142	0,295	0,159	0,310
MCO	0,605	0,732	0,792	---	0,335	0,263	0,371
CDB	0,546	0,659	0,725	0,675	---	0,217	0,038
BAR	0,626	0,749	0,787	0,716	0,760	---	0,171
AGV	0,547	0,664	0,688	0,635	0,884	0,783	---

TAULA 17. MATRIU DE LA IDENTITAT GENÈTICA DE NEI (1978)(PER SOBRE LA DIAGONAL) I DE LA DISTÀNCIA GEOGRÀFICA* (PER SOTA LA DIAGONAL) ENTRE POBLACIONS DE *PETROCOPTIS*.

Poblacions	CAM	TER	MRB	MCO	CDB	BAR	AGV
CAM	---	0,828	0,770	0,678	0,586	0,691	0,595
TER	14,7	---	0,892	0,821	0,729	0,834	0,745
MRB	25,9	17,5	---	0,867	0,744	0,853	0,733
MCO	45,5	40	55,5	---	0,715	0,769	0,690
CDB	153	165,9	162,9	196,2	---	0,805	0,963
BAR	155,4	168,3	165,3	198,6	3,7	---	0,843
AGV	150,9	163,5	160,5	193,8	2,5	6	---

*La distància geogràfica està expressada en km.

El dendrograma que s'obté a partir de l'anàlisi UPGMA del paràmetre I , referma les tesis anteriorment exposades. Es situen molt properes les poblacions de Cantal Badat i Aiguaviva ($I = 0,963$) i també són força properes les poblacions de Terradets i Mont-

rebei ($I = 0,892$). Semblen perfilar-se dos *clusters* principals: un, que agrupa les tres poblacions més septentrionals (Terradets, Mont-rebei i Móra Comdal), i un altre, que agrupa les tres poblacions més meridionals (Aiguaviva, cantal Badat i Barranc de la Mare de Déu). Força aïllada apareix la població de Camarasa, que tot i això té més afinitats amb les poblacions septentrionals.

Hem dut a terme el test de Mantel (1967), que permet discernir si els elements de dues matrius simètriques presenten correlació, entre els valors d'identitat genètica (I) i les distàncies geogràfiques entre les poblacions (taula 17). Obtenim un resultat de $r = -0,56$, pel que podem afirmar que no existeix una correlació significativa entre la variabilitat genètica i la distribució geogràfica de les poblacions. Sí que es pot afirmar, però, que les poblacions més properes geogràficament són més semblants isoenzimàticament que les més allunyades, en el sentit que $r \neq 0$. No ens ha d'estranyar doncs que el dendrograma ens reveli una feble agrupació de les poblacions de *P. montsiciana* per una banda i de les poblacions de *P. pardoii* per altra banda, que és probablement deguda a aquesta component geogràfica. Aquesta agrupació però és massa feble per apuntar cap a dues espècies diferents, atès que la identitat que obtenim entre els dos *clusters*, el de les poblacions meridionals i el de les septentrionals, és molt alta ($I = 0,724$, veure fig. 24), massa elevada per tractar-se de dues espècies diferents. Segons Gottlieb (1981), la identitat estimada en espècies del mateix gènere és de 0,670. Si repassem la bibliografia, ens trobem des d'espècies amb una identitat molt baixa, com és el cas de $I = 0,069$, entre *Androcymbium dregei* i *A. capense* (Membrives, 2000), fins a algunes amb una identitat molt més elevada (al voltant de 0,6), com és el cas de *Antirrhinum microphyllum*, *A. lopesianum* i *A. mollissimum* (Mateu-Andrés, 1999). A més, les identitats entre les poblacions són prou petites i massa similars als valors d'identitat entre les suposades dues espècies. Per exemple, la identitat existent entre la població de Camarasa i el grup de les tres poblacions més septentrionals (Terradets, Mont-rebei i Móra Comdal) és de 0,759, no massa superior a la $I = 0,724$ entre el grup de poblacions de *P. montsiciana* i el grup de *P. pardoii*.

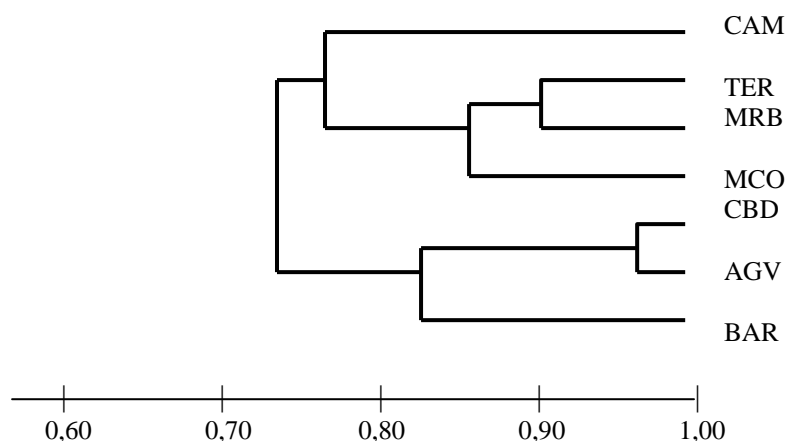


FIG. 24. Dendrograma resultant de l'anàlisi UPGMA basat en la identitat genètica de Nei (1978) de les poblacions de *Petrocoptis*.

Percentatge de desviació estàndard = 9,399

Correlació cofenètica = 0,731

5. DISCUSSIÓ

Delimitació taxonòmica: Les dades obtingudes en base als experiments d'electroforesi d'isoenzims apunten clarament a la conespecificitat de les dues espècies, *P. montsicciana* i *P. pardoi*. Els principals, i en la nostra opinió, prou contundents arguments en que es recolza el nostre raonament són els següents:

- (1) La riquesa al·lèlica és força comú entre ambdós tàxons, atès que la majoria dels al·lèls detectats en els nostres assajos són presents a les dues espècies.
- (2) Els paràmetres descriptors bàsics de diversitat genètica són pràcticament idèntics entre ambdues espècies (taula 11), i el mateix succeeix amb els paràmetres que ens mesuren la distribució de la diversitat genètica (taules 13 i 14).
- (3) L'anàlisi jeràrquica del paràmetre F_{ST} indica l'artificialitat de la subdivisió de l'espècie en dos tàxons, atès que la gran majoria de divergència genètica es produeix entre poblacions i no entre les dues suposades espècies.
- (4) L'anàlisi UPGMA de la identitat genètica de Nei (I) posa de manifest l'alta similaritat genètica que existeix entre el grup de poblacions de *P. montsicciana* i el de *P. pardoi*, massa elevada per subdividir el tàxon en dues unitats. A més, les identitats genètiques entre parells de poblacions tenen una extensió similar a la identitat trobada entre les dues espècies, punt que referma la nostra argumentació.

Així doncs, amb les dades isoenzimàtiques de què disposem, no es pot mantenir l'existència de dues espècies independents, sinó que cal donar suport a un tractament sistemàtic que englobi ambdues espècies en una sola unitat taxonòmica, *Petrocoptis pardoi* Pau, com han proposat recentment per Mayol i Rosselló (1999) en base a dades morfològiques i de DNA.

Diversitat genètica en *P. pardoi sensu lato*: Generalment s'assumeix que les espècies rares o endèmiques tenen uns nivells baixos de diversitat genètica, efecte sovint atribuïble a la petita mida poblacional i a l'aïllament geogràfic de les poblacions entre sí (Barret i Kohn, 1991). Per a d'altres autors, la depauperació genètica és conseqüència d'un marge limitat de variació medioambiental (Babbel i Selander, 1974). En el cas de *P. pardoi (s.l.)*, les poblacions estan relativament aïllades entre sí (en un interval que oscil·la entre els 20 i els 200 quilòmetres), però la mida poblacional és en general important, a excepció de la població d'Aiguaviva, que només compta amb 80 individus, i la Móra Comdal, amb uns 220 individus estimats. Cantal Badat compta amb més de 600 individus, i la resta de poblacions supera aquestes xifres àmpliament (el Barranc de la Mare de Déu té al voltant de 5000 efectius). L'espècie però sí que creix en un hàbitat amb unes característiques molt definides i homogènies. Totes les poblacions les trobem sobre formacions rocoses de naturalesa calcària, moltes vegades situades en congostos, en unes condicions climatològiques de forta insolació i protegits de la pluja directa. És doncs d'esperar, segons aquest raonament, que *P. pardoi* sigui una espècie amb una pobre variabilitat isoenzimàtica, per l'alta especificitat i homogeneïtat de

l'hàbitat. Les dades de diversitat genètica ens parlen ben al contrari ($P = 64,3$, $A = 2,1$ i $H_e = 0,217$), obtenint uns valors força superiors als esperats per espècies endèmiques ($P = 26,3$, $A = 1,39$ i $H_e = 0,063$), segons el recull de dades que fan Hamrick i Godt (1990). Tot i que la tendència és que les espècies endèmiques presentin baixos nivells de diversitat genètica, no són estranys els casos reportats a la literatura d'espècies endèmiques amb alts nivells de variabilitat: *Pyrola japonica* (Huh *et al.*, 1998), *Abronia macrocarpa* (Williamson i Werth, 1999), *Artemisia molinieri* (Torrell *et al.*, 1999), *Anthirrinum microphyllum* (Torres, 1999), *Anthirrinum mollissimum* i *Anthirrinum lopesianum* (Mateu-Andrés, 1999) i *Delphinium bolosii* (Bosch *et al.*, 1998), entre d'altres.

L'àmbit geogràfic, en combinació amb el sistema reproductiu, són dels factors que més influeixen en el grau de variabilitat isoenzimàtica de les espècies vegetals a nivell de població (Hamrick i Godt, 1990). Si fem un cop d'ull al segon dels factors, sembla ben establert que les espècies al·lògames mantenen nivells més alts de diversitat genètica que les autògames i les de tipus mixt. Segons Simon *et al.* (1999) i Bosch *et al.* (en revisió), estudis en el camp de la biologia de la reproducció de *P. montsicciana*, duts a terme a les poblacions de Camarasa i Terradets, han evidenciat un clar caràcter entomòfil de l'espècie en forma de xenogàmia facultativa. L'espècie, però, és autocompatible i per tant pot presentar un cert percentatge d'autogàmia. Segons els autors, la pol·linització mitjançant insectes (entre els quals destaca el gènere *Anthophora*) hauria d'explicar entre el 40 i el 50 % de la producció de granes. Si fem cas al sistema de reproducció de l'espècie, els nivells de diversitat genètica esperats per espècies mixtes pol·linitzades per animals ($P = 29,2$, $A = 1,43$ i $H_e = 0,090$) són lleugerament més alts que els esperats per espècies endèmiques, segons l'estudi de Hamrick i Godt (1990), valors que encara són inferiors als trobats per nosaltres.

Si fem una anàlisi de la diversitat genètica població per població, en el nostre cas queda en entredit l'assumpció general que poblacions grans mostren nivells més alts de variabilitat que poblacions petites (Wright, 1931, Kimura i Crow, 1964; Barret i Kohn, 1991). A tall d'exemple, la població de Barranc de la Mare de Déu, la més nombrosa en quant a nombre d'individus (5000 aproximadament) presenta menys diversitat genètica ($P = 62,5$ i $A = 1,8$) que la Móra Comdal, que compta amb poc més de 200 individus ($P = 81,3$ i $A = 2,4$). Aquesta mancança de correlació entre la mida poblacional i la diversitat genètica (fig. 25) ja ha estat reportada per altres autors (Maki *et al.*, 1996; Williamson i Werth, 1999) i pot ser conseqüència de factors històrics en les poblacions. La baixa diversitat d'algunes de les poblacions pot ser deguda a que aquestes hagin sofert, en algun moment de la seva història evolutiva, un coll d'ampolla, o bé que s'hagin originat a partir d'una petita fracció de la variació genètica de la població parental (efecte fundador).

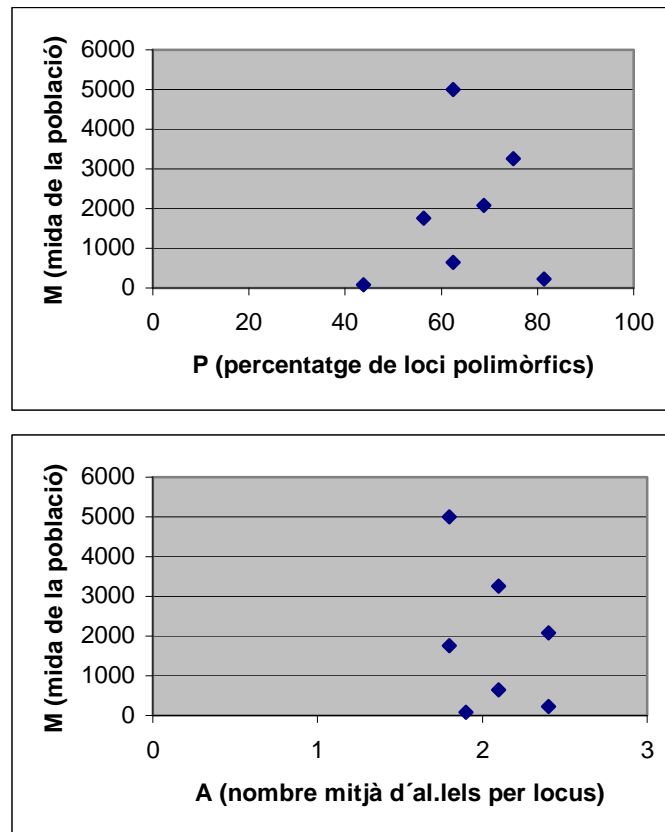


FIG. 25. Relacions entre la mida poblacional i la diversitat genètica (paràmetres P i A) en les diferents poblacions de *Petrocoptis* estudiades.

Els valors d'heterozigosi observada (H_o mitjana de les 7 poblacions = 0,100) són molt inferiors als de l'heterozigosi esperada (H_e mitjana de les tres poblacions = 0,217) en *P. pardoi*. Segons Barret i Kohn (*l.c.*), els valors d'heterozigosi disminueixen al disminuir la mida poblacional, però en el nostre cas tampoc trobem cap correlació. La població més nombrosa (Barranc de la Mare de Déu) presenta un valor de H_o molt més baix que poblacions amb menys efectius. Aquest excés d'homozigots que es produeix en totes les poblacions estudiades, en major o menor extensió, pot explicar-se per una situació d'endogàmia (excés de consanguinitat). Segons la genètica de poblacions, en una població no panmíctica existeix una preferència dels individus a creuar-se amb d'altres genèticament similars, fet que pot venir donat per diferents raons: (1) per un sistema reproductiu que afavoreixi aquesta situació (una espècie sigui autocompatible i autògama), (2) per l'estructuració d'una població en subunitats més petites dins les quals els individus sol poden encreuar-se entre ells. Els estudis sobre biologia de la reproducció de l'espècie (Bosch *et al.*, en revisió) afirmen que *P. pardoi* és una espècie autocompatible però de clar caràcter al·lògam. Aquesta situació d'endogàmia ha de venir originada doncs per una estructuració de la població en subpoblacions o veïnatsges. Per tal d'esbrinar l'extensió d'aquest excés d'homozigots en les diferents poblacions, s'ha realitzat el test xi-quadrat en tots els loci polimòrfics de les 7 poblacions (80 tests

en total). 19 loci mostren conformitat amb l'equilibri Hardy-Weinberg, mentre que la majoria de loci (61) exhibeixen deficiència d'heterozigots. Segons Williamson i Werth, una situació d'endogàmia intensa afectaria a tots els loci d'una població per igual, que no és el nostre cas. Això concorda amb el caràcter xenògam facultatiu de l'espècie (Bosch *et al.*, en revisió), que no afavoreix la consanguinitat. Aquest excés d'homozigots caldria explicar-lo doncs per una estructuració de les poblacions en veïnats genètics. Els coeficients d'endogàmia de Wright també posen de manifest l'excés d'homozigots ($F_{IS} = 0,536$ i $F_{IT} = 0,732$).

Distribució de la diversitat genètica: Com s'ha comentat anteriorment, l'àmbit geogràfic i el sistema reproductiu són dos factors amb un enorme pes sobre la variabilitat isoenzimàtica (Hamrick i Godt, 1996). Els valors de diversitat total (H_T) i els de diversitat intrapoblacional (H_S) són força més elevats a les espècies d'àmplia distribució ($H_T = 0,347$ i $H_S = 0,267$) que a les endèmiques ($H_T = 0,263$ i $H_S = 0,163$), segons el recull de dades de Hamrick i Godt (1990). La diferenciació genètica entre poblacions en canvi presenta valors semblants entre les d'àmplia distribució i les endèmiques ($G_{ST} = 0,210$ i $0,248$, respectivament). Per *P. pardoi* (*s.l.*), hem trobat uns valors prou elevats per tractar-se d'una espècie endèmica ($H_T = 0,399$, $H_S = 0,219$, $D_{ST} = 0,180$ i $G_{ST} = 0,451$). El flux genètic, en concordança amb G_{ST} , dóna un valor molt baix ($N_m = 0,304$), insuficient per contrarestar la divergència resultant d'un procés de deriva genètica [$N_m \geq 1,0$, segons Wright (1951)], ja que no es garanteix un intercanvi real de gens entre poblacions.

Segons Hamrick i Godt (1996), els sistemes reproductius poden correlacionar-se amb la distribució de la diversitat genètica. En general es pot afirmar que les espècies autògames presenten valors més baixos de diversitat dins les poblacions que les al·lògames, mentre la diversitat entre poblacions és molt més elevada en les primeres que en les segones. Els nivells de diversitat genètica esperats per espècies mixtes pol·linitzades per animals ($H_T = 0,304$, $H_S = 0,221$ i $G_{ST} = 0,216$) són relativament diferents als obtinguts per *P. pardoi* (*s.l.*). Destaca el valor de G_{ST} , que en la nostra espècie és molt superior al esperat.

La forma de distribució de la diversitat genètica dins i entre les poblacions és conseqüència del flux genètic, la deriva genètica i la selecció natural (Torres, 1999). La selecció natural és un procés que afecta amb més extensió a les espècies autògames que a les al·lògames (Hamrick i Godt, 1996). A les autògames, un al·lel nou en una població probablement estarà en homozigosi i per tant patirà un risc més important de selecció. A més, aquest al·lel nou és força improbable que s'introdueixi en una altra població, i si la primera s'extingeix, l'al·lel es perdrà. A les al·lògames en canvi, els al·lells probablement estaran en forma heterozigota, i s'introduirà a diferents poblacions com a conseqüència del flux genètic. La deriva genètica afecta en major extensió a les poblacions petites que a les grans, puix que a les poblacions petites les freqüències genètiques poden sofrir grans fluctuacions en diferents generacions, que desemboquen en una pèrdua d'al·lells (Barret i Kohn, 1991).

El flux genètic es produeix a través de la pol·linització i de la dispersió de granes. Si aquest flux de material genètic interpoblacional està restringit, com a conseqüència

d'alguna barrera geogràfica o per distàncies de dispersió de pol·len o de granes limitades, les poblacions tendeixen a divergir i evolucionar de forma separada (Torres, 1999). A *P. pardoii* (*s.l.*), tant el valor del coeficient de diferenciació gènica ($G_{ST} = 0,451$) com el del fluxe gènic ($N_m = 0,304$), indiquen una forta divergència entre les diferents poblacions estudiades, a causa d'un intercanvi de gens molt limitat (i tal com hem comentat abans, insuficient per contrarestar els efectes de la deriva gènica). La distància entre les poblacions (les dues més properes disten per 2,5 km però algunes es troben a quasi 200 km entre elles) és gran si la comparem amb la del vol dels polinitzadors i la de la dispersió de les granes, llavors no ens ha d'estranyar l'obtenció d'aquests valors. La divergència és lleugerament superior en les quatre poblacions septentrionals ($G_{ST} = 0,376$) que en les tres meridionals ($G_{ST} = 0,354$), probablement a causa que les poblacions meridionals estan molt més properes entre sí que les septentrionals.

A nivell de població, totes 7 poblacions estudiades mostraven un excés d'homozigots, que es pot relacionar amb una estructuració de les poblacions en subpoblacions o veïnats genètics. McCauley *et al.* (1996), analitzant la distribució de la variació genètica dels gens nuclears dins les poblacions de *Silene alba*, van classificar les espècies vegetals en quatre categories respecte a les distàncies de dispersió del pol·len i les granes dins una determinada població: 1) distàncies elevades de dispersió del pol·len i de les granes, 2) distàncies petites de dispersió de pol·len i granes, 3) alta dispersió de pol·len i baixa dispersió de granes, i 4) baixa dispersió de pol·len i alta dispersió de granes. Pel que sabem de la biologia reproductiva de *P. pardoii*, la dispersió de pol·len pels insectes és força limitada, doncs la distància de vol dels polinitzadors és petita en proporció a les dimensions que tenen les poblacions. El coneixement sobre el mecanisme de dispersió de granes encara ens és força desconegut. Segons Sainz *et al.* (1996) les nombroses teranyines que hi ha a les parets on creix l'espècie podrien actuar de receptacles on quedarien retingudes les granes. Els avions, aus de les quals hem pogut observar-ne alguns nius en algunes poblacions, també podrien contribuir a la dispersió de les granes, però de manera molt limitada atès a que es tracta dels únics passeriformes no migradors. Un altre dels factors que pot contribuir a la baixa dispersió de les llavors és el postcarpotropisme que mostra l'espècie, produint-se un recorvament dels pedicel·les cap a l'interior de la paret que fa que la llavor pugui quedar dipositada al mateix lloc. Sembla per tant prou evident que la dispersió de granes en *P. pardoii* és força limitada. Així, ens trobaríem dins la categoria 2 que proposen McCauley *et al.* (*l.c.*), segons la qual els creuaments forçosos entre veïns (individus genèticament emparentats) condueixen a les desviacions en l'equilibri Hardy-Weinberg en la majoria de loci isoenzimàtics, creant-se un sistema de veïnats espacials conseqüència de la limitada dispersió del pol·len i de les granes, tal com succeeix en *Anthriscum microphyllum* (Torres, *l.c.*). Aquest sistema de veïnats espacials els podem considerar promotors d'autogàmia biparental. Aquesta percol·lació en veïnats es veu potenciada per la petitíssima taxa de germinació, instal·lació i pervivència de noves plàntules (Generalitat Valenciana, 1992; Sainz *et al.*, *l.c.*), que limita la introducció de nou material genètic en altres veïnats. L'estructuració genètica de les poblacions en veïnats queda reflexada en els gels dels diferents experiments d'electroforesi, on,

donada la linealitat de la presa de mostres, es pot comprovar una important homogeneïtat al·lèlica en els individus d'un mateix veïnatge (fig. 26).

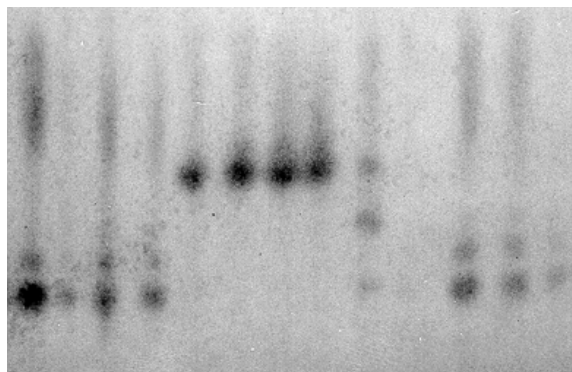


FIG. 26. Zimograma de l'isoenzim PGI a la població de la Móra Comdal.

No resulta gens fàcil arribar a alguna conclusió per intentar desxifrar la història evolutiva de l'espècie. Sí que resulta evident però l'ancestralitat en la diversificació de les diferents poblacions de *P. pardoï* (*s.l.*), atesa, en primer lloc, la feble identitat genètica que hem trobat entre sí (mitjana de $I = 0,769$) i, segurament, la presència d'al·lèls privats en 4 de les 7 poblacions. És a dir, que a partir d'un origen comú, les poblacions haurien evolucionat de forma separada i independent. És extremadament complicat discernir el punt d'origen de l'expansió de l'espècie. Potser l'origen menys probable és el nucli de poblacions meridionals, puix que la conca del riu Bergantes representa la distribució més meridional d'algun membre del gènere *Petrocoptis* a la Península Ibèrica. El fet que també es tracti del nucli poblacional amb la diversitat genètica més petita confirma, almenys parcialment, aquesta hipòtesi. Sembla, per tant, que, a partir d'una migració ancestral en direcció nord-sud, hauria arribat l'espècie a localitzacions tant meridionals. El dendrograma de poblacions ens agrupa molt estretament Cantal Badat i Aiguaviva ($I = 0,963$). Probablement Aiguaviva derivi de Cantal Badat a partir d'un efecte fundador, donada la pobre diversitat que trobem a la primera. Ara bé, això pot deure's també a la petita mida de la mostra ($N = 22$), o a que aquesta població hagi sofert algun coll d'ampolla. La població es troba situada en parets de roca just a la vora de la carretera, i potser en el moment de l'obertura d'aquesta via es va destruir una part de la població originària.

Pel que fa al nucli de poblacions septentrionals, el dendrograma ens agrupa força les poblacions de Terradets i Mont-rebei ($I = 0,892$), alhora estretament relacionades genèticament amb la Móra Comdal. Més aïllada apareix la població de Camarasa, que tot i això manifesta més semblança genètica respecte les poblacions septentrionals que les meridionals. Discernir l'origen de dispersió de l'espècie ja és més complex. D'una banda, la població que presenta una diversitat genètica més alta és la Móra Comdal, que també és la que presenta més riquesa al·lèlica. Per una altra banda, Camarasa és la població amb més al·lèls privats (4 en total), mentre que Mont-rebei en presenta 3. Cal recordar però que, dels 4 al·lèls privats de Camarasa, un és *Adh b*. Les sis poblacions restants presenten l'altre al·lèl, *Adh a*. Sembla plausible que *Adh b* pugui ser una mutació a partir del primer. La població de la Móra Comdal podria representar l'origen

de l'espècie, donada la seva riquesa al·lèlica i alta variabilitat isoenzimàtica, però no presenta cap al·lel privat i a més és la població més oriental de tot el gènere *Petrocoptis*. La segona possibilitat la representa la població de Camarasa, que té 4 al·lells privats i una alta diversitat genètica. A partir d'aquesta, s'haurien produït migracions cap al nord, a través de la conca de la Noguera Pallaresa, i cap a l'est, a través de la conca del Segre. El tercer origen possible pot ser la zona del Montsec *s. str.*, representada per la població de Terradets o la molt pròxima població aragonesa de les Salteres (no analitzada isoenzimàticament en el present treball). D'aquí l'espècie hauria saltat, a través d'una de les dues vessants (probablement per la meridional) del Montsec d'Ares al congost de Terradets, i a partir d'aquí cap al sud. Fins i tot se'ns aventura una quarta possibilitat: que *P. pardoï* provingui d'una evolució a partir del *pool* genètic del nucli de l'espècie *P. guarensis*. Aquesta espècie creix a la serra de Guara, al Pre-Pirineu aragonès, i una migració cap a l'est amb la conseqüent evolució cap a una nova espècie hauria donat lloc a les poblacions més occidentals de *P. pardoï*. No és una hipòtesi descartable atès que l'últim tractament taxonòmic del gènere (Mayol 1998, Mayol i Rosselló, 1999) situa a *P. guarensis* com una subespècie de *P. pardoï*, donades la seva similaritat genètica i morfològica (fig. 27).

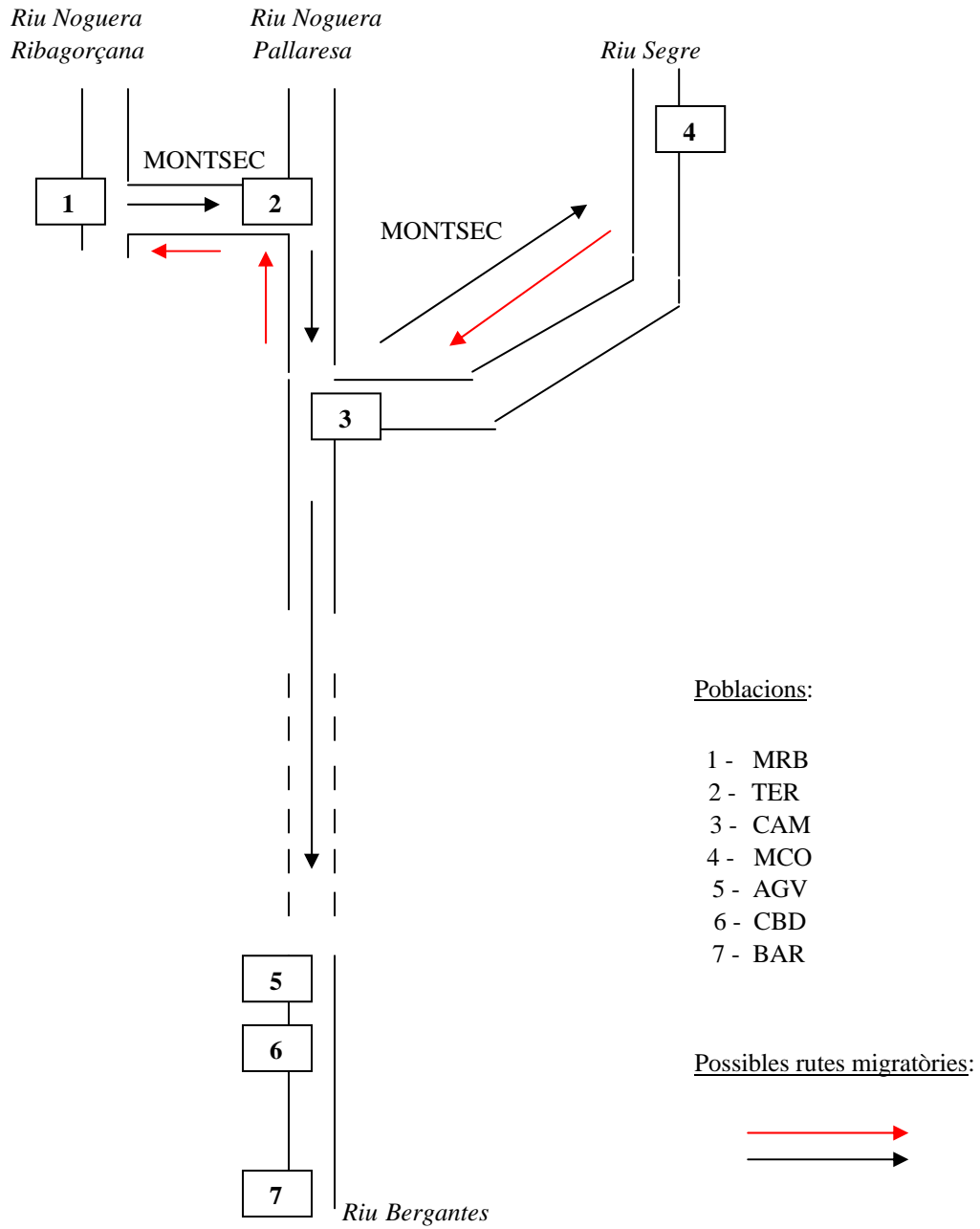


FIG. 27. Esquema de la localització de les diferents poblacions de *P. pardoi* i possibles rutes migratòries per a l'expansió de l'espècie, a través de corredors als congostos fluvials i cingleres muntanyoses.

6. IMPLICACIONS PER A LA CONSERVACIÓ

6.1. REVISIÓ DE LA CATEGORIA UICN

Petrocoptis montsicciana O. Bolòs & Rivas Martínez es va incloure, tant en el “Catàleg de plantes vasculares endèmiques, rares o amenaçades de Catalunya” (Sáez *et al.*, 1998) com en las “Estrategias para la conservación de la Flora Amenazada de Aragón” (Sainz *et al.*, 1996), dins la categoria **vulnerable** (VU). En el darrer esborrany de la “Lista roja de la flora vascular española” (28 de juny de 2000) es torna a classificar l’espècie en la mateixa categoria.

P. pardoii Pau s’inclou també dins la categoria vulnerable en las “Estrategias para la conservación de la Flora Amenazada de Aragón” i a la “Lista roja de la flora vascular española”.

Segons els criteris de la UICN (1994), un tàxon és *vulnerable* quan no es troba *en perill crític* o *en perill*, però s’enfronta a un alt risc d’extinció en estat silvestre en un futur immediat, definit per qualssevol dels següents criteris:

A. Reducció de la població per qualssevol de les formes següents:

1. Reducció per observació, estimació, inferència d’almenys el 20 % durant els últims 10 anys o 3 generacions, seleccionant la que sigui més llarga, basada en qualssevol dels següents elements:
 - a. observació directa
 - b. un índex d’abundància apropiat pel tàxon
 - c. una reducció de l’àrea d’ocupació, extensió de presència i/o qualitat de l’hàbitat
 - d. nivells d’explotació reals o potencials
 - e. efectes de tàxons introduïts, hibridació, patògens, contaminants, competidors o paràsits.
2. Reducció d’almenys un 20 % projectada o que se sospita que s’assolirà en els pròxims 10 anys o 3 generacions, seleccionant la que sigui més llarga, basada en qualssevol dels punts anteriors excepte el primer.

B. Una extensió de presència estimada menor de 20.000 km² o una àrea d’ocupació estimada menor de 2.000 km², i estimacions que estan succeint almenys dues de les següents característiques:

1. Severament fragmentat o que només existeix en un màxim de 10 localitats.
2. En declinació contínua, observada, inferida o projectada, per qualsevol dels següents elements:
 - a. extensió de presència
 - b. àrea d’ocupació
 - c. àrea, extensió i/o qualitat de l’hàbitat
 - d. nombre de localitats o subpoblacions

- e. nombre d'individus madurs.
- 3. Fluctuacions extremes en qualsevol dels següents components:
 - a. extensió de presència
 - b. àrea d'ocupació
 - c. nombre de localitats o subpoblacions
 - d. nombre d'individus madurs.
- C. Població estimada inferior a 10.000 individus madurs i qualsevol dels següents elements:
 - 1. En declinació contínua estimada d'almenys un 10 % en un període de 10 anys o en el temps de 3 generacions, seleccionant el que sigui major dels dos.
 - 2. En declinació contínua, observada, projectada o inferida, en el nombre d'individus madurs i amb una estructura poblacional de qualsevol de les següents formes:
 - a. severament fragmentada
 - b. tots els individus estiguin en una única subpoblació.
- D. Població molt petita o restringida en la forma de qualsevol de les següents dues condicions:
 - 1. Població estimada en nombres menors de 1.000 individus madurs.
 - 2. La població està caracteritzada per una aguda restricció en la seva àrea d'ocupació (típicament menor a 100 km²) o en el nombre de localitats (típicament menys de 5). D'aquesta manera, el tàxon presenta possibilitats d'ésser afectat per les activitats humanes (o per esdeveniments estocàstics, l'impacte dels quals és agreujat per l'home), en un període de temps molt curt en un futur no predible, i així arribaria a trobar-se *en perill crític* o *extingit* en un temps molt breu.
- E. Una anàlisi quantitativa mostra que la probabilitat d'extinció en estat silvestre és d'almenys el 10 % dins els següents 100 anys.

La inclusió de *P. montsicciana* O. Bolòs & Rivas Martínez dins la categoria *vulnerable* es recolza en el compliment de les premisa D2, tant en el “Catàleg de plantes vasculares endèmiques, rares o amenaçades de Catalunya” com en la “Lista roja de la flora vascular española”. Per altra banda, la inclusió de *P. pardoii* Pau en aquesta categoria es basa en el compliment de les premises B1+2c i C2a, segons la “Lista roja de la flora vascular española”.

Amb el nou tractament sistemàtic que nosaltres adoptem en el marc del present treball (*cf.* punt 4), i que englobaria les dues espècies esmentades sota una única unitat taxonòmica, *P. pardoii*, cal una revisió de la categoria UICN. A partir de les dades que aportem al punt 1.3.1.1., la nova espècie sumaria un total de 20.799 individus, l'extensió de presència seria de 1.135,5 km² i l'àrea d'ocupació restaria en 59 km². Segons el nostre parer, *P. pardoii* (*s.l.*) segueix mantenint la categoria de *vulnerable*, en base al compliment de les premises B2c (parcialment) i D2.

6.2. VALORACIÓ DE LES AMENACES

Dos són els tipus de riscos de conservació que pot sofrir una espècie vegetal, els d'origen natural i els provocats per les activitats humanes. Els riscos d'origen natural que presenten les poblacions de *P. pardoii* (*s.l.*) són derivats de la pròpia naturalesa de l'espècie. *P. pardoii*, tal com s'explica al punt 1.4., és una espècie altament especialitzada que necessita de microambients adequats per al seu desenvolupament. Petits canvis de les condicions ambientals i ecològiques en el seu hàbitat, poden posar en perill la seva supervivència, fet que s'agreuja per la petita taxa de germinació, instal·lació i pervivència de noves plàntules (Generalitat Valenciana, *s.d.*, 1992; Sainz *et al.*, 1996). Els alts nivells de diversitat genètica però que presenta l'espècie garanteixen una certa capacitat de resposta enfront a esdeveniments estocàstics (demogràfics i ambientals). El sistema de pol·linització no sembla, per ara, un factor limitant per a la conservació de l'espècie (Bosch *et al.*, en premsa). Els darrers anys, de notable sequera, s'ha comprovat una nul·la recolonització de les parcel·les de seguiment i la mort, per dessecació, d'alguns individus. Això fa preveure una possible disminució futura del nombre d'efectius per població, de persistir aquestes condicions climàtiques, en relació directa amb el fenomen de canvi climàtic.

Les amenaces derivades de l'activitat humana poden ser de diferent naturalesa. Per una banda, i tal com s'esmenta al punt 1.4., un dels riscos més notables és el de les herboritzacions massives, sobretot en les localitats clàssiques (Pas de Terradets i el Santuari de Nostra Senyora de la Balma). Un segon perill important és el risc de patir incendis forestals. Tot i tractar-se d'una espècie de caràcter rupícola, les parets que colonitza *P. pardoii* sovint estàn envoltades de vegetació, podent ser afectades les plantes de forma directa pel foc o de forma indirecta per la calor (Generalitat valenciana, *s.d.*).

En el cas del nucli de poblacions del Pre-pirineu, la pràctica de l'escalada pot suposar un risc de conservació en algunes d'elles, com és el cas de les parets de les poblacions de Camarasa i Terradets. Aquest factor de risc sembla però tenir una importància relativa, tal com reconeixen Nuzzo (1995, 1996) i Torres (1999) en altres espècies rupícoles, i solament a les pròpies vies d'escalada es produeix un descens en la densitat i la cobertura dels individus.

Les obres de millora de la xarxa viària poden suposar importants problemes de conservació per a aquesta espècie. Les obres de millora de la carretera que uneix Tremp amb Balaguer han suposat la desaparició d'un nombre important d'individus, per la destrucció de parets per eixamplar la carretera. Un exemple n'és la desaparició de la localitat coneguda com Font de les Bagasses, citada repetidament per diversos recol·lectors. El mateix ha succeït amb la carretera que uneix Aiguaviva amb Sorita del Maestrat, on també s'han dut a terme obres per millorar alguns trams de la carretera, i és un fet que pot repetir-se amb noves obres que actualment estan en projecte. Altres obres d'envergadura, com la millora de la via fèrria Lleida-Pobla de Segur, i la construcció de nous embassaments, pot suposar la desaparició de nombrosos individus de *P. pardoii*.

Finalment cal esmentar un risc particular que sofreix la població de Camarasa: la instal·lació d'una passarel·la metàl·lica al marge esquerra del riu Segre, que deixa molts individus de *P. pardoï* a l'abast de la mà. En la nostra última visita a aquest indret, hem detectat l'arrencada d'alguns individus.

6.3. MESURES DE CONSERVACIÓ PROPOSADES

6.3.1. CONSERVACIÓ *IN-SITU*

A) Com comentàvem per *S. farrenyi*, el sistema més efectiu i eficient per a conservar una espècie és la **protecció del seu hàbitat natural**. Es tracta d'una de les mesures més econòmiques de conservació i permet mantenir els nivells existents de diversitat genètica i les interaccions que es produeixen entre l'espècie i l'ecosistema sense detenir el procés evolutiu (Torres, 1999). Ceska *et al.* (1997) proposen una fórmula per calcular la proporció de diversitat genètica total en una espècie continguda en n poblacions, a partir del valor mitjà de F_{ST} :

$$1 - (F_{ST})^n$$

Si donem valors a n , amb el valor mitjà de F_{ST} per *P. pardoï* (0,277) obtenim que les proporcions de diversitat genètica total contingudes en una, dues, tres, quatre i cinc poblacions són 0,723, 0,923, 0,979, 0,994 i 0,998, respectivament. Tot i que aquest mètode assumeix igual diversitat en totes les poblacions i que la variació del valor de F_{ST} entre els diferents loci sigui petita, ens dóna almenys una idea del nombre aproximat de poblacions a conservar. Com podem comprovar, amb 3 poblacions conservaríem quasi el 98 % de la variabilitat isoenzimàtica detectada. Cal però fer una sèrie de consideracions alhora de plantejar-se quantes i quines poblacions cal conservar: (1) Els isoenzims generalment subestimen els nivells de diferenciació interpoblacional (Martínez-Palacios *et al.*, 1999). (2) El petit valor de N_m (0,304) ens indica que el flux genètic entre les poblacions és molt poc freqüent i per tant cada població representa una unitat evolutiva independent que mereix un esforç de conservació (Martínez-Palacios *et al.*, *l.c.*). (3) Cal recordar que una població amb una mida poblacional molt petita (<100 individus), fàcilment sofreix una pèrdua d'al·lels (Barret i Kohn, 1991).

En el cas de *P. pardoï* (*s.l.*), cal recordar que la seva distribució està focalitzada en dos nuclis de poblacions, el de les poblacions Pre-pirinenques i el de les del Maestrat (vall del riu Bergantes). És essencial preservar els dos nuclis per a conservar l'espècie globalment, doncs cal recordar (*cf.* punt 4) que el nucli de poblacions septentrionals presenta 14 al·lels que no tenen les poblacions de la vall del Bergantes, mentre aquestes mostren 4 al·lels que no tenen les primeres. Com a mínim caldria conservar les poblacions que mostren al·lels privats (Camarasa, Mont-rebei, Barranc de la Mare de Déu i Aiguaviva), però també ens interessa conservar aquelles amb la mida poblacional més elevada, les més diverses genèticament i les que estàn sotmeses a menys pressions i amenaces de conservació. De les poblacions Pre-pirinenques, segons el nostre parer cal donar prioritat de conservació a les poblacions de Mont-rebei i Camarasa. Ambdues

poblacions tenen una mida poblacional important (ambdues localitats compten amb més de 2000 individus) i una alta diversitat genètica. A més, són dues localitats que ja compten amb un cert nivell de protecció. La població de Mont-rebei està situada dins la Reserva Natural *Noguera Ribagorçana-Mont-rebei*, actualment adquirida per la fundació Territori i Paisatge, a part de ser un territori PEIN. La població de Camarasa està localitzada dins un espai PEIN, per tant gaudeix d'un grau de protecció menor que l'anterior. A més, està sotmesa a unes pressions superiors (a la localitat hi ha una presa, una central elèctrica i la passarel·la matèrica esmentada anteriorment). Seria interessant també la conservació de la població de la Móra Comdal que, tot i ser una població reduïda (poc més de 200 individus) és la que presenta més variabilitat isoenzimàtica ($P = 81,3$, $A = 2,4$ i $H_e = 0,291$) i també és la més inaccessible. Creiem necessària una protecció major d'almenys les poblacions de Camarasa i Mont-rebei, en forma de *microreserva botànica* o alguna figura similar.

Respecte al nucli de les poblacions de la vall del Bergantes, la més nombrosa d'elles, el Barranc de la Mare de Déu (5000 individus) ja gaudeix d'una protecció especial, en forma de *microreserva botànica* dins el projecte LIFE, i a l'empara del Decret 218/1994 (Generalitat Valenciana), de 17 d'octubre, de creació de les microreserves vegetals. La localitat d'Aiguaviva presenta un al·lel privat, però donada la seva petita mida poblacional (80 individus) i el fet que es troba a la vora de la carretera no sembla indicar una prioritat especial de cara a la seva conservació.

La proporció d'al·lells rars amb una freqüència inferior a 0,05 és en general força reduïda (12,1 % a Camarasa, 6,9 % a Terradets, 26,3 % a Mont-rebei, 17,9 % a la Móra Comdal, 15,1 % a Cantal Badat, 3,4 % al Barranc de la Mare de Déu i 16,1 % a Aiguaviva). És remarcable també el fet que cap de les poblacions tingui al·lells amb una freqüència $< 0,01$. Una reducció a la mida de les poblacions condueix a una ràpida pèrdua de riquesa al·lèlica (Barret i Kohn, *l.c.*), situació que en principi no ens ha de preocupar excessivament a *P. pardoi*.

B) Al tractar-se d'una espècie que té la seva àrea de distribució repartida en tres Comunitats Autònomes (País Valencià, Aragó i Catalunya), és preceptiva una **política global interadministrativa** que garanteixi la conservació de *P. pardoi* (*s.l.*). Si la política conservacionista s'aborda conjuntament per part de les tres administracions (Generalitat Valenciana, Diputació General de Aragó i Generalitat de Catalunya) aquesta serà molt més eficaç, efectiva i eficient. Cal recordar que una política conjunta de conservació s'imposa com a necessària per a d'altres espècies situades a ambdues bandes de les delimitacions administratives, com són els casos de *Antirrhinum pertegasii*, *Arenaria viridis*, *Salix tarraconensis* i *Thymus willkomii*, quatre plantes que creixen als Ports de Beseit, o bé *Delphinium montanum*, present al Principat i a la Catalunya Nord.

C) En tercer lloc, cal esmentar que seria aconsellable fer un **seguiment regular de l'estat de les poblacions**. A les localitats Pre-pirinenques de l'espècie, el nostre equip ha pogut apreciar al llarg dels últims 3 anys una mortalitat elevada de plàntules i el no-establiment de noves, amb el que la taxa de renovació de les poblacions i la capacitat de colonització de noves parets i extraploms és molt reduïda. Aquests resultats concorden amb el que s'ha observat a les poblacions administrativament valencianes (Generalitat

Valenciana, 1992, *s.d.*) i aragoneses (Sainz et al., *l.c.*). De totes maneres, caldria realitzar més estudis de caire demogràfic per acabar d'entendre aquests processos.

D) Una quarta mesura de conservació *in-situ* seria la **prospecció** de noves zones on existeixin afloraments rocosos de naturalesa calcària, abundants a tot el Pre-pirineu català i aragonès, i també a la conca del riu Bergantes i altres zones del Maestrat. Tot i que són zones que han estat ben explorades, la inaccessibilitat d'alguns indrets pot haver amagat algunes poblacions als botànics.

6.3.2. CONSERVACIÓ *EX-SITU*

A) El mètode més senzill i econòmic de conservació *ex-situ* és la recol·lecció de granes i el seu emmagatzemament a llarg termini (**banc de germoplasma**). Sempre és recomanable duplicar o triplicar la recol·lecció per permetre la distribució de llavors a altres bancs de germoplasma, nacionals i internacionals. Actualment, el Laboratori de Botànica de la Facultat de Farmàcia disposa d'una col·lecció de granes de *P. pardoii* (*s.l.*), provinents sobretot de diferents poblacions Pre-pirinenques, però també disposem de grana de les poblacions de la vall del Bergantes.

A l'hora de dissenyar una estratègia de recol·lecció de granes per elaborar un banc de germoplasma, la primera qüestió que hom és planteja és el nombre de poblacions a mostrejar (Torres, *l.c.*). Hamrick *et al.* (1991) proposa una fórmula per calcular-ho a partir del valor mitjà del coeficient de diferenciació gènica (G_{ST}):

$$n = \ln(1-P) / \ln G_{ST}$$

on n és el nombre de poblacions a mostrejar i P és el percentatge de diversitat gènica que es vol conservar. Quan l'interval de variació de G_{ST} entre els diferents loci és important, cal utilitzar el valor màxim de G_{ST} . Si apliquem la fórmula en la nostra espècie, considerant que volem conservar el 99 % de diversitat genètica, caldria mostrejar en 6 poblacions. Segons Martínez-Palacios *et al.*, *l.c.*, valors elevats de G_{ST} (0,451) i petits valors de N_m (0,304) ens indiquen una important divergència entre poblacions, i per tant cada població representa una unitat evolutiva independent que mereix un esforç de conservació. Recomanem per tant la recol·lecció de llavors en totes les poblacions.

La segona qüestió és decidir el nombre de plantes per població a mostrejar i el nombre de granes que cal recol·lectar. Les recomanacions però varien molt segons els autors. Per a Bengtsson *et al.* (1995) mostres no superiors als 25 individus ja són suficients per representar la variabilitat genètica en una població, en canvi Marshall i Brown (1975) proposen una mida mostral de 50-100 individus. L'abundància d'al·lels rars però fa necessari un mostratge més ampli de les poblacions, per tal de preservar la capacitat d'evolució d'una espècie (Templeton, 1997). Ara bé, segons Brown i Briggs (1991) i Lawrence *et al.* (1995) l'esforç que suposa mantenir els al·lels rars en un banc de germoplasma és major que el benefici que proporcionen aquests al potencial evolutiu de l'espècie. Per a Holsinger i Gottlieb (1991) i Lawrence *et al.* (*l.c.*) només cal conservar els al·lels amb una freqüència $\geq 0,05$. Segons aquest criteri, una mostra de 67 llavors seria suficient per conservar, amb una probabilitat de 0,999, els al·lels que es

troben amb freqüències $\geq 0,05$ (taula 18), suposant un percentatge de germinació del 100 %. Com que aquest percentatge habitualment és inferior a les espècies vegetals, el *Center for Plant Conservation* de Saint Louis (Missouri, EUA) proposa una fórmula per calcular el nombre de llavors a recol·lectar (Torres, *l.c.*):

$$C_p = I (1/T)$$

on C_p és el nombre de llavors a recol·lectar, I és el nombre de granes que volem conservar suposant una taxa de germinació del 100 % i T és la taxa de germinació. En els diferents assajos de germinació amb *P. pardoii*, s'han obtingut taxes de germinació des del 8,2 % (M. Pont-Guerra, 1999; I. Niubó-Eslava, 1999) fins al 5,5 % trobat per nosaltres (López-Pujol, dades inèdites). Aplicant la fórmula amb la taxa més baixa de germinació, s'hauria de recol·lectar un total de 1.218 granes.

TAULA 18. MIDA MOSTRAL NECESSÀRIA PER A CONSERVAR ALMENYS UNA CÒPIA DE L'AL·LEL, AMB DIFERENTS PROBABILITATS, SEGONS TORRES (1999)

P (Probabilitat)	Freqüència al·lèlica					
	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,05
0,95	3	4	5	7	15	30
0,99	4	5	7	11	22	45
0,999	6	7	10	16	33	67
0,9999	7	9	13	19	42	86

B) Un segon mètode de conservació ex-situ és el **cultiu d'exemplars** a partir de granes, en diversos jardins botànics com a mesura preventiva enfront a situacions crítiques que sofreixin les poblacions naturals de l'espècie. Aquests individus podrien ser utilitzats per tal d'efectuar eventuais reintroduccions o reforçaments de les poblacions existents. Al Servei d'hivernacles i Viviers de la Facultat de Farmàcia s'ha intentat el cultiu d'individus de *P. pardoii* (*s.l.*) en testos. Malauradament, de les poques granes que arriben a germinar, la majoria de les plàntules moren en pocs dies. Resultats semblantment deficients són reportats per Mayol (1998), després de diversos anys de treball experimental en hivernacles. El cultiu d'exemplars és doncs un mètode de conservació no-vàlid en aquesta espècie ja que malviu en hivernacles en condicions estàndard, probablement a causa de la dificultat de reproduir les condicions del seu hàbitat. En tot cas, caldria desenvolupar la recerca en aquest camp.

IV. BIBLIOGRAFIA

- AGELET, A., 1999. *Estudis d'Etnobotànica farmacèutica al Pallars*. Tesi doctoral [inèdita]. Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona.
- AIZEN, M.A., 1999. To bee or not to bee? The impact of habitat fragmentation on pollinator faunas and plant pollination. *XVI International Botanical Congress Abstracts*: 234. St. Louis (EUA).
- AIZEN, M.A.; PATTERSON, W.A., 1995. Leaf phenology and herbivory along a temperature gradient: a spatial test of the phenological window hypothesis. *Journal of Vegetation Science*, **6** (4): 543-550.
- ALEXEEVA, T.V.; VASILEVA, M.G.; DAUSHKEVICH, J.V.; PIMENOV, M.G., 1994. IOPB Chromosome Data 8. *International Organization of Plant Biosystematists Newsletter*, **23**: 11-12.
- ALLARD, R.W.; BABEL, G.R.; CLEGG, M.T.; KAHLER, A.L., 1972. Evidence for coadaptation in *Avena barbata*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **69**: 3043-3048.
- ANDRIYENKO, T.L.; PRYADKO, O.I.; SIDENKO, V.M., 1995. Vegetation of Kyrovohradschyna granite exposures and its protection. *Ukrayins'kyi Botanichnyi Zhurnal*, **52** (6): 866-873.
- ANTONOVICS, J., 1971. The effects of a heterogeneous environment on the genetics of natural populations. *American Scientific*, **59**: 593-599.
- APARICIO, A.; GARCÍA-MARTÍN, F., 1996. The reproductive biology and breeding system of *Erica andevalensis* Cabezudo & Rivera (*Ericaceae*) an endangered edaphic endemic of southwestern Spain. Implications for its conservation. *Flora* (Jena), **191**: 345-351.
- ARENAS, J.A.; GARCÍA, F., 1993. Atlas carpológico y corológico de la subfamilia *Apioideae* Drude (Umbelliferae) en España peninsular y Baleares. *Ruizia*, **12**.
- ARIAS, F.J.; ROJO, M.A.; FERRERAS, J.M.; IGLESIAS, R.; MUÑOZ, R.; ROCHER, A.; MÉNDEZ, E.; BARBIERI, L.; GIRBÉS, T., 1992. Isolation and partial characterization of a new ribosome-inactivating protein from *Petrocoptis glaucifolia* (Lag.) Boiss. *Planta*, **186**: 532-540.
- ARIAS, F.J.; ROJO, M.A.; FERRERAS, J.M.; IGLESIAS, R.; MUÑOZ, R.; SORIANO, F.; MÉNDEZ, E.; BARBIERI, L.; GIRBÉS, T., 1994. Isolation and characterization of two new N-glycosidase type-1 ribosome-inactivating proteins, unrelated in amino-acid sequence, from *Petrocoptis* species. *Planta*, **194**: 487-491.

- ARULSEKAR, S.; PARFITT, D.E.; BERES, W.; HANSCH, P.E., 1986. Genetic of malate dehydrogenase isozymes in the peach. *Journal of Heredity*, **77**: 49-51.
- BABEL, G.R.; SELANDER, R.B., 1974. Genetic variability in edaphically restricted and widespread plant species. *Evolution*, **28**: 619-630.
- BAKŠAY, L., 1956. Cytotaxonomical studies on the flora of Hungary. *Annales Historiae Naturalis Musei Nationalis Hungarici*, ser. nova, **7**: 321-334.
- BARRETT, S.C.H.; KOHN, J.R., 1991. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: Implications for conservation. A: FALK, D.A.; HOLSINGER, K.E. [eds.]: *Genetics and conservation of rare plants*, p. 3-30. Oxford University Press, Nova York (EUA).
- BELL, C.R.; CONSTANCE, L., 1966. Chromosome numbers in *Umbelliferae*. III. *American Journal of Botany*, **53** (5): 512-520.
- BENGTSSON, B.O.; WEIBULL, P.; GHATNEKAR, L., 1995. The loss of alleles by sampling: a study of the common outbreeding grass *Festuca ovina* over three geographic scales. *Hereditas*, **122**: 221-238.
- BERGE, G.; NORDAL, I.; HESTMARK, G., 1998. The effect of breeding systems and pollination vectors on the genetic variation of small plant populations within an agricultural landscape. *Oikos*, **81**: 17-29.
- BITTRICH, V., 1993. *Caryophyllaceae*. A: KUBITZKI ET AL. [eds.]: *Families and genera of flowering plants*, **2**: 206-236. Springer-Verlag, Berlín (Alemanya).
- BOLETÍN OFICIAL DE ARAGÓN, 1995. Decreto 49/1995, de 28 de marzo, de la Diputación General de Aragón, por el que se regula el Catálogo de Especies Amenazadas de Aragón. *Boletín Oficial de Aragón*, **42**: 1270-1275.
- BOLÒS, O., 1985. *Corologia de la flora dels Països Catalans*. Volum introductor. Institut d'Estudis Catalans, Barcelona.
- BOLÒS, O.; RIVAS-MARTÍNEZ, S., 1970. Comentarios sobre el género *Petrocoptis*. *Petrocoptis montsiciana* sp. nova. *Anales del Instituto Botánico A. J. Cavanilles*, **26**: 53-60.
- BOLÒS, O.; VIGO, J., 1984. *Flora dels Països Catalans*, **1**. Barcino, Barcelona.
- BOLÒS, O.; VIGO, J., 1990. *Flora dels Països Catalans*, **2**: 422-428. Barcino, Barcelona.

- BOLÒS, O.; VIGO, J.; MASALLES, R.M.; NINOT, J.M., 1993. *Flora manual dels Països Catalans*. Pòrtic, Barcelona.
- BOSCH, M., 1999. *Biologia de la reproducció de la tribu Delphinieae a la Mediterrània occidental*. Institut d'Estudis Catalans, Barcelona.
- BOSCH, M.; SIMON, J.; MOLERO, J.; BLANCHE, C., 1998. Reproductive biology, genetic variation and conservation of the rare endemic dysploid *Delphinium bolosii* (Ranunculaceae). *Biological Conservation*, **86**: 57-66.
- BOSCH, M.; SIMON, J.; ROVIRA, A.M.; MOLERO, J.; BLANCHÉ, C., en revisió. Pollination ecology of the pre-Pyrenean endemic *Petrocoptis montsiciana* (Caryophyllaceae). *Botanica Helvetica*.
- BROADHURST, L.M.; COATES, D.J; TAN, B.H., 1999. Genetic diversity in the monospecific Western Australian endemic, *Geleznovia verrucosa* Turcz. (Rutaceae). *Heredity*, **82**: 292-299.
- BROWN, A.H.D.; BRIGGS, J.D., 1991. Sampling strategies for Genetic Variation in Ex Situ Collections of Endangered Plant species. A: FALK, D.A.; HOLSINGER, K.E. [eds.]: *Genetics and conservation of rare plants*, p. 99-119. Oxford University Press, Nova York (EUA).
- BROWN, A.H.D.; WEIR, B.S., 1983. Measuring genetic variability in plant populations. A: TANKSLEY, S.D.; ORTON, T.J. [eds.]: *Isozymes in Plant Genetics and Breeding*, p. 219-239. Elsevier Science Publishers, Amsterdam (Països Baixos).
- CAUJAPÉ, J., 1995. *Aplicació del concepte d'ubiquïtat i raresa al·lèlica a 6 espècies del gènere Androcymbium* (Colchicaceae). Tesi doctoral [inèdita]. Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona.
- CESKA, J.F.; AFFOLTER, J.M.; HAMRICK, J.L., 1997. Developing a sampling strategy for *Baptisia arachnifera* based on allozyme diversity. *Conservation Biology*, **11**: 1133-1139.
- CHICHIRICCO, G.; TAMMARO, F., 1982. Numeri cromosomici per la Flora Italiana: 910-918. *Informatore Botanico Italiano*, **14**: 264-267.
- CHUNG, M.G., 1999. Allozyme diversity in the endangered shrub *Abeliophyllum distichum* (Oleaceae): a monotypic Korean genus. *International Journal of Plant Sciences*, **160** (3): 553-559.

- INKURA, F.; HINDÁKOVÁ, M., 1963. Po□ty chromozómov a ich morfológia pri niektorých druhoch rodu *Seseli* L. zo slovenských nálezisk. *Biológia*, **18** (3): 184-194.
- CONESA, J.A., 1991. *Flora i vegetació de les serres marginals Pre-pirinenques compreses entre els rius Segre i Noguera Ribagorçana*. Tesi doctoral [inèdita]. Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona.
- CONESA, J.A., 1997. *Tipologia de la vegetació: anàlisi i caracterització*. Edicions de la Universitat de Lleida.
- CRANTZ, H.J.N, 1767. *Classis Umbelliferarum emendata*. Leipzig (Alemanya).
- CRAWFORD, D.J., 1983. Phylogenetic and systematic inferences from electrophoretic studies. A: TANKSLEY, S.D. ; ORTON, T.J. [eds.]: *Isozymes in Plant Genetic and Breeding*, p. 257-287. Elsevier Science Publishers, Amsterdam (Països Baixos).
- CRAWFORD, D.J.; WILSON, H.D., 1977. Allozyme variation in *Chenopodium fremontii*. *Systematic Botany*, **2**: 180-190.
- DAUSHKEVICH, J.V.; ALEXEEVA, T.V.; PIMENOV, M.G., 1991. IOPB Chromosome Data 3. *International Organization of Plant Biosystematists Newsletter*, **17**: 8-9.
- DAUSHKEVICH, J.V.; ALEXEEVA, T.V.; PIMENOV, M.G., 1995. IOPB Chromosome Data 10. *International Organization of Plant Biosystematists Newsletter*, **25**: 7-8.
- DE CANDOLLE, A.P., 1830. *Prodromus Systematis naturalis regni Vegetabilis*, **4**: 144-151. París.
- DELAY, C., 1947. Recherches sur la structure des noyaux quiescents chez les Phanérogames. *Revue de Cytologie et de Cytophysiologie Végétales*, **9** (1-4): 169-222, **10** (1-4): 103-229.
- DeMAURO, M.M., 1993. Relationship of breeding system to rarity in the Lakeside Daisy (*Hymenoxis acaulis* var. *glabra*). *Conservation Biology*, **7**: 542-550.
- DOEBLEY, J.; MORDEN, C.W.; SCHERTZ, K.F., 1986. A gene modifying mitochondrial malate dehydrogenase isozymes in *Sorghum* (Gramineae). *Biochemical Genetics*, **24**: 813-819.

- DOLAN, R.W., 1994. Patterns of isozyme variation in relation to population size, isolation, and phytogeographic history in royal catchfly (*Silene regia*; Caryophyllaceae). *American Journal of Botany*, **81** (8): 965-972.
- DOLAN, R.W.; YAHR, R.; MENGES, E.S.; HALFHILL, M.D., 1999. Conservation implications of genetic variation in three rare species endemic to Florida rosemary scrub. *American Journal of Botany*, **86** (11): 1556-1562.
- DOWNIE, S.R.; WATSON, M.F.; SPALIK, K.; KATZ-DOWNIE, S., 2000. Molecular systematics of Old World Apioideae (Apiaceae): relationships among some members of tribe Peucedaneae sensu lato, the placement of several island-endemic species, and resolution within the apioid superclade. *Canadian Journal of Botany*, **78**: 506-528.
- DRUDE, G.G.O., 1898. A: ENGLER, A; PRANTL [eds.]: *Die naturlichen Pflanzenfamilien*, III, 8: 145-250. Leipzig (Alemanya).
- DRUSKOVIC, B., 1995. IOPB Chromosome Data 9. *International Organization of Plant Biosystematists Newsletter*, **24**: 11-14.
- DUVIGNEAUD, J., 1965. Le caractère de glabreité des fruits dans le groupe *Seseli libanotis*. *Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique*, **98** (2): 215-228.
- 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**: 217-242.
- EMERY, R.J.N.; CHINNAPPA, C.C., 1992. Natural hybridization between *Stellaria longipes* and *Stellaria borealis* (Caryophyllaceae). *Canadian Journal of Botany*, **70**: 1717-1723.
- FALK, D.A.; HOLSINGER, K. [eds.], 1991. *Genetics and conservation of rare plants*. Oxford University Press, Nova York (EUA).
- FEDOROV, AN. A. [Ed.], 1969. *Chromosome numbers of flowering plants*. V.L. Komarov Botanical Institute, Academy of Sciences of the USSR.
- FERNÁNDEZ-BENITO, R., 1999. *Estudis citogenètics en *Petrocoptis montsiciana*. Aportació a la base de dades CROMOCAT*. Treball Pràctic de Botànica I [inèdit]. Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona.
- FERNÁNDEZ-CASAS, J., 1974. Notas Fitosociológicas Breves, III. *Cuadernos de Ciencias Biológicas de la Universidad de Granada*, **3**: 91-95.

- FERNÁNDEZ-CASAS, J., 1977. Recuentos cromosómicos en plantas vasculares Españolas. *Saussurea*, **8**: 33-56.
- FERNÁNDEZ-CASAS, J.; MOLERO, J.; PUJADAS, J., 1979. Números cromosómicos de plantas occidentales. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, **36**: 391-393.
- FERNÁNDEZ-CASAS, J.; RUIZ-REJÓN, M., 1974. Estudios cariológicos sobre la flora española. *Boletim da Sociedade Broteriana*, sér. 2, **48**: 99-105.
- FERRERAS, J.M.; BARBIERI, L.; GIRBÉS, T.; BATTELLI, M.G.; ROJO, M.A.; ARIAS, F.J.; ROCHER, M.A.; SORIANO, F.; MÉNDEZ, E.; STIRPE, F., 1993. Distribution and properties of major ribosome-inactivating proteins (28 S rRNA N-glycosidases) of the plant *Saponaria officinalis* L. (Caryophyllaceae). *Biochimica et Biophysica Acta*, **1216** (1): 31-42.
- FINKELDEY, O.; MURILLO, O., 1999. Contributions of subpopulations to total gene diversity. *Theoretical and Applied Genetics*, **98**: 664-668.
- FONT, M., 1996. *Characterització isoenzimàtica de diferents seccions del gènere Centaurea L.* Tesi doctoral [inèdita]. Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona.
- FRANCISCO-ORTEGA, J.; SANTOS-GUERRA, A.; SEUNG-CHUL, K.; CRAWFORD, D.J., 2000. Plant genetic diversity in the Canary Islands: A conservation perspective. *American Journal of Botany*, **87** (7): 909-919.
- FRANKEL, O.H.; SOULÉ, M.E., 1981. *Conservation and Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge (Regne Unit).
- FRANQUESA, T., 1995. *El paisatge vegetal de la península del cap de Creus*. Institut d'Estudis Catalans, Barcelona.
- FUJIOKA, T.; FURUMI, K.; FUJII, H.; OKABE, H.; MIHASHI, K.; NAKANO, Y.; MATSUNAGA, H.; KATANO, M.; MORI, M., 1999. Antiproliferative constituents from Umbelliferae plants. V. A new furanocoumarin and faltarindiol furanocoumarin ethers from the root of *Angelica japonica*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* (Tokyo), **47** (1): 96-100.
- GAMISANS, J., 1972. Contribution à l'étude de la flore de la Corse. III. *Candollea*, **27**: 48-64.

-
- GAMISANS, J.; MARZOCCHI, J.F., 1996. *La Flore endémique de la Corse*. Edisud, Aix-en-Provence (França).
- GARCÍA, M.B.; ANTOR, R.J., 1995a. Age and size structure in populations of a long-lived dioecious geophyte: *Borderea pyrenaica* (Dioscoreaceae). *International Journal of Plant Sciences*, **156**: 236-243.
- GARCÍA, M.B.; ANTOR, R.J., 1995b. Sex ratio and sexual dimorphism in the dioecious *Borderea pyrenaica* (Dioscoreaceae). *Oecologia*, **101**: 59-67.
- GARDÉ, A.; MALHEIROS-GARDÉ, N., 1949. Contribuição para o estudo cariológico da família *Umbelliferae*. I. *Agronomia Lusitana*, **11** (2): 91-140.
- GARNATJE, M.T., 1995. *Relació entre el polimorfisme enzimàtic i alguns aspectes de l'especiació i de l'evolució en el gènere Cheirolophus Cass.* Tesi doctoral [inèdita]. Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona.
- GEHRING, J.L.; DELPH, L.F., 1999. Fine-scale genetic structure and clinal variation in *Silene acaulis* despite high gene flow. *Heredity*, **82**: 628-637.
- GENERALITAT VALENCIANA, 1992. *Bases para la conservación de P. pardoi*. Documentació interna de la Conselleria de Medi Ambient, Generalitat Valenciana.
- GENERALITAT VALENCIANA, s.d.. *Plan de recuperación del clavel de roca de la Balma (Petrocoptis pardoi Pau)*. Documentació interna de la Conselleria de Medi Ambient, Generalitat Valenciana.
- GILES, B.E.; GOUDET, J., 1997. Genetic differentiation in *Silene dioica* metapopulations: estimation of spatiotemporal effects in a successional plant species. *American Naturalist*, **149**: 507-526.
- GINSBERG, J., 1999. Global conservation priorities. *Conservation Biology*, **13**: 5.
- GÓMEZ-CAMPO, C., 1987. *Libro Rojo de Especies Vegetales Amenazadas de España Peninsular e Islas Baleares*. ICONA, Madrid.
- GOODMAN, M.M.; NEWTON, K.J.; STUBER, C.W., 1981. Malate dehydrogenase: Viability of cytosolic null and lethality of mitochondrial nulls in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **78**: 1783-1785.
- GOTTLIEB, L.D., 1977. Electrophoretic evidence and plant systematics. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **64**: 161-180.

- GOTTLIEB, L.D., 1981. Electrophoretic evidence and plant populations. *Progress in Phytochemistry*, **7**: 1-46.
- GOTTLIEB, L.D., 1982. Conservation and duplication of isozymes in plants. *Science*, **216**: 373-380.
- GOULSON, D.; JERRIM, K., 1997. Maintenance of the species boundary between *Silene dioica* and *S. latifolia* (red and white campion). *Oikos*, **79**: 115-126.
- GRIGGS, F.T.; JAIN, S.K., 1983. Conservation of vernal pool plants in California, II. Population biology of a rare and unique grass genus *Orcuttia*. *Biological Conservation*, **27**: 171-193.
- GUITIÁN, P., 1995. Reproductive biology of *Rhamnus legionensis* Rothm. a dioecious species endemic to the northwest Iberian peninsula. *Flora (Jena)*, **190**: 345-352.
- GUITIÁN, J.; SÁNCHEZ, J.M., 1993. Flowering phenology and fruit set of *Petrocoptis grandiflora* (Caryophyllaceae). *International Journal of Plant Sciences*, **153**: 409-412.
- GUITIÁN, J.; SÁNCHEZ, J.M.; GUITIÁN, P., 1994. Pollination ecology of *Petrocoptis grandiflora* Rothm. (Caryophyllaceae); a species endemic to the north-west part of the Iberian Peninsula. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **115**: 19-27.
- GUYOT, M., 1966. Les stomates des Ombellifères. *Bulletin de la Société botanique de France*, **113**: 244-273.
- HÅKANSSON, A., 1953. Some chromosome numbers in *Umbelliferae*. *Botaniska Notiser*, **1953**: 301-307.
- HAMRICK, J.L., 1983. The distribution of genetic variation within and among natural plant populations. A: SCHONEWALD-COX, C.M.; CHAMBERS, S.M.; McBRYDE, B.; THOMAS, W.L. [eds.]: *Genetics and Conservation*, p. 335-348. Benjamin/Cummings, Menlo Park, California (EUA).
- HAMRICK, J.L., 1989. Isozymes and the analysis of genetic structure in plant populations. A: SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S. [eds.]: *Isozymes in Plant Biology*, p. 87-105. Dioscorides Press, Portland (EUA).
- HAMRICK, J.L.; ALLARD, R.W., 1972. Microgeographical variation in allozyme frequencies in *Avena barbata*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **69**: 2100-2104.

-
- HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W., 1990. Allozyme diversity in plant species. A: BROWN, A.H.D.; CLEGG, M.T.; KAHLER, A.L., WEIR, B.S. [eds.]: *Plant population genetics, breeding and genetic resources*, p. 43-63. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts (EUA).
- HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W.; MURAWSKI, D.A.; LOVELESS, M.D., 1991. Correlation between species traits and allozyme diversity: implications for conservation biology. A: FALK, D.A.; HOLSINGER, K.E. [eds.]: *Genetics and conservation of rare plants*, p. 75-86. Oxford University Press, Nova York (EUA).
- HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W., 1996. Conservation genetics of endemic plant species. A: AVISE, J.C; HAMRICK, J.L. [eds.]: *Conservation genetics*, p. 281-304. Chapman and Hall, Nova York (EUA).
- HAMRICK, J.L.; LINHART, Y.B.; MITTON, J.B., 1979. Relations between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **10**: 173-200.
- HANSKI, A.; GILPIN, M.E. [eds.], 1997. *Metapopulation Biology: Ecology, Genetics and Evolution*. Academic Press, Londres (Regne Unit).
- HARALDSEN, K.B.; WESENBERG, J., 1993. Population genetic analyses of an amphi-Atlantic species: *Lychnis alpina* (Caryophyllaceae). *Nordic Journal of Botany*, **13**: 377-387.
- HARRIS, H., 1966. Enzyme polymorphism in man. *Proceedings of the Royal Society, Series B*, **164**: 298-310.
- HARRY, D.E., 1986. Inheritance and linkage of isozyme variants in incense-cedar. *Journal of Heredity*, **77**: 261-266.
- HAYEK, A., 1932. Prodromus Florae Peninsula Balcanicae. *Feddes Repertorium*, **30**: 961-1152.
- HERNÁNDEZ, J.E., 1994. Biodiversidad de los recursos genéticos y riesgos de extinción en Andalucía. A: HERNÁNDEZ, J.E.; CLEMENTE, M. [eds.]: *Protección de la Flora en Andalucía*, p. 13-40. Junta de Andalucía, Consejería de Cultura y Medio Ambiente, Sevilla.
- HERRERA, C.M., 1990a. The adaptedness of the floral phenotype in a relict endemic, hawkmoth-pollinated violet. I. Reproductive correlates of floral variation. *Biological Journal of the Linnean Society*, **40**: 263-274.

- HERRERA, C.M., 1990b. The adaptedness of the floral phenotype in a relict endemic, hawkmoth-pollinated violet. II. Patterns of variation among disjunct populations. *Biological Journal of the Linnean Society*, **40**: 275-291.
- HOLSINGER, K.E.; GOTTLIEB, L.D., 1991. Conservation of rare and endangered plants: principles and prospects. A: FALK, D.A.; HOLSINGER, K.E. [eds.]: *Genetics and conservation of rare plants*, p. 195-208. Oxford University Press, Nova York (EUA).
- HU, C.Q.; CHANG, J.J.; LEE, K.H., 1990. Antitumor agents, 115. Seselidiol, a new cytotoxic polyacetylene from *Seseli mairei*. *Journal of Natural Products*, **53** (4): 932-935.
- HUH, M.K.; CHUNG, S.D.; HUH, H.W., 1998. Allozyme variation and population structure of *Pyrola japonica* in Korea. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, **39**: 107-112.
- HUNTER, R.L.; MARKERT, C.L., 1957. Histochemical demonstration of isozymes separated by zone electrophoresis in starch gels. *Science*, **125**: 1294-1295.
- INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY NOMENCLATURE COMMITTEE, 1984. *Enzyme Nomenclature 1984*. Academic Press, Nova York (EUA).
- ITOKAWA, H.; YUN, Y.; MORITA, H.; TAKEYA, K.; YAMADA, K., 1995. Estrogen-like activity of cyclic peptides from *Vaccaria segetalis* extracts. *Planta medica*, **61** (6): 561-562.
- KAHLER, A.L.; ALLARD, R.W., 1970. Genetics of enzyme variants in barley. I. Esterases. *Crop Science*, **10**: 444-448.
- KIMURA, M.; CROW, J.F., 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, **49**: 725-738.
- KOCH, G.D.I., 1824. Genera tribumque plantarum Umbelliferarum. *Novorum Actorum Academiae Caesareae Leopoldinae-Carolinae Germanicae Naturae Curiosorum*, **12**: 55-156.
- KRASNIKOV, A.A.; SCHAULO, D.N., 1986. Chromosome numbers of some representatives of the families Apiaceae and Ranunculaceae from the south of Siberia. *Botaničeskij žurnal*, **71**: 116-117.
- LANDE, R., 1988. Genetics and demography in biological conservation. *Science*, **241**: 1455-1460.

- LARSEN, K., 1954. Chromosome numbers of some European flowering plants. *Botanisk Tidsskrift*, **50** (2): 163-174.
- LAWRENCE, M.J.; MARSHALL, D.F.; DAVIES, P., 1995. Genetics of conservation. I. Sample size when collecting germplasm. *Euphytica*, **84**: 89-99.
- LEVINS, R., 1969. Some demographic and genetic consequences of environmental heterogeneity for biological control. *Bulletin of the Entomological Society of America*, **15**: 237-240.
- LEWIS, P.O.; CRAWFORD, D.J., 1995. Pleistocene refugium endemics exhibit greater allozymic diversity than widespread congeners in the genus *Polygonella* (Polygonaceae). *American Journal of Botany*, **82**: 141-149.
- LEWIS, P.O.; WHITKUS, R., 1993. Genestat-PC Version 3.3.
- LEWONTIN, R.C.; HUBBY, J.L., 1966. A molecular approach to the study of genetic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*, **54**: 595-609.
- LINHART, Y.B.; PREMOLI, A.C., 1993. Genetic variation in *Aletes acaulis* and its relative, the narrow endemic *A. humilis* (Apiaceae). *American Journal of Botany*, **80** (5): 598-605.
- LINNÉ, C., 1753. Umbelliferae. A: *Species Plantarum*, **1**: 232-265. Estocolm (Suècia).
- LOESCHCKE, V.; TOMIUK, J.; JAIN, S.K., 1994. Introductory remarks: Genetics and conservation biology. A: LOESCHCKE, V.; TOMIUK, J.; JAIN, S.K. [eds.]: *Conservation Genetics*, p. 3-8. Birkhäuser Verlag, Basel (Suïssa).
- LÖNN, M.; PRENTICE, H.C., 1990. Mosaic variation in Swedish *Petrorhagia prolifera* (Caryophyllaceae): the partitioning of morphometric and electrophoretic diversity. *Biological Journal of the Linnean Society*, **41**: 353-373.
- LÖNN, M.; PRENTICE, H.C.; BENGTSSON, K., 1996. Genetic structure, allozyme-habitat associations and reproductive fitness in *Gypsophila fastigiata* (Caryophyllaceae). *Oecologia*, **106**: 308-316.
- LOVELESS, M.D.; HAMRICK, J.L., 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **15**: 65-95.

- MAKI, M.; MASUDA, M.; INOUE, K., 1996. Genetic diversity and hierarchical population structure of a rare autotetraploid plant, *Aster kantoensis* (Asteraceae). *American Journal of Botany*, **83**: 296-303.
- MANTEL, N., 1967. The detection of diase clustering and a generalised regression approach. *Cancer Research*, **27**: 209-220.
- MARKERT, C.L.; MOLLER, F., 1959. Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenic and species specific pattern. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **45**: 753-763.
- MARSHALL, D.R.; ALLARD, R.W., 1970a. Isozyme polymorphism in natural populations of *Avena fatua* and *A. barbata*. *Heredity*, **29**: 373-382.
- MARSHALL, D.R.; ALLARD, R.W., 1970b. Maintenance of isozyme polymorphisms in natural populations of *Avena barbata*. *Genetics*, **66**: 393-399.
- MARSHALL, D.R.; BROWN, A.H.D., 1975. A: FRANKEL, O.H.; HAWKES, J.G. [eds.]: *Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow*, p. 53-80. Cambridge University Press, Cambridge (Regne Unit).
- MARTÍN, C.; GONZÁLEZ-BENITO, M.E.; IRIONDO, J.M., 1997. Genetic diversity within and among populations of a threatened species: *Erodium paularense* Fern. Gonz. & Izco. *Molecular Ecology*, **6**: 813-820.
- MARTÍNEZ-PALACIOS, A.; EGUIARTE, L.E.; FURNIER, G.R., 1999. Genetic diversity of the endangered endemic *Agave victoriae-reginae* (Agavaceae) in the Chihuahuan Desert. *American Journal of Botany*, **86** (8): 1093-1098.
- MATEU-ANDRÉS, I., 1999. Allozymic variation and divergence in three species of *Antirrhinum* L. (Scrophulariaceae-Antirrhineae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, **131**: 187-199.
- MAYOL, M., 1998. *Biosistemática y evolución en el género Petrocoptis A. Braun* (Caryophyllaceae). Tesi doctoral [inèdita]. Facultat de Ciències Biològiques, Universitat de València.
- MAYOL, M.; ROSSELLÓ, J.A., 1999. A synopsis of *Silene* subgenus *Petrocoptis* (Caryophyllaceae), *Taxon*, **48**: 471-482.
- McCAULEY, D.E., 1997. The Relative Contributions of Seed and Pollen Movement to the Local Genetic Structure of *Silene alba*. *The Journal of Heredity*, **88**: 257-263.

- McCAULEY, D.E.; STEVENS, J.E.; PERONI, P.A.; RAVEILL, J.A., 1996. The spatial distribution of chloroplast DNA and allozyme polymorphisms within a population of *Silene alba* (Caryophyllaceae). *American Journal of Botany*, **83** (6): 727-731.
- McDONALD, D.B.; HAMRICK, J.L., 1996. Genetic variation in some plants of Florida scrub. *American Journal of Botany*, **83** (1): 21-27.
- MEMBRIVES, N., 2000. *Biologia evolutiva del gènere Androcymbium (Colchicaceae) a Sudàfrica Occidental*. Tesi doctoral [inèdita]. Universitat de Barcelona i Estació Internacional de Biologia Mediterrània – Jardí Botànic Marimurtra (Blanes).
- MENGES, E.S., 1992. Stochastic modeling of extinction in plant populations. A: FIEDLER, P.L.; JAIN, S.K. [eds.]: *Conservation Biology. The theory and practice of nature conservation preservation and management*, p. 263-275. Chapman and Hall, Nova York (EUA).
- MERXMÜLLER, H.; GRAU, J., 1968. Ergänzende studien an *Petrocoptis* (Caryophyllaceae). *Collectanea Botanica* (Barcelona), **7**: 787-797.
- MESSEGUER, R., 1987. *Genètica de la variació isoenzimàtica al clavell (Dianthus caryophyllus L.): Aplicació a la identificació de varietats comercials*. Tesi doctoral [inèdita]. Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona.
- MITCHELL, A.; HOGAN, K.; CHAPMAN, H., 1999. Genetic variation in *Aciphylla glaucescens* (Apiaceae). *New Zealand Journal of Ecology*, **23** (1): 61-67.
- MOLERO, J.; PUJADAS, J., 1979. Aportaciones a la flora catalana. *Lagasalia*, **9** (1): 29-38.
- MONTSERRAT, P., 1976a. Notes taxonomiques et chorologiques sur des plantes critiques du Nord de l'Espagne. *Société pour l'Echange des Plantes Vasculaires de l'Europe Occidentale et du Bassin Méditerranéen*, **15**: 71-92.
- MONTSERRAT, P., 1976b. Commentaires sur quelques plantes critiques pyrénéennes. *Société pour l'Echange des Plantes Vasculaires de l'Europe Occidentale et du Bassin Méditerranéen*, **16**: 71-78.
- MONTSERRAT, P., 1979. Biogéographie de la graine des *Petrocoptis*. *Webbia*, **34**: 523-527.

- MONTSERRAT, P.; FERNÁNDEZ-CASAS, J., 1990. Petrocoptis. A: CASTROVIEJO, S.; LAÍNIZ, M.; LÓPEZ-GONZÁLEZ, G.; MONTSERRAT, P.; MUÑOZ-GARMENDIA, F.; PAIVA, J.; VILLAR, L. [eds.]: *Flora Ibérica*, **2**: 304-312. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid.
- MONTSERRAT-MARTÍ, J.M., 1986. *Flora y Vegetación de la Sierra de Guara (Prepirineo Aragonés)*. Diputación General de Aragón, Zaragoza.
- MUCKENSTURM, B.; DIYANI, F.; REDURON, J-P., HILDENBRAND, M., 1997. 7-Demethylplastocholesterol-2 and 2-Demethylplastoquinone-3 from *Seseli farrenyii*. *Phytochemistry*, **45** (3): 549-550.
- MUKHERJEE, P.K.; SAHA, K.; BHATTACHARYA, S.; GIRI, S.N.; PAL, M.; SAHA, B.P., 1997. Studies on antitussive activity of *Drymaria cordata* Willd. (Caryophyllaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, **56** (1): 77-80.
- MURÍN, A.; SVOBODOVÁ, Z., 1992. Karyological study of the Slovak flora XXVI. *Acta Facultatis Rerum Naturalium Universitatis Comenianae, Botanica*, **39**: 59-65.
- MUS, M., 1995. Conservation of flora in the Balearic Islands. *Ecologia Mediterranea*, **21**: 185-194.
- MYERS, N., 1988. Threatened biotas: "hotspots" in tropical forests. *Environmentalist*, **8**: 187-208.
- MYERS, N., 1990. The biodiversity challenge: expanded hotspots analysis. *Environmentalist*, **10**: 243-256.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; DA FONSECA, G.A.B.; KENT, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, **403**: 853-858.
- NEI, M., 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, **106**: 283-292.
- NEI, M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **70**: 3321-3323.
- NEI, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**: 583-590.
- NEI, M., 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, Nova York.

-
- NICKRENT, D.L.; WIENS, D., 1989. Genetic diversity in the rare California shrub *Dedeckera eurekaensis* (Polygonaceae). *Systematic Botany*, **14**: 245-253.
- NIUBÓ-ESLAVA, I., 1999. *Biologia de la conservació*. Treball Pràctic de Botànica I [inèdit]. Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona.
- NUET, J., 1985. Dues plantes dels Pre-pirineus. *Collectanea Botanica* (Barcelona), **16**: 236-237.
- NUZZO, V.A., 1995. Effects of rock climbing on cliff goldenrod (*Solidago sciaphila* Steele) in Northwest Illinois. *American Midland Naturalist*, **133**: 229-241.
- NUZZO, V.A., 1996. Structure of cliff vegetation on exposed cliffs and the effect of rock climbing. *Canadian Journal of Botany*, **74**: 607-617.
- PALACIOS, C.; GONZÁLEZ-CANDELAS, F., 1997a. Lack of genetic variability in the rare and endangered *Limonium cavanillesii* (Plumbaginaceae) using RAPD markers. *Molecular Ecology*, **6**: 671-675.
- PALACIOS, C.; GONZÁLEZ-CANDELAS, F., 1997b. Analysis of population genetic structure and variability using RAPD markers in the endemic and endangered *Limonium dufourii* (Plumbaginaceae). *Molecular Ecology*, **6**: 1107-1121.
- PARDO, C., 1981. Estudio sistemático del género *Seseli* L. (Umbelliferae) en la Península Ibérica. *Lazaroa*, **3**: 163-188.
- PATTERMANN, C., 1998. Global change and climate: Key action for Fifth EU RTD Framework Programme. *GCTE-LUCC Conference on Global Change Abstracts*: 482. Barcelona.
- PEDROLA, J., 1993. *Biologia poblacional del complex Androcymbium gramineum* (Cav.) *McBride* (Colchicaceae). Tesi doctoral [inèdita]. Facultat de Biologia, Universitat de València.
- PÉREZ-GARCÍA, F.; IRIONDO, J.M.; GONZÁLEZ-BENITO, M.E.; CARNES, L.F.; TAPIA, J.; PRIETO, C.; PLAZA, R.; PÉREZ, C., 1995. Germination studies in endemic plant species of the Iberian Peninsula. *Israel Journal of Plant Sciences*, **43**: 239-247.
- PIMENOV, M.G.; ALEXEEVA, T.V.; ARTEM'EVA, G.M.; KLJUYKOV, E.V., 1998. IOPB Chromosome Data 13. *International Organization of Plant Biosystematists Newsletter*, **29**: 17-24.

- PIMENOV, M.G.; ALEXEEVA, T.V.; KLJUYKOV, E.V.; BOKOVA, O.M.; XIN, L.Q., 1999. IOPB Chromosome Data 15. *International Organization of Plant Biosystematists Newsletter*, **31**: 10-16.
- PONT-GUERRA, M., 1999. *Biologia de la conservació*. Treball Pràctic de Botànica I [inèdit]. Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona.
- PRENDERGAST, J.R.; QUINN, R.M.; LAWTON, J.H., 1999. The gaps between theory and practice in selecting nature reserves. *Conservation Biology*, **13**: 484-492.
- PRENTICE, H.C., 1992. The structure of morphometric and allozyme variation in relict populations of *Gypsophila fastigiata* (Caryophyllaceae) in Sweden. *Biological Journal of the Linnean Society*, **47**: 197-216.
- PRENTICE, H.C.; GILES, B.E., 1993. Genetic determination of isozyme variation in the bladder campions, *Silene uniflora* and *S. vulgaris*. *Hereditas*, **118**: 217-227.
- PRESSEY, R.L.; HUMPHRIES, C.J.; MARGULES, C.R.; VANE-WRIGHT, R.I.; WILLIAMS, P.H., 1993. Beyond opportunism: key principles for systematic reserve selection. *Trends in Ecology and Evolution*, **8**: 124-128.
- PURDY, B.G.; BAYER, R.J.; McDONALD, S.E., 1994. Genetic variation, breeding system evolution, and conservation of the narrow sand dune endemic *Stellaria arenicola* and the widespread *S. longipes* (Caryophyllaceae). *American Journal of Botany*, **81** (7): 904-911.
- QUÉZEL, P., 1985. Definition of the Mediterranean Region and the origin of its flora. A: GÓMEZ-CAMPO, C. [ed.]: *Plant Conservation in the Mediterranean area*, p. 9-24. Dr. Junk Publishers, Dordrecht (Països Baixos).
- QUÉZEL, P.; CONTANDRIOPOULOS, J., 1965. Contribution à l'étude de la flore du Pinde central et septentrional et de l'Olympe de Thessalie. *Candollea*, **20**: 51-90.
- RANKER, T.A.; FLOYD, S.K.; WINDHAM, M.D.; TRAPP, P.G., 1994. Historical biogeography of *Asplenium adiantum-nigrum* (Aspleniaceae) in North America and implications for speciation theory in homosporous pteridophytes. *American Journal of Botany*, **81**: 776-781.
- REICHENBACH, H.G.L., 1837. *Handbuch der natürlichen Pflanzensystems*. Dresden i Leipzig (Alemanya).

- RETINA, T.A., 1985. On karyotypes of some species of the genus *Seseli* L. (Umbelliferae). *Biological Sciences*, **3** (255): 72-75.
- RILEY, R.H.; VITOUSEK, P.M., 1995. Nutrient dynamics and nitrogen trace gas flux during development in montane rainforest. *Ecology*, **76** (1): 292-304.
- RODRÍGUEZ-RIANO, T.; ORTEGA-OLIVENCIA, A.; DEVESA, J.A., 1999. Reproductive biology in two Genisteae (Papilionideae) endemic of the western Mediterranean region: *Cytisus striatus* and *Retama sphaerocarpa*. *Canadian Journal of Botany*, **77** (6): 809-820.
- ROGERS, J.S., 1972. Measures of genetic similarity and genetic distance. *Studies in Genetics, University of Texas Publication*, **7213**: 145-153.
- ROMO, A., 1989. *Flora i vegetació del Montsec (Pre-Pirineus catalans)*. Institut d'Estudis Catalans, Barcelona.
- ROTHMALER, W., 1963. Floram Germaniae Animadversiones I. *Feddes Repertorium*, **67**: 1-11.
- ROVIRA, M., 1993. *Genètica de la variabilitat isoenzimàtica en l'avellaner: identificació varietal*. Tesi doctoral [inèdita]. Universitat de Lleida.
- RUNYEON, H.; PRENTICE, H.C., 1996. Genetic structure in the species-pair *Silene vulgaris* and *S. uniflora* (Caryophyllaceae) on the Baltic island of Öland. *Ecography*, **19**: 181-193.
- RUNYEON, H.; PRENTICE, H.C., 1997a. Genetic differentiation in the bladder champions, *Silene vulgaris* and *S. uniflora* (Caryophyllaceae), in Sweden. *Biological Journal of the Linnean Society*, **61**: 559-584.
- RUNYEON, H.; PRENTICE, H.C., 1997b. Patterns of seed polymorphism and allozyme variation in the bladder champions, *Silene vulgaris* and *Silene uniflora* (Caryophyllaceae). *Canadian Journal of Botany*, **75**: 1868-1886.
- SÁEZ, LL.; ROSSELLÓ, J.A.; VIGO, J., 1998. Catàleg de plantes vasculars endèmiques, rares o amenaçades de Catalunya. I: Tàxons endèmics. *Acta Botanica Barcinonensia*, **45**: 309-321.
- SAINZ, H.; FRANCO, F.; ARIAS, J., 1996. *Estrategias para la Conservación de la Flora Amenazada de Aragón*. Diputación General de Aragón, Zaragoza.
- SCANDALIOS, J., 1969. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review. *Biochemical Genetics*, **3**: 37-79.

- SCHEMSKE, D.W.; HUSBAND, B.C.; RUCKELHAUS, M.H.; GOODWILLIE, C.; PARKER, I.M.; BISHOP, J.G., 1994. Evaluating approaches to the conservation of rare and endangered plants. *Ecology*, **75**: 584-606.
- SCHULZ-GAEBEL, H., 1930. Entwicklungsgeschichtlich-zytologische Studien an der Umbelliferen-Unterfamilie der Apioideen. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, **18** (3): 345-398.
- SHARMA, A.K., BHATTACHARYYA, N.K., 1959. Further investigations on several genera of *Umbelliferae* and their interrelationships. *Genetica*, **30** (1-2): 1-68.
- SHARMA, A.K., BHATTACHARYYA, N.K., 1960. An investigation on the scope of a number of pretreatment chemicals for chromosome studies in different groups of plants. *Japanese Journal of Botany*, **17** (2): 152-162.
- SHAVARDA, A.L.; CHEMESOVA, I.I., BELENOVSKAYA, L.M.; FOKINA, G.A.; BUKREEVA, T.V.; MEDVEDEVA, N.A.; DANCHUL, T.Y.; SHAGOVA, L.I.; ALEKSANDROVA, E.K.; VASIL'EV, V.B., 1998. Antioxidant activity of Altai's flora species. *Rastitel'nye Resursy*, **34** (2): 1-8.
- SHIELDS, C.R.; ORTON, T.J.; STUBER, C.W., 1983. An outline of general resources needs and procedures for the electrophoretic separation of active isozymes from plant tissue. A: TANKSLEY, S.D. ; ORTON, T.J. [eds.]: *Isozymes in Plant Genetic and Breeding*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam (Països Baixos).
- SILVESTRE, S., 1993. Números cromosómicos para la flora española. Números 643-663. *Lagasalia*, **17** (1): 151-160.
- SIMBERLOFF, D., 1988. The contribution of population and community biology to conservation science. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **19**: 473-511.
- SIMON, J.; BOSCH, M.; ROVIRA, A.; MOLERO, J.; BLANCHÉ, C., 1999. Fragmentation of populations of three endemic species: genetic consequences. *V Conference on Plant Taxonomy*. Lisboa (Portugal).
- SIMON, J.; BOSCH, M.; MOLERO, J.; BLANCHÉ, C., en premsa. Conservation Biology of the Pyrenean larkspur (*Delphinium montanum*): a case of conflict of plant vs. animal conservation? *Biological Conservation*.
- SMITH, J.F; PHAM, T.V., 1996. Genetic diversity of the narrow endemic *Allium aaseae* (Alliaceae). *American Journal of Botany*, **83**: 717-726.

- SMITHIES, O., 1955. Zone electrophoresis in starch gels: group variation in the serum proteins of normal human adults. *Biochemical Journal*, **61**: 629-645.
- SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S. [eds.], 1989. *Isozymes in Plant Biology*. Dioscorides Press, Portland (EUA).
- SOLTIS, P.S.; SOLTIS, D.E.; NORVELL, T.L., 1997. Genetic diversity in rare and widespread species of *Lomatium* (Apiaceae). *Madroño*, **44** (1): 59-73.
- ST. PIERRE, M.D.; BAYER, R.J.; WEIS, I.M., 1990. An isozyme-based assessment of the genetic variability within the *Daucus carota* complex (Apiaceae: Caucalideae). *Canadian Journal of Botany*, **68**: 2449-2457.
- STEBBINS, G.L., 1980. Rarity of plant species: A synthetic viewpoint. *Rhodora*, **82**: 77-86.
- STEBBINS, G.L., 1989. Introduction. A: SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S. [eds.]: *Isozymes in Plant Biology*, p. 1-4. Dioscorides Press, Portland (EUA).
- SWOFFORD, D.L.; SELANDER, R.B., 1989. *BIOSYS-1: realase 1.7. A computer program for the analysis of allelic variation in genetics. User's Manual*. Urbana-Champaign: Univerity of Illinois. Department of Genetics and Development.
- TALAVERA, S.; ARISTA, M.; SALGUEIRO, F.J., 1996. Population size, pollination and breeding system of *Silene stockenii* Chater (*Caryophyllaceae*), an annual gynodioecious species of Southern Spain. *Botanica Acta*, **109**: 333-339.
- TANKSLEY, S.D., 1984. Linkage relationships and chromosomal locations of enzyme-coding genes in pepper, *Capsicum annuum*. *Chromosoma*, **89**: 352-360.
- TEMPLETON, A.R., 1997. Coadaptation, local adaptation, and outbreeding depression. A: MEFFE, G.M.; CARROLL, C.R. [eds.]: *Principles of conservation biology*, p. 171. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusstets (EUA).
- TORRELL, M.; BOSCH, M.; MARTÍN, J.; VALLÈS, J., 1999. Cytogenetic and isozymic characterization of the narrow endemic species *Artemisia molinieri* (Asteraceae, Anthemideae): implications for its systematics and conservation. *Canadian Journal of Botany*, **77**: 51-60.
- TORRES, M.E., 1999. *Estudios de la autoecología, biología reproductiva y estructura genética de Antirrhinum microphyllum Rothm. (Scrophulariaceae). Evaluación de su estado de conservación*. Tesis doctoral [inèdita]. Escuela

Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid.

- TURKINGTON, R.; HARPER, J.L., 1979. The growth, distribution , and neighbor relationships of *Trifolium repens* in a permanent pasture . IV. Fine-scale biotic differentiation. *Journal of Ecology*, **67**: 245-254.
- UICN, 1994. Categorías de las Listas Rojas de la UICN. Preparadas por la Comisión de Supervivencia de Especies de la UICN. Gland (Suïssa).
- USDA, 1975. Soil Taxonomy. A basic system of soil classification for making and interpretation of soil surveys. *Handbook 436*.
- VÁCHOVÁ, M., 1987. Karyological study of the Slovak flora XXI. *Acta Facultatis Rerum Naturalium Universitatis Comeniana, Botanica*, **34**: 27-32.
- VALDÉS, B.; DÍAZ-LIFANTE, Z., 1996. Habitual autogamy in *Linaria tursica* Valdés & Cabezudo (*Scrophulariaceae*). *Flora* (Jena), **191** (4): 329-333.
- VALLEJOS, E., 1983. Enzyme activity staining. A: TANKSLEY, S.D. ; ORTON, T.J. [eds.]: *Isozymes in Plant Genetic and Breeding*, p. 469-516. Elsevier Science Publishers, Amsterdam (Països Baixos).
- VAN ROSSUM, F.; VEKEMANS, X.; MEERTS, P.; GRATIA, E.; LEFÈBVRE, C., 1997. Allozyme variation in relation to ecotypic differentiation and population size in marginal populations of *Silene nutans*. *Heredity*, **78**: 552-560.
- VASIL´EVA, M.G.; ALEXEEVA, T.V.; PIMENOV, M.G.; KLJUYKOV, E.V., 1991. IOPB Chromosome data 3. *International Organization of Plant Biosystematists Newsletter*, **17**: 10-13.
- VASIL´EVA, M.G.; DAUSHKEVICH, J.V.; PIMENOV, M.G., 1992. Interspecific variation of the chromosome numbers in the Umbelliferae. *Tezisy III Soveshchanie po Kariologii Rastenii*, 13.
- VASIL´EVA, M.G.; DAUSHKEVICH, J.V.; ALEXEEVA, T.V.; PIMENOV, M.G., 1993. IOPB Chromosome Data 5. *International Organization for Plant Biosystematists Newsletter*, **20**: 7-9.
- VERLAQUE, R.; CONTANDRIOPOULOS, J.; ABOUCAYA, A., 1992. IOPB Chromosome Data 4. *International Organization of Plant Biosystematists Newsletter*, **18/19**: 9-10.

- VILLAR, L., 1982. Dos licopodios nuevos para Andorra. *Collectanea Botanica* (Barcelona), **13** (1): 119-127.
- VITEK, E.; KIEHN, M.; PASCHER, K.; STARLINGER, F.; GREIMLER, J.; STOCKER, U.; LEHNER, S.; BEINHOFER, P.; BLAHA, A., 1992. Beiträge zur Flora von Österreich-weitere Chromosomen zählungen. *Verhandlungen der Zoologisch-botanischen Gesellschaft in Wien*, **129**: 215-226.
- VITOUSEK, P.M., 1994. Beyond global warming: ecology and global change. *Ecology* (Tempe), **75** (7): 1861-1876.
- WANSCHER, J.H., 1932. studies on the chromosome numbers of the *Umbelliferae*. II. *Botanisk Tidsskrift*, **42** (1): 49-59.
- WEEDEN, N.F., 1984. Distinguishing among white seeded bean cultivars by means of allozyme genotypes. *Euphytica*, **33**: 199-208.
- WEEDEN, N.F.; WENDEL, F., 1989. Genetics of plant isozymes. A: SOLTIS, D.E; SOLTIS, P.S. [eds.]: *Isozymes in Plant Biology*, p. 46-72. Dioscorides Press, Portland (EUA).
- WELLER, S.G; SAKAI, A.K.; STRAUB, C., 1996. Allozyme diversity and genetic identity in *Schiedea* and *Alsinidendron* (Caryophyllaceae: Alsinoideae) in the Hawaiian islands. *Evolution*, **50** (1): 23-34.
- WENDEL, F.; WEEDEN, N.F., 1989. Visualization and interpretation of plant isozymes. A: SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S. [eds.]: *Isozymes in Plant Biology*, p. 5-45. Dioscorides Press, Portland (EUA).
- WESTPHAL, M.; ORSINI, M.; VELLUTINI, P., 1976. Le microcontinent corso-sarde, sa position initiale: données paléomagnétiques et raccords géologiques. *Tectonophysics*, **30**: 141-157.
- WETSCHNIG, W.; LEUTE, G.H., 1991. Chromosomenzahlen kärntner gefässflanzen (Teil 2, Doldenblütler-Apiaceae=*Umbelliferae*). *Linzer Biologische Beiträge*, **23**: 457-481.
- WILLIAMS, C.F., 1994. Genetic consequences of seed dispersal in three sympatric forest herbs: II. Microspatial genetic structure within populations. *Evolution*, **48** (6): 1959-1972.
- WILLIAMSON, P.S; WERTH, C.R., 1999. Levels and patterns of genetic variation in the endangered species *Abronia macrocarpa* (Nyctaginaceae). *American Journal of Botany*, **86** (2): 293-301.

- WRIGHT, S., 1931. Evolution in Mendelian populations. *Genetics*, **16**: 97-159.
- WRIGHT, S., 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.*, **15**: 323-354.
- WRIGHT, S., 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, **19**: 395-420.
- XIAO, Y.; YANG, L.; CUI, S.; LIU, X.; LIU, D.; BABA, K.; TANIGUCHI, M., 1995. Chemical components of *Seseli yunnanense* Franch. *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, **20** (5): 294-295, 319.
- YANEZ, J., 1989. Análisis de suelos y su interpretación. *Horticultura*, **49**: 75-89.

TÈCNiques ANALÍTIQUES EMPRADES PER A L'ANÀLISI EDÀFICA

Determinació del pH:

El pH es determina per potenciometria, en l'extracte 1:5. L'extracte es prepara a partir de 10 g de mostra, per addició de 50 ml d'aigua destil·lada. A continuació s'agita durant 1 hora, es deixa reposar durant 30 minuts i es filtra, determinant el pH a l'extracte obtingut.

Conductivitat elèctrica (CE):

Es determina per potenciometria, amb un extracte 1:5. Aquest es prepara a partir de 10 grams de mostra dessecada a l'aire, que s'aboca a un *erlenmeyer* de 100 ml. A continuació s'afegeixen 50 ml d'aigua destil·lada i s'agita enèrgicament cada 10 minuts, durant 1 hora. Després es deixa reposar 10 minuts per tal que la mostra sedimenti, i es filtra sense pertorbar la suspensió. Finalment, es mesura la conductivitat de l'extracte despreciant els primers mil·lilitres del filtrat quan apareixen tèrbols. Els valors de conductivitat s'expressen en dS/m reduïts a una temperatura de 25°C.

Matèria orgànica total (%):

Es determina per calcinació, mitjançant el següent procediment: es pesa 1,5 g de mostra pulveritzada i es col·loca en un gresol de porcellana prèviament tarat. Calcinem a 400 °C fins que es desprenen fums. A continuació pugem la temperatura fins a 560 °C i es manté durant un mínim de 3 hores. Un cop refredada i per diferència de pesada, obtenim el percentatge de matèria orgànica total.

Carboni orgànic oxidable (%):

Es determina mitjançant el mètode de Walkley i Black, que consisteix en l'oxidació del carboni orgànic de la mostra amb dicromat en presència d'àcid sulfúric. L'excés d'oxidant es valora amb sulfat ferrós amònic 0,5 N (sal de *Mohr*) i la quantitat de carboni orgànic oxidat es calcula a partir de la quantitat de dicromat reduït. El procediment és el següent: es pesa 1 g de mostra pulveritzada i es sotmet a una oxidació mitjançant 10 ml de $K_2Cr_2O_7$ 1 N i 20 ml de H_2SO_4 concentrat, deixant en contacte uns 30 minuts. Després de refredar, es valora l'excés d'oxidant amb sulfat ferrós amònic 0,5 N, en presència de H_3PO_4 concentrat i difenilamina com a indicador. El resultat s'expressa en percentatge de carboni orgànic oxidable respecte a mostra seca a 105 °C.

Cations majoritaris:

Nitrogen total (N-NTK): Es determina amb una variació de la tècnica original de Kjeldahl, que consisteix en digerir la mostra amb àcid sulfúric i un catalitzador per tal de facilitar la transformació del nitrogen a ió amoni. Aquest últim es destil·la en medi alcalí i posteriorment es valora. Amb aquest mètode es determinen el nitrogen orgànic i el de la fracció mineral del sòl que està en forma d'ió amoni, però no el que es trobi com a nitrat o nitrit. El procediment s'inicia amb la pesada de 2 g de mostra que es sotmet a mineralització en una bateria d'atac *Kjeldahl*, s'afegeixen 2 g de catalitzador (K_2SO_4 , Cu_2SO_4 i Se) i 10 ml de H_2SO_4 . Un cop digerida i refredada la mostra, adicionem 50 ml d'aigua i es procedeix a la destil·lació en presència de NaOH i calor, recollint sobre H_3BO_4 0,25 N. La valoració del NH_4^+ es realitza amb HCl 0,02 N, en presència d'indicador, i finalment els resultats s'expressen en mg N-NTK/kg sòl referit a mostra seca a 105 °C.

Potassi: La concentració de potassi es determina per fotometria de flama, que s'efectua en un extracte preparat prèviament. L'extracció es realitza amb acetat amònic 1 N a pH=7 (relació 1:20). Es pesen 7,5 g de mostra i s'aboquen a un *erlenmeyer* de 250 ml. Posteriorment s'addicionen 150 ml d'acetat amònic, s'agita enèrgicament 3 cops durant mig minut a intervals de 5 minuts, i es filtra. Per a la determinació quantitativa s'ajusta l'escala del fotòmetre amb les corresponents solucions patró, procurant que les solucions problema quedin compreses entre els valors de la sèrie de patrons.

Fòsfor: La concentració de fòsfor la determinem mitjançant el mètode de Bray-Kurtz. Aquest mètode es fonamenta en l'extracció de fòsfor de la mostra amb NH_4Cl i és aplicable a mostres amb menys del 5 % de CaCO_3 . Pesem 1 g de mostra, afegim 100 ml de solució extractiva ($\text{FNH}_4 + \text{HCl} + \text{H}_2\text{O}$), agitem durant 20 minuts i a continuació es filtra. A una alíquota de l'extracte s'afegeixen 10 gotes de solució de molibdat amònic ($\text{Mo}_7\text{O}_{24}(\text{NH}_4)_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O} + \text{HCl}$), s'agita bé i immediatament afegim 10 gotes de la solució d'àcid 1,2,4-aminonaftolsulfònic (àcid 1,2,4-aminonaftolsulfònic + sulfat sòdic anhidre + $\text{S}_2\text{O}_5\text{Na}_2 + \text{H}_2\text{O}$). Després d'agitar, s'efectua la lectura al cap de 30 minuts en un espectrofotòmetre a la longitud d'ona de 660 nm.

Carbonats totals (% CCE: Carbonat càlcic equivalent):

Es determinen mitjançant el mètode del calcímetre de pressió o de Bernard, que consisteix en la determinació per volumetria de la quantitat de CO_2 que es desprèn a l'atacar 0,5 g de la mostra amb HCl 1:1, portant a terme també una prova en blanc amb 0,2 g de CaCO_3 anhidre. La quantitat de carbonats s'expressa en percentatge de CaCO_3 equivalent (CCE), sobre mostra seca a 105 °C. El contingut en carbonats d'un sòl s'expressa com si aquests fossin exclusivament CaCO_3 i per això es parla de CCE. Les raons d'aquest conveni radiquen en el fet que el CaCO_3 és el carbonat més típic i abundant en els sòls.

Anàlisi granulomètrica i classificació textural:

L'anàlisi granulomètrica indica la quantitat existent en pes de les diferents fraccions presents a la mostra en funció de la mida de partícula, expressada en percentatge respecte al pes de mostra sec a 105 °C.

La classificació textural de les mostres es determina al laboratori efectuant una classificació granulomètrica dels seus materials sòlids, mitjançant tamissos de diferents malles disposats successivament en un cilindre vertical, de forma que cadascun retengui les partícules de diàmetre superior al de la malla, i deixi passar la resta de la mostra. Els llims i les argiles es separen segons el mètode de Bouyoucos. Aquest mètode consisteix en pesar 50 g de mostra de sòl sec i tamitzat per als de textura mitjana i pesada, i 100 g per als arenosos. Després, introduïm la mostra en una ampolla d'1 litre, s'afegeixen 200 ml d'aigua destil·lada i 20 ml de solució de Calgon® (50 g de Calgon l^{-1}) i es deixa durant 20 minuts en un agitador mecànic. La solució de Calgon® és un preparat comercial de metafosfat sòdic (PO_3Na) que conté la quantitat adient de CO_3Na per a donar un pH de 8,3 en solució aquosa al 10 %. Es travassa a una proveta de litre i s'enrasa amb aigua destil·lada. Finalment, ho deixem sedimentar seleccionant els temps, per a efectuar la lectura mitjançant un hidròmetre. A la primera lectura es determina el percentatge de llim + argila, i a la segona lectura es determina el percentatge d'argila.

