



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior  
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica  
y del Medio Natural

Evaluación de la tolerancia a la salinidad de *Limonium  
iritaense* en apoyo a los programas de conservación de  
esta especie amenazada

Trabajo Fin de Grado

Grado en Ingeniería Forestal y del Medio Natural

AUTOR/A: Domínguez Imoberdorff, Ernesto

Tutor/a: Boscaiu Neagu, Mónica Tereza

Director/a Experimental: MIRCEA, DIANA MARIA

CURSO ACADÉMICO: 2023/2024

**UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA**  
**Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica  
y del Medio Natural**



**UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA**



**Escuela Técnica Superior  
de Ingeniería Agronómica  
y del Medio Natural**

**“Evaluación de la tolerancia a la salinidad de *Limonium  
irtaense*, en apoyo a los programas de conservación de esta  
especie amenazada”**

TRABAJO FINAL DE GRADO

Grado en Ingeniería Forestal y del Medio Natural

Autor: Ernesto Domínguez Imoberdorff

Tutora: Mónica Tereza Boscaiu Neagu

Directora experimental: Diana Maria Mircea

Valencia, enero 2024

## Resumen

*Limonium irtaense* P.P. Ferrer *et al.* es una especie endémica exclusiva de la Comunidad Valenciana, descrita recientemente en 2015, con sólo dos poblaciones en la Sierra de Irta. Representa una de las especies vegetales más amenazadas de este territorio, ya que sus dos poblaciones incluyen menos de 20 individuos. Por este motivo, se han adoptado medidas urgentes de conservación *in situ* y *ex situ*. Se han obtenido tres huertos semilleros con varios centenares de individuos y se ha iniciado la creación de neopoblaciones en zonas costeras cercanas. Para apoyar este valioso método de conservación *in situ*, es necesario un buen conocimiento de la capacidad de tolerancia al estrés ambiental de las especies introducidas. *L. irtaense* es una planta halófila, como la mayoría de las del género *Limonium*. Sin embargo, no existe información sobre la tolerancia a niveles de salinidad de esta especie. El objetivo de este trabajo ha sido comprobar la tolerancia a la salinidad en ejemplares proporcionados por el Centro de investigación y Experimental CIEF. Las plantas se han sometido a tratamientos con riego salino en condiciones controladas de invernadero. Se ha efectuado un seguimiento fenológico de todas las plantas y al final de los tratamientos se han medido parámetros de crecimiento y reproductivos. Finalmente, se ha comprobado la capacidad germinativa de las semillas producidas por estas plantas. Los datos obtenidos se trasladarán al CIEF para ser utilizadas en la selección de las zonas de reintroducción de esta especie en peligro crítico.

**Palabras clave:** conservación; endemismo; halófito; salinidad; crecimiento vegetativo; germinación

## Abstract

*Limonium irtaense* P.P. Ferrer *et al.* is an endemic species exclusive to the Valencian Community, recently described in 2015, with only two populations in the Sierra de Irta. It represents one of the most endangered plant species of this territory, since its two populations include less than 20 individuals. For this reason, urgent *in situ* and *ex situ* conservation measures have been taken. Three seed orchards with several hundred individuals have been obtained and the creation of neopopulations in nearby coastal areas has been initiated. To support this valuable *in situ* conservation method, a good knowledge of the environmental stress tolerance capacity of introduced species is necessary. *L. irtaense* is a halophilic plant, like most species of this genus. However, there is no information on the tolerance to salinity levels of this species. The objective of this work was to test the tolerance to salinity in specimens provided by the CIEF Research and Experimental Centre. Plants were subjected to saline irrigation treatments under controlled greenhouse conditions. All plants were phenologically monitored and growth and reproductive parameters were measured at the end of the treatments. Finally, the germination capacity of the seeds produced by these plants was checked. The data obtained will be transferred to CIEF to be used in the selection of areas for the reintroduction of this critically endangered species.

**Key words:** conservation; endemic; halophyte; salinity; vegetative growth; germination

# ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN .....	1
1.1.	Conservación de la biodiversidad vegetal en la Comunidad Valenciana .....	1
1.2.	Factores de estrés abiótico en los ecosistemas mediterráneos .....	2
1.3.	Las plantas halófitas .....	3
1.4.	Genero <i>Limonium</i> Mill. ....	4
1.5.	<i>Limonium irtaense</i> P.P. Ferrer <i>et al.</i> .....	5
1.6.	Germinación de las semillas, momento clave en el ciclo biológico de las plantas .....	9
2.	OBJETIVOS.....	10
3.	MATERIAL Y MÉTODOS .....	12
3.1.	Material vegetal .....	12
3.2.	CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS .....	12
3.3.	Germinación de las semillas .....	13
3.4.	Medición de las plántulas.....	14
3.5.	Tratamiento estadístico de los datos .....	15
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS .....	16
4.1.	Efecto de la salinidad sobre el crecimiento de las plantas .....	16
4.2.	Efecto de la salinidad sobre la germinación de las semillas .....	17
4.3.	Efecto de la salinidad sobre la recuperación de la germinación de las semillas .....	22
4.4.	El análisis del efecto conjunto del origen de las semillas y las condiciones de germinación.....	23
5.	CONCLUSIONES .....	28
6.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	29

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Grado de relación del trabajo con los objetivos de desarrollo sostenible (ODS).....	11
Tabla 2. Medias de distintos valores medidos en plantas de <i>Limonium irtaense</i> . Los valores representas medias seguidas de ES.....	16
Tabla 3. Efecto de la salinidad sobre la capacidad germinativa y velocidad de la germinación (MGT) de las semillas producidas por las plantas cultivadas en diferentes condiciones de salinidad.....	18
Tabla 4. Efecto de la salinidad sobre otros parámetros de germinación: primer día de germinación (FGD), último día de la germinación (LGD), dispersión temporal de la germinación (TSG) y el índice de germinación (GI) de las semillas producidas por las plantas cultivadas en diferentes condiciones de salinidad.....	20
Tabla 5. Efecto de la salinidad sobre los parámetros relacionados con las plántulas, longitud del hipocótilo, de la radícula y de la plántula y el índice de vigor de la plántula SVI de las semillas producidas por las plantas cultivadas en diferentes condiciones de salinidad.....	21
Tabla 6. Recuperación de la capacidad germinativa respecto al tratamiento de la semilla de <i>Limonium irtaense</i> .....	23
Tabla 7. ANOVA de dos factores considerando el origen de las semillas (Factor A) y el tratamiento (factor B) y su interacción.....	24

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Huerto semillero de <i>Limonium irtaense</i> en el vivero del Centro para la investigaciones y Experimentación Forestal (CIEF). Fuente NAVARRO PERIS <i>et al.</i> , 2020. ....	2
Figura 2. Mapa de distribución de <i>Limonium irtaensis</i> ; planta natural de las montañas de Irta. Creación propia.....	5
Figura 3. Hábito de <i>Limonium irtaense</i> ( <a href="http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.234.3.7">http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.234.3.7</a> ) .....	6
Figura 4. <i>Limonium irtaensis</i> : (a) espigas; (b) hojas; (c-d) bráctea externa, superficies adaxial y abaxial; (e) bráctea media; (f) bráctea interna; (g-h) cáliz; (i) fruto. ( <a href="http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.234.3.7">http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.234.3.7</a> ) .....	7
Figura 5. Ejemplares de una de las dos poblaciones de <i>Limonium irtaense</i> de la Sierra de Irta. Fuente NAVARRO PERIS <i>et al.</i> , 2020.....	7
Figura 6. Plantación de individuos de <i>Limonium irtaense</i> en 2019 para la creación de una neopoblación en un acantilado en la zona de la Sierra de Irta. Fuente NAVARRO PERIS <i>et al.</i> , 2020 .....	8
Figura 7. Limpieza de las semillas .....	13
Figura 8. Muestra de 25 semillas de <i>Limonium irtaense</i> (control) en placas Petri.....	13
Figura 9. Cámara de germinación y placas Petri durante en ensayo de germinación.....	14
Figura 10. Medición de la radícula y su captura de imagen a través del programa Digimizer v.4.6.1.....	15
Figura 11. Imagen de las plantas al final de los 18 semanas de riego en invernadero con agua de grifo (izquierda) y soluciones 50, 100, 200 y 300 mM NaCl (derecha).....	16
Figura 12. Imagen de las flores al final de las 18 semanas de riego en invernadero con agua de grifo (izquierda) y solución de 300 mM NaCl (derecha).....	17
Figura 13. Variación del porcentaje de germinación en todas las combinaciones de origen de las semillas (primer valor) y condición de germinación (segundo valor) en el eje OX .....	25
Figura 14. Variación del tiempo de la velocidad de germinación (MGT) en todas las combinaciones de origen de las semillas (primer valor) y condición de germinación (segundo valor) en el eje OX.....	26
Figura 15. Variación del índice de vigor de la plántula en todas las combinaciones de origen de las semillas (primer valor) y condición de germinación (segundo valor) en el eje OX .....	27

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Conservación de la biodiversidad vegetal en la Comunidad Valenciana

La biodiversidad de España es extraordinariamente rica y destaca por su gran variedad de especies y ecosistemas. A pesar de no ser uno de los países megadiversos del mundo, España alberga el mayor número de especies animales y vegetales de Europa, con cerca del 54% de las especies europeas y el 5% de las especies mundiales. La flora española incluye más de 10.000 especies, de las cuales aproximadamente 6.500 son plantas vasculares (BUIRA *et al.*, 2017). Esta gran riqueza florística se debe a varios factores, en primer lugar, a la posición geográfica de la Península Ibérica, entre África y Eurasia, así como a su relativo aislamiento. Además, la considerable biodiversidad vegetal y el alto porcentaje de endemismos de la Península Ibérica son atribuibles a sus heterogéneas condiciones ambientales y complejos procesos históricos (BUIRA *et al.*, 2017).

En cuanto a la Comunidad Valenciana, la región cuenta con más de 3.000 especies de plantas superiores, incluyendo 127 endemismos valencianos y otros 218 endemismos ibéricos con una amplia distribución interregional (AGUILLELLA *et al.*, 2010). La Comunidad Valenciana es una de las regiones con mayor riqueza florística, al tener una localización geográfica que le confiere unas características climáticas particulares que, añadidas a su variada litología, disposición y estructura del relieve, red hidrográfica y zonas húmedas, determinan un rico mosaico de hábitats que, en muchos casos, sustenta una flora especializada y única. La importancia de su diversidad no sólo radica en el elevado número de táxones, sino también en el de endemismos, localizados en su mayoría en roquedos, acantilados, matorrales xéricos y terrenos baldíos, áreas que pueden ser fácilmente objeto de alteraciones por parte del hombre (PADILLA BLANCO, 2002). La protección y conservación de esta rica biodiversidad vegetal es fundamental para el equilibrio de los ecosistemas y el bienestar humano. La Comunidad Valenciana ha experimentado una intensa ocupación del territorio en paralelo al desarrollo económico, sobre todo desde los años setenta. Esto se debe principalmente al turismo costero, que ha provocado una disminución del número de especies de flora y un mayor riesgo de extinción de algunas especies raras o endémicas. En las últimas décadas los esfuerzos para la conservación de la flora endémica, rara y amenazada de esta región se han intensificado y a la vez la metodología empleada se ha diversificado (FERRER-GALLEGO *et al.*, 2019). En primer lugar, se recurre a censos de estas especies, contabilizando de forma periódica el número de ejemplares y sobre todo los efectivos reproductores, para poder conocer de manera precisa y objetiva el estado de amenaza y aplicar los criterios UICN para la evaluación del estado real de las poblaciones. Una herramienta de gran valor para la conservación *ex situ* que se aplica en la Comunidad es la colección y conservación de semillas (FERRANDO-PARDO *et al.*, 2016). La conservación de semillas a corto y largo plazo se realiza según el método habitualmente empleado en bancos de germoplasma (BACCHETTA *et al.*, 2008). Otra estrategia de conservación *ex situ* es la producción de planta y el mantenimiento de material vegetal en condiciones in vitro, que permite aumentar el número de poblaciones y efectivos *in situ*, ya que tales plantas serán posteriormente translocadas al medio natural mediante plantaciones dentro del área geográfica incluida en el plan de recuperación.

Las plantas que se liberan en su hábitat natural en el proceso de translocación suelen producirse por germinación de semillas, y este proceso sólo se consigue utilizando material que se ha multiplicado en colecciones de plantas que se mantienen fuera del lugar. Estas colecciones tienen dos finalidades: en primer lugar, permiten disponer de una gran cantidad de semillas; en segundo lugar, evitan la alteración indebida de las poblaciones naturales (Figura 1).





Figura 1. Huerto semillero de *Limonium irtaense* en el vivero del Centro para la investigaciones y Experimentación Forestal (CIEF). Fuente NAVARRO PERIS *et al.*, 2020.

Para la planificación de las translocaciones es necesario disponer de la mayor información técnica y científica disponible, con el objeto de minimizar los riesgos y procurar las mayores garantías de éxito. En este sentido un buen conocimiento de la biología de las especies amenazadas, incluyendo su tolerancia a los factores de estrés ambiental es absolutamente necesario (GONZÁLEZ-ORENGA *et al.*, 2022).

## 1.2. Factores de estrés abiótico en los ecosistemas mediterráneos

Las plantas son susceptibles a una amplia gama de factores ambientales estresantes bióticos y abióticos. Cualquier elemento no vivo que reduzca la capacidad de una planta para crecer mediante fotosíntesis y convertir la energía que cosecha en acumulación de biomasa se denomina estresor abiótico (GRIME, 1977).

Los estresores abióticos pueden clasificarse como químicos o físicos en función del agente responsable de los mismos. La radiación, las temperaturas extremas, la sal (en su componente osmótico) y el estrés hídrico, ya sea por exceso o por defecto, son los factores físicos (físicoquímicos) más importantes. Por el contrario, la salinidad (en su componente iónico), la falta de elementos minerales y la contaminación atmosférica por metales pesados son los factores químicos más destacados. La sequía y la salinidad son los factores de estrés ambiental más importantes en la reducción del rendimiento de las especies vegetales en todo el mundo (MAHAJAN y TUTEJA, 2005).

La acumulación de sales solubles en agua en el suelo hasta un grado que compromete la viabilidad económica, la salud medioambiental y la producción agrícola se conoce como salinización del suelo (RENGASAMY, 2006). La "salinidad primaria" se refiere a la salinidad que surge de forma natural. La salinidad primaria afecta a vastas extensiones de tierra en todo el mundo que nunca se han utilizado para la agricultura debido a la sensibilidad de los cultivos al estrés salino. La salinización del suelo causada por la actividad humana, en particular por los

sistemas de riego extendidos con un drenaje inadecuado y el uso excesivo y no regulado de fertilizantes, se conoce como "salinidad secundaria " y representa un serio problema para la agricultura en más de 100 países de todo el mundo, aunque las regiones áridas y semiáridas son las más afectadas (RENGASAMY, 2006).

Las predicciones climáticas, así como los datos meteorológicos ya recogidos en las primeras dos décadas de este siglo indican un aumento del estrés abióticos en directa relación con el calentamiento global, particularmente en la región mediterránea, donde las sequías son cada vez más severas y frecuentes y las temperaturas siguen en continuo aumento (IPCC, 2021). Así, el cambio climático representa uno de los mayores retos ambientales del siglo XXI, acentuado por la deforestación y la degradación del hábitat.

Por este motivo, en los últimos años ha aumentado el interés por el estudio de las respuestas y mecanismos de defensa de las plantas a los diferentes factores ambientales, ya que éstos están afectando a la conservación de muchas especies, así como a su producción y desarrollo.

### 1.3. Las plantas halófitas

Las plantas que pueden soportar cierto grado de salinidad del suelo se conocen como halófitas. Las halófitas presentan un amplio rango de tolerancias: algunas especies pueden soportar salinidades superiores a las del agua de mar, mientras que otras están adaptadas a crecer en los márgenes de marismas o lagunas, o a alcanzar su máximo desarrollo bajo niveles moderados de salinidad. No obstante, en general se considera que las halófitas son plantas de ambientes naturalmente salinos capaces de terminar su ciclo vital en suelos con salinidades comparables al menos a 200 mM de NaCl (FLOWERS y COLMER, 2008).

Las plantas halófilas son las que constituyen principalmente la vegetación de marismas, salinas, lagunas, zonas dunares y acantilados. Los ecosistemas salinos se enfrentan a graves peligros en la Península Ibérica y en muchas otras partes del mundo. En el pasado, los saladares se eliminaban si había asentamientos humanos cercanos, ya que se consideraban insalubres. La superficie habitada por este tipo de ecosistema también ha disminuido como consecuencia de la presión ejercida por la expansión turística y agrícola. A todo ello hay que añadir los efectos del cambio climático, especialmente en la zona mediterránea, que provoca un aumento de la temperatura y sequías cada vez más intensas y duraderas. En el litoral levantino español, y en particular en la Comunidad Valenciana, la situación de estos ecosistemas es especialmente crítica. La franja costera de la Comunidad Valenciana soporta la práctica totalidad de la actividad agrícola, gran parte de la actividad industrial y grandes núcleos de población, junto con una enorme presión turística, lo que ha sometido a estos ecosistemas a grandes impactos durante las últimas décadas del siglo pasado, además de las amenazas derivadas de la acción humana, los saladares costeros mediterráneos son ecosistemas especialmente sensibles a los efectos del cambio climático, con un aumento de las temperaturas medias, un incremento de la frecuencia, intensidad y duración de los periodos de sequía, "olas de calor" y otros fenómenos extremos, así como cambios en los patrones climáticos estacionales (IPCC, 2021). Todo ello provocará probablemente un aumento de la salinidad del suelo, que puede afectar a la biodiversidad de la vegetación halófila, llegando a provocar la desaparición de algunas especies en zonas concretas, aunque, como se ha comprobado en otros estudios, algunas halófitas disponen de mecanismos que les permiten adaptarse rápidamente a un aumento del nivel de estrés salino, mediante la activación de respuestas de defensa específicas (FLOWERS y COLMER, 2008).

#### 1.4. Género *Limonium* Mill.

El género *Limonium* Mill. que pertenece a la familia Plumbaginaceae, comprende unas 400 especies de plantas herbáceas perennes o subarborescentes, la gran mayoría del Mediterráneo (ERBEN, 1978). Incluyendo las numerosas microespecies descritas recientemente, endémicas de pequeños territorios, el número total de táxones de este género puede ser de alrededor de unas 600 especies. Estas se caracterizan por tener las hojas simples, enteras o lobuladas, dispuestas en roseta basal o helicoidal, flores pequeñas, de color rosa, violeta, blanco o amarillo, agrupadas en espiguillas rodeadas de brácteas, y de frutos en cápsulas con una sola semilla (ERBEN, 1992). Hay que destacar en este género la presencia de adaptaciones a ambientes salinos, como glándulas secretoras de sal, la acumulación de osmolitos y otros mecanismos bioquímicos, la reducción de la superficie foliar o la formación de cutículas gruesas, que le permiten sobrevivir en zonas costeras, marismas, lagunas saladas o suelos yesíferos o alcalinos del interior.

En la región mediterránea, *Limonium* es extremadamente rico a nivel taxonómico, con un 70% del número total de especies endémicas (KOUTROUMPA *et al.*, 2018); es el género más rico en especies endémicas de las floras vasculares de Italia, España y Grecia (BUIRA *et al.*, 2017). El género incluye muchos taxones amenazados, 159 especies están catalogadas en todo el mundo en listas rojas, libros rojos o listas de especies protegidas a nivel nacional y regional (UICN, 2020). Sin embargo, la mayor concentración de especies endémicas y amenazadas se encuentra principalmente en las regiones costeras mediterráneas (LAGUNA *et al.*, 2020). Muchas de estas especies crecen en comunidades vegetales que en la Comunidad Europea están incluidas dentro de la Directiva 92/43 CEE como hábitats prioritarios de *Chritmo-Limonietalia* "1240 Acantilados marinos vegetados de las costas mediterráneas con *Limonium* endémicos" y de *Limonietalia* "1510 Estepas salinas mediterráneas". Los primeros hábitats son ambientes salinos específicos, en los que sólo pueden prosperar halófitas muy especializadas, mientras que los segundos se encuentran a lo largo del litoral mediterráneo y en los bordes de los saladares interiores (COUNCIL DIRECTIVE 92/43/EEC).

*Limonium* es el género más rico en especies endémicas de toda la flora vascular de la Península Ibérica Península Ibérica y Baleares con 107 especies incluidas en la Flora Iberica (ERBEN, 1993), cantidad a la que hay que sumar al menos 19 especies recientemente descritas e incluidas en el proyecto "Flora Ibérica" (<http://www.floraiberica.es/>). En las costas orientales españolas, dada la abundancia de especies endémicas micro distribuidas de este género, se ha llegado a decir que cada cabo o sector costero tiene su propia especie de *Limonium* (COSTA *et al.*, 1984). De las 29 especies en la Comunidad Valenciana, 15 (51,72%) son endemismos valencianos exclusivos y 7 (24,14%) son endemismos ibero-levantinos, lo que suma un total de 22 endemismos, representado el 75,86% del total de las especies de *Limonium* en este territorio.

Las especies de *Limonium* se encuentran en playas arenosas, acantilados y saladares en zonas costeras, pero también en zonas continentales en lagunas, prados salinos, estepas y zonas muy áridas. La mayoría de las especies de este género se consideraban halófitas facultativas, ya que muchas tienen un crecimiento óptimo en ausencia de salinidad, pero aparecen en la naturaleza sólo en suelos salinos, sobre todo debido a la escasa competencia con otras especies vegetales en hábitats no salinos (ERBEN, 1993). Aun así, muchas especies de *Limonium* toleran altas concentraciones salinas y se comportan como verdaderas halófitas, con un crecimiento

óptimo bajo salinidad moderada, y casi todas son exclusivas de hábitats salinos (GONZÁLEZ-ORENGA *et al.*, 2021)

### 1.5. *Limonium irtaense* P.P. Ferrer *et al.*

*Limonium irtaense*, también llamada siempreviva de Irta, es un endemismo, únicamente localizado en la Serra d'Irta en España (Figura 2). Esta especie fue descubierta en 2011 y descrita oficialmente en 2015. En aquel momento, solo se conocían 19 plantas de esta especie, que representan toda su población mundial (NAVARRO PERIS *et al.*, 2020). A pesar de los intentos de cultivar más plantas en áreas cercanas, garantizar la supervivencia de esta especie continúa siendo un desafío (NAVARRO PERIS *et al.*, 2020).

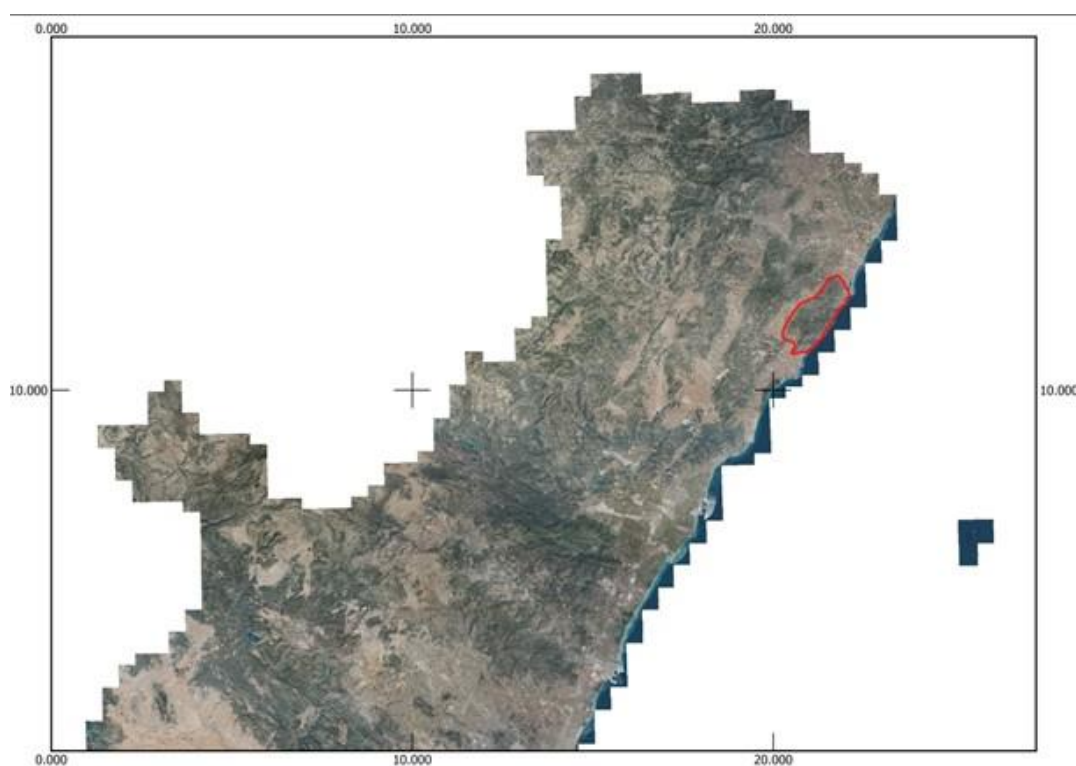


Figura 2. Mapa de distribución de *Limonium irtaensis*; planta natural de las montañas de Irta. Creación propia

Es una planta perenne que puede alcanzar una altura de entre 40 y 70 cm, con uno a tres tallos y un caudice robusto y leñoso. Sus tallos miden de 25 a 45 cm de largo, son lisos, erectos, rectos y glabros (Figura 3). Las hojas basales son de color verde durante la floración, aunque algunas pueden marchitarse. La planta tiene una inflorescencia abierta de 15 a 30 cm de longitud, con espiguillas dispuestas de manera suelta. Las espigas son sueltas, rectas o ligeramente curvadas hacia abajo, y las espiguillas tienen de una a tres flores (FERRER-GALLEGO *et al.*, 2015).

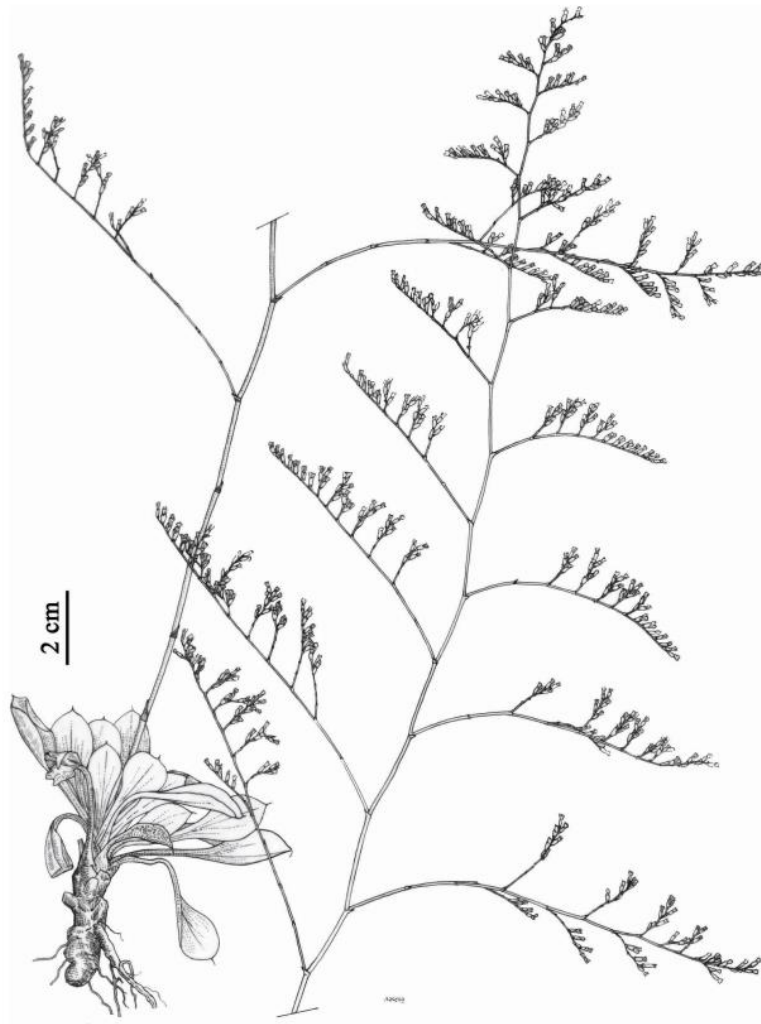


Figura 3. Hábito de *Limonium irtaense* (<http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.234.3.7>)

Las flores, de 3 a 5 mm de diámetro, tienen un cáliz que sobrepasa la bráctea interna por 1 a 1.6 mm (Figura 4). El tubo del cáliz está cubierto de pelos en todos los lados excepto en uno, y los dientes son ampliamente triangulares-ovados y obtusos. Los pétalos son de color violeta, emarginados y cuneiformes, y el estigma es papilado. El polen tiene un retículo fino y una malla estrecha, y el fruto mide 1.5 x 0.5 mm (FERRER-GALLEGO *et al.*, 2015).

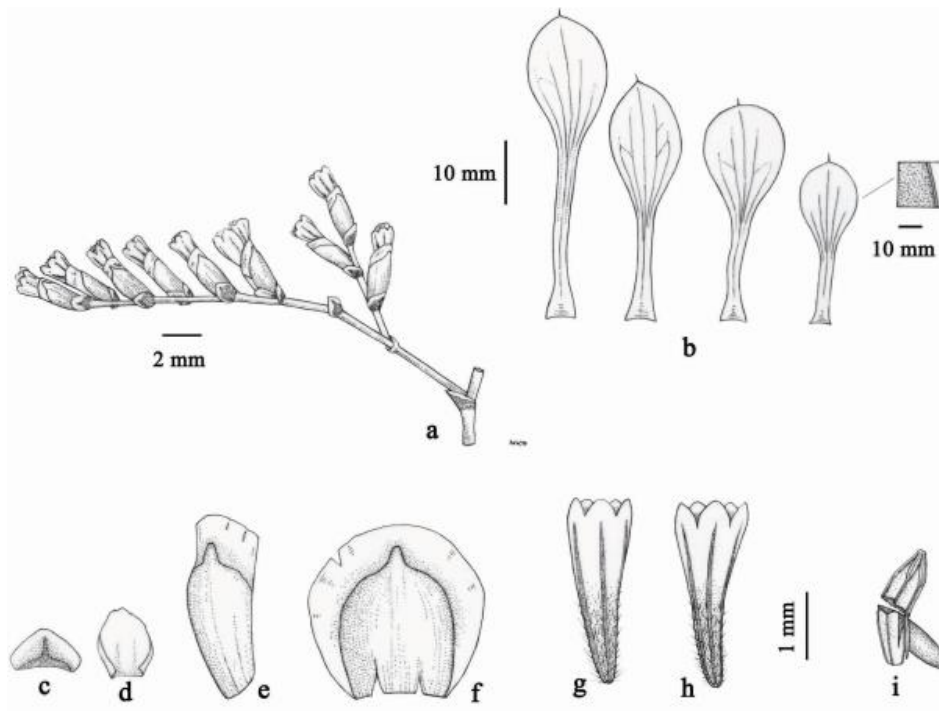


Figura 4. *Limonium irtaensis*: (a) espigas; (b) hojas; (c-d) bráctea externa, superficies adaxial y abaxial; (e) bráctea media; (f) bráctea interna; (g-h) cáliz; (i) fruto. (<http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.234.3.7>)

Como se ha mencionado anteriormente, una población de *Limonium irtaense* fue descubierta en 2011, concretamente en Cerromar, Peñíscola. Crece en un afloramiento de conglomerado calcáreo, perteneciente a los abanicos aluviales del cuaternario de gravas y arcillas, rico en fósiles y gravas finas. Durante los estudios de campo realizados entre 2013 y 2014, se detectaron 19 ejemplares de *Limonium irtaense*. En 2013, se descubrió un nuevo hábitat con 3 plantas en Cala Ordí (Peñíscola), que crecían en un suelo geológico parecido, pero con menos gravas (Figura 5).

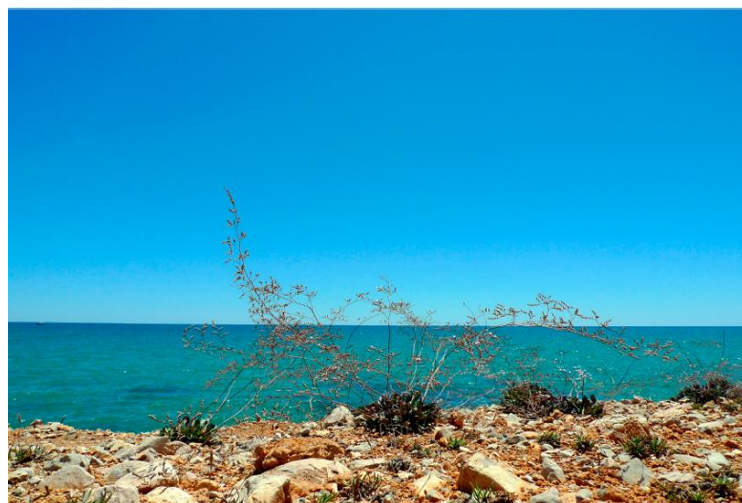


Figura 5. Ejemplares de una de las dos poblaciones de *Limonium irtaense* de la Sierra de Irta. Fuente NAVARRO PERIS et al., 2020

Dada la escasez de ejemplares y poblaciones, ambas situadas cerca de construcciones o carreteras, la especie se cataloga como "En Peligro Crítico" (CR) de acuerdo con la Categoría y Criterios de la Lista Roja de la UICN (2001, 2011). Según la lista de especies amenazadas de la Comunidad Valenciana proporcionada por AGUILLELLA *et al.* (2010), debería incluirse entre las especies vasculares valencianas con un riesgo extremadamente alto de extinción. También debería ser considerada como un endemismo absoluto valenciano. Para asegurar su supervivencia, el Centro de Investigación Forestal Aplicada (CIEF) comenzó en 2012 un programa de recuperación de esta especie mediante la propagación por semillas para obtener nuevas semillas/plantas para su conservación en el Banco de Germoplasma del CIEF y para la producción de plantas necesarias para la creación de neopoblaciones de esta especie (Figura 6).



Figura 6. Plantación de individuos de *Limonium irtaense* en 2019 para la creación de una neopoblación en un acantilado en la zona de la Sierra de Irta. Fuente NAVARRO PERIS *et al.*, 2020

La especie tiene unos requerimientos ecológicos muy concretos, ya que vive exclusivamente en repisas de roquedos calcáreos, en áreas cálidas y muy soleadas, sobre materiales jurásicos, de pH muy básico, siendo característico de la asociación *Crithmo maritimi-Limonietum girardiani*, acompañando al hinojo marino (*Crithmum maritimum*), el limonio de espiga densa (*Limonium girardianum*), la ensopeguera de roca (*Limonium virgatum*), la lechuguilla dulce (*Reichardia picroides* var. *maritima*) y la verdolaga marina (*Halimione portulacoides*)

*Limonium irtaense* se reproduce en general de forma asexual por semillas apomícticas, genéticamente idénticas a las plantas madre. Plantas con este tipo de reproducción pierden las ventajas de la reproducción sexual, pero tienen la prerrogativa de fijar genotipos altamente adaptados). También hay indicios de alogamia (reproducción sexual entre individuos genéticamente diferentes) pero es una forma de reproducción residual en esta especie triploide (FERRER-GALLEGO *et al.*, 2015).

En relación a los factores de riesgo para esta especie, el principal y más evidente peligro inherente se deriva del escaso número de individuos de la especie, que de hecho se ha reducido a un solo individuo en la cercana población de la Cala de Ordi y a sólo nueve en la población septentrional. Aunque esta amenaza suele considerarse grave, es importante tener en cuenta que la especie, como la mayoría de las plantas endémicas de su género, es triploide y apomíctica, lo que le permite sobrevivir con un solo ejemplar porque recurre a la producción vegetativa de semillas sin necesidad de fecundación cruzada (NAVARRO PERIS *et al.*, 2020).

Otros factores de amenaza lo representan la inestabilidad climática con fuertes tormentas en el mar que se están produciendo con mayor frecuencia, el incremento de turismo que conlleva mayor pisoteo y la sobre-nitrificación del suelo, así como la colonización de flora exótica (NAVARRO PERIS *et al.*, 2020).

## 1.6. Germinación de las semillas, momento clave en el ciclo biológico de las plantas

Este trabajo se centra en el análisis de la germinación de semillas. La semilla es la forma de reproducción sexual que adoptan las espermatofitas (gimnospermas y angiospermas), considerándose el mecanismo evolutivo más importante que han desarrollado los vegetales para adaptarse a diferentes ambientes.

La mayoría de las plantas experimentan en algún momento de su ciclo vital periodos durante los cuales su crecimiento queda temporalmente suspendido o por lo menos retardado. Éste fenómeno se conoce con el nombre de dormición o latencia y se manifiesta generalmente en yemas, semillas y tubérculos (RAVEN *et al.*, 1992). En algunas especies esta interrupción se debe a la presencia de condiciones ambientales desfavorables de humedad, oxígeno y temperatura. En tales casos hablamos de una dormición impuesta o quiescencia. En otros casos, no son las condiciones desfavorables la causa directa de la dormición. Hay semillas que son incapaces de germinar, aunque se encuentren en condiciones óptimas para la germinación; en estos casos, la dormición parece estar causada por condiciones adversas dentro del propio órgano que entra en esta fase de dormición, hablándose entonces de dormición innata o espontánea (BARCELÓ *et al.*, 2001).

Para que el proceso de germinación, es decir, la recuperación de la actividad biológica por parte de la semilla tenga lugar, es necesario que se den una serie de condiciones ambientales favorables como son: un sustrato húmedo, suficiente disponibilidad de oxígeno que permita la respiración y una temperatura adecuada para los distintos procesos metabólicos y el desarrollo de la plántula.

Se distinguen 3 fases sucesivas en el proceso de la germinación:

- ➔ Fase de hidratación: Proceso en el que la semilla absorbe agua de manera intensa a través de sus diversos tejidos. Generalmente este proceso va de la mano con un incremento proporcional en la actividad respiratoria de la semilla.
- ➔ Fase de germinación: Se corresponde con el verdadero proceso de la germinación, la semilla experimenta cambios metabólicos esenciales para el crecimiento de la plántula. A medida que avanza este proceso, la absorción de agua por la semilla disminuye notablemente.



- Fase de crecimiento: Se corresponde a la última fase del proceso de la germinación y se corresponde a la iniciación de los cambios morfológicos visibles en la semilla.  
Fisiológicamente esta fase se caracteriza por un constante incremento de la absorción de agua y de la actividad respiratoria.

Hasta la segunda fase de la germinación los procesos son en gran parte reversibles, a partir de la fase de crecimiento se entra en una situación fisiológica irreversible, de tal manera que una semilla que haya superado la fase de germinación tiene solo dos posibilidades: pasar a la fase de crecimiento y dar lugar a una plántula o morir (PÉREZ-GARCÍA y MARTÍNEZ-LABORDE, 1994).

## 2. OBJETIVOS

El cambio climático tiene un impacto significativo en la biodiversidad y puede afectar en gran medida especies raras, como es *Limonium irtaense*. Fenómenos como el aumento de temperaturas, la alteración de los hábitats naturales y la intensificación de eventos climáticos extremos pueden llevar a cambios en la distribución de las especies y a la pérdida de hábitats, lo que incrementa el riesgo de que especies ya vulnerables se acerquen más al borde de la extinción. La conservación de especies como *L. irtaense* requiere una acción urgente para mitigar los efectos del cambio climático y proteger la diversidad biológica única de la región.

El objetivo general de este proyecto es analizar las respuestas de *L. irtaense*, frente el incremento de la salinidad, factor edáfico muy variable y directamente relacionado con los efectos del calentamiento global.

Se proponen dos objetivos específicos: (1) comprobar el efecto del incremento de la salinidad sobre el desarrollo y la floración de esta especie mediante ensayos de crecimiento de las plantas en presencia de varias concentraciones de NaCl ; (2) testar la capacidad de germinación de las semillas producidas por las plantas cultivadas en las diferentes condiciones de salinidad, además, comprobaremos si las semillas mantienen su capacidad germinativa después de haber estado bajo la influencia de estas soluciones salinas.

Los resultados obtenidos serán transferidos a los organismos responsables de la gestión de esta especie muy amenazada y en peligro crítico de extinción.

RELACIÓN DEL TRABAJO CON LOS OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE DE LA AGENDA 2030

Tabla 1. Grado de relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS).

<b>Objetivos de Desarrollo Sostenibles</b>	<b>Alto</b>	<b>Medio</b>	<b>Bajo</b>	<b>No Procede</b>
ODS 1. <b>Fin de la pobreza.</b>				<b>X</b>
ODS 2. <b>Hambre cero.</b>				<b>X</b>
ODS 3. <b>Salud y bienestar.</b>				<b>X</b>
ODS 4. <b>Educación de calidad.</b>			<b>X</b>	
ODS 5. <b>Igualdad de género.</b>				<b>X</b>
ODS 6. <b>Agua limpia y saneamiento.</b>			<b>X</b>	
ODS 7. <b>Energía asequible y no contaminante.</b>				<b>X</b>
ODS 8. <b>Trabajo decente y crecimiento económico.</b>				<b>X</b>
ODS 9. <b>Industria, innovación e infraestructuras.</b>		<b>X</b>		
ODS 10. <b>Reducción de las desigualdades.</b>				<b>X</b>
ODS 11. <b>Ciudades y comunidades sostenibles.</b>		<b>X</b>		
ODS 12. <b>Producción y consumo responsables.</b>			<b>X</b>	
ODS 13. <b>Acción por el clima.</b>	<b>X</b>			
ODS 14. <b>Vida submarina.</b>				<b>X</b>
ODS 15. <b>Vida de ecosistemas terrestres.</b>	<b>X</b>			
ODS 16. <b>Paz, justicia e instituciones sólidas.</b>				<b>X</b>
ODS 17. <b>Alianzas para lograr objetivos.</b>				

Reflexión sobre la relación del TFG con los ODS más relacionados.

ODS 13 - Acción por el clima: El Trabajo Final de Grado (TFG) desempeña un papel crucial en la lucha contra el cambio climático al centrarse en la conservación de *Limonium irtaense*, una especie endémica que se ve amenazada por el cambio climático. Al investigar y entender mejor su tolerancia a la salinidad, se contribuye a garantizar su supervivencia en un clima cambiante. Este trabajo no solo ayuda a proteger a *Limonium irtaense*, sino que también contribuye a la protección de la biodiversidad en general frente al cambio climático. Cada especie que se salva de la extinción es un paso hacia la preservación de nuestro ecosistema global, lo que es esencial para la vida en la Tierra.

ODS 15 - Vida de ecosistemas terrestres: Este objetivo se centra en la gestión sostenible de los bosques, la lucha contra la desertificación, la detención e inversión de la degradación de las tierras y la pérdida de biodiversidad. El TFG está directamente alineado con este objetivo. Al trabajar para conservar una especie vegetal amenazada, *Limonium irtaense*, se contribuye a mantener la biodiversidad y a proteger los ecosistemas terrestres. La conservación de esta especie no solo es importante para la biodiversidad local, sino que también puede tener implicaciones más amplias para la salud de los ecosistemas terrestres en general.

### 3. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1. Material vegetal

El material utilizado para el inicio de este análisis han sido plantas adultas, cultivadas y proporcionadas por Centro para la Investigación y Experimentación Forestal, Valencia (CIEF), España. Las semillas producidas por estas plantas se han empleado para los ensayos de germinación.

#### 3.2. CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS

Las plantas se cultivaron en macetas con unas dimensiones de 19 x 19 cm en el invernadero de la ETSIAMN. Los tratamientos de salinidad se iniciaron cuando empezó la formación de los primeros escapos floríferos. Se utilizaron cinco repeticiones por cada tratamiento (control - agua del grifo, 50 mM, 100 mM, 200 mM y 300 mM NaCl). Inicialmente, las plantas se regaron con 1,5 L de agua o solución de NaCl dos veces por semana, pero debido al aumento de la temperatura en la segunda parte del ensayo se regaron tres veces por semana con 2 L de agua o solución de NaCl (dos veces por semana con las soluciones de tratamiento y la tercera vez sólo con agua del grifo). Los tratamientos se finalizaron después de 18 semanas,

cuando las plantas ya habían producido frutos. Las plantas se muestrearon y se separaron las partes aéreas de las raíces, éstas se limpiaron con un cepillo y ambas partes (raíces y brotes) se midieron por separado.

### 3.3. Germinación de las semillas

Para comprobar la capacidad de germinación de las semillas, se separaron las semillas producidas por las plantas cultivadas en el invernadero. El fruto es una pequeña cápsula que contiene una sola semilla, parcialmente encerrada por el cáliz, lo que dificulta la extracción de las semillas que se ha efectuado bajo lupa, con la ayuda de unas pinzas y una lanceta (Figura 7).



Figura 7. Limpieza de las semillas

Una vez limpias, las semillas se situaron en placas Petri en placas de 60 milímetros de diámetro, sobre dos discos de papel de filtro, con 1,25 mL de agua destilada o con la misma cantidad de soluciones de 50, 100, 200 y 300 mM NaCl. En cada tratamiento se utilizaron 4 placas con 25 semillas cada una de ellas, sumando 100 semillas por tratamiento (Figura 8).

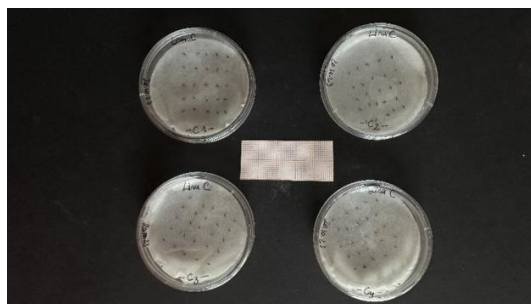


Figura 8. Muestra de 25 semillas de *Limonium irtaense* (control) en placas Petri

Las placas se conservaban en una cámara de germinación de la marca Equitec, configurada con una temperatura de día de 30°C durante 16 horas, y una temperatura de 20°C durante 8 horas de noche (Figura 9). La duración de cada tratamiento fue de 30 días, haciendo

revisiones diarias, para contar el número de semillas germinadas, suponiendo una semilla germinada, con la aparición de la radícula con longitud de un milímetro. Para evitar el secado de las plantas, todas ellas fueron selladas con parafilm.



*Figura 9. Cámara de germinación y placas Petri durante en ensayo de germinación*

Las semillas que no habían germinado del ensayo de germinación inicial se trasladaron a nuevas placas Petri en placas de 60 milímetros de diámetro, se colocaron dos discos de papel en la parte inferior, con 1,25 mL de agua destilada.

### 3.4. Medición de las plántulas

Para obtener una información más completa sobre el éxito reproductivo de las plantas sometidas a diferentes condiciones, además de testar la capacidad de la germinación de las semillas, la longitud de la radícula y del hipocótilo se midieron a dos semanas después del inicio del ensayo de germinación (Figura 10). Estas mediciones se realizaron a través del software Digimizer v.4.6.1 (MedCalc Software, Ostende, Bélgica, 2005-2016).

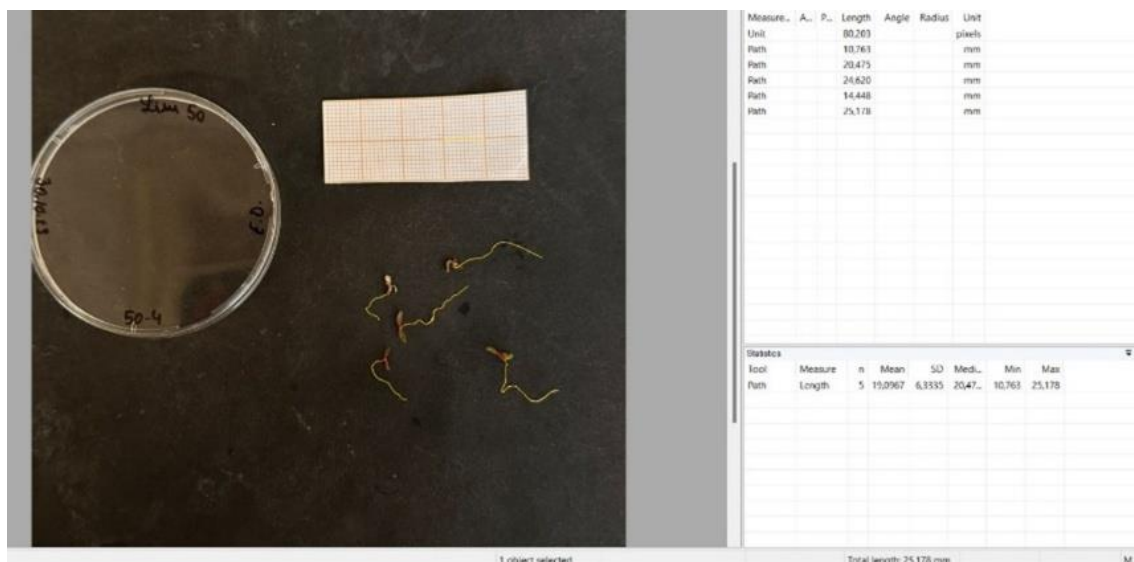


Figura 10. Medici3n de la radícula y su captura de imagen a través del programa Digim�er v.4.6.1

### 3.5. Tratamiento estadístico de los datos

Los datos se analizaron mediante el programa MICROSOFT OFFICE EXCEL 2007 y IBM SPSS STATISTICS v.16. Para testar el efecto de la salinidad sobre el crecimiento de las plantas en invernadero se utiliz3 un ANOVA de dos factores.

Para analizar el 3xito de la germinaci3n de las semillas producidas por las plantas cultivadas en diferentes condiciones de salinidad se realizaron los siguientes c3lculos siguiendo el trabajo de MIRCEA *et al.* (2023):

- la capacidad germinativa, expres3ndose en porcentaje de germinaci3n
- la velocidad de germinaci3n, obteni3ndose mediante el tiempo medio de germinaci3n (MGT).
- los 3ndices FGD y LGD (primer y 3ltimo d3a de germinaci3n, respectivamente), TSG (dispersi3n temporal de la germinaci3n, es el resultado de la diferencia entre LGD y FGD)
- GI (3ndice de germinaci3n), es una estimaci3n del tiempo (en d3as) que tarda en producirse un determinado porcentaje de germinaci3n. Se calcula como  $\sum G/T$ , donde G es el n3mero de semillas germinadas en un d3a determinado, y T es el n3mero de d3as transcurridos desde el inicio del experimento hasta ese d3a.
- MGT (tiempo medio de germinaci3n), es  $\sum(n \times d) / N$ , donde n = n3mero de semillas germinadas cada d3a, d = n3mero de d3as transcurridos desde el inicio del ensayo, y N = n3mero total de semillas germinadas al finalizar el experimento.
- SVI (3ndice de vigor de la pl3ntula) seg3n la formula

$$SVI = \frac{\text{Longitud de la pl3ntula (mm)} * \text{Porcentaje de germinaci3n}}{100}$$

La longitud de las pl3ntulas se obtuvo mediante la suma de las longitudes de la radícula y del hipoc3tulo.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

### 4.1. Efecto de la salinidad sobre el crecimiento de las plantas

Al finalizar los ensayos de crecimiento se analizaron varios parámetros vegetativos y reproductivos de las plantas cultivadas en diferentes condiciones de salinidad (Figura 11). En general, los tratamientos salinos provocan una inhibición del crecimiento, que se cuantifica mejor por la reducción relativa del peso de la parte aérea o radicular de la planta, en comparación con el control no estresado.



Figura 11. Imagen de las plantas al final de los 18 semanas de riego en invernadero con agua de grifo (izquierda) y soluciones 50, 100, 200 y 300 mM NaCl (derecha)

Sin embargo, el análisis de los parámetros de crecimiento indica solamente un ligero efecto de los tratamientos salinos sobre las plantas (Tabla 2). Aunque se observa una reducción en el número de hojas y del peso fresco de las raíces y hojas, esta variación es significativa solo en el primero debido a la variabilidad de los datos. En comparación con otros resultados publicados sobre el efecto del estrés salino en *Limonium*, los valores obtenidos son similares con los publicados por AL HASSAN *et al.* (2017) en cuatro especies del Parque natural de la Albufera, que mostraron también una alta tolerancia a la salinidad.

Tabla 2. Medias de distintos valores medidos en Plantas de *Limonium irtaense*. Los valores representan medias seguidas de ES (n = 5). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos según el test de Tukey (p <0,01)

Tratamiento	Longitud hoja más larga (cm)	Longitud tallo floral (cm)	N.º hojas	Peso fresco foliar (g)	Peso fresco radicular (g)
Control	16,20±1,25a	103,00±4,14a	99,80±13,92a	57,54±7,02a	15,08±3,45a
50 mM	14,20±1,30a	115,00±6,57a	61,00±6,80b	37,90±6,05a	12,49±1,33a
100 mM	16,80±0,66a	115,29±8,89a	58,40±5,55b	43,73±6,20a	10,02±1,97a
200 mM	15,60±0,40a	108,60±8,78a	60,20±7,38b	40,18±10,62a	8,65±0,95a
300 mM	15,30±1,34a	99,30±3,46a	69,88±3,27b	52,89±19,5a	10,58±1,20a

Todas las glicófitas (plantas no tolerantes a la salinidad), así como muchas especies halófitas, crecen de forma óptima en ausencia de sal; sólo las halófitas dicotiledóneas extremas muestran en general cierta estimulación del crecimiento a concentraciones moderadas de NaCl (50-250 mM), pero se sigue observando una reducción de la tasa de crecimiento a concentraciones más elevadas (FLOWERS Y COLMER, 2008). En cualquier caso, a diferencia de las glicófitas, las halófitas son capaces de completar su ciclo vital en condiciones de alta

salinidad. En cuanto a los parámetros reproductivos analizados todas las plantas de todos los tratamientos han llegado producir, flores, frutos y semillas (Figura 12).



Figura 12. Imagen de las flores al final de las 18 semanas de riego en invernadero con agua de grifo (izquierda) y solución de 300 mM NaCl (derecha)

#### 4.2. Efecto de la salinidad sobre la germinación de las semillas

Aunque se han analizado otros parámetros reproductivos el enfoque de este trabajo ha sido el de testar la capacidad germinativa de las semillas. La fase más susceptible del ciclo biológico de las plantas a la salinidad es la germinación de sus semillas y el establecimiento de sus plántulas. Incluso para la mayoría de las halófitas, la germinación de las semillas es máxima en condiciones no salinas, siendo fuertemente inhibida a concentraciones de sal muy inferiores a las que crecen normalmente las plantas adultas (GUL *et al.*, 2013).

Durante el ensayo de germinación se ha comprobado la capacidad de germinación y la velocidad de la germinación en semillas producidas por plantas sometidas a condiciones salinas durante los ensayos previos, mencionados en el apartado 4.1. Los valores medios de los porcentajes de germinación y el tiempo medio de germinación (MGT, “mean germination time”) se indican en la Tabla 3.



Tabla 3. Efecto de la salinidad sobre la capacidad germinativa y velocidad de la germinación (MGT) de las semillas producidas por las plantas cultivadas en diferentes condiciones de salinidad. Los valores representan medias  $\pm$  ES por placa Petri ( $n = 4$ ). Letras distintas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey (intervalo de confianza 95%)

Parámetros			% Germinación	MGT	
Tratamiento	0	Origen de las plantas	0	21 $\pm$ 3a	2,94 $\pm$ 0,26 a
	0		50	30 $\pm$ 3,46ab	3,08 $\pm$ 0,34 a
	0		100	23 $\pm$ 3ab	2,66 $\pm$ 0,18 a
	0		200	36 $\pm$ 2,94 b	2,79 $\pm$ 0,04 a
	0		300	24 $\pm$ 3,55 ab	2,57 $\pm$ 0,2 a
Tratamiento	50	Origen de las plantas	0	20 $\pm$ 3,55 ab	3,67 $\pm$ 0,47 a
	50		50	12 $\pm$ 1,63 a	4,87 $\pm$ 1,29 a
	50		100	30 $\pm$ 3,36 b	4,23 $\pm$ 0,54 a
	50		200	30 $\pm$ 3,46 b	4,52 $\pm$ 0,94 a
	50		300	12 $\pm$ 4,08 a	5,4 $\pm$ 1,5 a
Tratamiento	100	Origen de las plantas	0	12 $\pm$ 2,3 ab	8,66 $\pm$ 1,81 a
	100		50	10 $\pm$ 1,15 a	15,45 $\pm$ 2,8 a
	100		100	16 $\pm$ 2,82 ab	10,69 $\pm$ 2,28 a
	100		200	13 $\pm$ 2,38 ab	9,83 $\pm$ 2,11 a
	100		300	22 $\pm$ 3,46 b	14,5 $\pm$ 3,6 a
Tratamiento	200	Origen de las plantas	0	5 $\pm$ 3 a	16,75 $\pm$ 2,75 a
	200		50	2 $\pm$ 1,15 a	14,5 $\pm$ 7,5 a
	200		100	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
	200		200	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
	200		300	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Tratamiento	300	Origen de las plantas	0	4 $\pm$ 2,82 ab	12,83 $\pm$ 0,16 b
	300		50	10 $\pm$ 3,46 b	16,38 $\pm$ 1,95 b
	300		100	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
	300		200	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
	300		300	2 $\pm$ 1,15 ab	6,5 $\pm$ 0,5 a

Se observa que la capacidad de germinación varía en función del nivel de tratamiento de salinidad y del origen de las plantas. En relación con las condiciones de la germinación (tratamiento) en ausencia de salinidad en el control (semillas germinadas en agua destilada), la capacidad de germinación alcanza un pico en el origen 200, lo que significa semillas producidas por las plantas madre regadas con una solución salina de 200 mM NaCl. Sin embargo, este valor es bajo, de solo 36 %, menor que el publicado para otras especies de este género presentes en el territorio valenciano. En un estudio comparativo sobre cuatro especies de *Limonium* se ha obtenido un porcentaje similar de 40 % en *L. virgatum*, una especie de amplia distribución, 60 % en *L. santapolense*, un endemismo del sur de la Comunidad Valenciana y más de 80 % en *L. girardianum* (endemismo del sur de Francia y este de la Península Ibérica) y *L. narbonense*, especie muy frecuente en los saladares Mediterráneos (AL HASSAN *et al.*, 2017). Porcentajes muy elevados de germinación se han publicado en dos especies de distribución muy restringida, *L. albuferae* (95 %) y 98 % en *L. dufourii* (GONZÁLEZ-ORENGA *et al.*, 2019). Estas dos especies son

endemismos valencianos exclusivos y al igual que *L. irtaense* son triploides con propagación a través de semillas apodícticas.

En presencia de NaCl en el medio de germinación se nota una reducción de la capacidad de germinación de las semillas de *L. irtaense*. En todas las semillas testadas los porcentajes de germinación son más bajos ya en presencia de 50 mM NaCl, salvo las producidas por plantas regadas con una solución de 100 mM NaCl cuya capacidad de germinación aumenta de 23 % en agua destilada a 30 % en presencia de 50 mM NaCl. La reducción del porcentaje de germinación incrementa con la concentración de sal, siendo muy baja o nula en la mayoría de las placas que contenían soluciones de sal de mayor concentración de 200 y 300 mM NaCl. Un patrón similar de la germinación con valores más altos en control en ausencia de sal se ha publicado en un estudio reciente sobre la germinación de seis especies de *Limonium* de saladares de Albacete, *L. admirable*, *L. caesium*, *L. cossonianum*, *L. delicatulum*, *L. supinum* y *L. tobarrense* (MORENO *et al.*, 2022), o en el endemismo valenciano *L. mansanetianum* (FOS *et al.*, 2020). Un incremento significativo de la germinación en presencia de 50 mM NaCl se ha obtenido en *L. santapolense*, *L. narbonense* y *L. virgatum*, en la última incluso en presencia de 100 mM NaCl (AL HASSAN *et al.*, 2017). El límite de la germinación en especies de este género es en general alrededor de la concentración de 200 mM NaCl (GONZÁLEZ-ORENGA *et al.*, 2021) aunque existen especies muy tolerantes a la salinidad que pueden mantener su capacidad de germinación hasta 500 mM NaCl, como *L. stocksii* una especie de la zona de desierto subtropical de Karachi en Pakistán, cuyas semillas germinaron en un 60 % en presencia de 300 mM NaCl (ZIA y KHAN, 2004).

Las salinidades elevadas representan una limitación para la germinación de las semillas de todas las plantas, incluidas las halófitas. Aunque las halófitas adultas pueden soportar concentraciones de sal muy elevadas en sus hábitats naturales, sus semillas suelen germinar cuando se reduce la salinidad del suelo (GUL *et al.*, 2013). Las halófitas varían ampliamente en sus límites de concentraciones de sal adecuadas para la germinación, y muchas muestran porcentajes óptimos de germinación en agua dulce o a salinidades inferiores a 100 mM NaCl (GUL *et al.*, 2013). Sin embargo, las semillas de algunas especies muy tolerantes a la salinidad, especialmente las halófitas suculentas, pueden germinar a concentraciones de la del agua de mar o superior, hasta 1,7 M NaCl (GUL *et al.*, 2013).

Como se ha mencionado en la Introducción existe una variación estacional de salinidad del suelo en muchos ambientes naturales, que es mayor durante el verano debido a la acentuada evaporación. La germinación de las semillas en regiones áridas y semiáridas suele producirse después de que las lluvias reducen la salinidad superficial del suelo. Las halófitas de las zonas templadas mantienen un banco de semillas persistente en el suelo y germinan en primavera cuando se alivia la salinidad (GUL *et al.*, 2013).

Otro parámetro importante relacionado con la germinación es la velocidad de este proceso, que se puede calcular de distintas maneras, la más habitual siendo el tiempo medio de germinación (MGT), calculado como se ha indicado en material y métodos. La velocidad de germinación también parece verse afectada por el tratamiento de salinidad en las semillas de *L. irtaense*. En términos generales, a medida que aumenta el tratamiento de salinidad, la velocidad de germinación también aumenta, aunque debido a la variabilidad de los datos estas diferencias no son significativas. La Tabla 4 presenta el efecto de la salinidad en varios parámetros de germinación: el primer día de germinación (FGD), el último día de germinación (LGD), la dispersión temporal de la germinación (TSG), y el índice de germinación (GI). Los datos se organizan en función del nivel de tratamiento de salinidad (0, 50, 100, 200, 300) y el origen de las plantas (0, 50, 100, 200, 300).

Se observa que tanto el FGD como el LGD tienden a aumentar con el incremento del tratamiento de salinidad. Sin embargo, el TSG parece mantenerse relativamente constante a

través de los diferentes niveles de tratamiento de salinidad. Finalmente, el GI parece disminuir con el aumento del tratamiento de salinidad.

Tabla 4. Efecto de la salinidad sobre otros parámetros de germinación: primer día de germinación (FGD), último día de la germinación (LGD), dispersión temporal de la germinación (TSG) y el índice de germinación (GI) de las semillas producidas por las plantas cultivadas en diferentes condiciones de salinidad. Los valores representan medias  $\pm$  ES por Placa Petri ( $n = 4$ ). Letras distintas indican diferencias significativas según la prueba de Turkey (intervalo de confianza 95%)

Parámetros			FGD	LGD	TSG	GI	
Tratamiento	0	Origen de las plantas	0	1,75 $\pm$ 0,25 a	6 $\pm$ 1,73 a	4,25 $\pm$ 1,88 a	2,18 $\pm$ 0,34 a
	0		50	1,5 $\pm$ 0,28 a	3,75 $\pm$ 0,25 a	2,25 $\pm$ 0,47 a	3,01 $\pm$ 0,5 a
	0		100	1,5 $\pm$ 0,28 a	3,25 $\pm$ 0,25 a	1,75 $\pm$ 0,25 a	2,56 $\pm$ 0,61 a
	0		200	1,5 $\pm$ 0,28 a	4,25 $\pm$ 0,75 a	2,75 $\pm$ 0,47 a	3,59 $\pm$ 0,31 a
	0		300	1,25 $\pm$ 0,25 a	3,5 $\pm$ 0,5 a	2,25 $\pm$ 0,25 a	2,61 $\pm$ 0,36 a
Tratamiento	50	Origen de las plantas	0	3 $\pm$ 0 a	6 $\pm$ 1,77 a	3 $\pm$ 1,77 a	1,42 $\pm$ 0,59 a
	50		50	3 $\pm$ 0 a	5 $\pm$ 1 a	2 $\pm$ 1 a	0,83 $\pm$ 0,18 a
	50		100	2,5 $\pm$ 0,5 a	8,75 $\pm$ 2,68 a	6,25 $\pm$ 3,14 a	2,27 $\pm$ 0,46 a
	50		200	3 $\pm$ 0 a	8,5 $\pm$ 2,06 a	5,5 $\pm$ 2,06 a	2,05 $\pm$ 0,42 a
	50		300	4,33 $\pm$ 1,85 a	6,66 $\pm$ 1,85 a	2,33 $\pm$ 1,33 a	1,05 $\pm$ 0,45 a
Tratamiento	100	Origen de las plantas	0	5 $\pm$ 1,35 a	14,25 $\pm$ 3,92 a	9,25 $\pm$ 4,8 a	0,6 $\pm$ 0,37 a
	100		50	7,5 $\pm$ 2,9 a	8,5 $\pm$ 2,9 a	1 $\pm$ 0 a	0,4 $\pm$ 0,24 a
	100		100	3 $\pm$ 1,08 a	17,25 $\pm$ 5,63 a	14,25 $\pm$ 6,04 a	0,8 $\pm$ 0,21 a
	100		200	5 $\pm$ 1 a	13,5 $\pm$ 3,75 a	8,5 $\pm$ 4,4 a	0,44 $\pm$ 0,11 a
	100		300	8,25 $\pm$ 5,02 a	22,5 $\pm$ 1,65 a	14,25 $\pm$ 3,79 a	0,79 $\pm$ 0,26 a
Tratamiento	200	Origen de las plantas	0	12,5 $\pm$ 1,5 a	21,5 $\pm$ 6,5 a	9 $\pm$ 8 a	0,15 $\pm$ 0,08 a
	200		50	14,5 $\pm$ 7,5 a	15,5 $\pm$ 7,5 a	1 $\pm$ 0 a	0,09 $\pm$ 0,04 a
	200		100	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
	200		200	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
	200		300	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Tratamiento	300	Origen de las plantas	0	12,5 $\pm$ 0,5 b	14 $\pm$ 0 b	1,5 $\pm$ 0,5 a	0,15 $\pm$ 0,08 a
	300		50	14,66 $\pm$ 1,76 b	19 $\pm$ 3,46 b	4,33 $\pm$ 3,33 a	0,2 $\pm$ 0,06 a
	300		100	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
	300		200	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
	300		300	6,5 $\pm$ 0,5 a	7,5 $\pm$ 0,5 a	1 $\pm$ 0 a	0,15 $\pm$ 0,01 a

Estos resultados sugieren que la salinidad puede tener un impacto significativo en varios aspectos de la germinación de las semillas. A medida que aumenta la salinidad, parece que se retrasa la germinación (aumento del FGD y LGD), se reduce la velocidad de emergencia y se disminuye el índice de germinación. En presencia de las soluciones salinas de 200 y 300 mM NaCl, las pocas semillas que germinan lo hacen mucho más tarde (12 y 14 días), salvo a las semillas producida por las plantas crecidas en presencia de 300 mM NaCl que empiezan a germinar a los 6 días. La germinación en el tratamiento control sin sal es rápida, a los pocos días (máximo 6) no se registran nuevas germinaciones, pero incluso concentraciones bajas de sal de 50 mM NaCl ralentizan el proceso de la germinación, como se refleja en los parámetros analizados.

La Tabla 5 muestra el efecto de la salinidad en varios parámetros relacionados con las plántulas: longitud del hipocótilo (L hipoc), longitud de la radícula (L rad), longitud de la plántula

(Lplant) e índice de vigor de la plántula (SVI). Se observa que la longitud del hipocótilo, la longitud de la radícula y la longitud de la plántula tienden a variar en función del nivel de tratamiento de salinidad y del origen de las plantas. Por ejemplo, para las plantas sin tratamiento de salinidad (0), la longitud del hipocótilo alcanza un pico en el origen 200. Sin embargo, a medida que aumenta el tratamiento de salinidad, la longitud del hipocótilo tiende a disminuir. En cuanto al índice de vigor de la plántula (SVI), también se ve afectado por el tratamiento de salinidad. En general, a medida que aumenta el tratamiento de salinidad, el SVI tiende a disminuir. Sin embargo, hay algunas excepciones a estas tendencias. Por ejemplo, para las plantas con un tratamiento de salinidad de 300 y un origen de 50, el SVI es relativamente alto.

Tabla 5. Efecto de la salinidad sobre los parámetros relacionados con las plántulas, longitud del hipocótilo, de la radícula y de la plántula y el índice de vigor de la plántula SVI de las semillas producidas por las plantas cultivadas en diferentes condiciones de salinidad. Los valores representan medias  $\pm$  ES por placa Petri ( $n = 4$ ). Letras distintas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey (intervalo de confianza 95%)

Parámetros			L hipoc	L rad	Lplant	SVI	
Tratamiento	0	Origen de las plantas	0	2,15 $\pm$ 0,43 a	3,19 $\pm$ 0,17 a	7,08 $\pm$ 1,24 a	2,15 $\pm$ 0,43 a
	0		50	2,93 $\pm$ 0,53 ab	3 $\pm$ 0,16 a	6,72 $\pm$ 1,18 a	2,93 $\pm$ 0,53 ab
	0		100	2,69 $\pm$ 0,55 ab	2,66 $\pm$ 0,06 a	9,44 $\pm$ 2,66 a	2,69 $\pm$ 0,55 ab
	0		200	4,75 $\pm$ 0,46 b	3,12 $\pm$ 0,06 a	10,02 $\pm$ 0,28 a	4,75 $\pm$ 0,46 b
	0		300	3,29 $\pm$ 0,62 ab	3,28 $\pm$ 0,07 a	10,35 $\pm$ 1,55 a	3,29 $\pm$ 0,62 ab
Tratamiento	50	Origen de las plantas	0	2,42 $\pm$ 0,61 a	3,48 $\pm$ 0,38 a	8,29 $\pm$ 1,4 a	2,42 $\pm$ 0,61 a
	50		50	2,08 $\pm$ 0,54 a	3,14 $\pm$ 0,3 a	13,46 $\pm$ 1,98 a	2,08 $\pm$ 0,54 a
	50		100	6,46 $\pm$ 2,10 b	3,16 $\pm$ 0,6 a	17,83 $\pm$ 7,22 a	6,46 $\pm$ 2,10 b
	50		200	4,43 $\pm$ 0,45 ab	3,3 $\pm$ 0,25 a	11,55 $\pm$ 0,5 a	4,43 $\pm$ 0,45 ab
	50		300	2,01 $\pm$ 0,21 a	3,13 $\pm$ 0,17 a	9,5 $\pm$ 1,21 a	2,01 $\pm$ 0,21 a
Tratamiento	100	Origen de las plantas	0	0,99 $\pm$ 0,23 a	3,91 $\pm$ 0,24 b	4,36 $\pm$ 1,24 a	0,99 $\pm$ 0,23 a
	100		50	0,74 $\pm$ 0,09 a	3,65 $\pm$ 0,17 ab	3,8 $\pm$ 0,65 a	0,74 $\pm$ 0,09 a
	100		100	1,03 $\pm$ 0,12 a	2,76 $\pm$ 0,11 a	4,06 $\pm$ 1,04 a	1,03 $\pm$ 0,12 a
	100		200	1,63 $\pm$ 0,36 a	3,41 $\pm$ 0,13 ab	9,5 $\pm$ 2,77 a	1,63 $\pm$ 0,36 a
	100		300	1,67 $\pm$ 0,40 a	2,94 $\pm$ 0,23 ab	4,4 $\pm$ 0,57 a	1,67 $\pm$ 0,40 a
Tratamiento	200	Origen de las plantas	0	0,79 $\pm$ 0,09 b	2,98 $\pm$ 0,16 b	5,39 $\pm$ 2,72 a	0,79 $\pm$ 0,09 b
	200		50	0,07 $\pm$ 0 a	1,22 $\pm$ 0 a	0,58 $\pm$ 0 a	0,07 $\pm$ 0 a
	200		100	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
	200		200	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
	200		300	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Tratamiento	300	Origen de las plantas	0	0,40 $\pm$ 0,14 ab	2,84 $\pm$ 0,01 a	2,72 $\pm$ 1 a	0,40 $\pm$ 0,14 ab
	300		50	0,72 $\pm$ 0,10 b	2,55 $\pm$ 0 a	2,79 $\pm$ 0,35 a	0,72 $\pm$ 0,10 b
	300		100	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0 a	0 $\pm$ 0 a	0 $\pm$ 0
	300		200	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0 a	0 $\pm$ 0 a	0 $\pm$ 0
	300		300	0,10 $\pm$ 0,02 a	1,73 $\pm$ 0,37 a	0,85 $\pm$ 0,19 a	0,10 $\pm$ 0,02 a

Estos resultados sugieren que la salinidad puede tener un impacto significativo en varios aspectos del crecimiento de las plántulas. A medida que aumenta la salinidad, parece que se retrasa el crecimiento de las plántulas (disminución de L hipoc, L rad y L plant) y se reduce el índice de vigor de la plántula. Sin embargo, el valor máximo de vigor (SVI) de las plántulas de

más de 6, se encuentra en semillas germinadas en presencia de 50 mM NaCl, lo que indica que esta baja concentración puede ser óptima para el desarrollo inicial de las plántulas de *L. irtaense*.

#### 4.3. Efecto de la salinidad sobre la recuperación de la germinación de las semillas

Las semillas que no han germinado en las soluciones después de un breve lavado se han pasado a nuevas placas Petri con agua destilada. La Tabla 6 presenta la recuperación de la capacidad germinativa en relación con el tratamiento de la semilla de *L. irtaense*. Los datos se organizan en función del nivel de tratamiento de salinidad (0, 50, 100, 200, 300) y el origen de las plantas (0, 50, 100, 200, 300). Los parámetros medidos incluyen el porcentaje de germinación (% Ger), el tiempo medio de germinación (MGT), el primer día de germinación (FGD), el último día de germinación (LGD) y la dispersión temporal de la germinación (TSG).

En la mayoría de los casos, los valores de todos los parámetros son cero, lo que indica que no hubo germinación en el ensayo de recuperación. Sin embargo, hay algunas excepciones notables. Por ejemplo, para las plantas con un tratamiento de salinidad de 200 y un origen de 0, el porcentaje de germinación es del 20,32%, el MGT es de 1,75, el FGD es de 1, el LGD es de 3,25 y el TSG es de 2,25. Además, para las plantas con un tratamiento de salinidad de 300 y un origen de 50, el porcentaje de germinación es del 30,72%, el MGT es de 2,6, el FGD es de 1, el LGD es de 9,25 y el TSG es de 8,25. Esto indica que estas semillas no solo fueron capaces de germinar a pesar del alto nivel de salinidad previo, sino que también mostraron una dispersión temporal de la germinación relativamente alta. Estos resultados sugieren que, aunque la salinidad puede inhibir la germinación en muchos casos, las semillas de *L. irtaense* pueden mantener su capacidad germinativa a pesar de un periodo expuestas a las altas concentraciones de sal. Además, el origen de las plantas parece jugar un papel importante en su capacidad para germinar bajo condiciones de alta salinidad.

Mantener la viabilidad de las semillas y su capacidad germinativa en condiciones salinas es una característica común de las semillas de las halófitas, que suelen sobrevivir a largos periodos de exposición a condiciones de elevada salinidad en el suelo. Para que la germinación tenga éxito son necesarias precipitaciones previas que provoquen una reducción de la salinidad de las capas superficiales del suelo. Se reconoce que la latencia de las semillas es un factor importante en la ecofisiología de las especies de zonas salinas, que pueden estar sometidas a fluctuaciones de salinidad y humedad del suelo a lo largo del año (KEIFFER y UNGAR, 1997). Por ejemplo, un estudio sobre la recuperación de la capacidad germinativa en cuatro halófitas del sureste de España mostró que la germinación se produce cuando las lluvias esporádicas lixivian temporalmente parte de las sales de los suelos (PUJOL *et al.*, 2000).

Tabla 6. Recuperación de la capacidad germinativa respecto al tratamiento de la semilla de *Limonium irtaense*.

Parámetros			% Ger	MGT	FGD	LGD	TSG
Tratamiento	0	Origen de las plantas	0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	0		50	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	0		100	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	0		200	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	0		300	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Tratamiento	50	Origen de las plantas	0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	50		50	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	50		100	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	50		200	5,62 ± 0 a	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	50		300	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Tratamiento	100	Origen de las plantas	0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	100		50	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	100		100	6,81 ± 2,2 a	4 ± 0	4 ± 0 a	5 ± 0 a
	100		200	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	100		300	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Tratamiento	200	Origen de las plantas	0	20,32 ± 3,37 a	1,75 ± 0,75 a	1 ± 0 a	3,25 ± 1,25 a
	200		50	15,76 ± 2,86 a	4,62 ± 3,62 a	1 ± 0 a	2 ± 0 a
	200		100	7,50 ± 4,78 a	1 ± 0,00a	1 ± 0 a	2 ± 0 a
	200		200	22,26 ± 4,83 a	1,12 ± 0,12 a	1 ± 0 a	2,25 ± 0,25 a
	200		300	16,66 ± 4,12 a	1,25 ± 0,25 a	1 ± 0 a	2,5 ± 0,5 a
Tratamiento	300	Origen de las plantas	0	29,91 ± 4,6 a	1,12 ± 0,12 a	1 ± 0 a	2,25 ± 0,25 a
	300		50	30,72 ± 1,97 a	2,6 ± 1,40 a	1 ± 0 a	9,25 ± 6,92 a
	300		100	23,61 ± 2,65 a	1,10 ± 0,05 a	1 ± 0 a	2 ± 0 a
	300		200	23,61 ± 8,29 a	1,5 ± 0,36 a	1 ± 0 a	3,75 ± 1,75 a
	300		300	37,5 ± 4,72 a	1,02 ± 0,02 a	1 ± 0 a	2 ± 0 a

#### 4.4. El análisis del efecto conjunto del origen de las semillas y las condiciones de germinación

Para entender mejor si el origen de las semillas (en este caso la concentración de NaCl en el agua de riego de las plantas madre) influye en las respuestas germinativas frente a la salinidad se ha recurrido a un análisis de varianza bifactorial, siendo el factor A el origen de las semillas (las condiciones de crecimiento de las plantas madre) y el factor B el tratamiento (las condiciones de germinación).

La Tabla 7 presenta los resultados de un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores que examina el efecto conjunto del origen de las semillas (las condiciones de crecimiento de las plantas madre) y las condiciones de germinación (tratamiento) en varios parámetros de germinación y crecimiento de las plántulas.

Tabla 7. ANOVA de dos factores considerando el origen de las semillas (Factor A) y el tratamiento (Factor B) y su interacción (los valores indicados representan la p)

Parámetro	Factor A (Origen)	Factor B (Tratamiento)	A x B (Interacción)
% Germinación	0,510	0,000***	0,000***
MGT	0,262	0,000***	0,046*
FGD	0,368	0,000***	0,312
LGD	0,730	0,000***	0,019
TSG	0,176	0,002**	0,207
GI	0,102	0,000***	0,228
SVI	0,002**	0,000***	0,008**
L hipocótilo	0,210	0,000***	0,180
L radícula	0,201	0,000***	0,207
L plántula	0,260	0,000***	0,114

\*, \*\*, \*\*\* de  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ , y  $p < 0.001$

Los parámetros incluyen el porcentaje de germinación (% Ger), el tiempo medio de germinación (MGT), el primer día de germinación (FGD), el último día de germinación (LGD), la dispersión temporal de la germinación (TSG), el índice de germinación (GI), el índice de vigor de la plántula (SVI), la longitud del hipocótilo (L hipoc), la longitud de la radícula (L rad) y la longitud de la plántula (L plant).

Los resultados del ANOVA indican que las condiciones de germinación tienen un impacto significativo en la mayoría de los parámetros, pero el origen solo en caso del SVI (el índice de vigor de la plántula). La interacción entre el origen de las semillas y las condiciones de germinación también es significativa en caso del porcentaje de germinación, la velocidad de la germinación (MGT) y el vigor de las plántulas (SGL).

A continuación, se presentan en forma gráfica únicamente los parámetros cuya interacción es positiva.

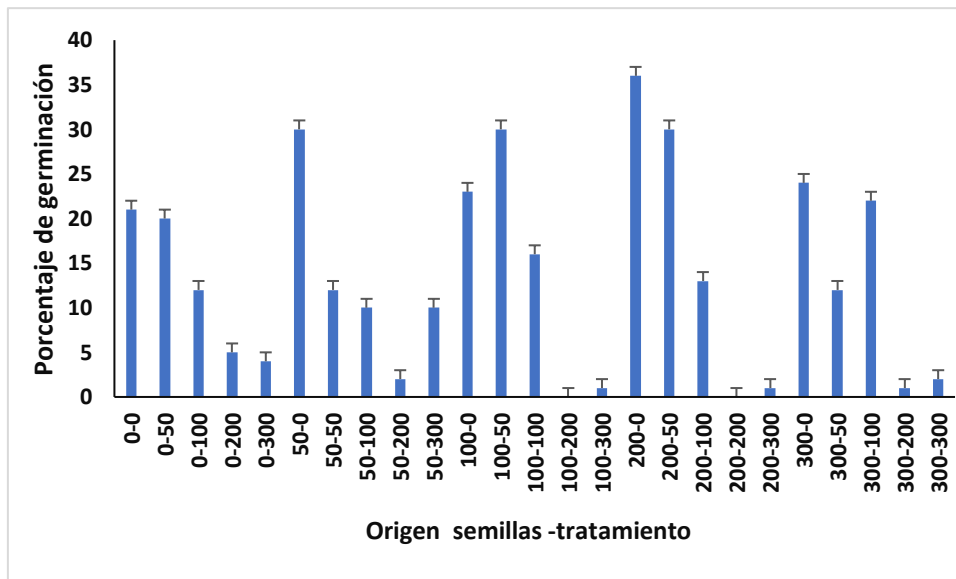


Figura 13. Variación del porcentaje de germinación en todas las combinaciones de origen de las semillas (primer valor) y condición de germinación (segundo valor) en el eje OX

La Figura 13 representa la variación del porcentaje de germinación en todas las combinaciones de origen de las semillas (primer valor) y condición de germinación (segundo valor) en el eje OX.

Los valores más altos de germinación se observan en las combinaciones "50-0", "100-50" y "200-0". Esto sugiere que estos tratamientos específicos son especialmente efectivos para promover la germinación de las semillas. También es posible que estas semillas tengan características genéticas que las hagan más receptivas a estos tratamientos.

Por otro lado, hay algunas combinaciones que muestran porcentajes de germinación muy bajos. Estos valores bajos podrían indicar que ciertos orígenes de semillas o tratamientos no son propicios para la germinación. Podría ser que estos tratamientos creen condiciones que no son ideales para la germinación, o que estas semillas tienen características genéticas que las hacen menos receptivas a estos tratamientos.

Es interesante notar que no hay un patrón lineal claro o consistente en la relación entre el origen, tratamiento y la tasa de germinación. Cada combinación presenta resultados distintos, lo que sugiere que la relación entre estos factores es compleja y posiblemente no lineal. En general se observa que las semillas derivadas de plantas que han crecido en presencia de sal presentan porcentajes mayores de germinación. Estos resultados son relevantes para futuras investigaciones o aplicaciones prácticas en la selección del material utilizado para el reforzamiento poblacional o la creación de nuevas poblaciones. En este sentido, se pueden utilizar estos datos para seleccionar las mejores combinaciones de origen y tratamiento para maximizar la germinación de las semillas. Además, estos resultados indican que las condiciones óptimas de crecimiento de las plantas productoras de semillas en el vivero son en presencia de concentraciones salinas hasta 200 mM NaCl. Por esto podemos recomendar el riego de las plantas con agua ligeramente salina.



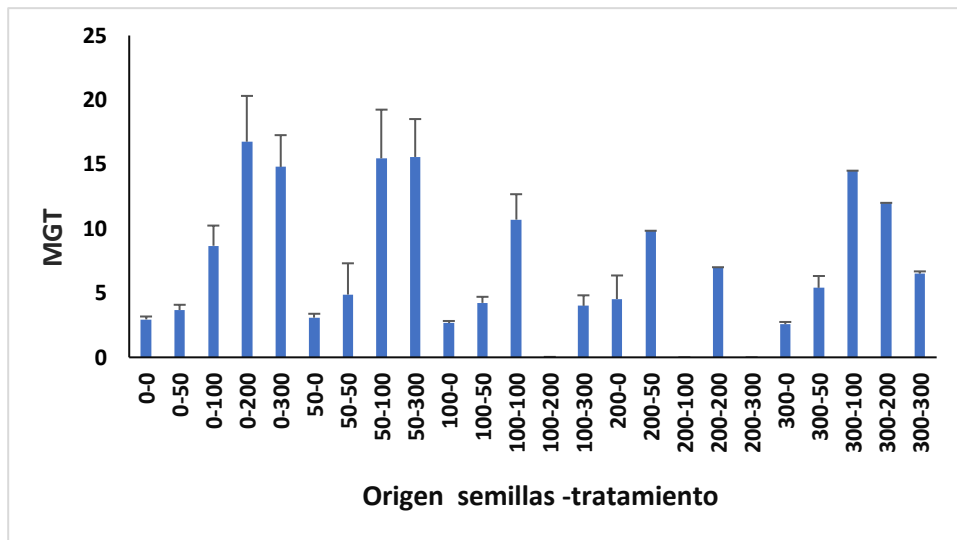


Figura 14. Variación del tiempo de la velocidad de germinación (MGT) en todas las combinaciones de origen de las semillas (primer valor) y condición de germinación (segundo valor) en el eje OX

La Figura 14 resume la variación del tiempo de la velocidad de germinación (MGT) en todas las combinaciones de origen de las semillas (primer valor) y condición de germinación (segundo valor) en el eje OX.

Al observar el gráfico, se pueden identificar varias tendencias y patrones. Por ejemplo, la combinación "0-200" "50-100" y "50-300" muestran un valor de MGT significativamente alto, cercano a 20. Esto sugiere que las semillas de este origen específico y sin tratamiento adicional tienen una baja velocidad de germinación ya que su tiempo de germinación es más largo.

A medida que aumenta el segundo número en la combinación representada en el eje OX, que representa la concentración de NaCl en las placas Petri, hay un aumento notable en el MGT. Esto indica que a medida que aumenta la concentración de sal en el medio de germinación, la velocidad de germinación tiende a disminuir.

Sin embargo, cuando se analiza la variación en función del origen de las semillas (el primer número dentro de cada conjunto específico) como se ve al pasar de "50-0" a "50-50" o "100-0" a "100-50", hay una variación en los valores del MGT que indica condiciones pueden estar mejorando la velocidad a la cual germinan estas semillas.

En la Figura 15 se indica la variación del índice de vigor de la plántula en todas las combinaciones de origen de las semillas (primer valor) y condición de germinación (segundo valor) en el eje OX. En primer lugar, se nota que el valor más alto del Índice de Vigor de la Planta (SVI) se da en la combinación 100-50. Este pico en el SVI sugiere que las plantas bajo estas condiciones específicas muestran un vigor excepcionalmente alto. Esto podría indicar que la combinación 100-50 es particularmente favorable para el crecimiento y desarrollo de las plantas.

En segundo lugar, los valores más bajos corresponden a los orígenes 200 y 300 con los tratamientos de 200 y 300 mM NaCl en estas combinaciones representen condiciones de estrés para las plantas, lo que resulta en un menor vigor.

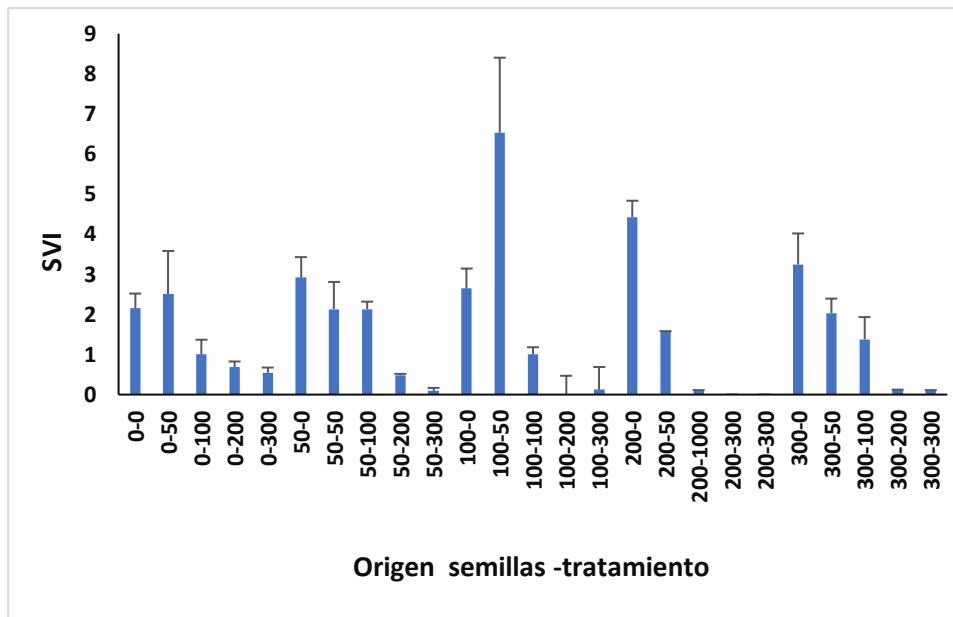


Figura 15. Variación del índice de vigor de la plántula en todas las combinaciones de origen de las semillas (primer valor) y condición de germinación (segundo valor) en el eje OX

El índice SVI, denominado en inglés “seedling viogour index (índice de vigor de las plántulas) es un índice muy útil, ya que se calcula no sólo en función de la longitud de las plántulas, sino también del porcentaje de germinación. Por tanto, un índice elevado indica tanto una buena germinación como la formación de plántulas más grandes. Sin embargo, dado que para su cálculo son necesarias las mediciones de la radícula y el hipocótilo, el índice de germinación se utiliza menos que el porcentaje de germinación. Los resultados presentados en la Figura 12 muestran que las concentraciones de 0 y 50 mM de NaCl son óptimas. Mayores concentraciones de sal en el medio de germinación tienen un efecto negativo, ya que el SVI disminuye gradualmente a medida que aumenta la concentración de NaCl. En relación con el origen de las semillas, se detectan valores superiores del SVI en semillas procedentes de plantas madre regadas con NaCl 100 mM y 200 mM.

## 5. CONCLUSIONES

1. Los parámetros vegetativos se ven poco afectados por los tratamientos de salinidad, la única reducción significativa se ha observado en el número de hojas.
2. Las plantas producen flores, frutos y semillas viables en todos los tratamientos, incluidos los de 300 mM de NaCl.
3. El porcentaje de semillas germinadas no alcanza el 40% en ninguno de los cinco tratamientos ensayados, lo que supone un bajo porcentaje de germinación en comparación con otras especies de este género.
4. La germinación óptima en términos de porcentaje de germinación, velocidad de germinación y SVI se observa en el tratamiento control en ausencia de sal, o en presencia de una baja concentración de 50 mM de NaCl.
5. En el ensayo de recuperación de la germinación se ha obtenido una buena germinación de las semillas que han sido trasladadas de las placas con soluciones de 200 y 300 mM NaCl, la velocidad de germinación reduciéndose de forma considerable.
6. Las condiciones de las plantas madre más favorables para la capacidad de germinación de las semillas producidas son las de riego con soluciones salinas hasta 200 mM NaCl.
7. Los datos obtenidos son útiles para la producción de planta en vivero comprobando que es riego óptimo es con agua ligeramente salina.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILELLA, A., LAGUNA, E., FOS, S. (Eds.). (2010). *Catálogo valenciano de especies de flora amenazadas.*, Conselleria de Medi Ambient, Aigua, Urbanisme i Habitatge, Valencia.
- AL HASSAN, M., ESTRELLES, E., SORIANO, P., LÓPEZ-GRESA, M.P., BELLÉS, J.M., BOSCAIU, M. VICENTE, O (2017). Unraveling salt tolerance mechanisms in halophytes: A comparative study on four Mediterranean *Limonium* species with different geographic distribution patterns. *Front. Plant Sci.* 8| 1438. <https://doi.org/doi:10.3389/fpls.2017.01438>.
- BACCHETTA, G., BUENO, A., FENU, G., JIMÉNEZ-ALFARO, B., MATTANA, E., PIOTTO, B., VIREVAIRE, M. (2008). *Conservación ex situ de flora silvestre*. Obra Social La Caixa y Gobierno del Principado de Asturias, Oviedo.
- BARCELÓ, J., NICOLAS, G., SABATER, B. & SANCHEZ, R. (2001). *Fisiología vegetal*. Pirámide, Madrid.
- BUIRA, A., AEDO, C., MEDINA, L. (2017) Spatial patterns of the Iberian and Balearic endemic vascular flora. *Biodivers. Conserv.* 26, 479–508.
- COSTA, M., GARCÍA-CARRASCOSA, M., MONZÓ, F., PERIS, J. B., STÜBING, G., & VALERO, E. (1984). *Estado actual de la flora y fauna marinas en el litoral de la Comunidad Valenciana*. Ayuntamiento de Castellón, Castellón de la Plana.
- COUNCIL DIRECTIVE 92/43/EEC of 21 May 1992 on the conservation of natural habitats and of wild fauna and flora Official Journal L 206, pp. 7-50.
- ERBEN, M. (1978). Die Gattung *Limonium* im südwestmediterranen Raum. *Mitt. Bot. Staatssamml. München* 14, 361–631.
- ERBEN, M. (1993). *Limonium* Mill. En *Flora Ibérica*; Castroviejo, S., Aedo, C., Cirujano, S., Laínz, M., Montserrat, P., Morales, R., Muñoz Garmendia, F., Navarro, C., Paiva, J., Eds.; Editorial CSIC, Madrid, Vol. 3, pp. 2–143.
- EUROPEAN COMMISSION DG ENVIRONMENT (2007) *Interpretation Manual of European Union Habitats (Version EUR27)*; European Commission DG Environment: Brussels.
- FERRANDO-PARDO, I., FERRER-GALLEGO, P., LAGUNA, E. (2016). Assessing the conservation value of *ex situ* seed bank collections of endangered wild plants. *Israel J. Plant Sci.* 63, 333–346.
- FERRER-GALLEGO, P. P., NAVARRO, A., PÉREZ, P., ROSELLÓ, R., ROSSELLÓ, J., ROSATO, M., LAGUNA, E. (2015). A new polyploid species of *Limonium* (Plumbaginaceae) from the Western Mediterranean basin. *Phytotaxa* 234(3), 263–270.
- FERRER-GALLEGO, P.P., FERRANDO-PARDO, I., LAGUNA, E., ALBERTT, J.F., PEREIRA, M., VICIANO, L., PELLICER, A., CARCHANO, R., VISERA, C., PÉREZ-BOTELLA, J., NAVARRO, AL., PÉREZ-ROVIRA, P., JIMÉNEZ, J. (2019). Planes de recuperación de flora amenazada de la Comunidad Valenciana. Resultados tras tres años de aprobación de la normativa legal. *Flora Montiberica* 73, 48–61.
- FLOWERS, T.J., COLMER, T.D. (2008). Salinity tolerance in halophytes. *New Phytol.* 179, 945–963.
- FOS, M., ALFONSO, L., FERRER-GALLEGO, P.P., LAGUNA, E. (2020). Effect of salinity, temperature and hypersaline conditions on the seed germination in *Limonium mansanetianum* an endemic and threatened Mediterranean species. *Plant Biosyst.* 155. 1–13. <https://doi.org/10.1080/11263504.2020.1722276>.
- GONZÁLEZ ORENGA, S., FERRER-GALLEGO, P.P., BOSCAIU, M., VICENTE, O., LAGUNA, E. (2022). Studies on salt and drought tolerance of endemic and rare species in

- Valencian salt marshes as a tool for reintroduction programmes. *Flora Medit.* 32, 361–365.
- GONZÁLEZ-ORENGA, S., GRIGORE, M.-N. BOSCAIU, M., VICENTE, O. (2021). Constitutive and induced salt tolerance mechanisms and potential uses of *Limonium* Mill. species. *Agronomy*, 11(3), 413. <https://doi.org/10.3390/agronomy11030413>.
- GONZÁLEZ-ORENGA, S., FERRER-GALLEGO, P.P., LAGUNA, E., LÓPEZ-GRESA, M.P., DONAT-TORRES, M.P., VERDEGUER, M., VICENTE, O., BOSCAIU, M. Insights on salt tolerance of two endemic *Limonium* species from Spain. *Metabolites* 9(12), 94. <https://doi.org/10.3390/metabo9120294>.
- GUL, B., ANSARI, R., FLOWERS, T., KHAN, M.A. (2013). strategies of halophyte seeds under salinity. *Environ. Exp. Bot.* 92, 4–18.
- IPCC (2021). Intergovernmental panel on climate change, in Proceedings of the 6th Assessment Report, WGII, Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Available at: <http://www.ipcc.ch/report/ar5/wg2/>
- IUCN NATIONAL RED LIST WORKING GROUP (NRLWG). IUCN/NRLWG National Red List Database. Available online
- KEIFFER, C. H., UNGAR, I. A. (1997). The effect of extended exposure to hypersaline conditions on the germination of five inland halophyte species. *Am. J. Bot.* 84, 104–111.
- KHAN, M.A., GUL, B. (2006). Halophyte seed germination. In *Ecophysiology of High Salinity Tolerant Plants*; Khan, M., Weber, D., Eds.; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2006; pp. 11–30.
- KOUTROUMPA, K., THEODORIDIS, S., WARREN, B.H., JIMÉNEZ, A., CELEP, F., DOĞAN, M., ROMEIRAS, M.M., SANTOS-GUERRA, A., FERNÁNDEZ-PALACIOS, J.M., CAUJAPÉ-CASTELLS, J. (2018). An expanded molecular phylogeny of Plumbaginaceae, with emphasis on *Limonium* (sea lavenders): Taxonomic implications and biogeographic considerations. *Ecol. Evol.* 8, 12397–12424.
- LAGUNA, E., FOS, S., FERRANDO-PARDO, I., FERRER-GALLEGO, P.P. (2020). Endangered halophytes and their conservations: Lessons from Eastern Spain. En *From Molecules to Ecosystems towards Biosaline Agriculture*; Grigore, M.N., Ed.; Springer: Cham, Switzerland; Heidelberg, Germany, pp. 1–64.
- MAHAJAN, S., TUTEJA, N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Arch. Biochem. Biophys.* 2005, 444 (2), 139-158.
- MIRCEA D.M., ESTRELLES, E., AL HASSAN, M., SORIANO, P., SESTRAS, R.E., BOSCAIU, M., SESTRAS, A.F., VICENTE O. (2023). Effect of water deficit on germination, growth and biochemical responses of four potentially invasive ornamental grass species. *Plants* 12(6), 1260. <https://doi.org/10.3390/plants12061260>
- MORENO, J., TERRONES, A., JUAN, A. (2022). Germination patterns along a salinity gradient of closely-related halophytes in sympatry. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 264, 107690, <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2021.107690>.
- NAVARRO PERIS, A., LAGUNA, E., PÉREZ-ROVIRA, P., FERRER-GALLEGO, P. P., FERRANDO-PARDO, I., ALBERT JANA, F.J. (2020). Conservació de l'endemisme vegetal de la serra d'Irta (Castelló) *Limonium irtaense*. *Flora Montiberica* 73, 48–61.
- PADILLA BLANCO, A. (2002). Protección y conservación de la flora en la Comunidad Valenciana. *Investigaciones Geográficas* 27, 107-130.
- PÉREZ-GARCÍA, F. Y MARTÍNEZ-LABORDE, J.B. (1994). *Introducción a la Fisiología Vegetal*. Mundi-Prensa, Madrid.

- PUJOL, J., CALV, A., RAMÍREZ-DÍAZ, L. (2000). Recovery of germination from different osmotic conditions by four halophytes from southern Spain. *Ann. Bot.* 85, 279–286
- RAVEN, P.H.; EVERT, R. Y EICHHORN, S. (1992). *Biology of Plants*. Reverté, Barcelona.
- RENGASAMY, P. (2006) Soil Salinity and Sodicity. In: Stevens, D., Ed., *Growing Crops with Reclaimed Waste Water*, CSIRO Publishing, Melbourne, 125-138.
- ZIA, S., KHAN, M.A. (2004). Effect of light, salinity, and temperature on seed germination of *Limonium stocksii*. *Can. J. Bot.* 82, 151–157.