



Universidad  
Complutense  
Madrid



Universidad  
Rey Juan Carlos



POLITÉCNICA

# Declive y restauración de la masiega (*Cladium mariscus*) en el humedal de Las Tablas de Daimiel

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Restauración de Ecosistemas (Universidad de Alcalá de Henares, Universidad Complutense de Madrid, Universidad Rey Juan Carlos, Universidad Politécnica de Madrid)

Presentado por:

D<sup>a</sup> Miriam Miguel Ruano

Director:

Dr. D. Salvador Sánchez Carrillo

Tutor académico:

Dr. D. Salvador Rebollo de la Torre

En Madrid, a 29 de octubre de 2019

# ÍNDICE

<b>Resumen</b> .....	1
<b>Abstract</b> .....	2
<b>1. Introducción:</b> .....	3
• Limitaciones y políticas de restauración .....	8
<b>2. Objetivos e hipótesis:</b> .....	8
• Objetivo general .....	8
• Objetivos específicos .....	9
• Hipótesis .....	9
<b>3. Materiales y métodos:</b> .....	10
• Descripción de <i>Cladium mariscus</i> (L.) Pohl .....	10
• Descripción del área de estudio .....	12
○ Las Tablas de Daimiel .....	12
○ Lagunas de Ruidera y Laguna del Masegar .....	14
• Caracterización química de las poblaciones de masiega .....	15
• Colecta de material vegetal para trasplante en el laboratorio .....	15
• Supervivencia y crecimiento de los ejemplares .....	18
• Viabilidad germinativa de las semillas .....	18
• Capacidad de germinación de las semillas .....	18
• Evaluación de anomalías genéticas .....	19
• Cálculos y estadística .....	20
<b>4. Resultados:</b> .....	21
• Caracterización de las poblaciones naturales: .....	21
○ Contenidos de C y N .....	21
○ Clorofilas ( $a+b$ ) .....	21
○ Peso de las semillas .....	22
• Supervivencia y crecimiento de <i>Cladium mariscus</i> .....	22
○ En condiciones de laboratorio .....	22
▪ Supervivencia .....	22

▪ Crecimiento .....	22
○ En condiciones de campo: .....	23
▪ Supervivencia .....	23
▪ Crecimiento .....	25
▪ Cambios en el contenido de C, N y clorofilas ( $a+b$ ) .....	25
• Germinación de las semillas de las poblaciones. ....	26
<b>5. Discusión:</b> .....	28
• Causas posibles del declive poblacional de masiega en Las Tablas de Daimiel .....	28
• Restauración de las poblaciones de masiega en Las Tablas de Daimiel .....	30
• Control y seguimiento de la restauración de la masiega en Las Tablas de Daimiel .....	32
<b>6. Conclusiones</b> .....	34
<b>7. Agradecimientos</b> .....	34
<b>8. Bibliografía</b> .....	35

## **RESUMEN:**

Los humedales son sistemas diversos y complejos que proporcionan una gran variedad de servicios ecosistémicos. A pesar de su importancia, en el último siglo han desaparecido el 64% de los humedales del planeta y los restantes están expuestos a numerosas amenazas, requiriendo la intervención humana para fomentar su conservación y restauración.

Una de las principales consecuencias de la desaparición los humedales es la consiguiente pérdida de biodiversidad. En este trabajo se han estudiado las causas del declive del macrófito emergente *Cladium mariscus* (masiega) en Las Tablas de Daimiel (Ciudad Real, España) y las estrategias de restauración más efectivas. Desde hace 60 años la cobertura de la masiega en Las Tablas está en retroceso. Actualmente, no responde a los ciclos húmedos y su extensión se reduce a solo 12 ha, sin tener claras las razones. Para ello, se ha realizado un estudio comparativo usando poblaciones de masiega de otros humedales de La Mancha húmeda en el que se han medido las diferencias en la composición química, la supervivencia y crecimiento de brotes y la viabilidad y capacidad de germinación de las semillas. Las causas del declive responden al envejecimiento poblacional por el uso exclusivo de la reproducción clonal durante un periodo prolongado adverso en el que no fue posible la dispersión por hidrocoria, a la baja densidad del banco de semillas por su lavado del suelo del humedal durante el periodo húmedo y al aislamiento genético de la población de Las Tablas por la falta conexión hidrológica con otros humedales de la cuenca.

Las medidas de restauración de la masiega deben ser inmediatas, para restablecer rodales en zonas estratégicas del humedal con ejemplares procedentes de vivero ya desarrollados, y a medio y largo plazo para fomentar la expansión de la masiega a otras zonas del ecosistema.

***Palabras clave:*** degradación, hidrocoria, macrófitos emergentes, recuperación, semillas, supervivencia.

## **ABSTRACT:**

Wetlands are diverse and complex ecosystems that provide a wide variety of ecosystem services. Despite its importance, in the last century 64% of the planet's wetlands have disappeared and remained are exposed to numerous threats, requiring human intervention to promote their conservation and restoration.

One of the main consequences of the disappearance of wetlands is the loss of biodiversity. In this work, the causes of the decline of the emergent macrophyte *Cladium mariscus* (cut-sedge) in Las Tablas de Daimiel National Park (Ciudad Real, Spain) and the most effective restoration strategies have been studied. For 60 years the coverage of the cut-sedge in Las Tablas has decreased. Currently, it no longer responds to wetland humid cycles and its coverage has been reduced to only 12 ha. A comparative study has been carried out using different cut-sedge populations from other close wetlands in La Mancha Húmeda district in which the differences in the chemical composition, the survival and growth of shoots and the viability and capacity of seed germination have been measured. The causes of the decline respond to population aging due to the exclusive use of clonal reproduction during the prolonged adverse period in which hydrochory was not possible, at the low density of the seed bank due to its washing from the wetland soil during the high flow period and the genetic isolation of the population of Las Tablas due to the lack of hydrological connection with other wetlands in the catchment.

The restoration measures of the cut-sedge must be immediate, to restore the stands in strategic areas of the wetland using well developed sprouts coming from nursery and, medium and long term, to encourage the expansion of the cut-sedge to other areas of the ecosystem.

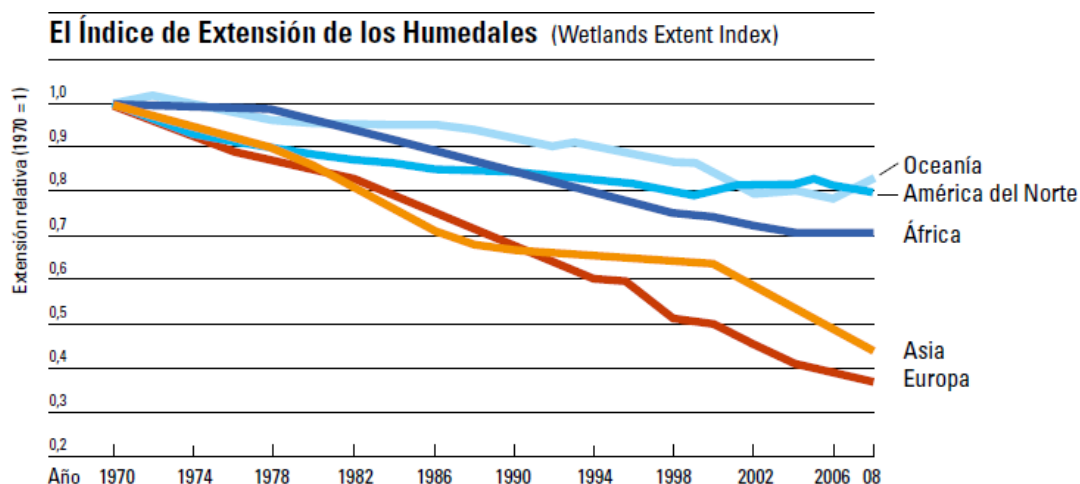
**Keywords:** degradation, emergent macrophytes, hydrochory, recovery, seeds, survival.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los humedales son ecosistemas complejos y muy diversos que actúan como interfase entre los hábitats terrestres y acuáticos (Mitsch & Gosselink, 2000). Estos, ocupan tan solo el 5% de la superficie continental global, pero figuran entre los ecosistemas más productivos de la Tierra (Barbier et al., 1997), proporcionando el 40% de los servicios ecosistémicos renovables anuales del planeta (Moreno-Mateos et al., 2015). Los principales servicios ambientales que proporcionan los humedales son (Millennium Ecosystem Assessment, 2005):

- Provisión: de alimento, agua, fibra, combustible, productos bioquímicos y material genético.
- Regulación: del clima, del ciclo hidrológico, de la contaminación, de la erosión, de los efectos derivados de los eventos extremos (inundaciones y sequías).
- Cultural: espiritual, recreo, estético y educativo.
- Soporte: biodiversidad, polinización, formación de suelo, captura de carbono y ciclos de nutrientes.

Sin embargo, a pesar de su importancia, los humedales se encuentran entre los ecosistemas más amenazados. Según las estimaciones de Ramsar (2015), desde 1900 han desaparecido el 64 % de los humedales del planeta (Figura 1). En España, la situación no es diferente y se estima que desde 1948 a 1990 se perdieron el 60% de los humedales (Cirujano et al., 2009), y la actividad directa e indirecta del ser humano ha transformado considerablemente a los que restan (Barbier et al., 1997).



**Figura 1.** Cambios en la extensión relativa de los humedales en algunos continentes desde 1970 a 2008. (Tomado de Ramsar, 2015).

A nivel global, la desaparición de los humedales se asocia al desarrollo inmobiliario, turístico e industrial, a la creación de infraestructuras, a los cambios en los usos del suelo (principalmente la conversión directa a agricultura y acuicultura), a los cambios hidrológicos derivados de la sobreexplotación de los recursos hídricos, a la contaminación del agua y del aire, entre otros (Ramsar, 2015). En España la gestión de los humedales se reducen a seis problemas principales: la desecación, la eutrofización y contaminación, la acumulación de materia orgánica, la colmatación, la salinización y la invasión de especies exóticas, actuando estos factores estresantes, en muchos casos, de manera sinérgica (Cirujano et al., 2009).

La gestión y restauración de humedales en España comienza en la década de 1980, aunque las primeras medidas de protección ambiental se remontan a 1969 (Doñana) y 1973 (Las Tablas de Daimiel), cuando estos sitios fueron declarados Parques Nacionales (Cirujano et al., 1996). Sin embargo, las estrategias de manejo ambiental integral de los humedales son recientes, con un predominio de la gestión local del hábitat para conservar las especies de anátidas (Cirujano et al., 2009). Se prima el uso del hábitat por las aves acuáticas raras y amenazadas con el aumento artificial del área inundada y la consiguiente alteración de la vegetación, en lugar de tratar de restaurar la integridad general del humedal. Los proyectos se consideraron exitosos cuando los censos detectaron un aumento de las poblaciones de aves objetivo y la aparición de especies protegidas. Sin embargo, otras características importantes de los humedales, como la calidad del agua y la dinámica de la vegetación, fueron ampliamente ignoradas y el deterioro de los ecosistemas no pudo ser revertido (Cirujano et al., 2009). La eutrofización provocó una disminución de la biodiversidad y un empobrecimiento de la calidad del hábitat que finalmente redundó en la disminución de la población de aves acuáticas, modificando la integridad ecológica de los humedales a largo plazo (Sánchez-Carrillo et al., 2016).

En España casi el 90% de la superficie cubierta por humedales ha desaparecido durante el último siglo, quedando únicamente 32 km<sup>2</sup> en la actualidad. El Parque Nacional de Las Tablas de Daimiel, uno de los supervivientes y más representativos del territorio nacional, es un el humedal de llanura de inundación único en la Europa mediterránea semiárida (Sánchez-Carrillo et al, 2010). A pesar de su actual riqueza ecológica, desde la década de 1950 se ha visto afectado por numerosas alteraciones, incluyendo

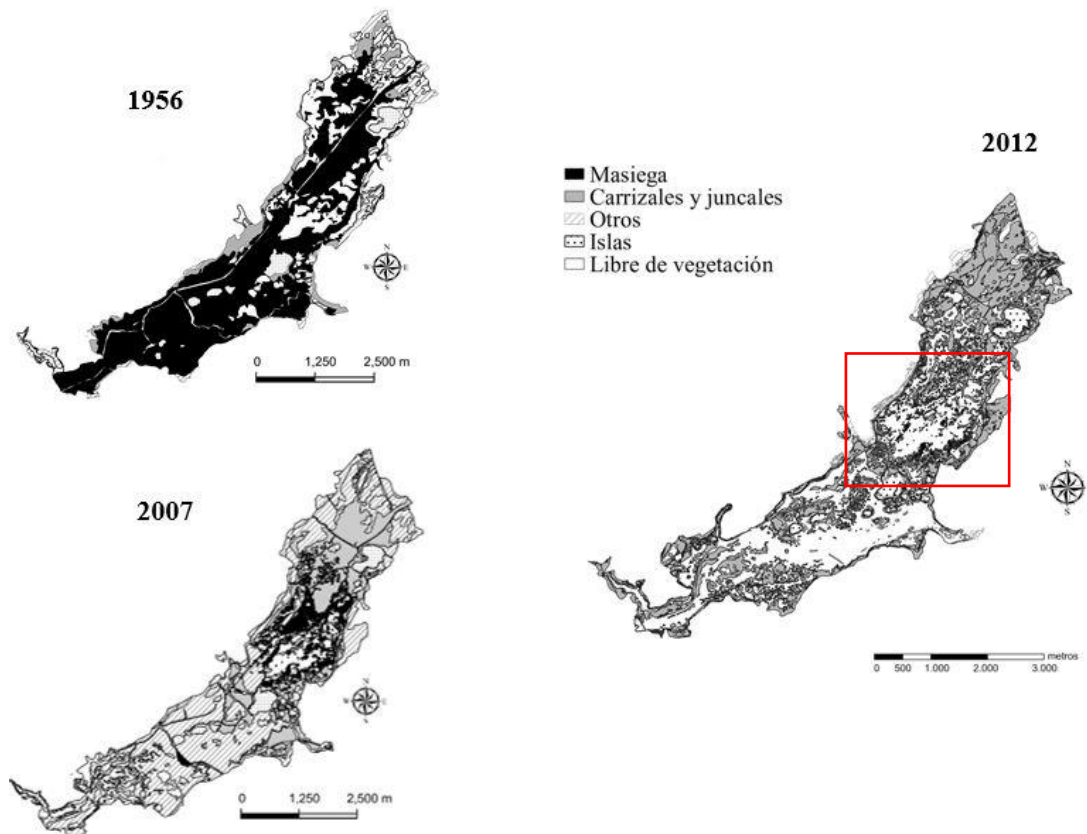
reducción de la inundación de su estacionalidad por sobreexplotación de las aguas subterráneas, desecación y deterioro de la calidad de sus aguas. La superficie dedicada a la agricultura intensiva de regadío en la zona aumentó un 324% entre 1974 y 1989 y la extracción de agua subterránea pasó de 152 a 568 mm<sup>3</sup>/año, sobreexplotando el acuífero de La Llanura Manchega Occidental, el que drenaba de forma natural en Las Tablas. Las causas: la agricultura tradicional de secano (trigo, viñedo y olivo) fue reemplazada por cultivos herbáceos con altos requerimientos hídricos (maíz, alfalfa, remolacha, melón), fomentados por el Ministerio de Agricultura y por la Confederación Hidrográfica del Guadiana (Sánchez-Carrillo et al., 2010). A mediados de la década de 1970, la degradación hidrológica del humedal era manifiesta y fue necesario incrementar las entradas de agua, para tratar de controlar la mala calidad del agua y la incipiente eutrofización del ecosistema (Sáez-Royuela, 1977). En 1980 se tomaron medidas más drásticas, como el Plan de Remediación Hídrica, basado en el incremento de la superficie inundada del humedal mediante la construcción de dos represas y unas baterías de bombeo de agua subterránea (Sánchez-Carrillo et al., 2010). Desde entonces, la situación ambiental del ecosistema sigue siendo un problema sin resolver.

Uno de los principales problemas derivados tanto del cambio ambiental como de una mala praxis en la gestión de los humedales es el declive de ciertas especies vegetales y de sus funciones ambientales. Este es el caso de la masiega (*Cladium mariscus*) y la súbita reducción de su cobertura en Las Tablas de Daimiel durante los últimos 10 años. La distribución geográfica del género *Cladium* está ligada a las zonas templadas y tropicales, con temperaturas estivales elevadas (por encima de 14-16° C) y con ausencia de fuertes heladas durante el invierno (Conway, 1937), pero también a la presencia de sustratos ricos en calcio o donde hay deposición de carbonato cálcico (Galka & Tobolski, 2012). Aunque es citado también en lugares pobres en calcio y muy turbosos, suelen considerarse como lugares marginales o donde la especie está desapareciendo (e.g. Galka & Tobolski, 2012). Los estudios paleobotánicos indican que tiene preferencia por los ecosistemas inundados permanentemente y que los cambios en el grado trófico favorecen la aparición de otras ciperáceas, enneas o carrizos, en detrimento de la masiega (Galka & Tobolski, 2012).

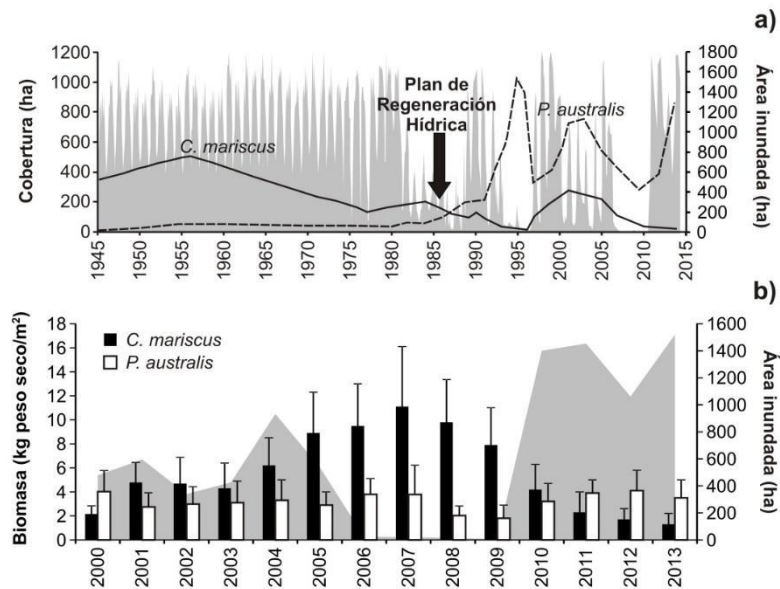
Desde el inicio de la degradación ambiental del humedal, el espacio que ocupaba esta especie está siendo colonizado por especies como *Phragmites australis* o *Typha*



*dominguensis* (Álvarez-Cobelas et al., 2008) que toleran unas condiciones ambientales más adversas (inundación más fluctuante, más salinidad y peor calidad del agua; Klötzli & Grootjans, 2001; Saltmarsh et al., 2006). Por tanto, la tendencia a largo plazo de *C. mariscus* en Las Tablas de Daimiel ha sido al declive (Cirujano et al., 2010; Figura 2). En Las Tablas de Daimiel la cobertura y biomasa de *Cladium mariscus* depende de la inundación del humedal: tras un año de elevada inundación, la cobertura aumenta al año siguiente, mientras que en los ciclos secos prolongados se reduce (Cirujano et al., 2010; Figura 3). Esta dinámica se ha podido constatar hasta la sequía de 2006-2010; desde entonces, el periodo extraordinariamente húmedo (ocurrido desde 2010 a 2017) no ha provocado la recuperación de la cobertura de la masiega como era de esperar (Figura 3). En la actualidad, la cobertura se extiende en una superficie residual de alrededor de 12 ha (en 1997 su cobertura era de 313 ha; Cirujano et al., 2010; Cirujano et al., 2012; Figura 3). Aunque *C. mariscus* cuenta con una mayor plasticidad fenotípica que le permite soportar mejor los periodos ambientales adversos (Ortiz-Llorente, 2013), parece existir un punto de no retorno en el desarrollo de la especie en Las Tablas de Daimiel desde 2007 del que se desconocen las causas, pero que no están relacionadas ni con la falta de agua ni con un empeoramiento de la calidad del agua. Urge plantear estrategias ecológicas para restaurar a *C. mariscus* en Las Tablas de Daimiel hasta, al menos, los niveles que tenía a inicios de 2000 (alrededor de 250 ha), identificando, en primer lugar, las causas de su declive y proponiendo alternativas de restauración integrales que favorezcan su desarrollo y colonización a largo plazo.



**Figura 2.** Cambios en la cobertura de masiega (y otras especies vegetales) desde 1956 hasta 2012. En el 2012 la cobertura de masiega se limita al cuadro rojo. (Modificada de Cirujano et al., 2010; Cirujano et al., 2012).



**Figura 3.** Evolución temporal de la cobertura (a) y de la biomasa (b) de *Cladium mariscus* y *Phragmites australis* en Las Tablas de Daimiel desde 1945 hasta 2015. En ambos casos el fondo gris representa el área inundada del humedal. (Tomado de Sánchez-Carrillo et al., 2016).

## **Limitaciones y políticas de restauración:**

Cada vez hay más demanda social de restaurar los ecosistemas degradados. La falta de información condiciona, muchas veces, el éxito de una la restauración, haciendo los resultados ampliamente variables. Es fundamental mejorar las evaluaciones previas al proyecto de restauración, conjugando evidencias, objetivos y limitaciones, y permitiendo una eficaz transferencias de conocimientos (Suding, 2011).

La restauración de humedales de grandes dimensiones suele ser bastante complicada. Una de las razones es que nos enfrentamos a una "*histéresis*" (proceso en el que un sistema evoluciona a otro estado después de la perturbación, pero que cuando se elimina la perturbación, el sistema no regresa inmediatamente a su nivel original, si no que toma una ruta diferente antes de volver a su estado inicial). A menudo, el objetivo final de un proyecto de restauración es una regeneración completa del ecosistema hacia un estado de referencia, hecho que muchas veces no se consigue, pues se alcanzan estados intermedios con cambios en la vegetación, a menudo, poco esperados. El hecho de no predecir esas desviaciones de la vegetación durante el proceso de restauración del ecosistema, ilustra algunos de los límites de la restauración ecológica (Klötzli & Grootjans, 2001). Los problemas claves relacionados con la restauración de los ecosistemas en un mundo en el que el cambio es rápido, incluye comprender cómo interactúan los impulsores del cambio global potencialmente sinérgicos, para alterar la dinámica y la restauración de los ecosistemas, y cómo deben administrarse los nuevos ecosistemas que surgen sin un análogo histórico (Hobbs & Cramer, 2008).

En relación con esto último, cabe destacar que cada humedal se caracteriza por unas características biofísicas específicas. La falta de humedales de referencia, limita nuestra capacidad para desenredar los efectos que surgen de la perturbación combinada natural y antropogénica. Esto, a su vez, limita el desarrollo de herramientas de gestión potentes (Álvarez-Cobelas et al., 2008).

## **2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS**

**Objetivo general:** determinar las causas del declive de *Cladium mariscus* (ambientales o intrínsecas a la población) en Las Tablas de Daimiel y plantear las estrategias más idóneas para su restauración a medio y largo plazo.

### **Objetivos específicos:**

1) Determinar las causas que determinan el declive de la población de *C. mariscus* en Las Tablas de Daimiel:

- Evaluar el impacto de deficiencias nutritivas en el declive.
- Evaluar el impacto de una posible deficiencia en los pigmentos fotosintéticos en el declive.
- Evaluar si el declive está relacionado con una alteración de la calidad de las semillas
- Evaluar si el declive está relacionado con una alteración genética.
- Evaluar si el declive está asociado a un problema en la reproducción asexual de la planta que genera una menor supervivencia y crecimiento de las nuevas plantas.

2) Plantear que estrategias de restauración de *C. mariscus* en Las Tablas de Daimiel son más viables acorde con los resultados previos y con las características ambientales del ecosistema.

### **Hipótesis:**

Nuestras hipótesis giran en torno a las causas del declive de *C. mariscus* en Las Tablas de Daimiel.

- El declive en la población de masiega de Las Tablas de Daimiel tiene relación con una deficiencia nutritiva.
- El declive de la población de masiega de Las Talas de Daimiel tiene relación con una deficiencia en los pigmentos fotosintéticos.
- El declive de la población de masiega de Las Tablas de Daimiel tiene relación con una alta debilidad de las semillas.
- El declive de la población de masiega de Las Tablas de Daimiel tiene relación con anomalías genéticas.
- El declive de la población de masiega de Las Tablas de Daimiel tiene relación con una menor supervivencia y crecimiento de las nuevas plantas.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **Descripción de *Cladium mariscus* (L.) Pohl**

##### *Características de la especie*

Especie perteneciente a la familia de las Cyperaceae (Castroviejo Bolivar, 2008), descrita por Linneo en 1753 en su libro *Species Plantarum* como *Schoenus mariscus*, y más tarde, en 1810 por el naturalista Johann Baptist Emanuel Pohl, quién le dio el nombre de *Cladium mariscus* (IPNI, 2018). Planta perenne, robusta, provista de largos rizomas escamosos horizontales y ramificados de los que surgen tallos amacollados de hasta 2,5 m, erectos, cilíndricos y trígonos en la parte superior. Tienen hojas dísticas de más de 150 cm, persistentes durante varios años, con una vaina ancha, parda y fibrosa; la lámina, de hasta 15 mm de anchura en la base se va estrechando hasta formar un ápice triquetó; son glaucas, duras y rígidas, con una quilla y márgenes serrulados cortantes. Las flores se reúnen en una inflorescencia de tipo panícula, terminal, con brácteas envainadoras, formada por grupos de 5 a 10 espiguillas agrupadas densamente; estas espiguillas, de 3-4 mm, son ovoides. Las flores carecen de perianto y las glumas están dispuestas espiralmente; las 1-3 superiores son fértiles, la superior generalmente masculina, mientras que las 2-4 inferiores son estériles y más pequeñas; el androceo tiene 2 estambres y el gineceo un ovario con 3 estigmas y un estilo con la base ensanchada formando un estilopodio. El fruto es un aquenio ovoide-trígono, de unos 3 mm, de color pardo brillante, con la base del estilo, pequeña, persistente (Asturnatura, 2019).

La especie cuenta con bastantes sinónimos (Anthos, 2018): *Cladium germanicum* Schrad, *Cladium giganteum* Willk, *Cladium mariscus* subsp. *mariscus* (L.) Pohl, *Cladium mariscus* var. *martii* (Dufour ex Roem. & Schult.) Kük, *Isolepis martii* Roem. & Schult, *Mariscus serratus* Gilib, *Schoenus mariscus* L., *Scirpus martii* Dufour ex Roem. & Schult.

Era usada tradicionalmente como combustible, y en algunos lugares muy concretos en cestería (Castroviejo Bolivar, 2008).

##### *Ecología, patrones espaciales y dinámica*

En lo referente a la luz, la especie crece mejor a plena luz aunque soporta la sombra. Es típica del piso colino principalmente, es decir, necesita calor. Es una especie

suboceánica, no soporta heladas tardía ni temperatura extremas. Típica de suelos encharcados, con bastante humedad, y suelos ricos en bases, con un pH entre 5,5 y 8, es decir, es una indicadora de alcalinidad, además suele encontrarse en suelos pobres en nitrógeno (Asturnatura, 2019; Namura-Ochalska, 2005; Rasmussen & Anderson, 2005).

*C. mariscus* es una especie que se adapta a un nivel de agua alto y es sensible a la fluctuación del mismo cuando cae por debajo de 5 cm (Megre et al., 2017).

#### *Selección de hábitat*

Es una especie basófila de agua dulce, localizada en Eurasia y norte de África (ausente en las regiones árticas), a una altitud de hasta 1500 metros (Castroviejo Bolivar, 2008).

Es especialista y su aparición está restringida a humedales alcalinos. Las condiciones locales del suelo que necesita son extremas: inundación por agua estancada anóxica, alta proporción de materia orgánica y minerales (principalmente carbonatos) y la inhibición de nutrientes (especialmente fósforo y nitrógeno). Por el contrario, la especie evita los suelos limosos o mineralizados con nutrientes disponibles libremente (Pokorný et al., 2010).

Es una especie que, por su manera de dispersión, tiene limitaciones a la hora de colonizar nuevos hábitats (Pokorný et al., 2010). En 2005, se cita como colonizador en un lago oligo-humotrófico (Lago Olsztyn, noreste de Polonia) con alto contenido de humus poco soluble y bajo contenido de nutrientes, conductividad débil, dureza (cantidad de  $\text{CaCO}_3$ ) baja y pH ácido. Los restos orgánicos de *C. mariscus* provocan una reacción alcalina en el suelo, que neutraliza el pH del agua, lo que explica su adaptación a este tipo de medios.

#### *Fenología*

El patrón de crecimiento de la especie se basa en brotes que emergen de un solo sistema de rizomas. Los brotes más antiguos (muertos) son de color marrón. Producen nuevas hojas la primavera siguiente, consiguiendo una mezcla de hojas jóvenes (verdes) y hojas viejas (muertas). Además, se ha visto que *C. mariscus* destina más recursos a los tejidos jóvenes, para el crecimiento y la reproducción vegetativa (Bernard et al., 1985).

### *Semillas*

Las condiciones óptimas de germinación de *Cladium jamaicense* (especie americana), ocurren en sedimentos expuestos durante períodos con bajas temperaturas nocturnas y fluctuaciones de temperatura diurnas (Lorenzen et al., 2000). La germinación en un ambiente oscuro combinado con temperaturas fluctuantes no se llega a producir. La anoxia no mejora la germinación de *C. jamaicense* (Lorenzen et al., 2000). Además, se ha comprobado que la liberación de sus semillas está relacionada con la profundidad del agua, ya que se dispersan por hidrocoria (es decir, diseminación por el medio acuático) (Monette & Markwith, 2012).

### *Difusión de poblaciones*

La producción de semillas de la especie es baja. Además, sus frutos son grandes y pesados, por lo que la dispersión a larga distancia es poco eficiente. La mayoría de los frutos se quedan bajo el dosel de la planta madre. La supervivencia de las plántulas también es baja (Pokorný et al., 2010).

Por todo esto, las poblaciones de *C. mariscus* no tienen problemas para persistir en las localidades existentes, pero tienen grandes dificultades para ocupar otras nuevas (Pokorný et al., 2010).

### **Descripción del área de estudio**

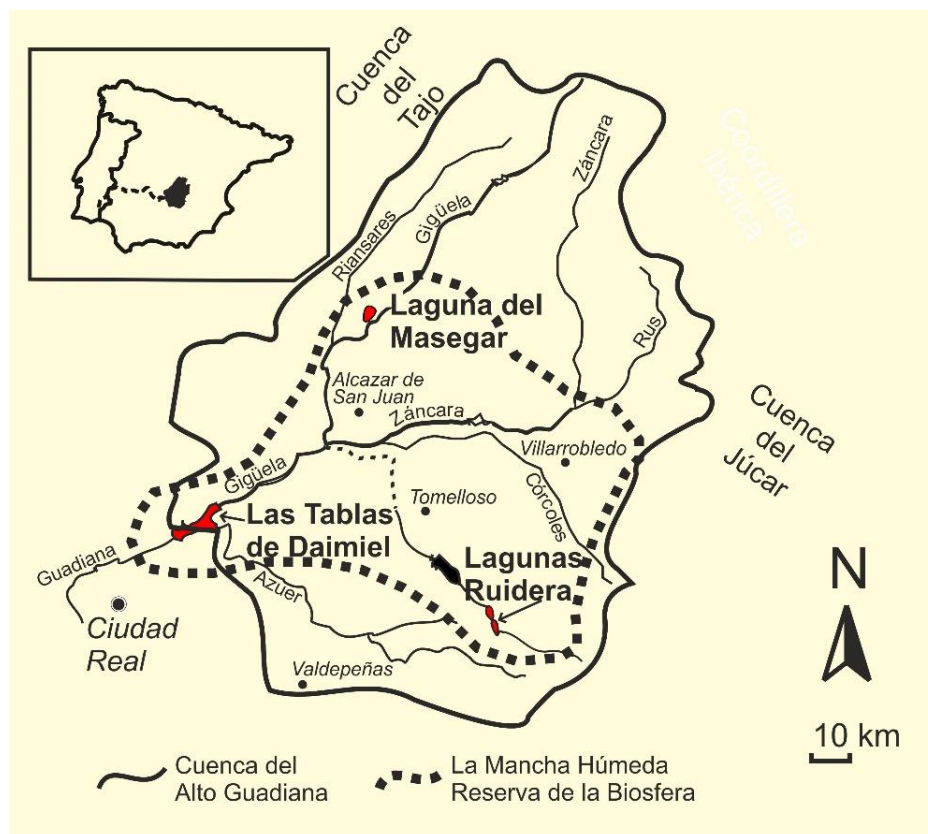
En este trabajo, además de la población de *C. mariscus* de Las Tablas de Daimiel, se utilizaron dos poblaciones ubicadas en el mismo entorno biogeográfico, dentro de la Reserva de la Biosfera La Mancha Húmeda (UNESCO, 2019; Figura 4): Lagunas de Ruidera y Laguna del Masegar.

#### *Las Tablas de Daimiel*

El Parque Nacional Tablas de Daimiel es un humedal ubicado en el centro de España (Ciudad Real; 39°11'19"N y 3°46'25"O; Figura 4). El humedal, que abarca 20 km<sup>2</sup> (profundidad promedio 0,90 m), recibe las aguas de una cuenca de 13,000 km<sup>2</sup> (Cuenca del Alto Guadiana), y era hasta mediados de 1980, el rebosadero natural del acuífero de La Llanura Manchega Occidental (Álvarez-Cobelas et al., 2008).

Antes de la degradación, el funcionamiento hidrológico del humedal era el resultado de una inundación combinada de los ríos (Gigüela al noreste y Guadiana al este) y la

descarga de aguas subterráneas. El parque proporcionó un hábitat valioso para la biota, sostuvo sociedades locales y dio origen a un paisaje único en Europa. Los cambios antropogénicos en la segunda mitad del siglo XX provocaron cambios en el ecosistema a gran escala, incluyendo la desecación de parte del humedal. En 1986, la entrada de agua por el río Guadiana desapareció como resultado de la sobreexplotación del acuífero por un crecimiento desmesurado del bombeo para regadío. En esa década de 1980 el humedal se volvió eutrófico y la biota sufrió profundas alteraciones. Aunque ya en 1973 el humedal fue declarado Parque Nacional para tratar de frenar su degradación, el grave deterioro del ecosistema obligó a que las autoridades establecieran planes de restauración, principalmente hidrológicos, para paliar las consecuencias desastrosas de la grave sequía que azotó a la mitad sur peninsular en la primera mitad de la década de 1990. *C. mariscus* ha sido la principal especie de macrófito emergente en Las Tablas de Daimiel durante muchas décadas (Figura 5). De hecho, este humedal fue uno de los humedales con mayor extensión de esta especie en Europa en la década de 1980 (Álvarez-Cobelas et al., 2008).



**Figura 4.** Mapa de ubicación de los lugares de muestreo (Modificada de Sánchez-Carrillo et al., 2010).





**Figura 5.** Ejemplares de masiega en Las Tablas de Daimiel (primera línea tras el agua).

#### *Lagunas de Ruidera y Laguna del Masegar*

Además de Las Tablas, se utilizaron poblaciones de *C. mariscus* de dos lagunas más que no está sufriendo ningún declive, para poder usarlas como poblaciones control en las comparaciones.

La primera población fue la procedente del Parque Natural Lagunas de Ruidera, situadas en el Campo de Montiel, entre la provincia de Albacete y la de Ciudad Real, (38°57'34"N 2°54'01"O; Figura 6). Son una cadena de lagunas separadas por “travertinos” (barreras tobáceas de origen biogénico), que actúan como una presa natural embalsando el agua. En otoño y primavera, el agua alcanza su nivel más alto, rebosando y saltando en forma de cascada por los travertinos (Lagunas de Ruidera, 2019).



**Figura 6.** Ejemplares de masiega en las lagunas de Ruidera (Tomada de: Emilio López, [www.biodiversidadvirtual.org](http://www.biodiversidadvirtual.org)).

La segunda población procede de una laguna artificial llamada Laguna del Masegar, situada entre Villafranca de los Caballeros y Quero (Toledo; 39°31'4"N y 3°18'32"O; Figura 4). La masiega llegó de forma natural, probablemente transportada por el río Gigüela, y ahora, a pesar de que la laguna está prácticamente seca, la población de *C. mariscus* sigue siendo muy abundante (Figura 7). Es una laguna más salina que las otras dos y con un sustrato más limoso (Pérez-González, 1995).



**Figura 7.** Laguna del Masegar con ejemplares de *C. mariscus*.

### **Caracterización química de las poblaciones de masiega**

Hojas, rizomas y semillas de cada población (n=5 de cada) fueron analizadas para determinar su contenido en C y N, usando un analizador elemental Perkin Elmer *Analyzer CHNS/O Series II 2400*, previo secado a 65°C, triturado y molido en un mortero de ágata. El peso de las semillas de cada población fue medido con un granatario (Mettler Toledo NewClassic MF ML104/01). Además, se calculó la clorofila contenida en las hojas mediante el protocolo de Porra et al. (1989), utilizando como disolvente orgánico metanol y leyendo la absorbancia en el espectrofotómetro a las longitudes de onda de 652,0; 665,2 y 750 nm.

### **Colecta de material vegetal para trasplante en el laboratorio**

Se usaron plantones y semillas de *C. mariscus* recolectados en febrero de 2019 en Las Tablas de Daimiel y en la Laguna del Masegar (Figura 8), y semillas ya almacenadas procedentes de las Lagunas de Ruidera que fueron recogidas en julio de 2011.



**Figura 8.** Material vegetativo colectado para su trasplante (ejemplares de Las Tablas de Daimiel).

Para estudiar la supervivencia y el crecimiento de los plantones de las diferentes poblaciones de *C. mariscus*, durante los días siguientes a la colecta se procedió a su plantación en macetas de plástico de 13 x13 cm (58 ejemplares de Las Tablas de Daimiel y 60 ejemplares del Masegar), en los invernaderos ubicados en el recinto del Instituto de Ciencias Agrarias y del Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC), previa preparación y separación de los vástagos (cortes de los nudos de los ejemplares para dejar el brote de un vástago y la raíz con un tamaño de 2-20 cm de longitud). Como sustrato se utilizó una mezcla de turba recogida en Las Tablas de Daimiel con sustrato comercial. Una vez plantadas se colocaron en bandejas de plástico para permitir una saturación continua del sustrato con agua, tal como ocurre con las poblaciones naturales, y se mantuvieron al aire libre, sin protección. Se mantuvo con riego durante los meses siguientes manteniendo siempre el sustrato saturado (Figura 9).



**Figura 9.** Ejemplares de masiega plantados en macetas.

Para comprobar el efecto del sustrato en el crecimiento de los vástagos cultivados, el 3 de junio de 2019 (4 meses después), se trasladaron la mitad de los ejemplares de cada población en macetas conteniendo sólo turba de Las Tablas de Daimiel y la otra mitad en otras conteniendo sólo sustrato comercial.

Finalmente, el 26 de junio se sembraron los ejemplares vivos de cada población (12 ejemplares de Las Tablas de Daimiel y 28 del Masegar) en Las Tablas de Daimiel (Figura 10), en una zona inundada ubicada frente a la Isla de los Gambetas (39°7'43''N y 3°42'24''O), para comprobar su supervivencia y crecimiento en las condiciones del ecosistema. El seguimiento de los mismos se realizó el 11 de septiembre, dos meses y medio después de su siembra, donde también se recogieron muestras para cuantificar el contenido en C y N foliar y la clorofila ( $a+b$ ).



**Figura 10.** Siembra de los ejemplares cultivados en Las Tablas de Daimiel.

Del mismo modo, a finales de mayo de 2019 se procedió a la siembra, en la misma localidad de Las Tablas de Daimiel citada arriba, de más de 100 ejemplares comerciales de *C. mariscus* procedentes del Vivero-escuela de Navalcarnero perteneciente al Organismo Autónomo de Parques Nacionales (Navalcarnero, Madrid; Figura 11). Trascurrido un mes de su siembra, el 26 de junio, se realizó un recuento de hojas vivas y muertas (verdes/secas), que se repitió dos meses y medio después (11 de septiembre).



**Figura 11.** Ejemplares comerciales de masiega sembrados en Las Tablas de Daimiel procedentes de vivero.

### **Supervivencia y crecimiento de los ejemplares**

Se evaluó la supervivencia y el crecimiento de los ejemplares trasplantados en 4 ocasiones: el 19/02/2019 y el 26/02/2019, en los de Las Tablas de Daimiel y del Masegar, respectivamente, y el 03/05/2019, 30/05/2019 y 25/06/2019, justo antes de la siembra en Las Tablas de Daimiel. Las medidas de altura se realizaron con una regla graduada desde la base hasta el ápice, siempre antes de los riegos. En los ejemplares grandes también se realizó un recuento de hojas verdes por vástago.

En los ejemplares del vivero, debido al gran desarrollo que tenían, se optó por valorar su crecimiento en función del número de hojas verdes nuevas.

### **Viabilidad germinativa de las semillas**

Una fracción de las semillas de cada población bajo estudio (Las Tablas de Daimiel, Masegar y Ruidera) fue preparada para evaluar su capacidad germinativa. Para ello, en una placa Petri cubierta de papel de filtro se añadieron 30 semillas cortadas por la mitad y 10 ml de una disolución cloruro de 2, 3, 5 trifeniltetrazolio al 2% a 30-40° C. Tras 24 horas de incubación en la oscuridad para evitar reacciones fotoquímicas, se introdujeron en la estufa a 50° C durante 30 min y se evaluó la tinción de las mismas.

### **Capacidad de germinación de las semillas**

En bandejas semilleros (tres, una por población; Figura 12) rellenos con 4 cm de sustrato comercial, se introdujeron 5 semillas por compartimento y se cubrió con 1 cm

más de turba. Las semillas fueron tratadas previamente con hipoclorito de sodio al 2-3%, refrigeradas (4° C) durante 72 h y, posteriormente lavadas con agua previamente a su siembra (Ponzio et al., 1995). Los semilleros fueron cubiertos con agua hasta saturación y mantenidos en luz natural a una oscilación térmica de 10° C (noche) a 25° C (día; Lorenzen et al., 2000).



**Figura 12.** Disposición de los semilleros para la germinación.

Tras 4 meses de siembra, las semillas fueron recuperadas de la turba, lavadas, usando un tamiz de 1 mm, y secadas en estufa (50° C) para evaluar su germinación, observando si se apreciaba alguna raíz, rotura en la cutícula o en alguno de los ápices.

### **Evaluación de anomalías genéticas**

Para evaluar si el declive de la población de masiega de Las Tablas de Daimiel se debe a un problema de degeneración o anomalía genética que afecte a su viabilidad reproductiva, se realizó un estudio genético comparativo con la población del Masegar. Por el largo alcance temporal que conlleva (años), el análisis de la expresión de los genes usando transcriptomas (enfocado a ver los genes que en una población se expresan más que en otra) fue considerado inviable en el marco de esta investigación y descartado. Se decidió entonces evaluar las variaciones en las regiones ITS (espaciador transcribible interno; no codifican a proteínas) del ADN ribosómico, puesto que estas regiones son propensas a sufrir mutaciones y sería más fácil comparar posibles diferencias entre las poblaciones de nuestros humedales. En un primer intento se utilizó el kit de extracción 940014 de QIAGEN (BioSprint 15 DNA Blood Kit) en 5 hojas procedentes de 5 ejemplares de cada población (Las Tablas de Daimiel y Masegar). Para

el PCR se realizaron reacciones conteniendo 1U de MyTaq DNA polymerase durante 5 min a 95° C seguido por 35 ciclos de 15 seg a 95° C, 1 min a 45° C y 1 min a 72° C, y un ciclo de 10 min a 72° C para la amplificación, usando 3 µl y con 10 µl de muestra de ADN y los Primer ITS-4 e ITS-5. La cantidad de ADN recuperado fue siempre muy baja, probablemente debido a una digestión insuficiente (proteína AK y buffer no pudieron de romper la pared celular).

Posteriormente, basándonos en el estudio de Jung y Choi (2010), se usó una combinación de los ITS-1 e ITS-4 del gen *rbcL* del cloroplasto. Se hicieron dos PCR conteniendo 1U de MyTaq DNA polymerase durante 5 min a 95° C seguido por 35 ciclos de 15 seg a 95° C, 1 min a 40° C y 1 min a 72° C, y un ciclo de 10 min a 72° C para la amplificación, usando 10 µl de muestra de ADN y amplificándolo primero con los Primer ITS-1 e ITS-4, y después con los Primer *rbcL*-1F y *rbcL*-1400R. Los resultados tampoco fueron satisfactorios, ya sea por la combinación de Primers usados (en algunos casos si funciona) o por las condiciones utilizadas en la PCR.

Finalmente, se realizaron PCR combinando nuevos Primers (ITS-1 + ITS-3, ITS-5 + ITS-3, ITS-5 + ITS-4, ITS-2 + ITS-3, ITS-2 + ITS-4, ITS-5a + ITS-3, ITS-5a + ITS-4, *rbcL*-aF y *rbcL*-aR, *rbcL*-1F y *rbcL*-724R, *matK*-2.1F y *matK*-5R, *matK*-390F y *matK*-1326R) con 10 µl de muestra de ADN y reacciones idénticas a las citadas arriba, pero los resultados tampoco fueron concluyentes.

Puesto que esta actividad generó resultados no concluyentes (negativos, en el sentido estricto de su significado) y no pudo ampliarse más allá del tiempo de este trabajo, no se presentarán sus resultados; sin embargo, hemos creído conveniente citar los procedimientos realizados aquí, pues consideramos que pueden ser de utilidad como referencia para otros estudios de esta índole que se desarrollen con macrófitos emergentes en el futuro.

### **Cálculos y estadística:**

Normalidad (test de Shapiro-Wilk) y homocedasticidad (test de Levene) fueron evaluadas previamente a los análisis multivariantes. La prueba no paramétrica del test de Wilcoxon se usó para determinar las diferencias en la supervivencia de las distintas poblaciones de masiega. Se utilizó un análisis de varianza (ANOVA de un factor) para determinar las diferencias en la altura, en los contenidos C y N en semillas, hojas y

rizomas, en el peso de las semillas de cada una de las poblaciones y en la cantidad de clorofila, tanto de los ejemplares recogidos en cada humedal como de los cultivados en el laboratorio. Para evaluar las diferencias significativas se usó el análisis post-hoc de Tukey. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software SPSS versión 23.0 (IBM Corp. Release, 2015).

#### **4. RESULTADOS**

##### **Caracterización de las poblaciones naturales**

- *Contenidos de C y N*

El C en la estructura foliar de las poblaciones de masiega osciló entre 44,8 y 47,3%; el N varió del 0,6 al 1,2 % (Tabla 1). El contenido en C de las hojas de la población de *C. mariscus* de Las Tablas de Daimiel fue significativamente más bajo que en el resto ( $p$  (*Las Tablas de Daimiel vs El Masegar*) = 0,001;  $p$  (*Las Tablas de Daimiel vs Ruidera*) = 0), mientras que el contenido en N fue significativamente mayor en Las Tablas de Daimiel que en El Masegar ( $p = 0$ ; Tabla 1). En Las Tablas de Daimiel, sin embargo, la cantidad de C en los rizomas fue mayor que en las hojas y significativamente más alta que en los del Masegar ( $p = 0,010$ ; Tabla 1). Inversamente, las semillas colectadas tienen más C y N que las hojas, aunque sin diferencias significativas entre poblaciones ( $p = 0,27$ ;  $p = 0,08$ , para C y N, respectivamente; Tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentaje promedio ( $\pm$  desviación estándar) de carbono y nitrógeno en hojas, semillas y rizomas de las diferentes poblaciones de *C. mariscus* estudiadas.

	Hojas		Rizomas		Semillas	
	% C	% N	% C	% N	% C	% N
<i>Las Tablas</i>	44,85 $\pm$ 0,24	1,25 $\pm$ 0,26	45,49 $\pm$ 0,51	0,66 $\pm$ 0,13	50,42 $\pm$ 1,07	1,54 $\pm$ 0,21
<i>Masegar</i>	45,64 $\pm$ 0,37	0,64 $\pm$ 0,08	43,71 $\pm$ 1,06	0,69 $\pm$ 0,09	50 $\pm$ 0,7	1,1 $\pm$ 0,36
<i>Ruidera</i>	47,29 $\pm$ 0,13	1,06 $\pm$ 0,04	-	-	49,47 $\pm$ 0,39	1,22 $\pm$ 0,09

- *Clorofilas (a + b)*

El contenido de clorofila ( $a+b$ ) en los ejemplares del Masegar fue de 748,34  $\pm$  146,89  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ , de 719,51  $\pm$  163,62  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$  en los de Las Tablas de Daimiel y de 603,92  $\pm$  101,69  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$  en los de Ruidera, sin diferencias significativas entre las poblaciones ( $p = 0,264$ ).



- *Peso de las semillas*

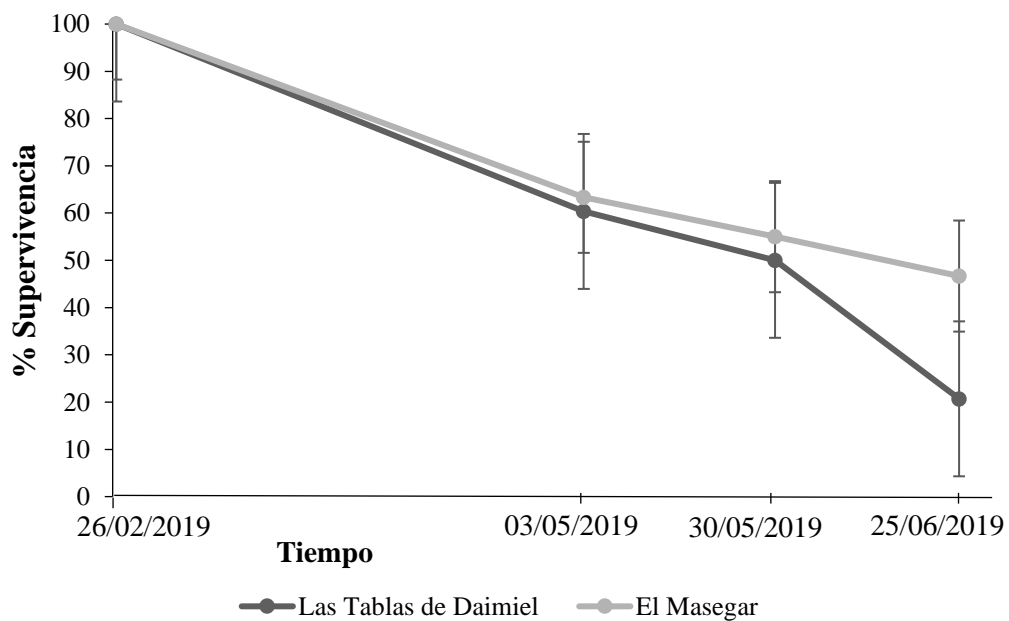
Las semillas del Masegar fueron las más pesadas en promedio ( $0,0532 \pm 0,0093$  g/20 semillas), seguidas de las de Ruidera ( $0,04002 \pm 0,00139$  g/20 semillas) y Las Tablas de Daimiel ( $0,0205 \pm 0,00147$  g/20 semillas), siendo las diferencias significativas entre las tres poblaciones ( $p = 0$ ).

### Supervivencia y crecimiento de *Cladium mariscus*

- En condiciones de laboratorio

a) *Supervivencia*

La tasa de supervivencia durante todo el ciclo de plantación fue más alta con los plántones del Masegar (Figura 13), aunque las diferencias no resultaron significativas ( $p = 0,180$ ).



**Figura 13.** Cambios en la supervivencia de los plántones de masiega de las poblaciones de Las Tablas de Daimiel y El Masegar durante su cultivo en condiciones de laboratorio.

b) *Crecimiento*

La altura media de las masiegas de Las Tablas de Daimiel fue más alta al inicio, pero fue superada al final del estudio por la del Masegar, aunque la variabilidad intrapoblacional resultó muy elevada (Tabla 2). Sin embargo, las tasas de crecimiento de las plantas del Masegar (en promedio de  $1,5 \pm 1,2$  mm/día) no fueron

significativamente mayores que las registradas en las de Las Tablas de Daimiel (promedio =  $0,75 \pm 0,92$  mm/día;  $p = 0,245$ ).

**Tabla 2.** Porcentaje promedio de altura ( $\pm$  desviación estándar) de los ejemplares de Las Tablas de Daimiel y El Masegar en su paso por el Museo Nacional de Ciencias Naturales.

Lugar	1ºMedida (19.02.2019)	2ºMedida (03.05.2019)	3ºMedida (30.05.2019)	4ºMedida (25.06.2019)
<i>Las Tablas de Daimiel</i>	$39,3 \pm 23,29$	$40,97 \pm 18,31$	$41,36 \pm 18,02$	$43,83 \pm 17,52$
<i>El Masegar</i>	$31,03 \pm 14,46$	$35,34 \pm 12,74$	$42,89 \pm 13,1$	$48,91 \pm 13,22$

Se observaron diferencias cualitativas en el desarrollo del sistema radical de los ejemplares plantados de cada población, con un mayor desarrollo en las masiegas del Masegar que en las de Las Tablas de Daimiel (Figura 14).



**Figura 14.** Diferencias en el desarrollo del sistema radical de las masiegas cultivadas. A la izquierda, una masiega de Las Tablas de Daimiel y a la derecha una del Masegar.

- En condiciones de campo

- a) *Supervivencia*

Después de 78 días trasplantadas en el humedal de Las Tablas de Daimiel, la supervivencia de las masiegas procedentes del Masegar fue del 82,1%, mientras que las procedentes del propio ecosistema fue del 58,3%, aunque este contraste no fue significativo ( $p = 0,180$ ). En la Figura 15 se muestra un ejemplo de los cambios sufridos por las masiegas trasplantadas en Las Tablas de Daimiel durante el periodo estival.



**Figura 15.** Cambios observados en las masiegas trasplantadas durante el periodo estival. Un ejemplar trasplantado que permaneció vivo (a) y otro que no (b).

La supervivencia de las masiegas trasplantadas procedentes del vivero fue del 100%, si bien es cierto que su grado de desarrollo era mucho mayor inicialmente.

Es importante resaltar que las condiciones hidrológicas durante este periodo cambiaron de manera muy marcada y la lámina de agua se desplazó  $\approx 60$  m del lugar elegido para el trasplante (Figura 16).



**Figura 16.** Retroceso del agua tras el periodo estival. La flecha superior indica la lámina de agua tras el periodo estival y la flecha inferior los ejemplares trasplantados que se ven en la imagen izquierda.

### b) Crecimiento

Aunque la tasa de crecimiento de las masiegas trasplantadas procedentes de Las Tablas de Daimiel fue mayor  $2,59 \pm 1,3$  mm/día que la de las del Masegar  $1,74 \pm 0,9$  mm/día, las diferencias en las alturas registradas durante todo el periodo de trasplante no fueron significativas ( $p = 0,71$ ; Las Tablas de Daimiel: inicial de  $43,8 \pm 17,5$  cm y final de  $74,0 \pm 15,7$  cm; Masegar: inicial de  $48,9 \pm 13,2$  cm y final  $64,1 \pm 14,9$  cm).

En el caso de los ejemplares del vivero, todos los ejemplares aumentaron el número de hojas verdes (cantidad media de hojas verdes =  $88 \pm 50,5$ ), al contrario que las secas, que disminuyen (cantidad media de hojas secas =  $-5,25 \pm 9,9$ ).

### c) Cambios en el contenido de C, N y clorofilas (a + b)

En la Tabla 3 se muestran los contenidos de C y N foliar en las poblaciones de masiega tras su periodo de trasplante en Las Tablas de Daimiel. El contenido medio de C oscila del 44,9 % al 45,6 % y el de N del 0,9% al 1,7%. Las diferencias registradas en el contenido de C no fueron significativas ( $p = 0,06$ ) pero las plantas procedentes del vivero mostraron un contenido en N significativamente menor ( $p = 0,059$ ).

**Tabla 3.** Contenidos medios ( $\pm$  desviación estándar) de carbono y nitrógeno en las diferentes poblaciones de masiega trasplantadas, tras el periodo de cultivo en Las Tablas de Daimiel.

	% Carbono	% Nitrógeno
<i>Las Tablas</i>	$44,9 \pm 0,24$	$1,5 \pm 0,23$
<i>Masegar</i>	$44,6 \pm 0,97$	$1,7 \pm 0,03$
<i>Vivero</i>	$45,57 \pm 0,28$	$0,89 \pm 0,34$

Las diferencias en el contenido de C de las hojas de las masiegas cultivadas y las naturales de Las Tablas de Daimiel no resultan significativas (véase la Tabla 1;  $p = 0,29$ ). Sí se observa un ligero incremento, significativo estadísticamente ( $p = 0$ ), en el contenido de N en los ejemplares plantados (véase la Tabla 1). La misma pauta pudo ser observada con las masiegas procedentes del Masegar: similar contenido de C foliar ( $p = 0,051$ ) y un enriquecimiento en N de las plantadas (véase Tabla 1;  $p = 0$ ).

En las poblaciones trasplantadas los contenidos de clorofila (a+b) fue de  $1251,8 \pm 484,6$   $\mu\text{mol}/\text{m}^2$  en los ejemplares del Masegar, del  $1153 \pm 395,4$   $\mu\text{mol}/\text{m}^2$  en los de Las Tablas de Daimiel y de  $258,9 \pm 38$   $\mu\text{mol}/\text{m}^2$  en los del vivero. El bajo contenido observado en las plantas del vivero es significativo estadísticamente ( $p = 0,002$ ). Los cambios en el contenido de clorofila entre los ejemplares cultivados y los de las poblaciones naturales

de Las Tablas de Daimiel y del Masegar no son significativos ( $p = 0,053$  y  $0,057$ , respectivamente).

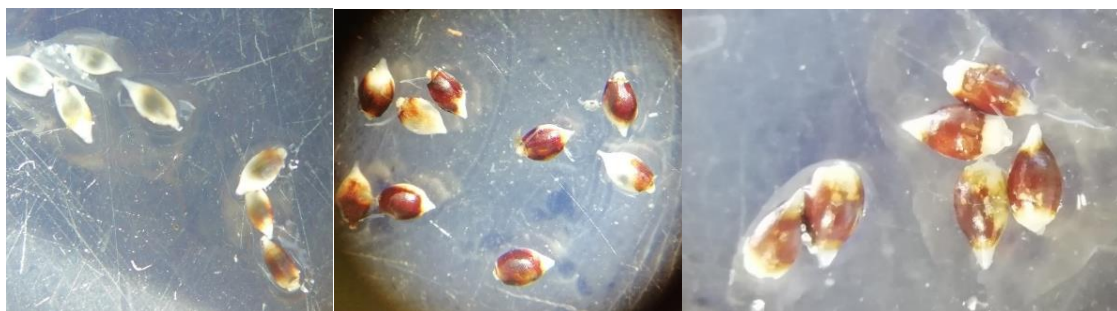
### Germinación de las semillas de las poblaciones:

La viabilidad germinativa, determinada según el experimento del trifeniltetrazolio, mostró que en las semillas de Las Tablas de Daimiel la viabilidad fue del 100%, mayor que la observada en las del Masegar (85%). La viabilidad germinativa de las semillas procedentes de las Lagunas de Ruidera fue del nula (Figura 17).



**Figura 17.** Experimento de viabilidad germinativa de las semillas de masiega mostrando, comparativamente, la coloración de las semillas antes y después en: a) Las Tablas de Daimiel; b) El Masegar; c) Ruidera.

La capacidad germinativa, obtenida tras el tratamiento con lejía, mostró que la tonalidad obtenida fue variable dependiendo de la cutícula de cada semilla y población. El 82% de las semillas de Las Tablas de Daimiel tenían una tonalidad clara, el 5% una tonalidad media y el 13% seguían oscuras. En el caso de las semillas del Masegar, la mayor parte seguían siendo oscuras (78%), un 18% con tonalidad media y un 4% claras. En las semillas de Ruidera el 100% de las semillas eran oscuras, pero presentaban ligeras manchas claras (Figura 18).



**Figura 18.** Semillas de las diferentes poblaciones una vez terminado el tratamiento con lejía. A la izquierda semillas de Las Tablas de Daimiel; en el centro semillas del Masegar; y a la derecha semillas de Ruidera.

En la Tabla 4 se muestran las características de las semillas tras 4 meses de periodo de siembra. En la Figura 19, se puede observar un ejemplo representativo de estas características.

**Tabla 4.** Porcentaje de semillas recuperadas de cada ubicación, así como los porcentajes de semillas que presentan esas características.

	<b>Las Tablas</b>	<b>Masegar</b>	<b>Ruidera</b>
<i>Semillas recuperadas</i>	23,3	66,15	68,3
<i>Cutículas débiles y agrietadas</i>	50	0	0
<i>Superficie mohosa</i>	25	0	0
<i>Ápice roto y raíz</i>	12,5	21	0
<i>Descamadas/sin cutícula</i>	6,25	0	3
<i>Protuberancias en los ápices</i>	6,25	3	0
<i>Ápices rotos</i>	0	100	71
<i>Raíz lateral</i>	0	3	0
<i>Intactas</i>	0	0	22
<i>Podridas</i>	0	0	5



**Figura 19.** Algunas de las características de las semillas recuperadas tras el periodo de siembra. a) Cutículas débiles y agrietadas; b) Descamación; c) Superficie mohosa; d) Ápice roto y raíz; e) Sin cutícula; f) Ápices rotos sin raíces; g) Raíz lateral; h) Semillas intactas; i) Semillas podridas; j) Protuberancias en los ápices.

## **5. DISCUSIÓN**

### **Causas posibles del declive poblacional de masiega en Las Tablas de Daimiel**

Nuestros resultados muestran que el declive de la masiega en Las Tablas de Daimiel no responde a un solo factor. Un déficit nutritivo o una alteración en la asimilación de los nutrientes podría ser una causa potencial del retroceso en Las Tablas de Daimiel si consideramos que los contenidos de C y N están alterados frente a lo que se observa en las otras poblaciones de masiega.

Los cambios en la capacidad de fijación de carbono y producción de N dependen de la edad de la planta (Bernard et al., 1985; Pérez Amaro et al., 2004; Camargo et al., 2010). Los contenidos de C y N foliar medidos en los ejemplares de masiega de Las Tablas indican una edad más joven de los brotes, a diferencia de los rizomas, en los que la cantidad de C y N indican una edad más avanzada. La reproducción vegetativa en Las Tablas está más extendida comparada con las otras poblaciones. Esto parece indicar que

es la forma dominante de reproducción de esta población puesto que la dispersión de semillas es limitada, a tenor de la escasa colonización en otros lugares. Nuestros resultados serían contrarios a los de Pérez et al. (2014), pues la edad de los rizomas en esta ciperácea no genera una limitación de la reproducción asexual, aunque el factor ambiental limitante podría obligar a explotar esa vía en este caso. La dependencia de la reproducción asexual estaría reduciendo la diversidad genética y aumentando la vulnerabilidad de la población ante efectos ambientales adversos (Gutiérrez, 2005; Valbuena Carabaña & Gil, 2013).

El envejecimiento poblacional es un aspecto importante que puede determinar parcialmente la dinámica de una población vegetal, pues la regeneración del banco de brotes es crucial para mantener la dinámica de la población, especialmente después de una perturbación severa (Kliměsová y Kliměš, 2007). En ciperáceas, el tamaño de los brotes es crucial para el reclutamiento de la población después de la perturbación (Deng et al., 2013), pero en Las Tablas no se observan diferencias respecto a los otros humedales. Los estudios de Pollux et al. (2007) y Riis et al. (2014) ponen de manifiesto la importancia de las condiciones hidrodinámicas en el modo de reproducción utilizado por las plantas: la reproducción asexual domina durante los ciclos desfavorables, produciendo un envejecimiento de la población. La desconexión hidrológica de Las Tablas está provocando, además, que la entrada de propágulos generativos (semillas) de otras poblaciones sea prácticamente nula, lo que estaría reduciendo el flujo de genes entre poblaciones.

La ausencia de agua durante el ciclo seco extremo ocurrido de 2004-2009 ha debido de ser determinante en la reducción de la dispersión de las semillas de masiega a otros lugares dentro de Las Tablas de Daimiel. Pero el siguiente evento extremo, acaecido entre diciembre de 2009 y marzo de 2010 y en el que se produjo la súbita inundación del humedal desde condiciones prácticamente secas (de 10 ha a 1785 ha), muy probablemente produjo un lavado muy importante aguas abajo de gran parte del banco de semillas de la masiega, que habrían quedado depositadas sobre la superficie de los suelos. La densidad de semillas de masiega en los suelos de Las Tablas es bastante baja en la actualidad (<500 por m<sup>2</sup> en distancias <20 m de los rodales de masiega; Sánchez-Carrillo, datos no publicados) pero no lo es la de las inflorescencias (≈5000; Sánchez-Carrillo, datos no publicados; Lorenzen et al., 2000).



La calidad de las semillas es esencial para mantener la reproducción sexual (Goslee & Richardson, 2008). Su tamaño no representa un impedimento para la dispersión por otros organismos (Pollux, 2007), pero su calidad puede afectar a la capacidad germinativa (Aramendiz-Tatis et al., 2007). Claramente, la relación inversa entre longevidad y latencia de las semillas (Rees, 1994) se pone de manifiesto con la nula germinación de las semillas de masiega procedentes de las Lagunas de Ruidera. Aunque la calidad de las semillas de la población de Las Tablas presenta algún grado de deterioro estructural, este no afecta en absoluto a la viabilidad germinativa (100% de éxito) y, *a priori*, antepone el problema de la dispersión de las semillas a cualquier otro efecto degenerativo. El menor peso de las semillas de la población de Las Tablas podría ser una respuesta adaptativa a la reducción del flujo para incrementar el potencial de hidrocoria, pero también podría haber resultado nocivo durante el citado periodo húmedo en el que, probablemente, fue desplazado, aguas abajo, la mayor parte del banco de semillas. Podría estar también relacionado con una potencial degeneración genética por el aislamiento de la población, pero es una incógnita a día de hoy.

Desconocemos las causas de la menor densidad de raíces secundarias observadas en los brotes germinados de las masiegas de Las Tablas de Daimiel en comparación con los del Masegar. Claramente no corresponde a un déficit de N (Carvalaja et al., 1960), pues el contenido en la población de Las Tablas de Daimiel es el mayor. Tampoco parece que la calidad del sustrato, como sostienen algunos estudios (e.g. Cristancho et al., 2007; Galka & Tobolski, 2012), ejerza aquí un control en el desarrollo radicular, pues nuestros experimentos combinaron turba de Las Tablas de Daimiel con comercial en ambas poblaciones y los resultados fueron los mismos.

### **Restauración de las poblaciones de masiega en Las Tablas de Daimiel**

En la Directiva de Hábitats y en la Directiva Marco de Agua de la UE (DMA) se consideran de vital importancia la conservación de los humedales en los planes de manejo de cuencas para el control de la exportación de N y P. Para ello se promueve la restauración como una opción de mitigación, pero es aún una práctica poco común en muchos países europeos (Hoffman et al., 2014).

Ríos y llanuras de inundación han sido utilizados por el hombre para muchos propósitos durante siglos y han sido sometidos a muchas modificaciones para adaptarlos a las necesidades humanas. Esto ha generado cambios dramáticos en la calidad del agua del

río, la hidrología, la conectividad, los hábitats y la biodiversidad. La restauración de los humedales de llanura de inundación es un tema relativamente nuevo que abarca una gran variedad de medidas que tienen como objetivo restaurar o recuperar principalmente su funcionamiento hidráulico natural. Algunos ejemplos de restauración en estos ecosistemas muestran la dificultad que existe de recrear los hábitats naturales por la lentitud a la que los procesos dinámicos naturales los moldean (e.g. el río Skjern en Dinamarca; Kristensen et al., 2014). Restaurar la conexión hidrológica entre el río y la llanura de inundación es de vital importancia para alcanzar el éxito en cualquier restauración de este tipo, pero rara vez se consigue (Poulsen et al., 2014). Las Tablas de Daimiel es un claro ejemplo de este desfase en sus planes de restauración, donde siempre ha primado inundar mucho frente a inundar acorde con la dinámica que existía hace 50 años (Sánchez-Carrillo et al., 2010), alterando muchos de los procesos biogeoquímicos y modificando los patrones de funcionamiento de las especies vegetales.

En el punto en el que se encuentra la población de masiega, se requiere de dos tipos de actuaciones de restauración: inmediata, para reestablecer algunos rodales en zonas estratégicas del humedal, y a medio y largo plazo, para fomentar la expansión de la masiega a otras zonas del ecosistema.

El restablecimiento de rodales parece más factible y con más probabilidad de éxito si se hace con ejemplares más desarrollados y crecidos en condiciones controladas. Asegurar unas condiciones óptimas durante las primeras etapas de desarrollo podría tener una incidencia positiva en la supervivencia de las plantas trasplantadas en el humedal, aunque desconocemos si su respuesta y plasticidad será similar a la de las poblaciones naturales cuando son expuestas a condiciones ambientales adversas continuadas (véase Ortiz-Llorente, 2013). Entonces, ¿qué sería más recomendable?, ¿usar plantones procedentes de Las Tablas o de los otros humedales cercanos? Según nuestros resultados, no habría diferencias, pero es posible que desde el punto de vista genético la población de Las Tablas esté más adaptada a unas condiciones ambientales más adversas.

La dispersión de semillas en el humedal sería una herramienta complementaria que ayudaría al restablecimiento de rodales en otras áreas donde existió hace pocos años. Es probable que la técnica de restauración usando semillas requiera de la eliminación

previa de los otros macrófitos emergentes, *Phragmites australis* y/o *Typha dominguensis*, que estarán ocupando esos espacios. La técnica del acolchado (mulching) ha sido citada como la más apropiada, en sentido costo-beneficio, en un estudio de restauración de una llanura de inundación (Liira et al., 2009) y podría recomendarse en este caso, aunque por la gran cantidad de materia orgánica acumulada en los suelos de Las Tablas y por los riesgos de colmatación, se ha descartado acertadamente en los planes de gestión del humedal (Sánchez-Carrillo & Angeler, 2010).

El fomento de la expansión de la masiega debe considerar los conocimientos más básicos sobre la biología de la especie (Cirujano et al., 2010): dependencia de la inundación, al menos durante los primeros meses del ciclo vegetativo, una mejora de la calidad del agua y el mantenimiento de un flujo constante de agua que permita la dispersión de las semillas por hidrocoria. La entrada en Las Tablas de Daimiel de semillas de otras poblaciones no parece factible a día de hoy por la desconexión hidrológica entre los humedales de La Mancha Húmeda. Podría fomentarse la entrada de semillas de otros humedales mediante colecta previa y posterior dispersión, de preferencia en el flujo de agua de entrada a Las Tablas (río Gigüela) o directamente en el ecosistema, en los lugares más idóneos para su germinación.

Aunque el restablecimiento de las condiciones hidrológicas naturales es clave para obtener éxito en cualquier restauración de un humedal (Monette & Markwith, 2012), aquí puede resultar muy complicado, tanto por las actuaciones llevadas a cabo en el ecosistema con anterioridad como por la elevada fluctuación hidrológica a la que está sometido (Sánchez-Carrillo & Álvarez-Cobelas, 2010). El Parque dispone de una batería de pozos de emergencia que podrían usarse en los momentos de mayor estrés hídrico. Es probable que el efecto nocivo en las reservas de agua subterránea sea menor que el positivo en el sostenimiento de la biodiversidad vegetal.

### **Control y seguimiento de la restauración de la masiega en Las Tablas de Daimiel**

Uno de los principales problemas de la restauración es la escala del tiempo, ya que la mayor parte de los procesos ecológicos solo pueden entenderse desde una amplia perspectiva temporal (Sánchez-Carrillo et al., 2016). Una gran parte de los fallos en la restauración de humedales se debe a que el marco temporal planeado no es suficiente como para permitir al sistema que se recupere (Mitsch et al., 1998). Para la primera actuación, un periodo de tiempo de 2 años tras la plantación y siembra de semillas, sería

suficiente para determinar el éxito. Un marco temporal adecuado para la restauración de la masiega en Las Tablas de Daimiel debería considerar las fluctuaciones del humedal entre periodos secos y húmedos, es decir, no menos de 10 años. Con ello podríamos comprobar la adaptación de las nuevas plantas a los ciclos adversos y corregir posibles desviaciones. Los criterios para medir el éxito deberán incluir no sólo la expansión de la masiega sino también atributos del ecosistema, tal como recomienda la Sociedad Internacional de Restauración Ecológica (Ruíz-Jaén & Mitchel Aide, 2005). En este sentido, deberíamos determinar aspectos estructurales de la vegetación (que la masiega crece donde le corresponde en un contexto hidrogeomorfológico y que esté asociada a otros macrófitos emergentes que soportan inundación prolongada), aspectos relacionados con procesos ecológicos (por ejemplo, cocientes C:N en tejidos foliares que no denoten déficit nutritivo) y función ecosistémica (participación en procesos anaerobios), en comparación con otros humedales de referencia. Este último aspecto, la ausencia de sistemas de referencia, es otro de los grandes problemas en la restauración de humedales (Álvarez-Cobelas et al., 2008).

El control de las especies oportunistas y competidoras como el carrizo, deberá mantenerse invariablemente mientras las condiciones hidrológicas no sean restauradas (García-Rodeja et al., 2009). La creación de corredores biológicos interconectando los humedales dentro de la región de La Mancha Húmeda podría resultar beneficiosa para el sostenimiento de la biodiversidad (Amézaga et al., 2002).

Tradicionalmente, las estrategias de manejo de humedales se centran en objetivos únicos, como mejorar la calidad del agua, fortalecer la biodiversidad o mejorar el control de las inundaciones. Siguiendo la propuesta de Moreno-Mateos y Comín (2010) para la restauración de humedales con un enfoque multiobjetivo, la estrategia de restauración de Las Tablas debería enfocarse bajo un punto de vista más holístico, considerando la función real del ecosistema, las escalas de restauración necesarias (desde parcela a la cuenca Alta del Guadiana) y los conflictos que emergerían de su restauración.

Los servicios ecosistémicos que proporcionan los humedales suponían el equivalente a 33 billones de dólares al año en todo el mundo (Mitsch et al., 1998). La no intervención para paliar la degradación es, en este mundo de cambio global, un lujo que la sociedad no se puede permitir (Hamsson et al., 2005).

## **6. CONCLUSIONES**

La degradación hidrológica en la Cuenca Alta del Guadiana parece la causa principal del declive de *C. mariscus* en Las Tablas de Daimiel. La ausencia de agua durante periodos prolongados de tiempo y los eventos extremos están limitando la dispersión de las semillas por hidrocoria y reduciendo el banco de semillas del suelo, lo que provoca el envejecimiento de la población que sólo puede mantenerse mediante la reproducción clonal. Las semillas son viables de germinar y sólo pueden presentar alguna alteración en cuanto a su peso reducido, que puede ser ventajosa dadas las condiciones de flujo limitado presentes en el humedal, pero también contraproducente durante los eventos extremos de inundación.

La restauración de la población de masiega en Las Tablas de Daimiel depende de la recuperación hidrológica a largo plazo de la Cuenca Alta del Guadiana. Mientras, una serie de actuaciones de restauración deberían promover la recuperación de los principales rodales de masiega en lugares donde generalmente crecía en Las Tablas, usando brotes de vivero bien desarrollados, y la recuperación a medio plazo de la cobertura mediante dispersión de semillas propias y de otros humedales cercanos, ya sea manualmente o usando el flujo del río Gígüela, si la hidrología lo permite. Proponemos un marco temporal de 2 a 10 años para evaluar el éxito de la restauración usando como indicadores, en comparación con otros humedales de referencia: (i) que la masiega crezca donde le corresponde en un contexto hidrogeomorfológico y que está asociada a otros macrófitos emergentes que soportan inundación prolongada, (ii) que no sufre ningún déficit nutritivo, basado en los cocientes C:N de tejidos foliares, y (iii) que participa en el funcionamiento del ecosistema fomentando los procesos anaerobios.

## **7. AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, agradecer al departamento de Biogeoquímica y Ecología Microbiana del Museo Nacional de Ciencias Naturales, por permitirme realizar este trabajo con ellos, principalmente a Salvador Sánchez Carrillo, director de este estudio, y a José Luis Ayala Liquiñano, técnico del departamento, por su gran ayuda, dedicación, paciencia y apoyo, tanto académico como personal.

Agradezco también al laboratorio de Sistemática Molecular y al departamento de Biodiversidad y Biología Evolutiva del Museo Nacional de Ciencias Naturales, por dejarme usar sus instalaciones, así como al Instituto de Ciencias Agrarias (CSIC).

Además, agradecer al Máster Oficial en Restauración de Ecosistemas (Universidad de Alcalá de Henares, Universidad Complutense de Madrid, Universidad Politécnica de Madrid y Universidad Rey Juan Carlos), y en concreto a Salvador Rebollo de La Torre por su tutorización.

Para mi familia y amigos, que han sido un apoyo esencial durante todo este tiempo.

## **8. BIBLIOGRAFÍA**

- Álvarez-Cobelas, M., Sánchez-Carrillo, S., Cirujano, S., Angeler, D.G. 2008. Long-term changes in spatial patterns of emergent vegetation in a Mediterranean floodplain: natural versus anthropogenic constraints. *Plant Ecology* 194: 257-271.
- Amézaga, J.M., Santamaría, L., Green, A.J. 2002. Biotic wetland connectivity - supporting a new approach for wetland policy, *Acta Oecologica* 23: 213-222.
- Anthos. 2018. <http://www.anthos.es/> [12.11.2018]
- Aramendiz-Tatis, H., Cardona, C., Jarma, A., Robles, J., Montalván, R. 2007. Efectos del almacenamiento en la calidad fisiológica de la semilla de berenjena (*Solanum melongena* L.). *Agronomía Colombiana* 25: 104-112.
- Asturnatura. 2019. [www.asturnatura.com](http://www.asturnatura.com) [25.01.2019]
- Barbier, E.B., Acreman, M., Knowler, D. 1997. Valoración económica de los humedales. Guía para decisores y planificadores. *Oficina de la Convención Ramsar, Gland*.
- Bernard, J.M., Seischab, F.K., Jacoby, G. 1985. Life history and production of above- and belowground structures of *Cladium mariscoides* (Muhl.) Torr. in a western New York fen. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 112: 288-294.
- Camargo, J.C., Rodríguez, J.A., Arango, A.M. 2010. Crecimiento y fijación de carbono en una plantación de guadua en la zona cafetera de Colombia. *Recursos Naturales y Ambiente* 61: 86-94.
- Carvalaja, C.J.F. 1960. Estudio de las deficiencias de nitrógeno, potasio, magnesio, boro y manganeso en plantas de café (*Coffea arabica* var. *typica*). *Revista de Biología Tropical* 8: 165-179.

- Castroviejo Bolivar, S. 2008. *Cladium*. En: S. Castroviejo Bolivar, P. Jiménez Mejías, M. Luceño Garcés (eds). Flora ibérica 18: 102-104.
- Cirujano S., Álvarez-Cobelas M., Sánchez-Carrillo S., Angeler D.G., García-Murillo P. 2009. Wetland management in Spain: a history of controversial conservation. En: R.E. Russo (eds), *Wetlands: Ecology, Conservation & Restoration*. Nova Science Publishers, Inc., New York. pp. 1-15.
- Cirujano, S., Álvarez Cobelas, M., Ortiz Llorente, M.J., Ayala Liquiñano, J.L., Sánchez Carrillo, S., Rubio Olmo, A., Meco Molina, A. 2012. *Seguimiento ambiental del Parque Nacional Tablas de Daimiel (Ciudad Real). Informe Técnico*. Eitam & Tragsa, Madrid.
- Cirujano, S., Álvarez-Cobelas, M., Sánchez-Andrés, R. 2010. Macrophyte Ecology and Its Long-term Dynamics. En: Sánchez-Carrillo, S., y D. G. Angeler (eds). *Ecology of Threatened Semi-Arid Wetlands: Long-Term Research in Las Tablas de Daimiel*. Springer, Dordrecht. pp. 175-192.
- Cirujano, S., Casado, C., Bernués, M., Camargo, J.A. 1996. Ecological study of Las Tablas de Daimiel National Park (Ciudad Real, central Spain): differences in water physico-chemistry and vegetation between 1974 and 1989. *Biological Conservation* 75: 211-215.
- Conway, V.M. 1937. Studies in the autecology of *Cladium mariscus* R.Br. III. The aeration of the subterranean parts of the plant. *New Phytologist* 36: 64–96.
- Cristancho, J.A., Munévar, F., Acosta A., Santacruz, L. H., Torres, M. 2007. Relación de las características edáficas y el desarrollo del sistema de raíces de la palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq). *Revista Palmas* 28: 21-29.
- Deng, Z., Chen, X., Xie, Y., Li, X., Pan, Y., Li, F. 2013. Effects of size and vertical distribution of buds on sprouting and plant growth of the clonal emergent macrophyte *Miscanthus sacchariflorus* (Poaceae). *Aquatic Botany* 104: 121-126.
- Galka, M., Tobolski, K. 2012. Palaeoecological studies on the decline of *Cladium mariscus* (Cyperaceae) in NE Poland. *Annales Botanici Fennici* 49: 305-318.
- García-Rodeja, E., Fraga, M. I., Fidalgo, C., González, J. A., 2009. 7210 Áreas pantanosas calcáreas con *Cladium mariscus* y especies de *Caricion davallianae*. En: VV.AA. *Bases ecológicas preliminares para la conservación de los tipos de hábitat de interés comunitario en España*. Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino. Madrid.
- Goslee, S.C. & Richardson, C.J. 2008. Establishment and Seedling Growth of Sawgrass and Cattail from the Everglades. In: Everglades Experiments. *Ecological Studies* 201. Springer, New York.

- Gutiérrez, B. 2005. Propagación vegetativa y silvicultura clonal: antecedentes generales. En: B. Gutiérrez, O. Ortiz, M.P. Molina. (eds), *Clonación de raulí: estado actual y perspectivas*. CEFOR, UACH, Santiago de Chile. pp. 1- 13.
- Hamsson, L., Brönmark, C., Nilsson, P.A., Arbjörnsson, K. 2005. Conflicting demands on wetland ecosystem services: nutrient retention, biodiversity or both? *Freshwater Biology* 50: 705–714.
- Hobbs, R.J., Cramer, V.A. 2008. Restoration Ecology: Interventionist Approaches for Restoring and Maintaining Ecosystem Function in the Face of Rapid Environmental Change. *The Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 33: 39-61.
- Hoffmann, C.C., Brix, H., Kronvang, B. 2014. SWS European Chapter Meeting on wetland restoration—Challenges and opportunities. *Ecological Engineering* 66: 1–5.
- IBM Corp. Released 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- IPNI. 2018. <https://www.ipni.org/> [12.11.2018]
- Jung, J. & Choi, H. 2010. Systematic Rearrangement of Korean *Scirpus* L. s.l. (Cyperaceae) as Inferred from Nuclear ITS and Chloroplast *rbcl* Sequences. *Journal of Plant Biology* 53: 222-232.
- Kliměsová, J., Kliměš, L. 2003. Resprouting of herbs in disturbed habitats: is it adequately described by Bellingham–Sparrow's model? *Oikos* 103: 225–229.
- Klötzli, F. & Grootjans, Ab.P. 2001. Restoration of natural and semi-natural wetlands systems in Central Europe: progress and predictability of developments. *Restoration ecology* 9: 209-219.
- Kristensen, E.A., Kronvang, B., Wiberg-Larsen, P., Thodsen, H.,Nielsen, C., Amor, E., Friberg, N., Pedersen, M.L., Baattrup-Pedersen, A, 2014. 10 years after the largest river restoration project in Northern Europe:Hydromorphological changes on multiple scales in River Skjern. *Ecological Engineering* 66: 141-149.
- Lagunas de Ruidera. 2019. [www.lagunasderuidera.es](http://www.lagunasderuidera.es) [11.09.2019]
- Liira, J., Issak, M., Jõgar, Ü., Mändoja, M., Zobel, M. 2009. Restoration Management of a Floodplain Meadow and Its Cost-Effectiveness — the Results of a 6-Year Experiment,". *Annales Botanici Fennici* 46: 397-408.
- Lorenzen, B., Brix, H., McKee, K.L., Mendelssohn, I.A., Miao, S. 2000. Seed germination of two Everglades species, *Cladium jamaicense* and *Typha domingensis*. *Aquatic Botany* 66: 169-180.



- Megre, D., Dokane, K., Roze, D., Strode, L. 2017. Effect of environmental factors on growth and physiological status of generative shoots of *Cladium mariscus* in a protected calcareous fen habitat. *Environmental and Experimental Biology* 15: 137-142.
- Millennium Ecosystem Assessment. 2005. Ecosystems and Human Well-being: Wetlands and Water: Synthesis. *World Resources Institute. Washington DC.*
- Mitsch, W.J. & Gosselink, J.G. 2000. The value of wetlands: importance of scale and landscape setting. *Ecological Economics* 35: 25-33.
- Mitsch, W.J., Wu, X., Nairn, R.W., Weihe, P.E., Wang, N., Deal, R., Boucher, C.E. 1998. Creating and Restoring Wetlands. *BioScience* 48: 1019-1027.
- Monette, D. & Markwith, S. 2012. Hydrochory in the Florida Everglades: Temporal and Spatial Variation in Seed Dispersal Phenology, Hydrology, and Restoration of Wetland Structure. *Ecological restoration* 30: 180-191.
- Moreno-Mateos, D. & Comín, F. A. 2010. Integrating objectives and scales for planning and implementing wetland restoration and creation in agricultural landscapes. *Journal of Environmental Management*. 91: 2087-2095.
- Moreno-Mateos, D., Meli, P., Vara-Rodríguez, M. I., Aronson, J. 2015. Ecosystem response to interventions: lessons from restored and created wetlands ecosystems. *Journal of Applied Ecology*. 52: 1528-1537.
- Namura-Ochalska, A. 2005. Contribution to the characteristic of *Cladium mariscus* (L.) Pohl population in the initial zone of floating mat on an oligo-humotrophic lake in north-eastern Poland. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 74: 167-173.
- Ortiz-Llorente, M. J. 2013. Sequía y ciclo del CO<sub>2</sub>: Respuesta de las plantas emergentes en un humedal. Tesis Doctoral, Universidad Complutense. Madrid.
- Pérez, A., Pompa-García, M., Solís, R., & Chacón, J. 2014. Dinámica dasométrica del huerto clonal de *Pinus arizonica* en los bosques del sur de Chihuahua. En: M. Ramos, V. Aguilera (eds), *Ciencias Agropecuarias Handbook T-II*, ECORFAN, México DF. pp., 104–112.
- Pérez Amaro, J.A., García Moya, E., Enríquez Quiroz, J.F., Quero Carrillo, A.R., Pérez Pérez, J., Hernández Garay, A. 2004. Análisis de crecimiento, área foliar específica y concentración de nitrógeno en hojas de pasto "mulato" (*Brachiaria híbrido*, cv.). *Técnica Pecuaria en México* 42: 447-458.
- Pérez-González, M.E. 1995. Humedales de la confluencia de los ríos Riansares y Cigüela: Estudio de ciertas funciones relevantes en Geografía Física. Tesis Doctoral. Universidad Complutense. Madrid.

- Pokorný, P., Sádlo, J., Bernardová, A. 2010. Holocene history of *Cladium mariscus* (L.) Pohl in the Czech Republic. Implications for species population dynamics and palaeoecology. *Acta Paleobotanica* 50: 65-76.
- Pollux, B.J.A., Jong, M.D., Steegh, A., Verbruggen, E., Van Groenendael, J.M., Ouborg, N.J. 2007. Reproductive strategy, clonal structure and genetic diversity in populations of the aquatic macrophyte *Sparganium emersum* in river systems. *Ecology* 16: 313-325.
- Ponzio, K.J., Miller, S.J., Lee, M.A. 1995. Germination of sawgrass, *Cladium jamaicense* Crantz, under varying hydrologic conditions. *Aquatic Botany* 51: 115-120.
- Porra, R.J., Thompson, W.A., Kriedemann, P.E. 1989. Determination of Accurate Extinction Coefficients and Simultaneous-Equations for Assaying Chlorophyll-a and Chlorophyll-b Extracted with 4 Different Solvents— verification of the Concentration of Chlorophyll Standards by Atomic-Absorption Spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta*. 975: 384-394.
- Poulsen, J.B., Hansen, F., Ovesen, N.B., Larsen, S.E., Kronvang, B. 2014. Linking floodplain hydraulics and sedimentation patterns along a restored river channel: River Odense, Denmark. *Ecological Engineering* 66: 120-128.
- Ramsar (Convenio sobre los humedales). 2015. *Ramsar Fact Sheet 3 Wetlands: a global disappearing act*. Gland, Switzerland.
- Rasmussen, P. & Anderson, J. 2005. Natural and anthropogenic forcing of aquatic macrophyte development in a shallow Danish lake during the last 7000 years. *Journal of Biogeography* 32: 1993-2005.
- Rees, M. 1994. Delayed Germination of Seeds: A Look at the Effects of Adult Longevity, the Timing of Reproduction, and Population Age/Stage Structure. *American Naturalist* 144: 43-64.
- Riis, T., Baattrup-Pedersen, A., Poulsen, J.B., Kronvang, B. 2014. Seed germination from deposited sediments during high winter flow in riparian areas. *Ecological Engineering* 66: 103-110.
- Ruiz-Jaen, M. C. & Mitchell Aide, T. 2005, Restoration Success: How Is It Being Measured?. *Restoration Ecology* 13: 569-577
- Sáez-Royuela, R. 1977. Contribución al estudio ecológico de Las Tablas de Daimiel III. Las aguas (1974–1975). *Anales INIA. Serie Recursos Naturales* 3:101–149.
- Saltmarsh, A., Mauchamp, A., Rambal, S. 2006. Contrasted effects of water limitation on leaf functions and growth of two emergent co-occurring plant species, *Cladium mariscus* and *Phragmites australis*. *Aquatic Botany* 84: 191-198.

- Sánchez-Carrillo, S. & Álvarez-Cobelas, M. 2010. Climate and Hydrologic Trends: Climate Change Versus Hydrologic Overexploitation as Determinants of the Fluctuating Wetland Hydrology. En: Sánchez-Carrillo, S., y D. G. Angeler (eds). *Ecology of Threatened Semi-Arid Wetlands: Long-Term Research in Las Tablas de Daimiel*. Springer. Dordrecht. pp. 45- 83.
- Sánchez-Carrillo, S. & Angeler, D.G. 2010. *Ecology of Threatened Semi-Arid Wetlands: Long-Term Research in Las Tablas de Daimiel*. Springer. Dordrecht.
- Sánchez-Carrillo, S., Álvarez-Cobelas, M., Cirujano, S., Carrasco-Redondo, M., Díaz-Cambroner, A. 2016. La información a largo plazo como herramienta clave para la evaluación de los cambios ambientales en las tablas de Daimiel: LTER-Daimiel. *Ecosistemas* 25: 04-08.
- Sánchez-Carrillo, S., Angeler, D.G., Cirujano, S., Álvarez-Cobelas, M. 2010. The Wetland, Its Catchment Settings and Socioeconomic Relevance: An Overview. En: Sánchez-Carrillo, S., y D. G. Angeler (eds). *Ecology of Threatened Semi-Arid Wetlands: Long-Term Research in Las Tablas de Daimiel*. Springer. Dordrecht. pp. 3 – 18.
- Suding, K.N. 2011. Toward an Era of Restoration in Ecology: Successes, Failures, and Opportunities Ahead. *The Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 42: 465-487.
- UNESCO. 2019. [www.unesco.org/new/en/natural-sciences/environment/ecological-sciences/biosphere-reserves/europe-north-america/spain/mancha-humeda/](http://www.unesco.org/new/en/natural-sciences/environment/ecological-sciences/biosphere-reserves/europe-north-america/spain/mancha-humeda/) [23.07.2019]
- Valbuena Carabaña, M. & Gil, L. 2013. ¿Reduce el aprovechamiento en monte bajo de *Quercus pyrenaica* Willd. sus niveles de diversidad genética?. *6º Congreso Forestal Español*, Vitoria-Gasteiz.