

Resumen

Introducción

La sequía y la salinidad son los factores ambientales que más afectan a las plantas, aunque en general, las plantas mediterráneas están bien adaptadas a las condiciones adversas. Las previsiones estiman que debido al calentamiento global las condiciones ambientales se volverán más estresantes, especialmente en las zonas semi-áridas y áridas como muchas áreas de la Península Ibérica. Estas condiciones pueden afectar a la presencia de muchas especies silvestres, en especial, de las que ya de por sí están amenazadas, son raras o endémicas.

Tanto la sequía como el estrés salino provocan la activación de una serie de mecanismos de defensa o respuesta de las plantas, que incluyen entre otros, el control del transporte iónico, la acumulación de solutos compatibles u osmolitos, y la activación de sistemas antioxidantes.

Para contribuir a la conservación y/o reintroducción de las especies de interés en hábitats prioritarios se ha realizado un estudio multidisciplinar abarcando los parámetros que pueden afectar sus poblaciones, como el clima, el suelo, y la vegetación acompañante, junto a estudios comparativos sobre las respuestas a la sequía y a la salinidad. Para entender mejor los mecanismos de tolerancia se han incluido en el estudio además de los taxones de interés conservacionista, especies relacionadas genéticamente con diferentes niveles de tolerancia.

El estudio presenta dos objetivos principales: i) establecer la tolerancia relativa al estrés hídrico y salino de las especies en base a su distribución en la naturaleza y en los análisis realizados en campo y, en función de la inhibición relativa de su crecimiento bajo condiciones provocadas de estrés; y, ii) evaluar los cambios bioquímicos inducidos por el estrés analizando diferentes mecanismos de respuesta (inhibición de la fotosíntesis, transporte iónico, acumulación de osmolitos, mecanismos antioxidantes).

Metodología

La mayoría de las especies estudiadas son halófitas, como las del género *Limonium*, o con comportamiento moderadamente halófito, como *Thalictrum maritimum* y *Bupleurum tenuissimum*, a excepción de una de las especies utilizada como material comparativo, *Bupleurum fruticosum*, una glicófita tolerante al déficit hídrico.

La metodología de trabajo incluye estudios efectuados en el campo, como censos poblacionales en algunas especies, análisis de las comunidades vegetales o de la morfología de las raíces en otras, completados con un análisis edafológico y climatológico.

Para analizar las respuestas en condiciones controladas de invernadero se han efectuado tratamientos de estrés salino con varias concentraciones de NaCl, dependiendo de las especies. El tratamiento de estrés hídrico se ha realizado en ausencia completa de riego.

La duración de los ensayos ha variado entre 21 y 30 días en función del grado de tolerancia de las especies.

Una vez finalizados los ensayos de invernadero se han analizado los parámetros de crecimiento, la degradación de los pigmentos fotosintéticos, el patrón de transporte iónico y la acumulación de osmolitos y compuestos antioxidantes, así como la activación de las enzimas antioxidantes.

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos han permitido establecer el grado de tolerancia relativa al estrés hídrico y salino de las especies analizadas y sus relaciones con los factores de su entorno como el clima, vegetación y suelo. Por lo tanto, en base a esta información se podrán determinar las zonas óptimas para el desarrollo de las especies de interés.

Además, se han identificado los mecanismos relevantes para la tolerancia a estos dos tipos de estrés en cada especie analizada. Todas las plantas activan los mismos mecanismos de defensa en respuesta al estrés abiótico, pero su contribución difiere dependiendo del género e incluso de la especie. En general, se ha notado una intensificación del transporte de los iones hacia la parte aérea de las plantas y la activación de los sistemas antioxidantes enzimáticos, suficientes para mantener el equilibrio redox. Por lo tanto, la mayoría de las especies estudiadas no mostraron estrés oxidativo, salvo las dos especies del género *Bupleurum*.

Las especies del género *Limonium* mostraron la menor inhibición de crecimiento ante situaciones de estrés, sobre todo bajo condiciones de salinidad, y por lo tanto este género es claramente el más tolerante de los estudiados, basando su defensa principalmente en la activación del transporte de los iones tóxicos hacia la parte aérea y de los sistemas antioxidantes enzimáticos.

Thalictrum maritimum mostró ser más tolerante de lo esperado al estrés salino, pero menos resistente al estrés hídrico que le causó una mayor inhibición de crecimiento. Sus mecanismos de defensa parecen estar más relacionados con el transporte activo de iones a la parte aérea y el mantenimiento de la homeostasis del K^+ en las hojas, así como, la activación de sistemas antioxidantes enzimáticos.

Las especies del género *Bupleurum* mostraron una clara diferencia, siendo la especie de interés *B. tenuissimum* más tolerante a la salinidad mientras que la especie empleada como material comparativo, *B. fruticosum* mostró ser más tolerante a la sequía. Sus principales mecanismos de defensa están relacionados con la inmovilización de los iones tóxicos en las raíces, la acumulación de prolina y la activación de sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.

Conclusión

Los resultados obtenidos en el trabajo aportan información clave para la reintroducción y la conservación o mantenimiento de las poblaciones de las especies de interés, así como para la comprensión de la reducción poblacional en los últimos años.

Por otra parte, los resultados también contribuyen a la mejor comprensión de los mecanismos de tolerancia en los géneros estudiados ante situaciones de estrés hídrico y salino, aportando información sobre las respuestas al estrés en especies que no han sido previamente analizadas.

Este trabajo ha dado lugar a siete manuscritos científicos (publicados, en revisión, o en preparación), que se consideran como subcapítulos de la sección de resultados de esta tesis y se enumeran a continuación:

- 1) González-Orenga, S.; Al Hassan, M.; Llinares, J.V.; Lisón, P.; López-Gresa, M.P.; Verdeguer, M.; Vicente, O.; Boscaiu, M. Qualitative and Quantitative Differences in Osmolytes Accumulation and Antioxidant Activities in Response to Water Deficit in Four Mediterranean *Limonium* Species. *Plants* **2019**, *8*, 506; <https://doi.org/10.3390/plants8110506>
- 2) González-Orenga, S.; Llinares, J.V.; Al Hassan, M.; Fita, A.; Collado, F.; Lisón, P.; Vicente, O.; Boscaiu, M. Physiological and Morphological Characterisation of *Limonium* Species in their Natural Habitats: Insights into their Abiotic Stress Responses. *Plant & Soil* **2020**, *449*, 267–284; <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04486-4>
- 3) González-Orenga, S.; Ferrer-Gallego, P.P.; Laguna, E.; López-Gresa, M.P.; Donat-Torres, M.P.; Verdeguer, M.; Vicente, O.; Boscaiu, M. Insight on Salt Tolerance of Two Endemic *Limonium* from Spain. *Metabolites* **2019**, *9*, 294; <https://doi.org/10.3390/metabo9120294>
- 4) González-Orenga, S.; Donat-Torres, M.P.; Llinares, J.P.; Navarro, A.; Collado, F.; Ferrer-Gallego, P.P.; Laguna, E.; Vicente, O.; Boscaiu, M. Multidisciplinary Studies Supporting Conservation Programmes of Two Rare, Endangered *Limonium* Species from Spain. (Bajo revisión)
- 5) González-Orenga, S.; Grigore, M.N.; Vicente, O.; Boscaiu, M. Salt Tolerance Mechanisms and Potential Uses of *Limonium* Species. *Agronomy* **2021**, *11*, 413; <https://doi.org/10.3390/agronomy11030413>
- 6) González-Orenga, S.; Trif, C.; Donat-Torres, M.P.; Llinares, J.V.; Collado, F.; Ferrer-Gallego, P.P.; Laguna, E.; Boscaiu, M.; Vicente, O. Responses to Increased Salinity and Severe Drought in the Eastern Iberian Endemic Species *Thalictrum maritimum* (Ranunculaceae), Threatened by Climate Change. *Plants* **2020**, *9*, 1251; <https://doi.org/10.3390/plants9101251>

- 7) González-Orenga, S.; Leandro, M.E.D.A.; Tortajada, L.; Llorens, J.A.; Ferrer-Gallego, P.P.; Laguna, E.; Boscaiu, M.; Vicente, O. Comparative Study of Stress Responses in Two Species of *Bupleurum* (Apiaceae) in Support of Conservation Programs. (En preparación)

Otros manuscritos publicados durante el período de trabajo, más o menos relacionados con el tema, pero no incluidos en la tesis, se enumeran en el apéndice al final de este documento.