

UNIVERSIDAD POLITECNICA DE VALENCIA

ESCUELA POLITECNICA SUPERIOR DE GANDIA

Licenciado en Ciencias Ambientales



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA



ESCUELA POLITECNICA
SUPERIOR DE GANDIA

“Efecto de la salinidad y de la temperatura en la germinación de semillas de *Limonium mansanetianum*”

TRABAJO FINAL DE CARRERA

Autor/es:

Lorena Alfonso Martí

Director/es:

Dr. Mariano Fos Causera

Dr. Emilo Laguna Lumbreras

GANDIA, 2010

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	2
1.1	GERMINACIÓN DE LA SEMILLA	2
1.2	BIODIVERSIDAD VEGETAL DE ESPAÑA Y DE LA COMUNIDAD VALENCIANA	4
1.3	MEDIDAS DE CONSERVACIÓN DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA	7
1.4	CATEGORIAS DE LA LISRA ROJA DE LA UICN	10
1.5	EL GENERO <i>Limonium</i>	13
1.6	<i>Limonium mansanetianum</i>	14
1.6.1	Descripción	14
1.6.2	Hábitat y Localización	16
1.6.3	Amenazas y catalogación	20
1.7	OBJETIVOS	22
2	MATERIAL Y MÉTODOS	26
2.1	ENSAYOS DE GERMINACIÓN	26
2.1.1	Material vegetal	26
2.1.2	Ensayos de germinación en condiciones controladas	27
2.1.3	Control de la germinación	29
2.2	ENSAYO DE LAS SEMILLAS NO GERMINADAS EN CONDICIONES SALINAS	30
2.2.1	Control de la recuperación	30
2.3	ENSAYO DE RESISTENCIA DE LAS SEMILLAS A CONDICIONES DE HIPERSALINIDAD	30
2.3.1	Control de la recuperación	31
2.3.2	Determinación de la velocidad de germinación	31
2.4	TRATAMIENTO ESTADÍSTICO Y GRÁFICO DE LOS DATOS	32
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
3.1	ESTIMACIÓN DEL CUAJADO	34
3.2	EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y LA SALINIDAD SOBRE LA CAPACIDAD GERMINATIVA DE <i>Limonium mansanetianum</i>	36
3.3	EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y SALINIDAD SOBRE LA VELOCIDAD DE GERMINACIÓN DE <i>Limonium mansanetianum</i>	40
3.4	RECUPERACIÓN DE LA CAPACIDAD GERMINATIVA TRAS LA INCUBACIÓN EN SOLUCIONES SALINAS	45
3.5	EFFECTO DE DISOLUCIONES HIPERSALINAS (4% Y 8%) SOBRE LA GERMINACIÓN FINAL DE <i>Limonium mansanetianum</i>	50

4	RESUMEN Y CONCLUSIONES	56
5	BIBLIOGRAFÍA	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Datos de superficie, número de especies de flora vascular y de especies endémicas exclusivas de diversos territorios administrativos de la Unión Europea.	5
Tabla 2: Clasificación de los endemismos vegetales presentes en la Comunidad Valenciana	6
Tabla 3: Censo y datos de las diferentes poblaciones realizado en 2007	18
Tabla 4: Semillas viables para cada lote.....	35
Tabla 5: Porcentajes medios de la germinación final agrupados por concentraciones salinas.	36
Tabla 6: Porcentajes medios de la germinación final agrupados por temperaturas.	39
Tabla 7: Velocidad de germinación en días (T_{50}) agrupada por temperaturas.	41
Tabla 8: Día inicial de la germinación i final de la germinación de las semillas por temperaturas y concentraciones de NaCl	44
Tabla 9: Porcentajes medios de la germinación final agrupados por concentraciones salinas, que posteriormente fueron transferidas a agua destilada.....	45
Tabla 10: Velocidad de germinación en días (T_{50}) agrupada por concentraciones salinas tras ser transferidas a agua destilada.	48
Tabla 11: Porcentajes medios de la germinación final de las semillas germinadas a diferentes concentraciones hipersalinas y a diferentes temperaturas.	50
Tabla 12: Velocidad de germinación (T_{50}) agrupada por concentraciones salinas, y en función de la temperatura (en días).....	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Criterios de la UICN para catalogar las especies	12
Figura 2: Esquema de las partes del <i>Limonium mansanetianum</i>	15
Figura 3: Planta adulta de <i>Limonium mansanetianum</i>	15
Figura 4: Plantación de <i>Limonium mansanetianum</i> en la Font Amarga	16
Figura 5: Localización de la población de <i>Limonium mansanetianum</i>	17
Figura 6: Área de ocupación del <i>Limonium mansanetianum</i> en la Font Amarga	19
Figura 7: Marcas del tráfico rodado, principal amenaza para el <i>Limonium mansanetianum</i>	20
Figura 8: Semilla y espiguilla	27
Figura 9: Cámara de germinación	28
Figura 10: Esquema para cada cámara de germinación	28
Figura 11: Semillas germinadas	29
Figura 12: Efecto de la temperatura según la salinidad en el porcentaje de germinación final de la semilla de <i>Limonium mansanetianum</i>	37
Figura 13: Efecto de la salinidad según la temperatura en el porcentaje de germinación final de las semillas de <i>Limonium mansanetianum</i>	39
Figura 14: Velocidad de germinación (evaluada por el parámetro T_{50} expresado en días) a diferentes concentraciones y en función de la temperatura.	41
Figura 15: Velocidad de germinación (evaluada por el parámetro T_{50} expresado en días) a diferentes temperaturas y en función de la concentración salina. ...	43
Figura 16: Porcentaje de semillas germinadas en función de la salinidad a 10°C. Antes y después de ser transferidas a agua destilada.	46
Figura 17: Porcentaje de semillas germinadas en función de la salinidad para a 15°C. Antes y después de ser transferidas a agua destilada.	46
Figura 18: Porcentaje de semillas germinadas en función de la salinidad para a 20°C. Antes y después de ser transferidas a agua destilada.	47
Figura 19: Porcentaje de semillas germinadas en función de la salinidad a 25/20°C. Antes y después de ser transferidas a agua destilada.	47
Figura 20: Porcentajes medios de la germinación final de semillas recuperadas tras la incubación a concentraciones hipersalinas y según las diferentes temperaturas.	50

Figura 21: Porcentajes medios de la germinación final de semillas recuperadas tras la incubación a concentraciones hipersalinas.	51
Figura 22: Velocidad de la germinación (T_{50}) según las concentraciones hipersalinas a diferentes temperaturas.	53
Figura 23: Porcentaje Velocidad de germinación (T_{50}) según las temperaturas y a diferentes concentraciones hipersalinas.	54

INTRODUCCIÓN

1 INTRODUCCIÓN

1.1 GERMINACIÓN DE LA SEMILLA

La **semilla** es la unidad de reproducción y dispersión de las plantas superiores y tienen la función de multiplicar, perpetuar y dispersar la especie a la que pertenecen. Para que la semilla cumpla con su objetivo es necesario que el embrión se transforme en una plántula, la cual será capaz de valerse por sí misma y, finalmente convertirse en una planta adulta. Todo ello comprende una serie de procesos metabólicos y morfogenéticos conocidos como **germinación**. En éste proceso una semilla en dormición o latencia recupera su actividad y origina una nueva planta (Azcón-Bieto y Talón (2008)).

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 las coloque 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) y Díaz de la Guarda (2004)).

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 en el proceso de la germinación tres fases sucesivas:

- *Fase de hidratación o toma de agua (imbibición)*. Se corresponde con una intensa absorción de agua por los distintos tejidos que forman la semilla. Por lo general, va acompañada de un aumento proporcional en la actividad respiratoria.

- *Fase de germinación*. Se corresponde con el verdadero proceso de germinación. Durante esta fase tienen lugar en la semilla profundas transformaciones metabólicas que preparan el camino para la fase siguiente de crecimiento y son, por tanto, imprescindibles para el normal desarrollo de la plántula. En esta fase se reduce considerablemente la absorción de agua por la semilla.

- *Fase de crecimiento*. Representa la última etapa del proceso de germinación y se corresponde con la iniciación en la semilla de cambios morfológicos visibles, en concreto con la elongación de la radícula. 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) y Hopkins (2004)).

1.2 BIODIVERSIDAD VEGETAL DE ESPAÑA Y DE LA COMUNIDAD VALENCIANA

La **biodiversidad** también llamada diversidad biológica es según el *Convenio Internacional sobre la Diversidad Biológica*, el término por el que se hace referencia a la amplia variedad de seres vivos sobre la tierra y los patrones naturales que la conforman, resultado de miles de millones de años de evolución según procesos naturales y también de la influencia de las actividades del ser humano. La biodiversidad comprende tanto la variedad de ecosistemas como las diferencias genéticas dentro de cada especie que permiten la combinación de múltiples formas de vida, y cuyas interacciones es fundamentan para el sustento de la vida sobre el planeta (Convenio sobre Diversidad Biológica, 2006).

Las plantas vasculares existentes en España alcanzan las 8000 especies, lo que representa más del 80 % de las existentes en la UE y el 59% de las existentes en el continente europeo. De ellas, 1500 son endemismos, es decir que sólo se encuentran en España. De hecho, casi la mitad de los endemismos europeos son españoles (Muñoz, 2008).

Las razones de la elevada biodiversidad en la Península se deben a su situación geográfica, por la cual encontramos climas muy variados. Mientras que el resto de Europa tiene clima húmedo, en España encontramos clima mediterráneo e incluso árido, así como húmedo y áreas de transición. La abundancia de montañas, algunas con nieves perpetuas, aumenta el número de hábitats y añade zonas de clima de alta montaña a las anteriores (Fernández, 2010).

En los datos publicados por Mateo y Crespo en 1998, cifraban la flora del territorio Valenciano en 3.048 táxones (**Tabla 1**), considerando sólo hasta el rango de subespecie y únicamente las plantas autóctonas, asilvestradas y naturalizadas, que se distribuyen en 151 familias y 888 géneros.

Tabla 1: Datos de superficie, número de especies de flora vascular y de especies endémicas exclusivas de diversos territorios administrativos de la Unión Europea.

TERRITORIO	ÁREA, Km ²	Nº ESPECIES	Nº ENDEMISMOS	%
ITALIA	301.245	5.598	712	12,7
ESPAÑA (exc.Canarias)*	509.879	5.048	941	18,7
GRACIA	140.317	4.992	742	14,9
PORTUGAL (incl.Azores)	91.631	2.573	150	5,8
FRANCIA	558.342	4.630	133	2,9
COMUNIDAD VALENCIANA	23.259	3.048	59	1,9
AUSTRIA	83.853	3.028	35	1,2
GRAN BRETAÑA	244.754	1.623	16	1,0
ALEMANIA (Oeste)**	356.921	2.682	6	0,2
BÉLGICA	30.519	1.452	1	0,1
DINAMARCA	43.075	1.252	1	0,1
SUECIA	449.790	1.716	1	0,1
HOLANDA	41.160	1.221	0	0,0

*La estimación aproximada incluyendo la flora canaria es de 5.600 especies y 1.491 endemismos (26% del total de la flora).

** La estimación aproximada para toda Alemania es de 552.000 Km² y 3.500 especies vegetales (Crespo, 1998)

En la Comunidad Valenciana, por provincias Valencia presenta 2.560 táxones, Castellón posee 2.314 y Alicante cuenta con 2.196; aunque en la actualidad estos valores han variado ligeramente, al haberse descubierto nuevas plantas en estos territorios. En términos absolutos y teniendo en cuenta que la flora española (excluyendo Canarias) se estima en 5.048 táxones (**Tabla 1**), casi el 60,4 % de la diversidad florística de la España peninsular y Baleares se

encuentra representada en la Comunidad Valenciana, lo que supone una diversidad mayor que muchos países europeos (Mateo y Crespo, 1998).

La Comunidad Valenciana es uno de los territorios que exhibe mayor variación en los factores que conforman la instalación selectiva de las especies vegetales en la Península Ibérica, debido a la orografía, su altitud que oscila entre los 0 y 1.839 m s.n.m, la geografía, geología y climatología (Mateo y Crespo, 1998).

En la **Tabla 2** podemos observar la clasificación de los endemismos vegetales presentes en la Comunidad Valenciana, atendiendo a las categorías de la UICN (en la **Figura 1** están los criterios utilizados en la catalogación) noviembre de 1994 (Laguna *et al.*, 1998).

Tabla 2: Clasificación de los endemismos vegetales presentes en la Comunidad Valenciana

	EW	CR	EN	VU	LR nt	LR Ic	Total	%*
Endemismos de la C.V	-	2	5	20	12	20	59	16,9
Endemismos de la C.V y zonas limítrofes	-	6	1	17	14	33	71	20,3
Endemismos ibéricos de amplia distribución	1	4	4	37	46	128	220	62,8
Porcentajes (%)*	0,29	3,43	2,86	21,14	20,57	51,71		

(*) Porcentajes calculados respecto al total de plantas endémicas.

1.3 MEDIDAS DE CONSERVACIÓN DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA

Las especies amenazadas exigen medidas de conservación para mantener o mejorar sus niveles poblacionales y asegurar su supervivencia a largo plazo cuando ésta sea posible (Fiedler y Jain, 1992; Bañares, 2002). La conservación de la flora amenazada se desarrolla a través de cuatro grandes tipos de medidas:

Científicas: son las que mejoran el conocimiento relativo a la propia especie y su estado poblacional, a los factores que la regulan e inciden sobre ella y a las actividades necesarias para su conservación. Como ejemplos tendríamos el censo de un táxon, un estudio de germinación, así como, la investigación sobre la efectividad de las plantaciones.

Técnicas: son aquellas que conllevan el manejo directo de las plantas y de su entorno, ya sea dentro del hábitat (medidas *in situ*) o fuera de éste (*ex situ*), como los bancos de germoplasma, los centros de producción y cultivo de plantas y las colecciones vivas de ejemplares de especies amenazadas.

Jurídicas: son medidas que permiten desde distintos niveles beneficiar la permanencia o mejora de las poblaciones de especies amenazadas. Existe un amplio grupo de normas que favorecen dicha preservación a través de la prevención de daños a los hábitats, las cuales podemos encontrar en apartados concretos de las legislaciones forestal, del paisaje, hidrológica o de costas; sin embargo la conservación de las especies amenazadas se ordena especialmente a través de la protección legal, tanto de las plantas como de sus hábitats. Ambas formas de protección poseen su base en la reciente Ley 42/2007, de 13 de diciembre, del Patrimonio Natural y de la Biodiversidad. La protección legal de la flora valenciana queda recogida en el decreto 70/2009, de 22 de mayo, del Consell, por el que se crea y regula el Catalogo Valenciano de Especies de Flora Amenazadas y se regulan medidas adicionales de conservación y en la que encontramos los siguientes puntos y categorías:

1. En desarrollo del artículo 55.3 de la Ley 42/2007, de 13 de diciembre, del Patrimonio Natural y de la Biodiversidad, se establece el Catálogo Valenciano de Especies de Flora Amenazadas, integrado por los táxones del anexo I de este decreto.
2. Las especies del Catálogo Español de Especies Amenazadas gozarán en la Comunitat Valenciana de un nivel de protección igual o superior al que poseen en dicho Catálogo.
3. El Catálogo Valenciano de Especies de Flora Amenazadas se compone de las siguientes categorías:
 - a) **En peligro de extinción:** incluye los táxones cuya supervivencia es poco probable si los factores responsables de su situación prevalecen.
 - b) **Vulnerable:** incluye los táxones susceptibles de pasar a la categoría anterior en un futuro inmediato si los factores adversos responsables de su situación prevalecen.
4. La Conselleria competente en materia de medio ambiente centrará sus esfuerzos de conservación en los táxones catalogados que cumplan la condición de ser endemismos exclusivos valencianos, o de poseer en la Comunitat Valenciana gran parte de los efectivos españoles o peninsulares.

También encontramos instrumentos internacionales como el convenio de Berna y la Directiva Hábitats que se han ido haciendo efectivas por su incorporación progresiva al Catálogo nacional de especies Amenazadas (CNEA), creado mediante el Real Decreto en 1990. Las especies valencianas protegidas por el anexo IV de la Directiva Hábitats, en su mayoría listadas además en el anexo II, plantas para las que es obligatorio disponer de sitios en la Red Natura 2000, son:^o *Apium repens*, *Diplotaxis ibicensis*, *Euphorbia nevadensis* s.s., *Helianthemum caput-felis*, *Kosteletzkya pentacarpa*, *Marsilea batardae*, *M. quadrifolia*, *M. strigosa*, *Riella helycophylla*, *Sideritis glauca*, *Silene hifacensis*, *Spiranthes aestivalis* y *Teucrium lepicephalum*. Por su parte las plantas incluidas en el CNEA son *Cistus heterophyllus*, *Lepidium cardamines*, *Limonium perplexum* y *Medicago citrina*.

Sociales: Los programas de recuperación de especies amenazadas y las estrategias de conservación de flora tienen pocas garantías de éxito si no se complementan con medidas sociales de tipo formativo, educativo e informativo. Estas medidas están especialmente destinadas a generar una conciencia popular de apoyo a las actividades descritas anteriormente (Aguilella *et al.*, 2009).

1.4 CATEGORIAS DE LA LISRA ROJA DE LA UICN

Las listas rojas producidas por la Unión Mundial para la Naturaleza (UICN) se han utilizado durante los últimos 30 años, a continuación enumeramos las diferentes categorías:

1. **Extinto (EX):** Un taxón está *Extinto* cuando no queda duda alguna que el último individuo ha muerto. Se presume que un taxón está Extinto cuando prospecciones exhaustivas de sus hábitats, conocidos y/o esperados, en los momentos apropiados (diarios, estacionales, anuales), y a lo largo de su área de distribución histórica, no han podido detectar un solo individuo. Las búsquedas deberán ser realizadas en periodos de tiempo apropiados al ciclo de vida y formas de vida del taxón.
2. **Críticamente amenazado (CR):** Un taxón está *En peligro crítico* cuando la mejor evidencia disponible indica que cumple cualquiera de los criterios A - E para *En peligro crítico* (**Figura 1**). Por consiguiente, se considera que se está enfrentando a un riesgo extremadamente alto de extinción en estado silvestre.
3. **En peligro (EN):** Un taxón está *En peligro* cuando la mejor evidencia disponible indica que cumple cualquiera de los criterios A - E para *En peligro* (**Figura 1**). Por lo cual, se considera que se está enfrentando a un riesgo muy alto de extinción en estado silvestre.
4. **Vulnerable (VU):** Un taxón está en la categoría de *Vulnerable* cuando cumple cualquiera de los criterios A - E para *Vulnerable* (**Figura 1**).
5. **Casi amenazado (NT):** Un taxón está en la categoría de *Casi amenazado*, cuando ha sido evaluado según los criterios y no satisface, actualmente, los criterios para *En peligro crítico*, *En peligro* o *Vulnerable*, pero está cercano a satisfacer los criterios, o posiblemente los satisfaga en un futuro cercano.
6. **Preocupación menor (LC):** Un taxón está en la categoría de *Preocupación menor* cuando habiendo sido evaluado, no cumple ninguno de los criterios que definen las categorías *En peligro crítico*, *En peligro*, *Vulnerable* o *Casi amenazado*. Se incluyen en esta categoría taxones abundantes y de amplia distribución.

7. **Datos insuficientes (DD):** Un taxón pertenece a la categoría *Datos insuficientes* cuando no hay información adecuada para hacer una evaluación, directa o indirecta, de su riesgo de extinción, con base en la distribución y/o el estado de la población. Un taxón en esta categoría puede estar bien estudiado y su biología ser bien conocida, pero carecer de datos apropiados sobre su abundancia y/o distribución. Datos insuficientes no es por tanto una categoría de amenaza. Al incluir un taxón en esta categoría se indica que se requiere más información y se reconoce la posibilidad de que investigaciones futuras demuestren que una clasificación de amenaza pudiera ser apropiada. Es importante hacer un uso efectivo de cualquier información disponible. En muchos casos habrá que tener mucho cuidado en elegir entre datos insuficientes y una condición de amenaza. Si se sospecha que la distribución de un taxón está relativamente circunscrita si ha transcurrido un período considerable de tiempo desde el último registro del taxón, entonces la condición de amenazado puede estar bien justificada.
8. **No evaluado (NE):** Un taxón se considera *No evaluado* cuando todavía no ha sido clasificado en relación a estos criterios

La UICN utiliza diversos criterios y subcriterios para catalogar una especie:

CRITERIOS (A-E)	EN PELIGRO CRÍTICO	EN PELIGRO	VULNERABLE
A. Reducción del contingente total de individuos maduros			
1. Reducción reversible y detenida	> 90% en 10 años o 3 generaciones	> 70% en 10 años o 3 generaciones	> 50% en 10 años o 3 generaciones
2. Reducción en curso	> 80% en los últimos 10 años o 3 generaciones	> 50% en los últimos 10 años o 3 generaciones	> 30% en los últimos 10 años o 3 generaciones
3. Reducción proyectada	> 80% en los próximos 10 años o 3 generaciones	> 50% en los próximos 10 años o 3 generaciones	> 30% en los próximos 10 años o 3 generaciones
4. Reducción en curso y proyectada	> 80% en 10 años o 3 generaciones, incluyendo tiempo pasado y futuro	> 50% en 10 años o 3 generaciones, incluyendo tiempo pasado y futuro	> 30% en 10 años o 3 generaciones, incluyendo tiempo pasado y futuro
Estos cuatro subcriterios han de basarse en alguno de los siguientes elementos: (a) observación directa; (b) índice de abundancia apropiado para el taxón; (c) reducción del área de ocupación, extensión de presencia y/o calidad del hábitat; (d) niveles de explotación reales o potenciales; (e) efecto de taxones introducidos, hibridación, patógenos, contaminantes, competidores o parásitos.			
B. Distribución geográfica reducida (*)			
1. Extensión de presencia	< 100 km ²	< 5.000 km ²	< 20.000 km ²
2. Área de ocupación	< 10 km ²	< 500 km ²	< 2.000 km ²
Y al menos dos de los siguientes subcriterios:			
(a) Fragmentación severa o:			
	1 sola localidad	No más de 5 localidades	No más de 10 localidades
(b) Disminución continua basada en: (i) extensión de presencia; (ii) área de ocupación; (iii) área, extensión y/o calidad del hábitat; (iv) número de localidades o poblaciones; (v) número de individuos maduros.			
(c) Fluctuación extrema basada en: (i) extensión de presencia; (ii) área de ocupación; (iii) número de localidades o poblaciones; (iv) número de individuos maduros.			
C. Número de individuos maduros y disminución continua			
	<250	<2.500	<10.000
Y alguno de los siguientes subcriterios:			
1. Disminución continua	25% en 3 años o 1 generación	20% en 5 años o 2 generaciones	10% en 10 años o 3 generaciones
2. Disminución continua observada, proyectada o inferida y una de las siguientes características:			
(a) Estructura de la población en una de las dos opciones siguientes			
(i) Ninguna población contiene más de:			
	50 individuos	250 individuos	1.000 individuos
(ii) Está en algunas población al menos el:			
	90% de los individuos	95% de los individuos	100% de los individuos
(b) Fluctuaciones extremas en el número de individuos maduros			
D. Número de individuos maduros			
	<50	<250	1. <1.000
			2. Área de ocupación <20 km ² o menos de 5 localidades, con amenazas constatables
E. Análisis cuantitativo que señale la probabilidad de extinción			
	50% en 10 años o 3 generaciones	20% en 20 años o 5 generaciones	10% en 100 años

(*) Extensión de presencia es el área contenida en el polígono dibujado con los puntos periféricos que unen los lugares donde se presenta un taxón. Área de ocupación es el área donde realmente se encuentra el taxón, ya que la extensión de presencia puede incluir zonas donde no se encuentre o donde el hábitat no sea el adecuado.

Figura 1: Criterios de la UICN para catalogar las especies

1.5 EL GENERO *Limonium*

El género *Limonium* Mill. pertenece a la familia *Plumbaginaceae* y la mayor parte de las especies son plantas perennes con rosetas cortamente ramificadas (hemiscriptófitos rosulados) que emiten tallos floríferos de desarrollo estacional, escapos florales. Más raramente son plantas perennes con tallos robustos portadores de hojas helicoidalmente esparcidas, que a veces se elevan unos decímetros (caméfitos) como el *Limonium estevei* incluso alcanzan casi tres metros (fanerófitos), como el endemismo canario *L. dendroides*. Finalmente, se pueden encontrar plantas anuales de ciclo estacional (terófitos) como *L. echiooides*. Entre los representantes valencianos solamente aparecen los hemiscriptófitos y terófitos.

Según Kubitzky (1993), este género incluye unas 400 especies con una presencia de al menos 107 en la Península Ibérica e Islas Baleares. Con un total de 87 taxones de carácter endémico (Crespo y Lledó, 1998).

Se puede considerar como el género con un mayor número de táxones amenazados en España. En la lista roja de la flora vascular española de 2008, considerando las especies canarias, se incluyen un total de 73 taxones amenazados, de ellos 32 en peligro crítico (CR), 17 en peligro (EN) y 24 como vulnerables (VU) (Moreno, 2008). Por lo que respecta a la Comunidad Valenciana existen un total de 26 especies y 7 híbridos. De todos estos taxones, el 42% se encuentran protegidos por el Decreto 70/2009 por el cual se crea y se regula el Catàleg Valencià d'Espècies de Flora Amenazades: 23% de especies y subespecies están catalogadas como en peligro de extinción (anexo I), 4% como especies protegidas pero no catalogadas (anexo II) y el 15% en especies vigiladas (anexo III).

La mayoría de las especies del género *Limonium* se han venido considerando tradicionalmente como halófitos estrictos, que colonizan ambientes altamente salinos y frecuentemente húmedos. No obstante, dado que crecen con igual vitalidad en suelos ricos no estrictamente salinos, puede decirse que han desarrollado la habilidad de combinar la resistencia a ambientes muy secos con la halotolerancia (Llorens *et al.*, 1992).

La mayor parte de los táxones se distribuyen en las regiones mediterráneas y macaronésicas. Este género quizá sea uno de los más ricos en microendemismos (endemismos de área muy reducida y normalmente escasa diferenciación morfológica) ya que cada saladar o acantilado presenta sus propios *limoniums* exclusivos (Crespo y Lledó, 1998).

Las especies de *Limonium* son frecuentes y hasta dominantes en acantilados costeros (*Limonium dufourii* y *L. scopulorum*), a su vez, los podemos encontrar en saladares litorales y continentales (*L. caesium* y *L. cavanillesii*). También habitan terrenos yesosos y margosos de áreas semiáridas o muy secas, con alto contenido de sales en la superficie debido a fuertes procesos de evaporación (*L. sucronicum* y *L. thiniense*).

1.6 *Limonium mansanetianum*

1.6.1 Descripción

El *Limonium mansanetianum* M. B. Crespo & M. D. Lledó, Gen. *Limonium* Com. Valenciana: 97 (1998) [sp. Nov.] es una planta perenne, de tallos escasos o numerosos, más o menos densamente papilosa en todas sus partes. Posee una roseta basal ramificada de 1-5 cm de longitud, densa o escasamente ramificadas y con abundantes hojas en su parte superior. En cuanto a las hojas de la roseta basal son verdes en la floración o en parte marchitas. Y las hojas caulinares inferiores son escuamiformes, parduscas, de 2-5 mm de longitud y con forma triangular-acuminadas. Los escapos florales son papilosos en toda su longitud, más o menos robustos, con una longitud de 20-50(70) cm, erectos, ramificados en su mitad o tres cuartos superiores. Las ramas están dispuestas dísticamente, de hasta 20 cm. Tiene una inflorescencia paniculada de forma rómbica. Y las espigas tienen un tamaño de 15-60 mm de longitud generalmente secundas. A su vez las espiguillas son de 4'5-5'5 mm, con 2-3 flores y laxamente dispuestas. Los pétalos tienen un color violáceo pálido. Y la floración se da entre los meses de julio y septiembre (Crespo y Lledó, 1998).

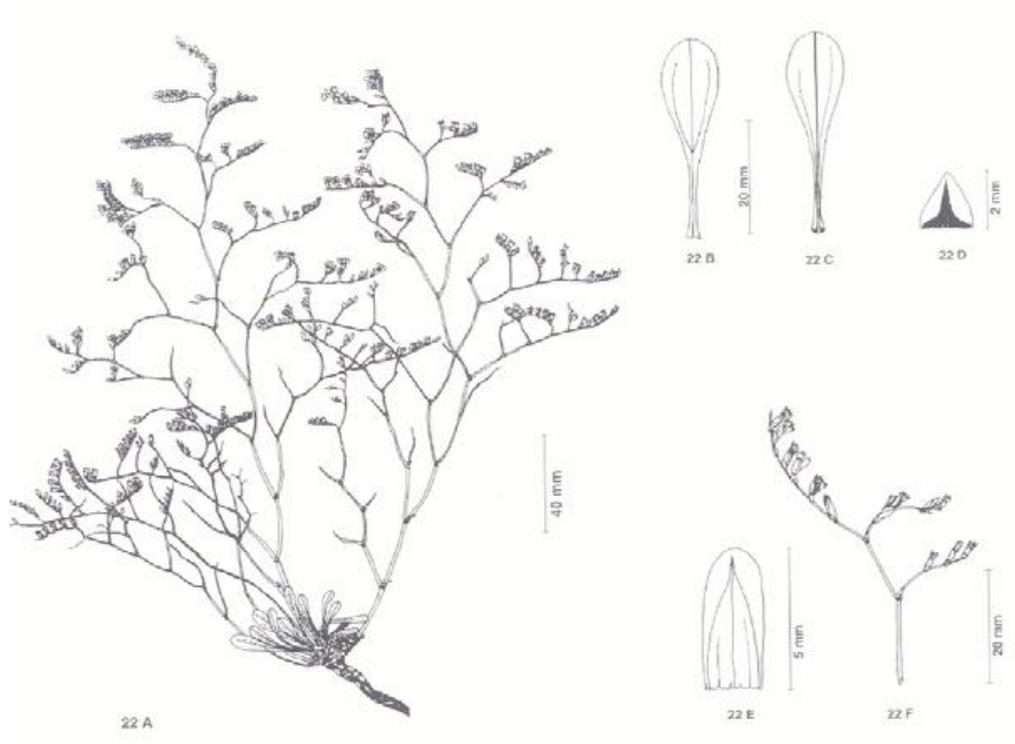


Figura 2: Esquema de las partes del *Limonium mansanetianum*



Figura 3: Planta adulta de *Limonium mansanetianum*

1.6.2 Hábitat y Localización

El *Limonium mansanetianum* habita sobre arcillas rojas yesíferas del Keuper y otros sustratos yesosos, sobre suelos con apreciable humedad edáfica. Tiene preferencia por zonas muy soleadas y generalmente terrenos o laderas poco inclinadas. Su óptimo se encuentra en formaciones vegetales de albardinares gipsícolas de *Lygeo-Stipetea tenacissimae*, acompañado por *Lygeum spartum*, *Dactylis hispanica*, *Ononis tridentata*, *Atractylis gummifera*, *Anthyllis cytisoides* o *Hyparrhenia sinaica*, entre otras. Esta especie la encontramos instalada bajo el ombroclima seco y dentro del piso termomediterráneo (Laguna *et al.*, 1998).



Figura 4: Plantación de *Limonium mansanetianum* en la Font Amarga

Dicha especie se localiza únicamente en una pequeña extensión del sudeste de la provincia de Valencia, concretamente en los términos municipales de Xàtiva, Manuel y Villanueva de Castellón (Ver situación en la **Figura 5**)

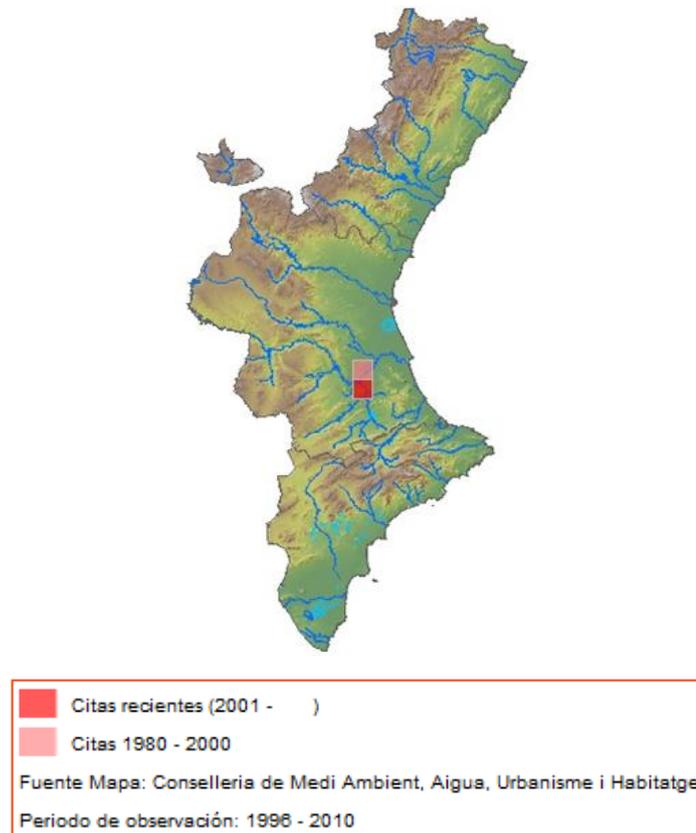


Figura 5: Localización de la población de *Limonium mansanetianum*

Se conocen siete núcleos poblacionales, los datos de los cuales los podemos observar en la **Tabla 3**, que por su cercanía y conexión geográfica probablemente correspondan a una única población biológica donde apenas alcanzan un kilómetro cuadrado de extensión con un total de 37720 individuos (Navarro *et al.*, 2007). En la **Figura 6** podemos observar el área de ocupación del *Limonium mansanetianum* en el paraje de La Font Amarga (Villanueva de Castellón).

Tabla 3: Censo y datos de las diferentes poblaciones realizado en 2007

Localidad	Municipio	UTM 1x1 Km	Censo 2007	Área de ocupación (m²)
Font Amarga	Villanueva de Castellón	YJ1525 YJ1524	17.325	15.546
Les Salines	Manuel	YJ1625	7.244	1.260
Barranc Llarg A	Xàtiva	YJ1524	67	142
Barranc Llarg B		YJ1524	606	9.383
Barranc Llarg C		YJ1624	2.085	1.290
Casa de Tena A	Xàtiva	YJ1624	372	309
Casa de Tena B		YJ1624	135	98
El Pol	Xàtiva	YJ1424	9.886	6.708
		YJ1423		
Total			37.720	34.736

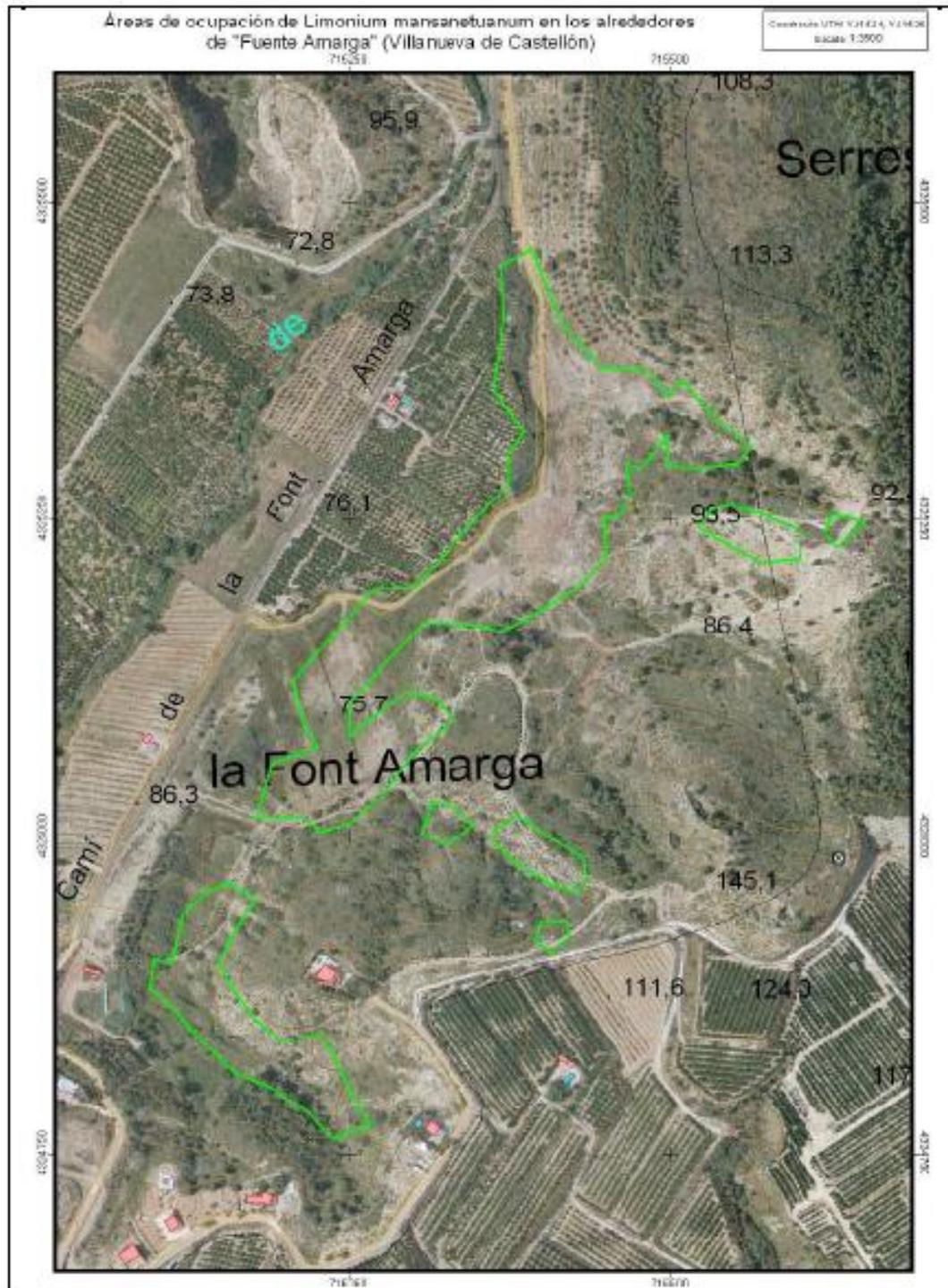


Figura 6: Área de ocupación del *Limonium mansanetianum* en la Font Amarga

1.6.3 Amenazas y catalogación

La principal amenaza a la que está sometida dicha especie la constituye el tráfico rodado (quads, motos, coches, bicicletas) debido a la cercanía de las poblaciones de *Limonium mansanetianum* a zonas de recreo muy tradicionales para las poblaciones cercanas (**Figura 7**) y que ha provocado a lo largo de los años una gran compactación del suelo, que junto con el cambio en los usos del suelo de transformaciones agrarias, creación de merenderos, canteras y vertederos de residuos sólidos han producido una fragmentación de la vegetación gipsícola. Y consecuentemente la disminución de las poblaciones y el número de ejemplares.



Figura 7: Marcas del tráfico rodado, principal amenaza para el *Limonium mansanetianum*.

Dentro de la iniciativa comunitaria Interreg IIIB MEDOCC1, se realizó el proyecto llamado SEMCLIMED entre los años 2006-2008, un proyecto que se circunscribe dentro del trabajo en red diseñado y precedido por el anterior proyecto ENMEDOC, dedicado a la conservación *ex situ* de recursos genéticos de flora silvestre a través de cooperación entre bancos de semillas del

Mediterráneo occidental. El desarrollo de este proyecto permitió establecer metodologías comunes de trabajo y fijar nuevos objetivos colectivos para la conservación vegetal frente al inminente cambio climático. Junto con la colaboración del CIEF (Centro para la Investigación y Experimentación Forestal y el Banc de Llavors Forestals de la Generalitat Valenciana) escogieron el *Limonium mansanetianum* como una de las especies objeto de estudio de elevado interés científico y con la que es necesario desarrollar actividades de gestión y conservación dentro de sus hábitats naturales, en este caso en concreto los yesos triásicos (facies germánica del Keuper) que afloran en la unidad geológica que afecta a la localidad de Villanueva de Castellón (Valencia).

Objetivos y etapas de la acción:

1. Delimitación y evaluación del estado actual de las poblaciones de *Limonium mansanetianum*.
2. Recolección de semilla de los diferentes núcleos de la población.
3. Caracterización de semillas, estudio de la capacidad de germinación, del estado sanitario, etc.
4. Producción de planta en vivero.
5. Información a los Ayuntamientos e instituciones competentes.
6. Introducción de planta sobre el territorio.
7. Seguimiento de la acción, conocimiento de la mortalidad de plantas de supervivencia, etc.
8. Análisis de los resultados.
9. Etapa de difusión y divulgación. Carteles y paneles indicando el trabajo realizado y los fondos de financiación.

Hasta la fecha se han realizado hasta la etapa número 6, el resto de etapas están programadas. Durante la plantación se introdujeron un total de 1500 plantas para el reforzamiento poblacional de *Limonium mansanetianum* en Villanueva de Castellón. La acción se ejecutó a cargo de la brigada de Microrreservas de Flora Valenciana junto con la del Banc de Llavors de la Generalitat Valenciana, y como responsables de la acción los coordinadores técnicos del CIEF.

El Ayuntamiento de Villanueva de Castellón está llevando a cabo los trámites pertinentes para declarar la zona como microreserva y otorgarle la protección adecuada para preservar la conservación del *Limonium mansanetianum*.

El *Limonium mansanetianum* M.B. Crespo & M.D. Lledó lo encontramos en el ANEXO I ESPECIES DEL CATÁLOGO VALENCIANO DE ESPECIES DE FLORA AMENAZADAS como **Vulnerable**.

Y según lo establecido por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) en 2008, el dicha especie se encuentra en la categoría de En Peligro Crítico (CR), como queda definido en los criterios B1ab (iii,iv,v) + 2ab(iii,iv,v) (Moreno, 2008).

1.7 OBJETIVOS

El conocimiento de la influencia de los factores ambientales en la germinación es de enorme interés para la conservación de especies amenazadas, ya que permite diseñar protocolos de germinación adecuados para la producción y propagación de plantas.

El objetivo de este proyecto es disponer de la mayor cantidad de información sobre la biología germinativa del endemismo valenciano *Limonium mansanetianum*; y para ello realizaremos un ensayo con diversos factores, temperatura y salinidad, con el fin de encontrar las condiciones óptimas de germinación, y así obtener datos que sirvan para mejorar su gestión y conservación. En definitiva, poder producir la mayor cantidad de planta, optimizando al máximo los recursos, que nos servirán para futuros trabajos de repoblación.

Realizaremos varios ensayos, en los cuales se estudiará el comportamiento germinativo del *Limonium mansanetianum* a diferentes

regímenes térmicos (10, 15, 20, 20/25°C) buscando el óptimo y también la influencia de diversas concentraciones salinas (0.5-3%) en el total de semillas germinadas. Además comprobaremos si las semillas mantienen su capacidad germinativa después de haber estado bajo la influencia de éstas soluciones salinas y tras su exposición prolongada a soluciones hipersalinas de 4% y 8% de NaCl y a una temperatura constante de 4°C durante dos meses en oscuridad total.

MATERIAL Y MÉTODOS

2 MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 ENSAYOS DE GERMINACIÓN

2.1.1 Material vegetal

Para el presente estudio de germinación se han utilizado semillas de *Limonium mansanetianum*, proporcionadas por el *Centro para la Investigación y la Experimentación Forestal (CIEF)*, *Conselleria de Medi Ambient, Aigua, Urbanisme i Habitatge de la Generalitat Valenciana*.

Se han utilizado semillas recolectadas en diferentes años: 2004, 2007, 2008 y 2009 del paraje natural Les Salines (Manuel) y de La Font Amarga (Villanueva de Castellón).

Estas semillas fueron conservadas en el Banc de Llavors Forestals del CIEF, el cual posee una colección de accesiones de germoplasma de plantas amenazadas, desde que estas fueron recolectadas hasta su utilización. La técnica de conservación, consiste en el mantenimiento de semillas con bajos niveles de humedad en recipientes herméticos, a temperaturas comprendidas entre 4 y 5°C.

Para la realización de dicho estudio se tuvo que hacer una limpieza previa del material proporcionado por el CIEF, y así obtener semillas viables para los ensayos. La limpieza consistía en poner en la palma de la mano unas cuantas espiguillas (alrededor de 30-40) y con los dedos de la otra mano realizar movimientos circulares suaves, para evitar posibles daños sobre las semillas, así obtener directamente semillas limpias y espiguillas de las cuales se había desprendido la parte más externa. Éstas últimas las observábamos con una lupa y con la ayuda de unas pinzas y una lanceta quitábamos las envolturas obteniendo finalmente la semilla.

En todas las espiguillas no aparecen semillas y realizamos una estimación del cuajado para ver el porcentaje de semillas existente en cada lote. Para obtener el número de semillas necesario (3700) se han utilizado 4 lotes diferentes, pero no se ha tenido en cuenta las semilla a que lote pertenecían. Los datos obtenidos los podemos observar en el capítulo de resultados.



Figura 8: Semilla y espiguilla

2.1.2 Ensayos de germinación en condiciones controladas

Para evaluar la respuesta germinativa de las semillas de *Limonium mansanetianum* se han ensayado seis concentraciones diferentes de NaCl: 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 y 3% (p/v). Y un ensayo control con agua destilada.

En cada uno de los tratamientos se han utilizado cuatro repeticiones con veinticinco semillas en cada placa Petri, que posteriormente se dispusieron en cuatro cámaras de germinación bajo condiciones de temperaturas controladas de 10°C, 15°C, 20°C y 20/25°C.



Figura 4: Preparación de las placas



Figura 5: Placa Petri con 25 semillas



Figura 9: Cámara de germinación

Por tanto, en cada cámara de germinación teníamos los siete ensayos, el control y las diferentes concentraciones salinas. Y para cada tratamiento 4 réplicas con 25 semillas por placa.

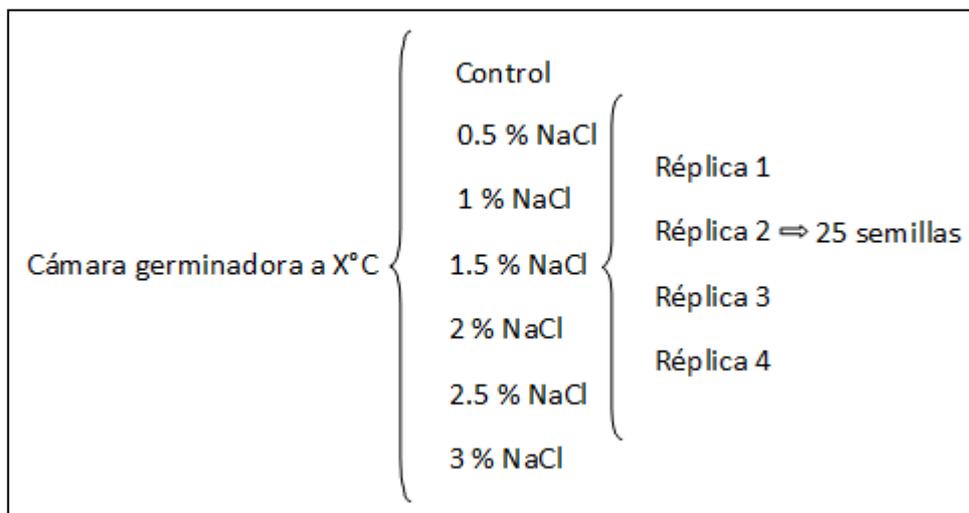


Figura 10: Esquema para cada cámara de germinación

Y el número total de semillas utilizado es de 2800 semillas, repartidas en 4 (temperaturas) x 7 (ensayos) x 4 (réplicas) x 25 (semillas por placa).

Las siembras se realizaron en condiciones estériles en una cámara de flujo laminar. Se distribuyeron las semillas homogéneamente sobre el disco de papel de filtro en la placa Petri, después se le añadió 6 ml de agua destilada para el control o la misma cantidad para los ensayos con distintas concentraciones de NaCl (0.5-3%), consiguiendo así que la semilla estuviera en contacto con el agua pero no sumergida. Posteriormente se sellaron las placas con parafilm, para evitar la desecación del filtro y se dispusieron en cada una de las cuatro cámaras de germinación los siete ensayos con sus cuatro réplicas.

Con el fin de evitar el posible estrés hídrico por desecación, las placas se humedecían con agua destilada, para no modificar las concentraciones salinas iniciales, hasta el punto de saturación cuando se apreciaba que el papel de filtro se secaba.

2.1.3 Control de la germinación

El control de la germinación se realizó durante 35 días. El conteo de las semillas germinadas se efectuó diariamente, tomando como criterio de germinación la aparición de la radícula de tamaño 2 mm de longitud (I.S.T.A., 1985; Pérez-García y Durán, 1989; Suszka *et al.*, 1994), en ese momento se retiraban de la placa para su posterior cultivo.



Figura 11: Semillas germinadas

2.2 ENSAYO DE LAS SEMILLAS NO GERMINADAS EN CONDICIONES SALINAS.

Las semillas que no habían germinado del ensayo de germinación inicial para concentraciones salinas iguales o superiores a 1.5%, se trasladaron a nuevas placas Petri con el filtro humedecido de agua destilada.

La nueva siembra consistía en trasladar las semillas no germinadas a partir de la concentración salina de 1.5% a nuevas placas, manteniendo las condiciones de temperatura de los ensayos iniciales y referenciándolas con la concentración salina y número de réplica del primer ensayo.

2.2.1 Control de la recuperación

El seguimiento de la germinación fue diario, contando como día uno el día en el cual se trasladaron las semillas a las nuevas condiciones; Como criterio de germinación se consideró que una semilla había germinado cuando su radícula era superior a los 2 mm de longitud y en ese momento se retiraban de la placa para su posterior cultivo.

2.3 ENSAYO DE RESISTENCIA DE LAS SEMILLAS A CONDICIONES DE HIPERSALINIDAD

Se realizó un último ensayo de germinación con semillas que habían estado previamente a temperatura de 4°C bajo condiciones hipersalinas y durante dos meses, completamente cubiertas con papel de aluminio para evitar que pudieran germinar.

Se realizaron dos ensayos diferentes con soluciones al 4% y al 8% de NaCl, cada uno con 9 réplicas y 25 semillas, que se dispusieron en una nevera

a 4°C durante dos meses en oscuridad total. Pasado este tiempo, se trasladaron las semillas a nuevas placas Petri con agua destilada que posteriormente se introdujeron en cámaras germinadoras a 10°C y a 15°C.

En cada cámara germinadora había 4 réplicas del tratamiento a 4% de solución salina y otras 4 para la solución de 8 % con 25 semillas en cada una.

2.3.1 Control de la recuperación

El seguimiento de la germinación fue diario, contando como día uno el día en el cual se trasladaron las semillas a las nuevas condiciones. Como criterio de germinación se consideró que una semilla había germinado cuando su radícula era superior a los 2 mm de longitud y en ese momento se retiraban de la placa para su posterior cultivo.

2.3.2 Determinación de la velocidad de germinación

El T_{50} es el parámetro más utilizado para determinar la velocidad de germinación. Se calcula en número entero de días y corresponde al tiempo necesario para obtener el 50% de la capacidad germinativa del lote (Côme, 1970). Tal valor se puede calcular por interpolación lineal según la fórmula de Coolbear *et al.*, (1980), ligeramente modificada según la definición ofrecida por Thanos y Doussi (1995):

$$T_{50} = \frac{\left[\left(\frac{N}{2} - N_1 \right) * (T_2 - T_1) \right]}{N_2 - N_1} + T_1$$

Donde:

N= porcentaje final de semillas germinadas

N_1 = porcentaje de semillas germinadas por debajo de $N/2$

N_2 = porcentaje de semillas germinadas por encima de $N/2$

T_1 = número de días que corresponden a N_1

T_2 = número de días que corresponden a N_2

2.4 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO Y GRÁFICO DE LOS DATOS

Los datos de germinación obtenidos de las diferentes experiencias se trataron mediante Microsoft Office Excel (2007) y estadísticamente mediante el programa Statgraphics (versión 4.1).

Como parámetros se calcularon:

- La media aritmética de las cuatro réplicas para cada concentración y para cada una de las temperaturas.
- El T_{50} para los diferentes ensayos.
- El error estándar de la media y del T_{50} .
- ANOVA factorial.

Todos los datos obtenidos se representaron en tablas y gráficos para facilitar su lectura.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para obtener la mayor cantidad de información acerca de la germinación del *Limonium mansanetianum* se realizaron diversos ensayos con el fin de determinar:

- El porcentaje de semillas germinadas medio acumulado para cada concentración y temperatura. Cruzando ambas variables entre sí.
- El efecto de la temperatura y la salinidad en la velocidad de germinación del *Limonium mansanetianum* mediante el parámetro del T_{50} . Estos resultados se complementan con los datos mostrados en las tablas donde se incluye el día de inicio de la germinación (día en que se observan las primeras semillas germinadas) y el día final (día en que germinó la última semilla).
- El porcentaje de semillas germinadas medio después de haber estado sometidas a diversas concentraciones salinas (1.5, 2, 2.5 y 3%) y en condiciones de hipersalinidad (4% y 8%).

A lo largo de este capítulo, los resultados se han expresado como media del porcentaje de germinación de las cuatro repeticiones de 25 semillas por placa. Se expresan en función de las distintas concentraciones y temperaturas. Así como el promedio de las cuatro réplicas del T_{50} para cada tratamiento.

Los resultados se presentan gráficamente, mostrando los porcentajes finales para cada tratamiento y temperaturas. También se representa la evolución en el tiempo de los distintos ensayos.

3.1 ESTIMACIÓN DEL CUAJADO

Para la realización de los ensayos de germinación a partir del material recolectado que incluye espiguillas se procedía a la limpieza para la obtención de las semillas. El número de semillas obtenido a partir del número de espiguillas se

puede emplear como una estimación del porcentaje de cuajado y formación de semillas. En la **Tabla 4** se recogen el número de semillas obtenidas por lotes de 25 espiguillas

Tabla 4: Semillas viables para cada lote

	Número de semillas viables por lote de 25 espiguillas			
	2004	2007	2008	2009
	7	8	1	8
	8	8	2	7
	9	11	0	12
	14	11	3	8
	6	9	1	12
	10	8	2	5
	8	11	0	13
	6	8	0	9
	11	11	1	10
	9	10	2	11
	10	10	1	9
	8	9	0	9
	7	10	2	12
	9	9	3	8
	8	11	2	14
	13	10	1	6
	12	12	2	12
	10	9	2	7
	8	9	1	10
	9	9	3	9
%	36%	37%	6%	38%
Media±E.E	9,1±2,6	9,7±1,5	1,5±1,2	9,6±2,9

Como podemos observar el porcentaje de espiguillas que contiene semillas es muy similar para los años 2004, 2007 y 2009 situándose en el entorno del 37% y para las del año 2008 se ha obtenido un valor más inferior, 6%.

3.2 EFECTO DE LA TEMPERATURA Y LA SALINIDAD SOBRE LA CAPACIDAD GERMINATIVA DE *Limonium mansanetianum*:

En la **Tabla 5** aparecen los valores medios de germinación final y su error por concentraciones salinas y el resultado del test de rango múltiple para las semillas de *Limonium mansanetianum*, tomando como factor la temperatura a la cual fueron incubadas las semillas. Las diferencias significativas ($P < 0,05$) se expresan mediante letras diferentes dentro de cada columna.

Tabla 5: Porcentajes medios de la germinación final agrupados por concentraciones salinas.

	CONCENTRACIÓN DE NaCl (%)						
T (°C)	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3
10	97,0±2,0 a	93,1±1,5 ab	79,1±4,9 ab	17,2±4,7 a	3,5±1,1 a	4,0±2,8 a	0,0±0,0
15	100,0±0,0 a	100,0±0,0 c	90,8±2,0 b	41,8±6,6 b	26,2±9,5 b	12,0±3,5 ab	12,1±5,1 ab
20	96,1±2,5 a	88,7±1,7 a	79,4±4,6 ab	37,7±5,0 b	19,7±3,5 b	9,6±1,6 a	13,1±4,6 ab
25/20	99,0±1,0 a	95,7±2,5 bc	65,2±12,6 a	21,8±1,4 a	18,4±2,6 ab	20,1±4,7 b	19,1±4,6 b

En la figura (**Figura 12**) se puede observar como varia el porcentaje de germinación final de la semilla de *Limonium mansanetianum* en función de la temperatura y la concentración salina a la que estuvieron sometidas.

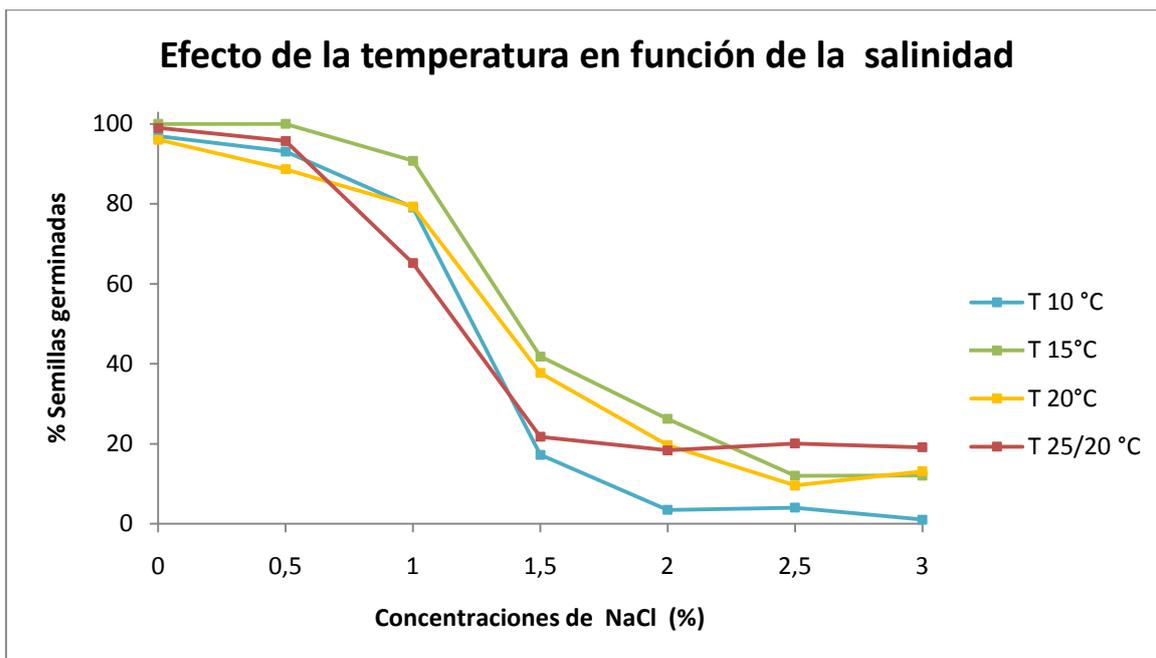


Figura 12: Efecto de la temperatura según la salinidad en el porcentaje de germinación final de la semilla de *Limonium mansanetianum*.

Como podemos observar en la **Figura 12 y Tabla 5**, para el control no hay diferencias significativas en el porcentaje de germinación final en función de la temperatura de incubación, el valor medio se encuentra por encima del 96%. Coincidiendo con las especies de *Limonium Mill.* (*L. bellidifolium*, *L. dufouri*, *L. lobatum*, *L. perplexum*, *L. densissimum*, *L. rigualii*, *L. scopulorum*, *L. thiniense*, *L. interjectum*, *L. cofrentanum*, *L. sucronicum* y *L. parvibracteatum*) analizadas por el equipo del CIEF en el cual se realizaron ensayos a diferentes temperaturas (25, 20 y 15/10 °C) obteniendo para todos los casos porcentajes finales de germinación superiores al 90% (Ferrando *et al.*, 2010).

Cuando se compara para cada tratamiento salino el efecto de la temperatura, se observa (**Tabla 5, Figura 12**) una tendencia a mayores porcentajes de germinación a la temperatura de 15°C para las concentraciones salinas comprendidas entre 0,5-2%.

Respecto a la temperatura de 15°C en la concentración de NaCl del 0,5% hay una germinación significativamente menor a la temperatura de 10 y 20°C (**Tabla 5**).

Para la concentración salina de 1% la germinación es significativamente menor a 25/20°C teniendo un valor del 65% de las semillas germinadas (**Tabla 5**), que comparándolo con la temperatura de 15°C existe una diferencia de 25%, siendo para el resto de temperaturas la germinación superior al 79%.

Para la concentración de NaCl del 1,5%, la germinación es menor significativamente a las temperaturas extremas de 10 y 25/20°C con valores alrededor del 20%. Por el contrario las temperaturas centrales de 15 y 20°C tienen valores cercanos al 40%, el doble de semillas germinadas.

A la concentración salina de 2% la menor germinación producida se encuentra para la temperatura de 10°C, germinando el 3,5% de las semillas. Sin embargo para 15°C germinaron el 26%, lo que supone una reducción respecto a 15°C de más del 20%.

Para las concentraciones salinas de 2,5 y 3% el mayor porcentaje de germinación se produce a la temperatura de 25/20°C; y en ambos casos no existe diferencias significativas a la temperatura de 15°C, y sí se observan diferencias significativas para 10 y 20°C.

Del mismo modo que en el trabajo de Herranz (2004) para las especies *Arthrocnemum macrostachyum*, *Senecio auricula* y *Lepidium cardamine* se deduce de este ensayo, que la mayoría de las especies halófitas germinan mejor en agua dulce que en agua salada, aún siendo su hábitat salobre y que al incrementar la concentración salina se reduce la germinación de las semillas de *Limonium mansanetianum*.

En la **Tabla 6** aparecen los valores medios de germinación final y su error por temperaturas y el test de rango múltiple para las semillas de *Limonium mansanetianum*, tomando como factor las diferentes concentraciones a las cuales fueron incubadas las semillas. Las diferencias significativas ($P < 0,05$) se expresan mediante letras diferentes dentro de cada columna.

Tabla 6: Porcentajes medios de la germinación final agrupados por temperaturas.

CONCENTRACIÓN DE NaCl (%)	TEMPERATURA (°C)			
	10	15	20	25/20
0	97,0±2,0 a	100,0±0,0 a	96,1±2,5 a	99,0±1,0 a
0,5	93,1±1,5 a	100,0±0,0 a	88,7±1,7 ab	95,7±2,5 a
1	79,1±4,9 b	90,8±2,0 a	79,4±4,6 b	65,2±12,6 b
1,5	17,2±4,7 c	41,8±6,6 b	37,7±5,0 c	21,8±1,4 c
2	3,5±1,1 d	26,2±9,5 c	19,7±3,5 d	18,4±2,6 c
2,5	4,0±2,8 d	12,0±3,5 c	9,6±1,6 d	20,1±4,7 c
3	0,0±0,0	12,1±5,1 c	13,1±4,6 d	19,1±4,6 c

En la siguiente figura (**Figura 13**) están representados los datos de la **Tabla 6** gráficamente, en ella podemos observar como varia el porcentaje medio acumulado de semillas germinadas en función de la concentración salina y la temperatura a la cual fueron incubadas.

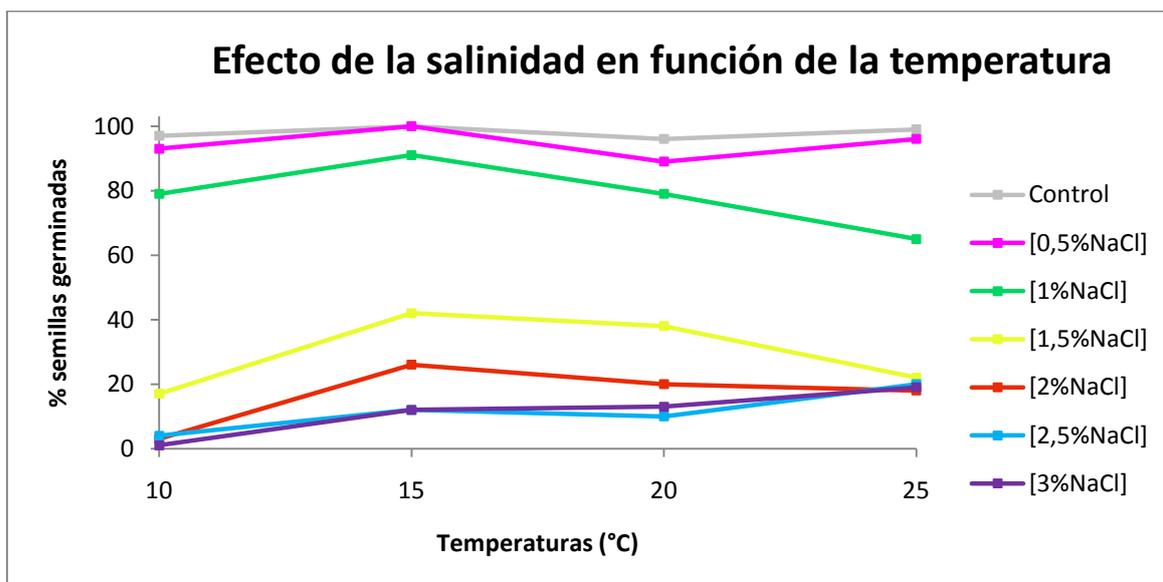


Figura 13: Efecto de la salinidad según la temperatura en el porcentaje de germinación final de las semillas de *Limonium mansanetianum*.

Cuando comparamos para cada temperatura el efecto de las diferentes concentraciones salinas, se observa (**Tabla 6, Figura 13**) que para las cuatro temperaturas ensayadas no existe diferencias significativas entre el control y la concentración salina de 0,5%, siendo los valores superiores al 88%.

Podemos distinguir claramente dos grupos independientemente de la temperatura, el primero formado por el control y el 0,5% de concentración salina, comentado anteriormente. Y un segundo grupo formado por las concentraciones 2%, 2,5% y 3% de NaCl, donde los valores germinativos son inferiores al 26% con un efecto asociado a la temperatura de incubación, lo que indicaría una cierta interacción entre temperatura y concentración salina. Así para la temperatura de 15°C la concentración de NaCl al 1% no difiere del control a diferencia de lo que se observa para las otras tres temperaturas. La germinación a 1,5% de NaCl se sitúa entre ambos grupos para las temperaturas de 10, 15 y 20°C, pero no difieren para la temperatura 25/20°C del valor obtenido para la concentración de 2 a 3%.

Destacar que a la concentración de 3% en NaCl la germinación de *Limonium mansanetianum* se inhibe para la temperatura de 10°C, no habiendo obtenido ninguna semilla germinada.

3.3 EFECTO DE LA TEMPERATURA Y SALINIDAD SOBRE LA VELOCIDAD DE GERMINACIÓN DE *Limonium mansanetianum*

En la **Tabla 7** aparecen los resultados de la velocidad de germinación expresados en días (calculándose el T_{50}) por temperaturas y el test de rango múltiple para las semillas de *Limonium mansanetianum*, tomando como factores las diferentes concentraciones salinas a las cuales fueron incubadas las semillas. Las diferencias significativas ($P < 0,05$) se expresan mediante letras diferentes dentro de cada columna.

Tabla 7: Velocidad de germinación en días (T₅₀) agrupada por temperaturas.

CONCENTRACIÓN DE NaCl (%)	TEMPERATURA (°C)			
	25/20	20	15	10
0	2±0,1 a	1,7±0,1 a	2,4±0,1 a	6,0±0,5 a
0,5	4,7±0,6 a	5,5±0,4 ab	4,4±0,2 ab	9,7±0,5 a
1	13,7±4,6 ab	13,2±4,1 bc	10,1±1,8 abc	22,1±1,2 b
1,5	12,1±4,2 ab	13,0±3,4 bc	17,1±3,8 bc	22,0±2,9 b
2	12,4±3,9 ab	17,1±3,8 bc	13,5±2,7 bc	24,17±2,7 b
2,5	12,2±1,8 bc	10,8±2,2 cd	13,0±3,5 c	30,12±1,4 c
3	23,9±5,9 c	23±4,1 d	16,1±6,9 c	0,0±0,0

En la siguiente figura (**Figura 14**) aparece la velocidad de germinación (evaluada por el parámetro T₅₀) a diferentes concentraciones salinas y en función de la temperatura. Se representan los datos de la **Tabla 7** en días, acompañados de su correspondiente error estándar.

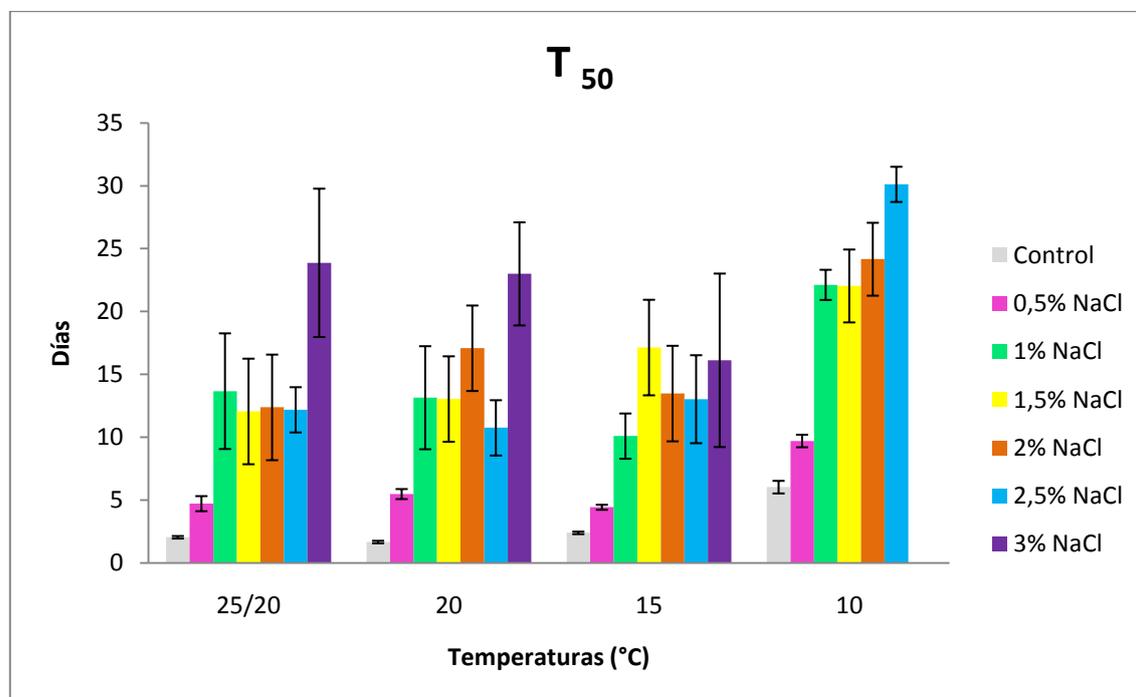


Figura 14: Velocidad de germinación (evaluada por el parámetro T₅₀ expresado en días) a diferentes concentraciones y en función de la temperatura.

En la **Figura 14** podemos observar por temperaturas, que en conjunto existen dentro de cada una de ellas tres grupos. El primero incluiría al control y la concentración salina 0,5%, que no difiere significativamente del control, en el cual la velocidad es menor, oscilando el T_{50} entre 2 y 10 días. El siguiente grupo engloba las concentraciones de NaCl desde 1% al 2,5% donde no existen diferencias significativas dentro de cada temperatura, sus valores del T_{50} se sitúan entre 10 y 17 días, excepto para la temperatura de 10°C con valores superiores a 22 días (a temperaturas bajas las reacciones se ralentizan, disminuyendo así la velocidad). Y el tercer grupo que consta de la concentración de 3% de NaCl, que para las temperaturas de 20°C y 25/20°C, tienen valores altos que si comparamos con el control existe un diferencia de 20 días.

En la temperatura de 10°C la velocidad de germinación es menor que para el resto, independientemente de la concentración a la cual han sido germinadas las semillas, para la concentración de 2,5% su valor es superior a 30 días, duplicando el número de días a la misma concentración para el resto de temperaturas, estos es debido a la ralentización de las reacciones enzimáticas (**Tabla 7**).

Y en la temperatura de 15°C, excepto para el primer grupo, la velocidad de germinación es similar para todas las concentraciones incluso para la del 3%. No siendo el número de días superior a 17 (**Tabla 7**).

En la **Figura 15** aparece la velocidad de germinación (evaluada por el parámetro T_{50}) a diferentes temperaturas y en función de las concentraciones salinas. Se representan los datos de la **Tabla 7** en días, acompañados de su correspondiente error estándar.

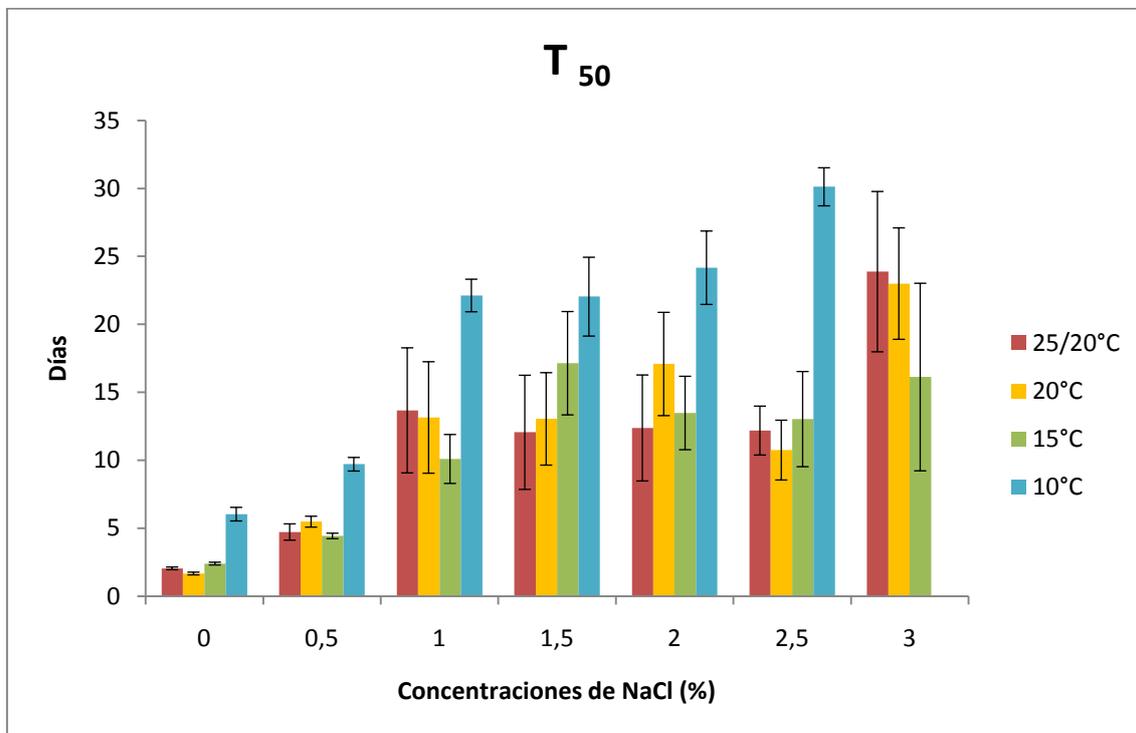


Figura 15: Velocidad de germinación (evaluada por el parámetro T_{50} expresado en días) a diferentes temperaturas y en función de la concentración salina.

En la **Figura 15** se observa que al aumentar la concentración de NaCl disminuye la velocidad de germinación en general, este mismo efecto se observó en el estudio de la germinación de tres halófitos amenazados en Castilla-La Mancha en condiciones de estrés salino para las especies *Arthrocnemum macrostachyum*, *Senecio auricula* y *Lepidium cardamine* (Herranz, 2004). Asimismo, e independientemente de la concentración salina también se produce una disminución de la velocidad al disminuir la temperatura.

También destacar, que para todos los tratamientos excepto para la concentración salina del 3% (a la temperatura de 15°C) los valores del parámetro T_{50} son similares para las temperaturas de 15, 20 y 25/20°C.

Si comparamos el control con la concentración en NaCl al 3% la diferencia en la velocidad germinativa es de 20 días.

Por tanto, se deduce de estos ensayos de la velocidad de germinación que los mejores valores se obtienen a las temperaturas de 15, 20 y 25/20°C, y con bajas salinidades (al 0.5% en NaCl los resultados son muy similares al control), este comportamiento coincide con lo expresado por Mujica *et al.*, (2001) para *Chenopodium quínoa*.

En la **Tabla 8** aparecen la media de los días en los cuales germinaron la primera y última semilla para cada ensayo y temperatura.

Tabla 8: Día inicial de la germinación i final de la germinación de las semillas por temperaturas y concentraciones de NaCl

CONCENTRACIÓN DE NaCl (%)	TEMPERATURA (°C)							
	25/20	25/20	20	20	15	15	10	10
	Día ₀	Día _f						
0	2	5	2	4	2	5	5	10
0,5	2	12	3	12	2	9	6	20
1	3	25	3	28	5	24	9	29
1,5	5	25	3	28	6	29	16	27
2	7	23	13	28	8	27	25	25
2,5	9	22	10	13	11	19	27	30
3	14	24	15	26	12	12	6	6

Día₀: Día inicial de la germinación

Día_f: Día final de la germinación

Podemos observar en la **Tabla 8** que tanto a medida que aumenta la concentración salina como disminuye la temperatura, aumentan el número de días iniciales y finales en general. Esto es debido a que el periodo de latencia depende en gran medida de la temperatura.

Existen días iniciales y finales que coinciden, esto se debe a que el número de semillas germinadas a estas concentraciones y temperaturas son muy bajas, en el caso del 3% en NaCl a 10°C solamente germinó 1.

3.4 RECUPERACIÓN DE LA CAPACIDAD GERMINATIVA TRAS LA INCUBACIÓN EN SOLUCIONES SALINAS:

En la **Tabla 9**, aparecen los porcentajes medios de germinación acumulados de las concentraciones salinas de 1,5, 2, 2,5 y 3% a las distintas temperaturas de incubación para las semillas *Limonium mansanetianum*. Y los porcentajes medios de germinación acumulados tras ser transferidas a agua destilada las semillas que no habían germinado después de haber estado 35 días incubando a las concentraciones salinas indicadas.

Tabla 9: Porcentajes medios de la germinación final agrupados por concentraciones salinas, que posteriormente fueron transferidas a agua destilada.

Porcentajes de germinación antes del paso a agua destilada				TEMPERATURA (°C)	Porcentajes de germinación tras la transferencia a agua destilada			
1,5 % NaCl	2% NaCl	2,5% NaCl	3% NaCl		1,5% NaCl	2% NaCl	2,5% NaCl	3% NaCl
21,8	18,4	20,1	19,1	25/20	100	98,5	97,7	88,3
37,7	19,7	9,6	13,1	20	100	96,1	97,1	94,1
41,8	26,2	12,0	12,1	15	100	100	100	91
17,2	3,5	4,0	0	10	100	98,9	94,7	96,8

Los datos de la **Tabla 9** están representados en las siguientes figuras (**Figuras 16, 17, 18 y 19**), donde los números negativos son los días en los cuales las semillas han sido incubadas en concentraciones salinas, antes de ser transferidos a agua destilada que se inicia el día 0.

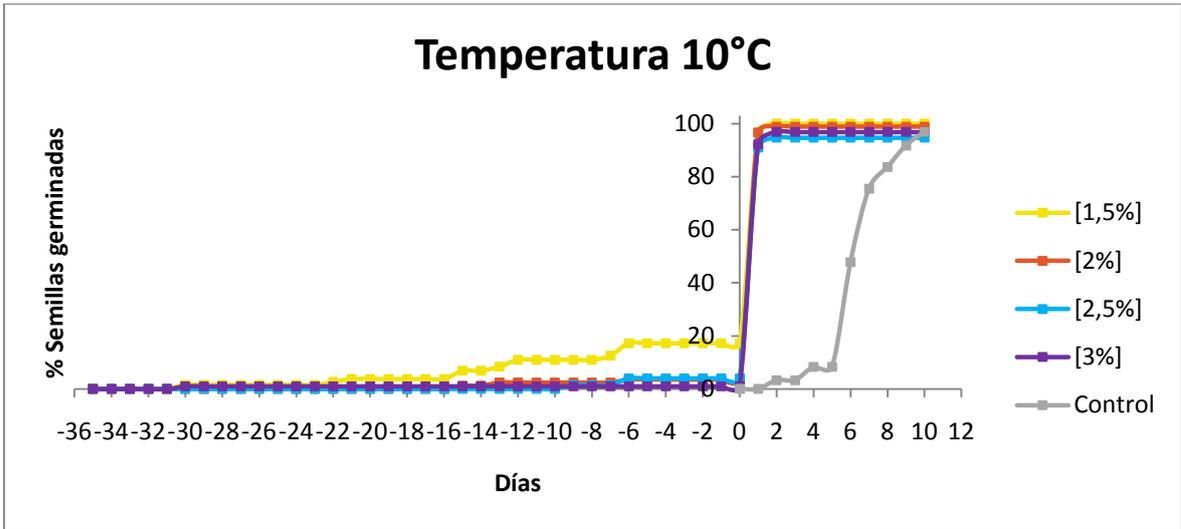


Figura 16: Porcentaje de semillas germinadas en función de la salinidad a 10°C. Antes y después de ser transferidas a agua destilada.

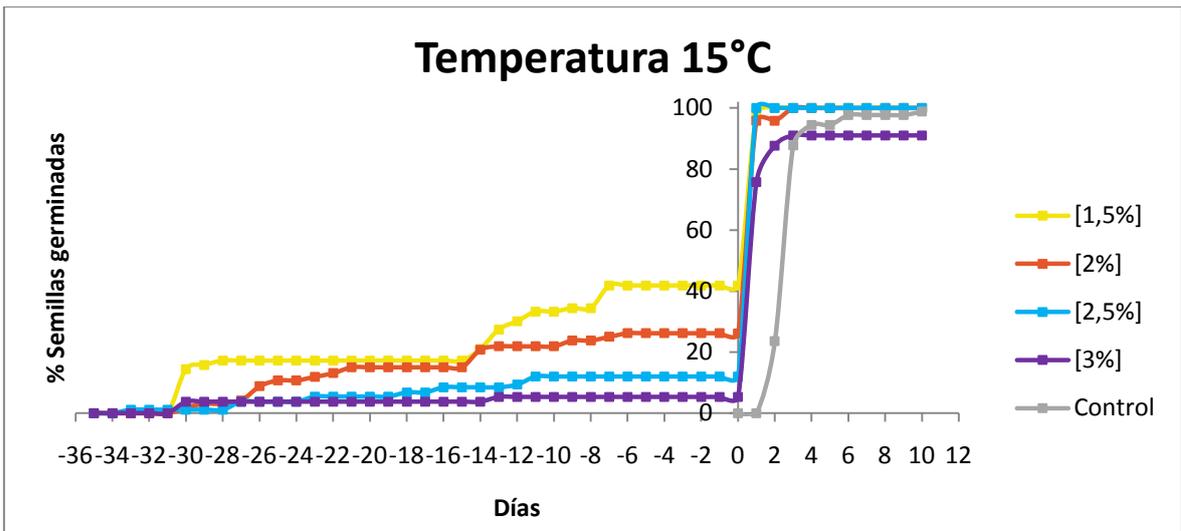


Figura 17: Porcentaje de semillas germinadas en función de la salinidad para a 15°C. Antes y después de ser transferidas a agua destilada.

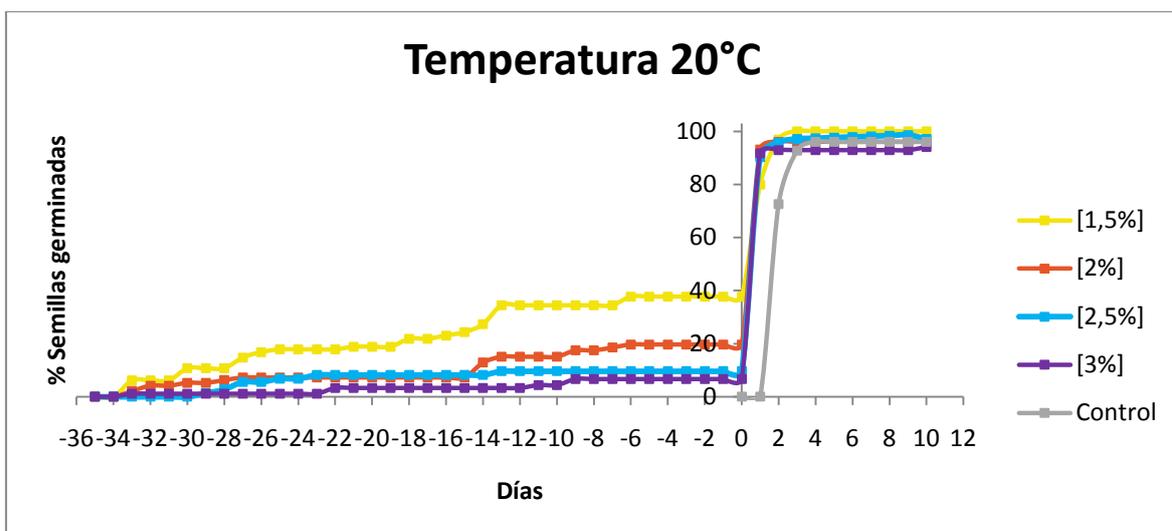


Figura 18: Porcentaje de semillas germinadas en función de la salinidad para a 20°C. Antes y después de ser transferidas a agua destilada.

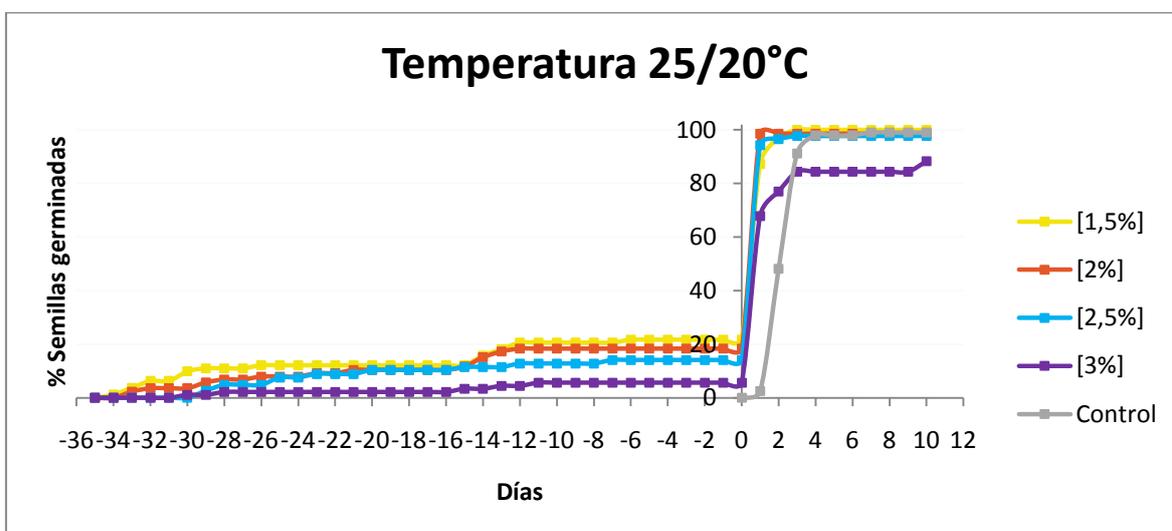


Figura 19: Porcentaje de semillas germinadas en función de la salinidad a 25/20°C. Antes y después de ser transferidas a agua destilada.

Podemos observar en las Figuras 16, 17, 18 y 19 que después de transferir las semillas a agua destilada mantienen el poder germinativo, ya que alcanzan porcentajes de germinación superiores al 88%, estos resultados indican que la incubación de las semillas en un medio salino impide que germinen pero no altera su capacidad de germinación, ya que al poner las semillas en condiciones

idóneas éstas recuperan las actividades necesarias para desarrollarse y germinar. Se pasan de porcentajes de semillas germinadas del 1% a valores del 97% (a 10°C), en el mejor de los casos. Y por el contrario, de valores del 42% al 100% (a 15°C), aún así siendo valores muy diferentes. Éste mismo comportamiento fue observado por Woodell (1985) sobre el *Limonium bellidifolium*, donde al transferir las semillas de disoluciones salinas a agua destilada la germinación pasó del 3% al 97%.

Concentraciones salinas elevadas (3%) disminuye ligeramente el poder de recuperación de las semillas de *Limonium mansanetianum*, pero hay que tener en cuenta que un 3% en NaCl es prácticamente la concentración del agua de mar.

En la **Tabla 10**, aparece la velocidad de germinación (parámetro T₅₀) de las concentraciones de 1.5, 2, 2.5 y 3% a las distintas temperaturas de incubación para las semillas *Limonium mansanetianum*. Y a la parte derecha de tabla, encontramos las velocidades de germinación tras ser transferidas a agua destilada las semillas que no habían germinado después de haber estado 35 días incubando a las concentraciones indicadas.

Tabla 10: Velocidad de germinación en días (T₅₀) agrupada por concentraciones salinas tras ser transferidas a agua destilada.

		Porcentajes de germinación tras la transferencia a agua destilada			
Control	Temperatura (°C)	1,5% NaCl	2% NaCl	2,5% NaCl	3% NaCl
2,0	25/20	0,6	0,5	0,5	0,8
1,8	20	0,8	0,5	0,5	0,5
2,4	15	0,5	0,5	0,5	0,6
6,0	10	0,5	0,5	0,5	0,5

Si comparamos los resultados con el control para cada temperatura específica, se observa que las semillas germinan en menor tiempo (menos de 1 día) después de haber estado 35 días a diferentes concentraciones salinas, ya que durante este tiempo se han ido hidratando pero no han conseguido alcanzar

las condiciones adecuadas para germinar. Los valores alcanzados durante la recuperación son en general similares a los controles, a diferencia de la concentración del 3% en NaCl que son ligeramente inferiores, siendo la recuperación superior al 88%.

3.5 EFECTO DE DISOLUCIONES HIPERSALINAS (4% Y 8%) SOBRE LA GERMINACIÓN FINAL DE *Limonium mansanetianum*:

En la **Tabla 11** aparecen los resultados de la germinación de semillas de *Limonium mansanetianum* tras ser incubadas durante dos meses a concentraciones hipersalinas, 4 y 8%, en oscuridad total a una temperatura de 4°C y que posteriormente se transfirieron a agua destilada y puestas a germinar a 10 y 15°C.

Tabla 11: Porcentajes medios de la germinación final de las semillas germinadas a diferentes concentraciones hipersalinas y a diferentes temperaturas.

	CONCENTRACIONES NaCl (%)		
TEMPERATURA (°C)	0	4	8
10	96,9	77	61
15	100	85	64

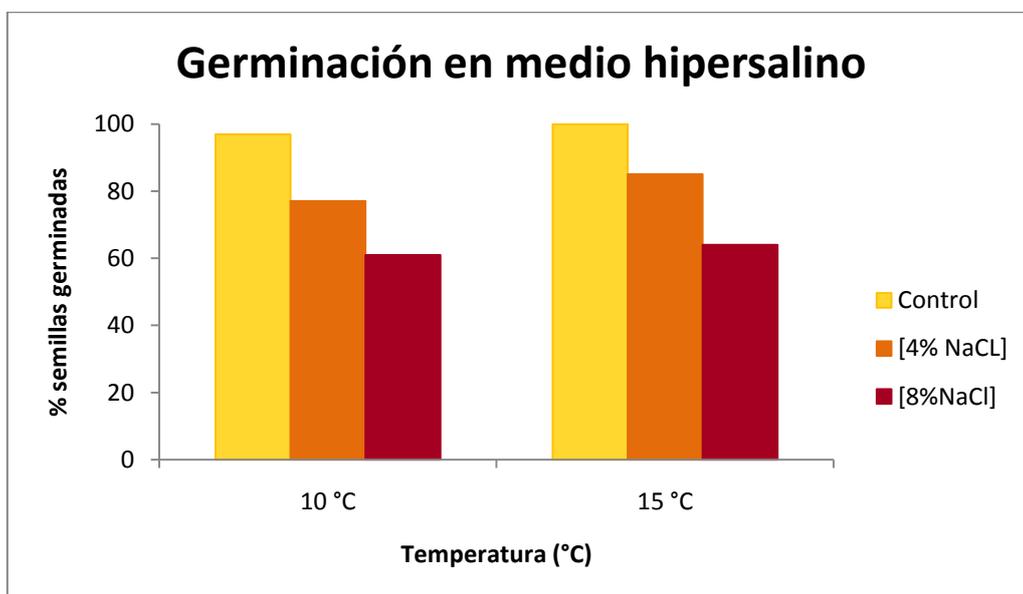


Figura 20: Porcentajes medios de la germinación final de semillas recuperadas tras la incubación a concentraciones hipersalinas y según las diferentes temperaturas.

Como se observa en la **Figura 20** y en la **Tabla 11** la influencia de la temperatura para el control y las diferentes concentraciones tiene un efecto similar en todos los casos. Por tanto, la temperatura de incubación para la recuperación no afecta.

En la **Figura 21** está representada la germinación final después de haber transferido las semillas a agua destilada y haberlas incubado a diferentes temperaturas.

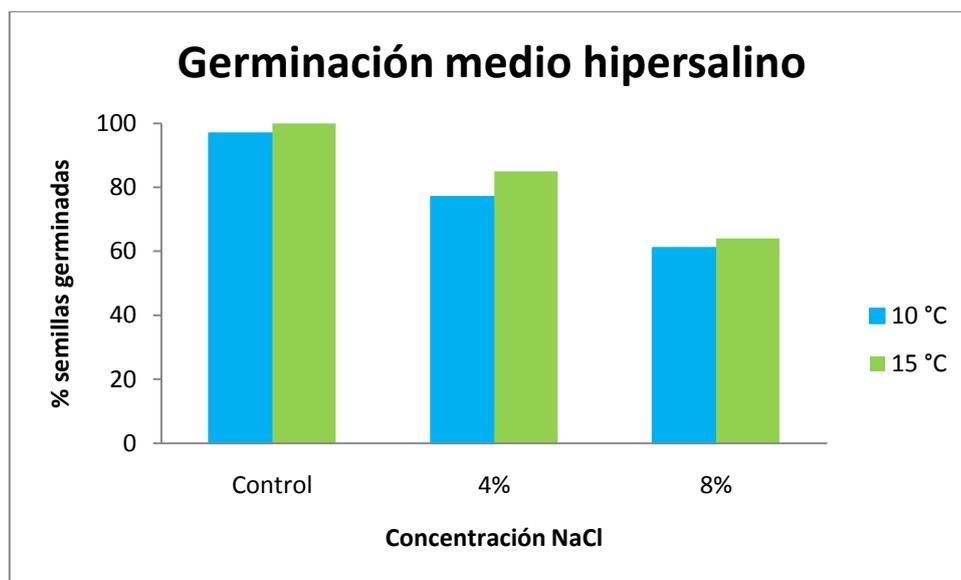


Figura 21: Porcentajes medios de la germinación final de semillas recuperadas tras la incubación a concentraciones hipersalinas.

Por el contrario, en la **Figura 21** podemos observar que el aumento de la salinidad si tiene efectos sobre la germinación disminuyéndola. Si comparamos el control con la concentración del 4% en NaCl la disminución es de 20% para 10°C y 15% para 15°C. Y para la concentración del 8% la reducción es del 36% para ambas temperaturas.

Por tanto podemos afirmar que el poder de recuperación del *Limonium mansanetianum* es elevado, superando el 60% de semillas germinadas tras ser incubadas durante dos meses en una disolución del 8% en NaCl, casi tres veces la concentración salina del agua de mar.

El efecto negativo del incremento de la concentración salina sobre la germinación tiene un claro significado ecológico en hábitats salobres, dado que la presencia de condiciones hipersalinas en el sustrato durante los meses estivales, determinadas por la ausencia de lluvia, el mayor poder evaporativo del aire cálido y las altas temperaturas, puede dar lugar a que estos ambientes sean inapropiados temporalmente para la germinación y normal desarrollo de las plántulas, como han puesto de manifiesto Ungar (1977), Khan y Ungar (1997) y Khan y Gulzar (2003). Sin embargo, la recuperación del poder germinativo en el *Limonium mansanetianum* estudiado en éste proyecto cuando sus semillas son transferidas desde condiciones hipersalinas (4 y 8% de NaCl durante dos meses) a agua destilada, indica que se trata de una inhibición reversible de naturaleza osmótica (Ungar, 1982; Woodell 1985; Keiffer y Ungar, 1997) y que las semillas tendrán potencialidad para germinar en su hábitat natural cuando disminuya la salinidad del sustrato, fenómeno que, en ambientes mediterráneos, viene determinado habitualmente por las lluvias otoñales y primaverales. Ambas estaciones son propicias para que tenga lugar una combinación óptima de condiciones de temperatura, iluminación y salinidad que favorezca la germinación.

En la **Tabla 12** aparecen los resultados de la aplicación del parámetro T_{50} , para las distintas concentraciones y temperaturas.

Tabla 12: Velocidad de germinación (T_{50}) agrupada por concentraciones salinas, y en función de la temperatura (en días)

	CONCENTRACIÓN DE NaCl (%)		
TEMPERATURA (°C)	0	4	8
10	6,2	6,9	11,4
15	2,4	3,8	3,7

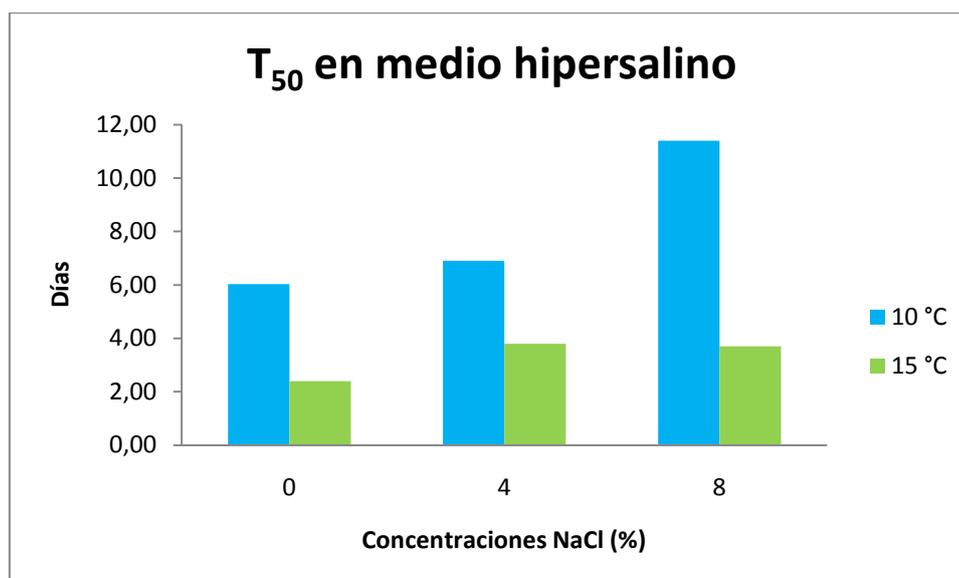


Figura 22: Velocidad de la germinación (T₅₀) según las concentraciones hipersalinas a diferentes temperaturas.

Comparando el número de días de las diferentes concentraciones con el control en la **Figura 22**, observamos que la diferencia al 4% en NaCl es de apenas 1 día para ambas temperaturas, sin embargo el número de días prácticamente se duplica para el ensayo de 8% en NaCl solo para la temperatura de 10°C.

Niveles de salinidad por encima de los límites de tolerancia de una especie pueden retrasar la germinación o producir una completa inhibición de la misma, así como que las semillas de los halófitos pueden tolerar durante largos periodos la exposición a soluciones hipersalinas y luego germinar en un gran porcentaje al ser transferidas a agua destilada o cuando la salinidad del sustrato se reduce considerablemente (Ungar (1978), Woodell (1985), Khan y Ungan (1997), Houle *et al.*, (2001) y Khan y Gulzar (2003)). Debido a ello, las semillas de muchas especies halófitas suelen germinar a finales de invierno o principios de primavera, época en la que, en zonas con lluvias invernales que laven el suelo, los niveles de salinidad de éste son más reducidos (Keiffer y Ungar, 1997), determinando que la fase de establecimiento de plántulas se produzca antes del periodo de mayor estrés salino (Poljakoff-Mayber *et al.*, 1994; Ungar, 1996), que suele ser el verano en ambientes mediterráneos.

En la **Figura 23** está representada la velocidad de germinación según las temperaturas de incubación.

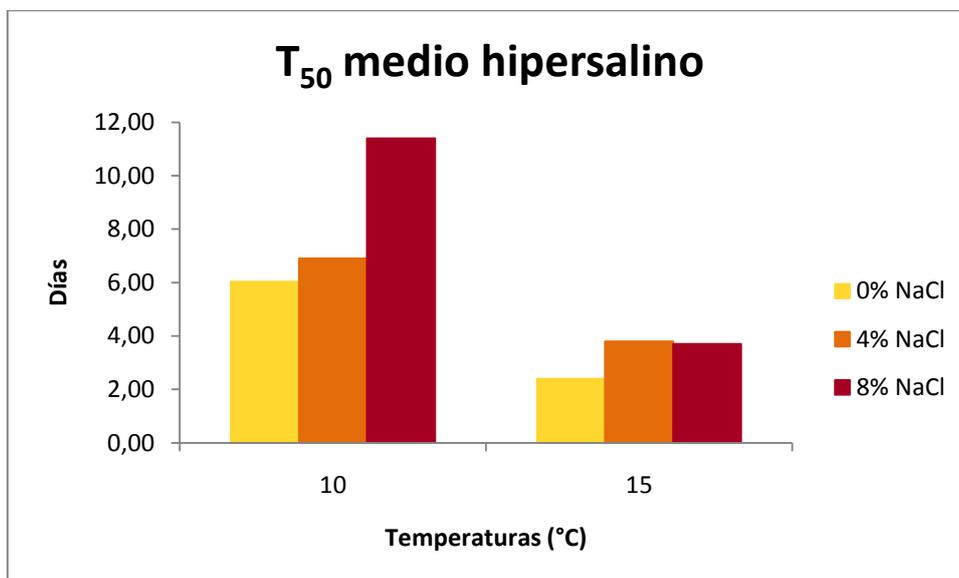


Figura 23: Porcentaje Velocidad de germinación (T₅₀) según las temperaturas y a diferentes concentraciones hipersalinas.

En la temperatura de 15°C no existen diferencias en cuanto a la velocidad de germinación para las concentraciones salinas al 4 y 8%. Sin embargo a 10°C solo existe diferencia para la concentración de 8%.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

4 RESUMEN Y CONCLUSIONES

En el Centro para la Investigación y Experimentación Forestal, a partir de semillas proporcionadas por ellos, se ha realizado un estudio sobre el efecto de la temperatura y salinidad sobre la germinación del *Limonium mansanetianum* y se ha llegado a las siguientes conclusiones:

1. En ausencia de NaCl (Control) el porcentaje de germinación final no se ve afectado por la temperatura, siendo para las cuatro temperaturas superior al 96% y reflejando así la ausencia de dormición.
2. La temperatura en la cual el porcentaje final de germinación es superior es 15°C, excepto para las concentraciones salinas de 2,5 y 3% que germinan mejor a 25/20°C.
3. El porcentaje de semillas germinadas disminuye significativamente al aumentar la concentración salina, obteniendo diferencias del 88% entre el control y 3% en NaCl para la temperatura de 10°C.
4. La velocidad de germinación no varía con la concentración salina, pero sí significativamente con la temperatura, a 10°C se obtienen los valores más elevados.
5. En el ensayo de la recuperación de las semillas después de haber estado en condiciones salinas, en todos los tratamientos (1,5, 2, 2,5 y 3% de NaCl) y temperaturas (10, 15, 20 y 25/20°C) se obtienen porcentajes de germinación finales superiores al 88%. Y la velocidad de germinación no supera 1 día, siendo incluso menor que en el control.
6. En cuanto a la respuesta de las semillas previamente incubadas en medios hipersalinos, se obtuvieron porcentajes de germinación superiores al 60%. No viéndose éstos porcentajes influenciados por la temperatura, pero sí por la concentración. Al contrario que en la velocidad de germinación, en la cual la temperatura sí condiciona el resultado final siendo los valores superiores a 10°C que a 15°C.

7. Las condiciones óptimas para la germinación de *Limonium mansanetianum* oscilarían entre los 15 y 20°C de temperatura e incubadas en agua dulce, aún siendo ésta una especie halófito.

BIBLIOGRAFÍA

5 BIBLIOGRAFÍA

AGUILELLA, A.; S. FOS Y E. LAGUNA (Eds.) (2009). *Catálogo Valenciano de Especies de Flora Amenazadas*. Colección Biodiversidad, 18. Conselleria de Media Ambient, Aigua, Urbanisme i Habitatge, Generalitat Valenciana. Valencia.

AZCÓN-BIETO, J. Y TALÓN, M. (2008). *Fundamentos de Fisiología vegetal*. Mc. Graw-Hill.

BAÑARES, A. (coord.) (2002). *Biología de la conservación de plantas amenazadas*. Organismo Autónomo Parques Nacionales, Ministerio de Medio Ambiente. Madrid.

BARCELÓ, J.; NICOLAS, G.; SABATER, B. Y SANCHEZ, R. (2001). *Fisiología vegetal*. Pirámide. Madrid.

CÔME, D. (1970). *Les obstacles à la germination*. Masson & CIE. Paris.

COOLBEAR, P.; GRIERSON, D. Y HEYDECKER, W. (1980). *Osmotic pre-sowing treatments and nucleic acids accumulation in tomato seeds (*Lycopersicon lycopersicum*)*. Seed Science and Technology 8: 289-303.

CRESPO, M.B Y LLEDÓ, M.D. (1998). *Libro del género Limonium Mill*. Generalitat Valenciana, Conselleria de Medio Ambiente. Alicante.

DÍAZ DE LA GUARDA, M. (2004). *Fisiología de las plantas*. Universidad de Córdoba.

FERNÁNDEZ, A. *Biodiversidad en España*. (2010). *Biología, divulgación y medio ambiente*. <<http://e-ciencia.com/blog/divulgacion/biodiversidad-en-espana/>>. (2 de agosto 2010)

FERRANDO, I.; FERRER, P.; ALBERT, P.; ESCRIBÁ, M.C.; NAVARRO, A.J. Y LAGUNA, E. (2010). *Anàlisi del comportament germinatiu de les espècies amenaçades del genere Limonium Mill. (Plumbaginaceae) a la*

Comunitat Valenciana. II Jornades Catalanes de Conservació de Flora, Barcelona 7-9 juny de 2010.

FIEDLER, P. L. Y S. JAIN (Eds.) (1992). *Conservation biology: the theory and practice of nature conservation, preservation and management*. Chapman & Hall. Nueva York.

HERRANZ J.M.; FERRANDIS P.; COPETE, M.A. Y MARTÍNEZ-SÁNCHEZ J.J. (2002). *Influencia de la temperatura de incubación sobre la germinación de 23 endemismos vegetales ibéricos o iberoafricanos*. *Inv Agr Prod Prot Veg* 17(2), 229-245.

HOPKINS, W.G. (2004). *Introduction to plant physiology*. Wiley and Song. Nueva York.

HOULE G.; MOREL L.; REYNOLDS C.E. Y SIEGEL J. (2001). *The effect of salinity on different developmental stages of an endemic annual plant, Aster laurentianus (Asteraceae)*. *Am J Bot* 88 (1), 62-67.

I.S.T.A. (International Seed Testing Association) (1985). *Handbook on tetrazolium testing*. Zürich.

KHAN M.A. Y UNGAR I.A. (1997). *Effects of light, salinity and thermoperiod on the seed germination of halophytes*. *Can J Bot* 75, 835-841.

KHAN M.A. Y GULZAR S. (2003). *Light, salinity, and temperatura effects on the seed germination of perennial grasses*. *Am J Bot* 90, 131-134.

KEIFFER C.H. Y UNGAR I.A. (1997). *The effect of extended exposure to hypersaline conditions on the germination of five inland halophyte species*. *Am J Bot* 84 (1), 104-111.

LAGUNA, E. (coord.) (1998). *Flora endémica, rara o amenazada de la comunidad Valenciana*. Conselleria de Medio Ambiente. Valencia.

LAGUNA, E.; CRESPO, M.B.; MATEO, G.; LOPEZ, S.; FABREGAT, C.; SERRA, LL.; HERRERO-BORGOÑÓN, J.L.; CARRETERO, J.L.; AGUILELLA, A. Y FIGUEROLA, R. (1998) *Flora endémica rara o*

amenazada de la Comunidad Valenciana. Generalitat valenciana, Consellería de medi Ambient, pp. 38. Valencia

LENTZ K.A. Y JOHNSON H.A. (1998). *Factor affecting germination of endangered northeastern bulrush, Scirpus ancistrochaetus Schuyler (Cyperaceae)*. Seed Sci Technol 26, 733-741.

LLORENS, L.; TÉBAR, F.J. Y Gil, L. (1992). *Sobre la corología del género Limonium Miller en las Islas Baleares*. Itinera Geobot. 6: 237-245.

MATEO, G. Y CRESPO, M.B. (1998). *Manual para la determinación de la flora valenciana*. Monografías Flora Montiberica, 3. Alicante-Valencia

MORENO, J.C. (coord.) (2008). *Lista Roja 2008 de flora vascular española*. Dirección General de Medio Natural y Política Forestal (ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino, y sociedad Española de Biología de la Conservación de Plantas), Madrid, 86 pp.

MUJICA, A.S.; JACOBSEN, S.E.; IZQUIERDO, J. Y MARATHEE, J. (2001). *Quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) ancestral cultivo andino, alimento del presente y futuro*. Ed. Mujica, Jacobsen, Izquierdo y Marathee. Santiago, Chile, pp. 456.

PÉREZ-GARCÍA, F. Y DURAN J.M. (1989). *Germinación de especies endémicas de las regiones Mediterránea occidental y Macaronésica*. Invest. Agr.: Prot. Veg. 4(1): 25-33.

PÉREZ-GARCÍA, F. Y MARTÍNEZ-LABORDE, J.B. (1994). *Introducción a la Fisiología Vegetal*. Mundi-Prensa.

POLJAKOFF-MAYBER A.; SOMERS, G.F.; WERKER, E. Y GALLAGHER J.L. (1994). *Seeds of Kosteletzkyia virginca (Malvaceae): their structure, germination, and salt tolerance*. II. Germination and salt tolerance. Am J Bot 81, 54-59.

RAVEN, P.H.; EVERT, R. Y EICHHORN, S. (1992). *Biology of plants*. Reverté. Barcelona.

THANOS, C.A Y DOUSSI, M.A. (1995). *Ecophysiology of seed germination in endemic Labiates of Crete*. Israel Journal of Plants Science 43: 227-237.

UNGAR, I.A. (1977). *Salinity, temperature, and growth regulator effects on seed germination of *Alicornia europea* L.* Aquat Bot 3, 329-335.

UNGAR, I.A. (1978). *Halophyte seed germination*. Bot Rev 44(2), 233-264.

UNGAR I.A. (1982). *Germination ecology of halophytes*. En: *Contributions to the ecology of halophytes*. Sen D.N., Rajpurchit K.S., ed. Junk, The Hague, pp. 143-154.

UNGAR, I.A. (1996). *Effect of salinity on seed germination, growth, and ion accumulation of *Atriplex patula* (Chenopodiaceae)*. Am J Bot 83, 604-607.

WOODELL, S.R.J. (1985). *Salinity and seed germination patterns in coastal plants*. Vegetatio 61, 223-229.

Convenio sobre la Diversidad Biológica: Aplicación en la Unión Europea (2006) <http://ec.europa.eu/environment/biodiversity/international/pdf/brochure_es.pdf> (17 de Noviembre de 2010)

MUÑOZ, P.V. *Sobre la Ley del Patrimonio Natural y la Biodiversidad*. Consell Valencià de cultura (2008) <<http://cvc.gva.es/archivos/287.pdf>> (12 de diciembre de 2010).