

UNIVERSIDAD DE ALMERIA

ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA

“Amortiguación del estrés salino mediante el
aislado endófito CDG17”

Mención: Hortofrutícola y Jardinería

Modalidad: Trabajo Técnico-Experimental.

Curso 2019/2020

Alumno/a:

Manuel Moral Jódar

Director/es:

Fernando Diánez Martínez
Brenda Sánchez Montesinos



Resumen.

RESUMEN.

En la cuenca mediterránea alrededor de 16 millones de hectáreas están afectadas por problemas de salinidad y en España la cifra asciende hasta 840.000 hectáreas (Serrano, 2009). Además de las causas naturales, la actividad humana, en concreto las malas prácticas de cultivo y el riego, han contribuido al incremento alarmante de sales en el suelo (Mahajan y Tuteja, 2005).

La necesidad de desarrollar cultivos con alta tolerancia a la salinidad se está incrementando fuertemente debido al aumento de problemas salinos. En general, las plantas no desarrollan tolerancia a la salinidad a menos que crezcan en condiciones salinas (Sivritepe *et al.*, 2003).

Debido a que la mayor parte de los cultivos son glicófitos (sensibles a la salinidad), el exceso de sales en el suelo ocasiona pérdidas importantísimas en las explotaciones agrarias (Pitman y Läuchli, 2002). La salinidad es el estrés abiótico que afecta más negativamente al crecimiento vegetal y por tanto a la producción agrícola, además de limitar el uso de nuevas áreas potenciales de cultivo (Greenway y Munns, 1980).

Determinados microorganismos pueden contribuir al desarrollo de los cultivos en condiciones de estreses bióticos y abióticos, en el caso del microorganismo objeto de estudio se pretende evaluar su efecto sobre el estrés abiótico que causa la salinidad.

ABSTRACT.

In the Mediterranean basin around 16 million hectares are affected by salinity problems and in Spain the figure rises to 840,000 hectares (Serrano, 2009). In addition to natural causes, human activity, specifically poor cultivation and irrigation practices, have contributed to the alarming increase in salts in the soil (Mahajan and Tuteja, 2005).

The need to develop crops with high tolerance to salinity is increasing strongly due to the increase in saline problems. In general, plants do not develop tolerance to salinity unless they grow in saline conditions (Sivritepe *et al.*, 2003).

Since most crops are glycophytes (sensitive to salinity), excess salts in the soil cause major losses on farms (Pitman and Läuchli, 2002). Salinity is the abiotic stress that affects more negatively plant growth and therefore agricultural production, in addition to limiting the use of new potential cultivation areas (Greenway and Munns, 1980).

Certain microorganisms can contribute to the development of crops under conditions of biotic and abiotic stresses. In the case of the microorganism under study, the aim is to evaluate its effect on abiotic stress caused by salinity.

ÍNDICE GENERAL.

ÍNDICE GENERAL.

ÍNDICE GENERAL.....	5
1. INTERÉS Y OBJETIVOS.....	8
1.1. Importancia de la salinidad en los cultivos hortícolas.....	8
1.1.1. Situación de los recursos hídricos agrícola en la provincia de Almería.....	8
1.1.2. Situación de los suelos agrícolas de la provincia de Almería.....	9
1.2. Interés del proyecto.....	10
1.3. Objetivos del proyecto.....	10
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1. Salinidad.....	12
2.2. Efectos de la salinidad en las plantas.....	12
2.2.1. Toxicidad iónica.....	12
2.2.2. Estrés osmótico.....	13
2.2.3. Desequilibrio nutricional.....	13
2.3. Tolerancia a la salinidad.....	13
2.3.1. Recursos utilizados por las plantas para tolerar la salinidad.....	14
2.3.2. Factores que modifican la tolerancia de las plantas a la salinidad.....	14
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
3.1. Elección del material.....	17
3.2. Localización del ensayo.....	17
3.3. Diseño experimental.....	18
3.3.1. Pregerminación de las semillas.....	18
3.3.2. Cultivo de las plántulas de pepino.....	19
3.3.3. Toma de datos.....	23
4. Resultados y discusión.....	28
4.1. Análisis estadístico.....	28
4.1.1. Análisis estadístico de los parámetros morfológicos de la plántula.....	29
4.1.2. Análisis estadístico de los índices de calidad de la plántula.....	34
4.1.3. Resultados y discusión del análisis estadístico de t de Student.....	39
4.2. Análisis ANOVA dos vías.....	40
4.2.1. Análisis estadístico de los parámetros morfológicos de la plántula.....	40
4.2.2. Análisis estadístico de los índices de calidad de la plántula.....	45
4.2.3. Resultados del análisis estadístico de anova dos vías.....	50
5. CONCLUSIONES.....	53

6. Bibliografía.....55

1. INTERES Y OBJETIVOS.

1. INTERÉS Y OBJETIVOS.

1.1. Importancia de la salinidad en los cultivos hortícolas.

1.1.1. Situación de los recursos hídricos agrícola en la provincia de Almería.

La principal fuente hídrica de abastecimiento es de origen subterráneo, la limitación de este recurso y el elevado consumo ha generado a lo largo de los años una sobre-explotación de los acuíferos, produciéndose problemas de intrusión marina y una salinización de las fuentes hídricas tanto en las zonas litorales como en las zonas interiores (CMAOT, 2012).

Los acuíferos asociados a las zonas de producción hortícola de la provincia de Almería, proporcionan aproximadamente el 80% del agua empleada en los invernaderos de Almería (Reca et al., 1999). Las tres zonas donde se desarrolla la horticultura intensiva de Almería son:



Figura 1: Vista aérea de la provincia de Almería. La zona de color rojo representa el Campo de Dalías, la zona amarilla Campo de Níjar-Bajo Andarax y la zona naranja Bajo Almanzora. Fuente: <https://www.google.com/maps/@37.0258016,-2.2421281,80097m/data=!3m1!1e3>

- Campo de Dalías es un claro exponente de captaciones profundas de agua subterránea con problemas en su diseño final, dando lugar a la interconexión entre tramos de acuíferos y facilitando la contaminación de acuíferos carbonatados de mejor calidad. La innovación tecnológica ha permitido el desarrollo de una agricultura intensiva bajo plástico en el área, que ha provocado una explotación intensiva de los recursos hídricos de los acuíferos del sector. En el área se diferencian tres unidades hidrogeológicas (ITGE, 1989, 1995): Balerna-Las Marinas, Balanegra y Aguadulce, siendo la Sierra de Gádor la principal fuente de alimentación de las mismas. Han sido ampliamente estudiadas (CMAOT, 2012) debido a la importancia económica y social del área que sustentan.

- Campo de Níjar-Bajo Andarax también se encuentran sobreexplotados y registran un deterioro de la calidad del agua. Se estima una extracción del acuífero de Campo de Níjar de $32 \text{ hm}^3 \text{ año}^{-1}$, siendo destinados a la agricultura prácticamente en su totalidad (91%; $29 \text{ hm}^3 \text{ año}^{-1}$), y una extracción del acuífero del Bajo Andarax de $13 \text{ hm}^3 \text{ año}^{-1}$, de los cuales $9,4 \text{ hm}^3 \text{ año}^{-1}$ son destinados a la agricultura (72%) (CMAOT, 2012).
- Bajo Almanzora al igual que lo ocurrido con los sistemas de acuíferos del Campo de Dalías y Campo de Níjar y Bajo Andarax, en los acuíferos del Bajo Almanzora existen problemas de sobreexplotación y deterioro de la calidad del agua (CMAOT, 2012). Esta masa de agua subterránea está incluida en la relación de unidades hidrogeológicas sobreexplotadas (CMAOT, 2012). Su sobreexplotación se manifiesta tanto por la evolución piezométrica como por el gran deterioro de la calidad de sus recursos (baja tasa de renovación e intrusión marina). En lo que respecta a la sobreexplotación existe un descenso del nivel piezométrico registrándose niveles negativos en toda una línea de puntos de control situados paralelamente a la línea de costa y más de un kilómetro y medio de ésta (Contreras París, 2020).

1.1.2. Situación de los suelos agrícolas de la provincia de Almería.

La producción hortícola intensiva desarrollada en el sureste peninsular es una de las principales fuentes sobre las que se asienta la economía de la provincia de Almería. Desarrollada fundamentalmente en la zona litoral, existe actualmente una superficie invernada de 45670 ha (MAPAMA, 2020). En la cuenca mediterránea alrededor de 16 millones de hectáreas están afectadas por problemas de salinidad y en España la cifra asciende hasta 840.000 hectáreas (Serrano, 2009). Además de las causas naturales, la actividad humana, en concreto las malas prácticas de cultivo y el riego, han contribuido al incremento alarmante de sales en el suelo (Mahajan y Tuteja, 2005).

Los factores ambientales están estrechamente relacionados con la distribución de las zonas afectadas por salinidad. Por tanto en los climas áridos y semiáridos, caracterizados por escasez de lluvias, temperaturas extremas y alta velocidad de evaporación (Brito *et al.*, 2011), el principal factor limitante de la fertilidad de los suelos y la productividad de los cultivos lo constituye la salinidad (Evelin *et al.*, 2009).

Debido a que la mayor parte de los cultivos son glicófitos (sensibles a la salinidad), el exceso de sales en el suelo ocasiona pérdidas importantísimas en las explotaciones agrarias (Pitman y Läuchli, 2002). La salinidad es el estrés abiótico que afecta más negativamente al crecimiento vegetal y por tanto a la producción agrícola, además de limitar el uso de nuevas áreas potenciales de cultivo (Greenway y Munns, 1980).

La necesidad de desarrollar cultivos con alta tolerancia a la salinidad se está incrementando fuertemente debido al aumento de problemas salinos. En general, las plantas

no desarrollan tolerancia a la salinidad a menos que crezcan en condiciones salinas (Sivritepe *et al.*, 2003).

1.2. Interés del proyecto.

Como se ha explicado en el apartado anterior tanto los acuíferos como las tierras de cultivo de la provincia de Almería son el paso del tiempo van aumentando su salinidad lo que hace que cada vez sea más difícil cultivar ciertos productos que necesitan unas conductividades eléctricas bastante bajas, como en el caso del cultivo del pepino (cultivo con el que se ha realizado el ensayo) que soporta una concentración salina próxima a 1g/L, anoser que se utilicen las aguas de las desaladoras que contiene una conductividad eléctrica muy baja pero son bastante caras.

Las plantas que han crecido en ecosistemas salinos como por ejemplo El Parque Natural de Cabo de Gata, de donde procede el microorganismo endófito que se va a utilizar en este proyecto, han tenido que desarrollar diversos mecanismos fisiológicos y moleculares para tolerar este tipo de estrés osmótico, para lograr su adaptación a este ambiente. El conocimiento de tales mecanismos es determinante para poder explotar su potencial uso en programas de restauración y de agricultura asistida.

Una de las estrategias que han desarrollado las plantas para tolerar el estrés salino se basa en su asociación con microorganismos rizosféricos (hongos y bacterias). En particular, un componente clave de la microbiota del suelo, son los hongos formadores de micorrizas arbusculares (MA), que se postulan como uno de los factores más influyentes en el mantenimiento de la variabilidad, estabilidad, diversidad y productividad de la cubierta vegetal. La raíces con MA exploran mayores volúmenes de suelo, a mayores profundidades y distancias de lo que lo hacen las raíces de las plantas no micorrizadas, contribuyendo a suministrar agua y nutrientes a la planta. (Estrada Velasco, 2020).

1.3. Objetivos del proyecto.

El objetivo principal de este proyecto es estudiar la capacidad de amortiguación de estrés salino del microorganismo endófito ``CDG17`` en plántulas de pepino aplicando diferentes conductividades eléctricas en el riego.

Para ello se miden los parámetros morfológicos de las plántulas (número de hojas, longitud y diámetro del tallo, pesos frescos y secos (parte aérea y raíz) y el área foliar. Con los que se determinan los índices de calidad de la plántula: QI, IE, ITR, AFE, CAF e ICPH.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

2.1. Salinidad.

La salinización de los suelos es uno de los mayores problemas no sólo a nivel ecológico sino también agronómico. A nivel ecológico es la causante de la pérdida de comunidades naturales de plantas y acelera los procesos de degradación del suelo y desertificación (Alguacil *et al.*, 2011). La salinidad es además el estrés abiótico que afecta más negativamente al crecimiento vegetal y por tanto a la producción agrícola, además de limitar el uso de nuevas áreas potenciales de cultivo (Greenway y Munns, 1980).

La salinidad es uno de los principales factores que hay que considerar en la calidad de un agua de riego (Prats y Melgarejo, 2006). El término salinidad del agua se define como la concentración total de las principales sales inorgánicas (Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , HCO_3^- , SO_4^{2-} y Cl^-) disueltas en el agua de riego, drenaje y aguas subterráneas (Rhoades *et al.*, 1992), donde la concentración individual de cada catión y anión se puede expresar en volumen de agua como mmolc L^{-1} o como mg L^{-1} . Así, la salinidad del agua es la suma de la concentración de cationes y aniones, denominado sólidos disueltos totales (SDT) y normalmente se expresa en mg L^{-1} , es una medida directa de la salinidad del agua.

La salinidad del agua también se puede determinar de forma indirecta, mediante la CE (Shannon y Grieve, 1999) y se expresa en deciSiemens por metro (dS m^{-1}) a 25°C (Tanji *et al.*, 2008). La CE se puede relacionar directamente con la actividad de las sales disueltas, aumentando linealmente a medida que se eleva la concentración salina (Tanji *et al.*, 2008).

2.2. Efectos de la salinidad en las plantas.

La salinidad del suelo tiene un efecto negativo en el establecimiento, crecimiento y desarrollo de las plantas (Evelin *et al.*, 2009). Esta reducción del crecimiento se manifiesta como un descenso de la altura y peso de la parte aérea de la planta, así como una reducción del diámetro del tallo (Sonneveld y Voogt, 2009). Las plantas que crecen en áreas afectadas por salinidad son sometidas a tres estreses fisiológicos: toxicidad iónica, estrés osmótico y desequilibrio nutricional (Munns y Tester, 2008).

2.2.1. Toxicidad iónica.

El exceso de sales conduce a una acumulación excesiva de Na^+ y Cl^- en el citosol de la célula. Aunque el Cl^- es un micronutriente esencial para las plantas implicado en la regulación de importantes funciones celulares como actividades enzimáticas, potencial de membrana, co-factor en la fotosíntesis y gradientes de pH (White y Broadley, 2001), también puede ser tóxico en grandes concentraciones, siendo el anión más abundante en suelos salinos (Xuet *et al.*, 2000). Sin embargo, la toxicidad iónica es producida principalmente por el Na^+ . El Na^+ compete con el K^+ para unirse a sitios esenciales debido a la similitud en sus propiedades fisicoquímicas aunque no puede sustituir sus funciones metabólicas en el citoplasma (Tester y Davenport, 2003). El K^+ es fundamental para el mantenimiento homeostático en el citosol en plantas afectadas por estrés salino (Zhu, 2003). La alteración que provoca el Na^+ en la

captación de K^+ altera la relación K^+/Na^+ de la célula, que es incluso más importante que la concentración absoluta de Na^+ (Demidchik y Maathuis, 2007). El K^+ es un ión esencial para la fotosíntesis, la síntesis de proteínas, activación de multitud de enzimas y juega un papel fundamental en el ajuste osmótico, mantenimiento de la turgencia y en los procesos estomáticos (Maathuis y Amtmann, 1999). Por tanto el exceso de Na^+ afecta a la estructura de enzimas y otras macromoléculas, daña orgánulos celulares, perturba el proceso de fotosíntesis y respiración, inhibe la síntesis de proteínas e induce deficiencias iónicas.

2.2.2. Estrés osmótico.

La salinidad del suelo dificulta la extracción de agua por parte de las raíces ya que son expuestas a un bajo potencial osmótico. Esta disminución de la capacidad de las plantas de absorber agua del suelo supone una reducción de la expansión foliar y una pérdida de turgencia, siendo más evidente la reducción del crecimiento en la parte aérea que en las raíces (Munns, 2002). Por tanto las plantas son expuestas a sequía fisiológica y tienen que mantener bajo el potencial osmótico interno ya que a altas concentraciones de Na^+ en el medio extracelular las plantas deben evitar que el agua salga de las raíces al suelo (Ruiz-Lozano *et al.*, 2012). Para mantener el potencial osmótico interno y la actividad citosólica el agua ha de pasar de la vacuola al citosol. Esto conlleva una reducción en el turgor, en la expansión celular, en la velocidad de división celular y afecta al desarrollo reproductivo (Munns y Tester, 2008).

2.2.3. Desequilibrio nutricional.

En suelos con exceso de sales el incremento de los contenidos celulares de Na^+ y Cl^- interfiere en la disponibilidad, captación, transporte y distribución no sólo de agua sino de otros nutrientes minerales necesarios para la planta como son, entre otros, K^+ , Ca^{2+} y NO_3^- (Tuteja, 2007). El Na^+ afecta directamente en la toma de otros nutrientes debido a la interferencia que produce en la actividad de transporte iónico a nivel de la membrana celular de la raíz. Este efecto es más evidente en los transportadores y canales de K^+ , afectando tanto la toma de este macronutriente como a su homeostasis. Además, cuando el Na^+ atraviesa la membrana plasmática se observa una significativa despolarización del potencial eléctrico de la misma (Shabala y Cuin, 2008). Esta despolarización dificulta la entrada de K^+ en la célula y aumenta su salida.

2.3. Tolerancia a la salinidad.

La tolerancia a la salinidad es la capacidad de la planta de crecer y completar su ciclo de vida a altas concentraciones de $NaCl$ o con asociación de otras sales, en la zona de la raíz, sin efectos adversos significativos (Shannon y Grieve, 1999). Esta tolerancia se diferencia entre especies: halófitas son capaces de completar su ciclo de vida en 200 mM $NaCl$ o más, mientras que las glicófitas son dañadas con un décimo de esta concentración (Flowers y Colmer, 2008). La tolerancia a la salinidad de una planta varía notablemente con las especies o entre cultivares de una especie (Niu y Cabrera, 2010).

Cultivo	Pérdida de producción		
	0%	10%	50%
		CEa (dS m ⁻¹)	
Fresa	0,7	0,9	1,7
Judíaverde	0,7	1,0	2,4
Pimiento	1,0	1,5	3,4
Berenjena	0,7	1,7	5,5
Melón	1,5	2,4	4,6
Pepino	1,7	2,2	4,2
Tomate	1,7	2,3	5,0
Calabacín	3,1	3,8	6,7

Tabla 1: Tolerancia de diferentes especies hortícolas a la salinidad del agua de riego (CE_a; Conductividad eléctrica del agua) según Ayers y Wescot (1985).

2.3.1. Recursos utilizados por las plantas para tolerar la salinidad.

- Control de la absorción de las raíces y transporte hacia las hojas.

Las plantas regulan el balance iónico para mantener su metabolismo en condiciones normales, restringiendo la absorción y translocación de iones tóxicos como Na⁺ y Cl⁻ y manteniendo o incrementando la absorción de iones que requiere la planta metabólicamente como K⁺. Esto es posible mediante la regulación de la actividad de los transportadores específicos K⁺ y de la bomba de H⁺ que genera la fuerza motriz para el transporte de iones (Zhu et al., 1993).

- Exclusión selectiva de iones y compartimentación de iones a nivel celular.

Las plantas halófitas y glicófitas no pueden tolerar grandes cantidades de sales en el citoplasma, así que bajo condiciones salinas requieren de mecanismos que excluyan las sales del citoplasma, tales como: transporte hacia la hoja, excreción del exceso de sales, acumulación en órganos especializados (vacuolas o glándulas), defoliación de hojas viejas y compartimentación en las vacuolas o en diferentes tejidos, para facilitar sus funciones metabólicas (Zhu, 2003).

2.3.2. Factores que modifican la tolerancia de las plantas a la salinidad.

Además de los diferentes mecanismos para adaptarse o tolerar las condiciones salinas que tienen las plantas, existen una serie de factores que modifican la tolerancia a la salinidad, como son las condiciones climáticas y las prácticas culturales, que pueden influir de forma diferenciada en el efecto que la salinidad tiene en las plantas, por lo cual existen diferentes estrategias tecnológicas y biológicas (Ashrafetal, 2008):

- Prácticas culturales.

-Enriquecimiento con CO₂. El suministro de CO₂ puede compensar la reducción de intercambio de aire y disminuir el efecto de la salinidad ya que incrementa la fotosíntesis, promoviendo así una mayor eficiencia en el uso del agua (Salas y Urrestarazu, 2004) y estimulando la producción de materia seca (Marschner, 1995).

-Fertilización. La tolerancia a la salinidad por la planta se ve reducida en condiciones de baja disponibilidad de nutrientes (Hamdy, 2005). El concepto de la reducción de los efectos de la salinidad a través de la fertilización intensiva, ha sido evaluado por diversos autores (Ravikovitch y Porath, 1967; Kafkafi, 1984; Feigin, 1985; Adams y Doerge, 1987; Guzmán, 2011) y todos concluyen que una adecuada fertilización puede reducir los efectos de la salinidad.

- Gestión del riego.

El manejo del riego tiene un efecto importante en la tolerancia de los cultivos. La gestión del riego en condiciones salinas tiene como objetivo conseguir que la concentración de sales en la zona de la raíz se sitúe por debajo del umbral de tolerancia del cultivo durante todo el ciclo de desarrollo para reducir los efectos perjudiciales de la salinidad (Hoffman y Shannon, 2007).

-Gestión del clima.

La alta temperatura y elevada transpiración incrementan el efecto de la salinidad, reconociéndose que la humedad es uno de los factores más importantes. Una mayor humedad en el medio ambiente compensa la reducción del crecimiento de las plantas por salinidad, posiblemente debido a la disminución de la transpiración (Sonneveld, 2004), ya que la capacidad de ajustar las tasas de transpiración hace a la planta más tolerante. Igualmente está confirmado que en climas fríos y húmedos las plantas toleran mejor la salinidad (Niu y Cabrera, 2010).

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.3. Diseño experimental.

El proyecto consta de un ensayo sobre plántulas de pepino que incluye dos factores de estudio:

- Factor 1 consta de 2 niveles que se diferencian en la incorporación o no del microorganismo endófito ``CDG17`` (bandejas pares no y las impares si)
- Factor 2 consta de cinco niveles que se diferencian en la adición de 5 dosis de NaCl (0, 0,5, 1, 1,5, 2) a la fertilización estándar.

El ensayo tiene un total de 10 tratamientos con 10 plantas de pepino en macetas por cada tratamiento haciendo un total de 100 plantas en total.

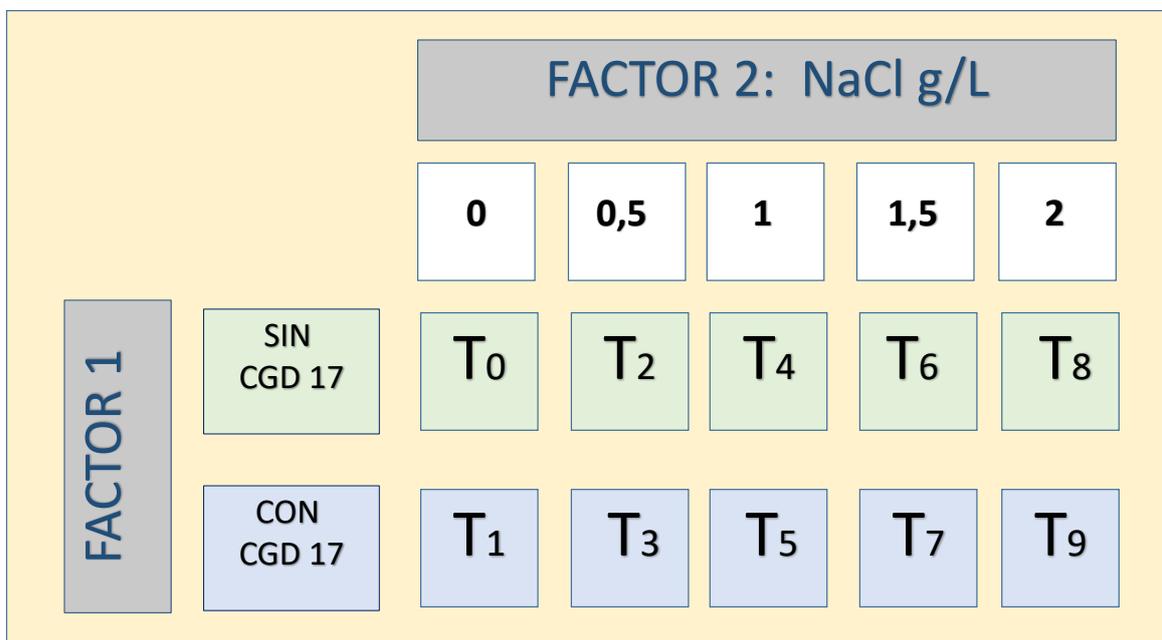


Figura 4: Cuadro de factores por los que se rige el proyecto y tratamientos ensayados.

La ejecución del ensayo consta de tres partes que se diferencian dependiendo del lugar donde se realizaron. En el laboratorio se realizó la primera parte que corresponde a la pregerminación de las semillas de pepino y la tercera parte correspondiente a la toma de datos y en el invernadero se realizó la segunda que engloba el cultivo de las plántulas de pepino.

3.3.1. Pregerminación de las semillas.

En primer lugar, se realizó la pregerminación de las semillas de pepino. En una bandeja se colocó un papel de filtro estéril, después se añadió un poco de agua estéril para que el papel estuviera húmedo, luego se colocaron las semillas encima del papel de filtro bien repartidas para que tengan su espacio para germinar como se puede ver en la Figura 5.



Figura 5: Semillas en la bandeja.

Por último se colocó un segundo papel de filtro encima, añadimos un poco más de agua estéril y metimos la bandeja en una estufa a 25°C durante un par de días.

3.3.2. Cultivo de las plántulas de pepino.

3.3.2.1. Siembra en macetas.

En primer lugar se cogieron diez bandejas una por cada tratamiento y en cada bandeja se depositaron 10 maceteros, 100 plantas en total. Cada macetero se rellenó con 200 gramos de turba mezclada con agua.



Figura 6: Llenado des macetas.



Figura 7: Disposición en bandejas.

Una vez rellenos se realizó un pequeño agujero, en el que se depositó en primer lugar cuatro discos del microorganismo endófito ``CDG17`` obtenidos de unas placas Petri con medio PDA donde previamente se replicó el microorganismo.



Figura 8: Placa Petri con microorganismo endófito ``CDG17``, sacabocados y lancetas.

Para obtener los discos se utilizaron un sacabocados, un mechero y una lanceta. Primero se coge el sacabocados, se calienta la punta con el mechero y luego se hacen círculos en el medio PDA en las zonas donde el microorganismo se ha desarrollado más. Después con la ayuda de una lanceta cogemos los discos, se depositan en el agujero que previamente se había realizado en el macetero y se tapan con un poco de tierra sin llegar a rellenar completamente el agujero. Pero solo se añade el microorganismos en los maceteros que van a estar en las bandejas con los números impares (1, 3, 5, 7 y 9). Por último se deposita la semilla dentro del agujero con la raíz hacia abajo, se entierra y se le añade un poco de agua.



Figura 9: Discos del microorganismo endófito.



Figura 10: Depositando la semilla.

Las bandejas se llevan al invernadero que se encuentra en el patio interior entre los dos edificios de la Escuela Superior de Ingeniería.



Figura 11: Bandejas dentro del invernadero.

3.3.2.2. Ciclo de cultivo.

Durante las siguientes siete semanas se realizaron dos riegos a la semana de 40 mililitros con una solución estándar preparada por el personal de la universidad de Almería. La solución se repartió en garrafas de 25 litros cada una y se les añadió una cantidad diferente de NaCl (0, 0,5, 1, 1,5, 2 g/L), pesada en una balanza digital, para aumentar su conductividad eléctrica. Cuando las plantas tenían un porte lo suficientemente grande se realizó el entutorado de estas. En este ensayo se realizaron cinco tratamientos con diferentes conductividades eléctricas cada dos bandejas.

-Concentraciones de NaCl para las garrafas.

Bandeja T0 y T1 estas dos bandejas son las testigo y no se les añadió NaCl.

Bandeja T2 y T3: 0,5g → 1L

$Xg \rightarrow 25L \rightarrow X = 0,5 \times 25 \div 1 = 12,5$ gramos de sal.

Bandeja T4 y T5: 1,0g → 1L

$Xg \rightarrow 25L \rightarrow X = 1,0 \times 25 \div 1 = 25,0$ gramos de sal.

Bandeja T6 y T7: 1,5g → 1L

$Xg \rightarrow 25L \rightarrow X = 1,5 \times 25 \div 1 = 37,5$ gramos de sal.

Bandeja T8 y T9: 2,0g → 1L

$Xg \rightarrow 25L \rightarrow X = 2,0 \times 25 \div 1 = 50,0$ gramos de sal.



Figura 12: Bidones negros con la solución nutritiva para T0 y T1.

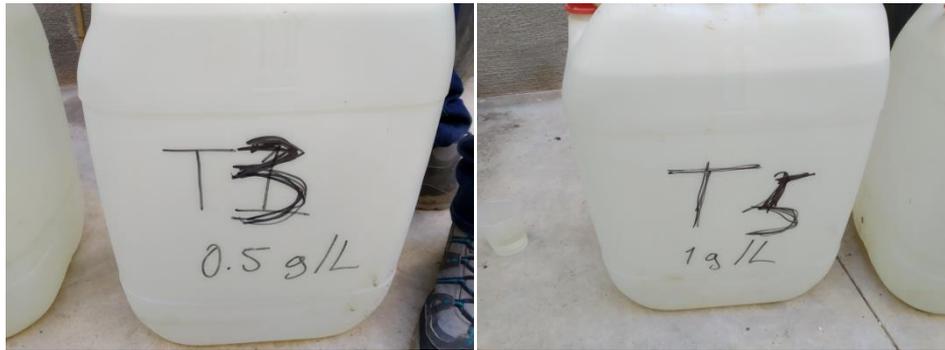


Figura 13: Garras de 25L para T2-T3 y T4-T5.

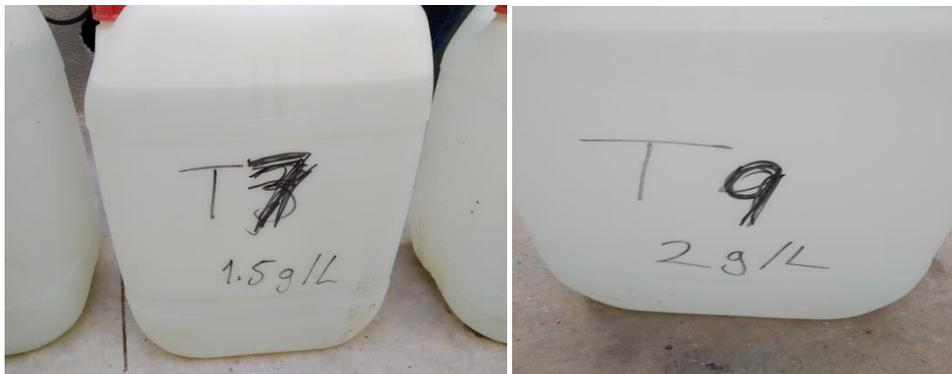


Figura 14: Garras de 25L para T6-T7 y T8-T9.



Figura 15: Crecimiento de las plántulas.

3.3.3. Toma de datos.

Tras las siete semanas de desarrollo de las plantas se procedió a arrancarlas para determinar los diferentes parámetros morfológicos de las plántulas.

En primer lugar se tomaron los datos del número de hojas, longitud y diámetro del tallo, peso fresco de la parte aérea (hojas y tallos), área foliar y peso fresco de la raíz. El procedimiento seguido para la obtención de estos fue el siguiente:

- Primero se cortaron las hojas con el peciolo justo en la unión con el tallo, después se cortó el tallo por la base, dejando la raíz dentro de la turba, entonces con la ayuda de una cinta métrica (sensibilidad de 0,01 m) se mide la longitud del tallo y con un calibre (sensibilidad de 0,01 mm) se mide el diámetro del tallo.



Figura 16: Medición de la longitud y el diámetro del tallo.



Figura 17: Corte del tallo y las hojas.

- Después se pesan las hojas y los tallos en una balanza digital COBOS con una medida máxima de 500 g y una sensibilidad de 0,01 g. Luego se toman los datos para el cálculo del área foliar. Se colocan las hojas dentro un cajón de madera que tiene una baldosa en su interior con un rectángulo dibujado cuyos lados miden 20 cm de ancho y 30 cm de largo y un fluorescente mantiene la luz uniforme. En la parte superior del cajón ahí un agujero donde se coloca el móvil, de esta manera todas las fotos son tomadas desde la misma distancia. Antes de hacer la foto se colocan las hojas dentro del rectángulo sin que se salgan ni toquen los bordes y se cierra la puerta del cajón para que no afecte la luz exterior.



Figura 18: Peso fresco de la parte aérea.



Figura 19: Colocación de las hojas dentro del cajón y del rectángulo para la foto.

- Por último se realiza el proceso de separar las raíces de la tierra. Se han dejado para el último momento porque al seguir dentro de la turba no pierden la cantidad de agua que contienen al contrario que la parte aérea que desde el momento que se separa de la raíz comienza a perder agua. Este proceso comienza cogiendo un macetero y volcándolo en un recipiente grande de plástico donde se quita la tierra que está más suelta y alejada de la raíz. Una vez que se le ha quitado la tierra se introduce la raíz en un recipiente más pequeño lleno de agua donde se limpia pero no queda del todo limpia por lo tanto con la ayuda del grifo se quitan los últimos restos de tierra y se depositan encima de un papel de filtro numerado para quitarles el exceso de agua y se pesan en la balanza digital al igual que la parte aérea.



Figura 20: Proceso de limpieza de raíces.



Figura 21: Peso de raíz en una balanza digital.

Cuando tanto la parte aérea como la raíz se pesan se depositan en sobres numerados, por separado y se introducen en una estufa a 55°C durante cuatro días. Pasado ese tiempo se sacan los sobres y se pesan por separado los tallos, las hojas y las raíces.



Figura 22: Estufa de secado



Figura 23: Sobres dentro de la estufa.



Figura 24: Peso de hojas, tallos y raíces en una balanza digital.

4. Resultados y discusión.

4. Resultados y discusión.

Los datos se procesan y se representan gráficamente, para todos los datos obtenidos, se realiza el test de normalidad según el criterio de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov y la evaluación de homocedasticidad de varianzas según el Test de Levene sobre los datos. Se realiza un análisis de la varianza ANOVA factorial, considerando los factores adición o no del microorganismo y concentración de NaCl aportada, así como su posible interacción y separación de medias mediante al método LSD de Fisher ($p \leq 0,05$). Se utiliza el paquete estadístico Statgraphics Centurion XV.

Con los que se determinan los índices de calidad de la plántula: QI, IE, ITR, AFE, CAF e ICPH.

Índices de calidad de plántula /interpretación

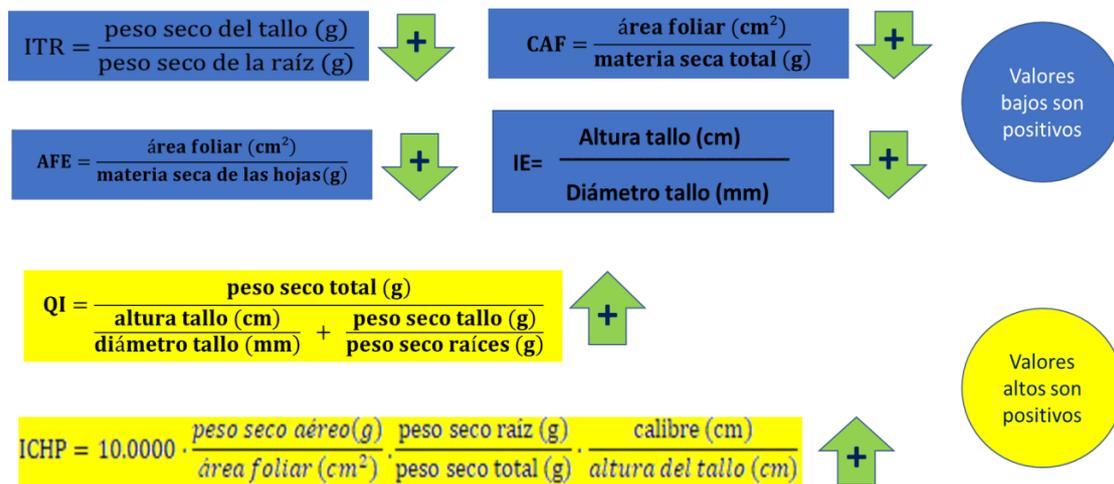


Figura 25: Explicación de los índices de calidad de plántula.

4.1. Análisis estadístico.

En este apartado se realizó un análisis estadístico empleando la T de Student, esto quiere decir que se compararon las muestras a cada concentración de NaCl con y sin microorganismo. En los gráficos que se presentan a continuación, se muestran los resultados de los 5 análisis T de Student realizados para cada parámetro morfológico, los resultados se muestran con letras minúsculas de colores que se describen a continuación:

- T0 y T1 de azul oscuro.
- T2 y T3 de azul claro.
- T4 y T5 de marrón.
- T6 y T7 de verde.
- T8 y T9 de rojo.

Además las bandejas sin microorganismo se representan en las gráficas con un color azul claro (bandejas pares) y con microorganismo se representa con un color azul más oscuro (bandejas impares).

4. 1.1. Análisis estadístico de los parámetros morfológicos de la plántula.

Como se puede ver en la figura 26, en todos los tratamientos se observa numéricamente que el número de hojas es superior en las bandejas con microorganismo con respecto a las bandejas sin microorganismo excepto en el tratamiento con una concentración de 0 g/L de NaCl. Se puede observar que con el aumento de la concentración salina hay una disminución del valor numérico en las bandejas sin y un aumento numérico en las bandejas con microorganismo. En el tratamiento con una concentración de 2g/L de NaCl existe una diferencia estadísticamente significativa entre la bandeja que contiene microorganismo y la que no lo contiene.

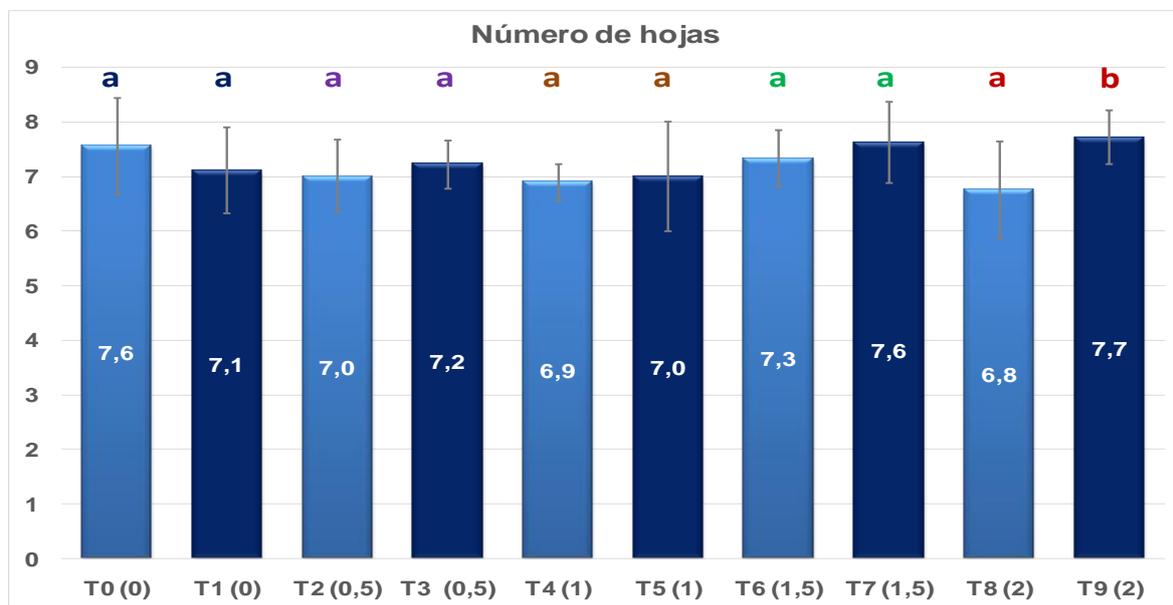


Figura 26: Representación gráfica del valor promedio del número de hojas en cada uno de los tratamientos. Las letras de distinto color identifican distintos análisis t de Student.

En la figura 27 se representa el diámetro de los tallos, donde se puede ver que las plantas que contenían al microorganismo tenían numéricamente un diámetro mayor en los tratamientos con una concentración de 0, 0,5 y 1,5 g/L de NaCl pero inferior en los tratamientos con 1 y 2 g/L de NaCl con respecto a las que no tenían el microorganismo. En el tratamiento con una concentración de 1 g/L de NaCl existe una diferencia estadísticamente significativa entre la bandeja T4 que no contiene microorganismo y la bandeja T5 que si contiene el microorganismo.

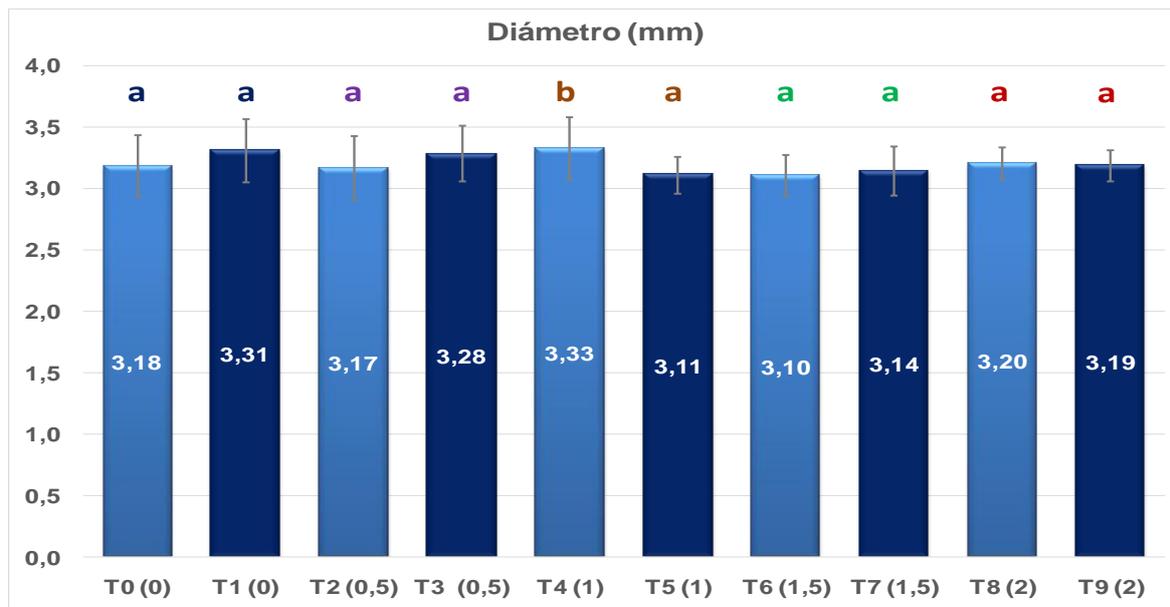


Figura 27: Representación gráfica del valor promedio del número de hojas en cada uno de los tratamientos. Las letras de distinto color identifican distintos análisis t de Student.

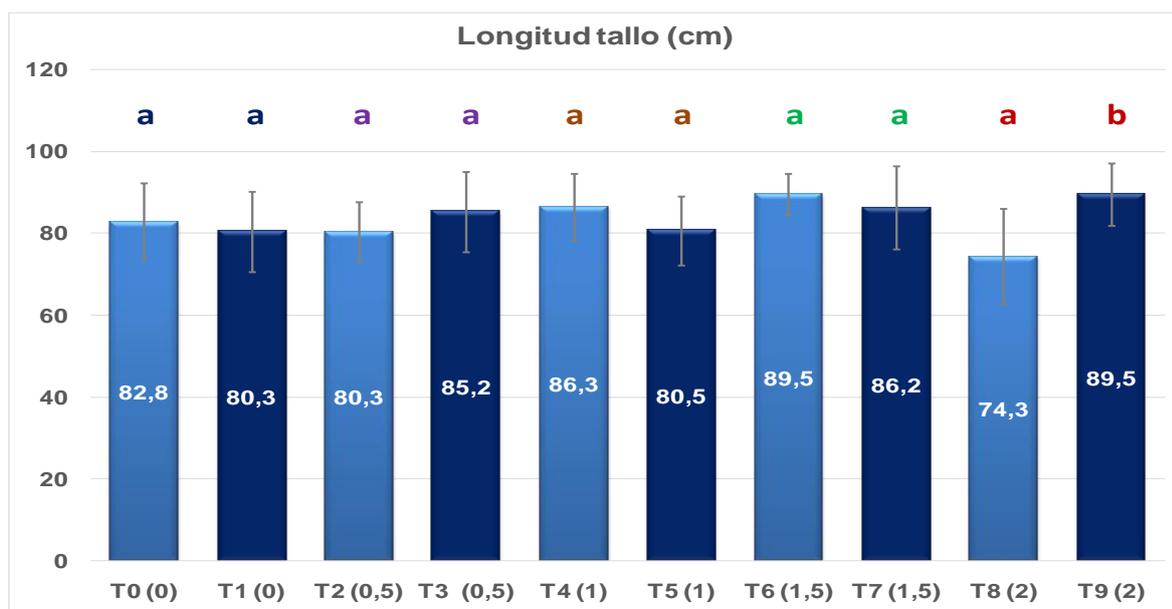


Figura 28: Representación gráfica del valor promedio de la longitud del tallo en cada uno de los tratamientos. Las letras de distinto color identifican distintos análisis t de Student.

En el caso de la longitud del tallo representado en la figura 28 se puede ver que los valores numéricos de las bandejas sin microorganismo son superiores a las bandejas que lo contienen en los tratamientos con una concentración de 0, 1, 1,5 g/L de NaCl pero en los tratamientos con una concentración de 0,5 y 2 g/L de NaCl los valores numéricos de las bandejas con microorganismo son superiores. En el tratamiento con una concentración de 2 g/L de NaCl existe una diferencia estadísticamente significativa entre la bandeja T9 que contiene el microorganismo y la bandeja T8 que no lo contiene.

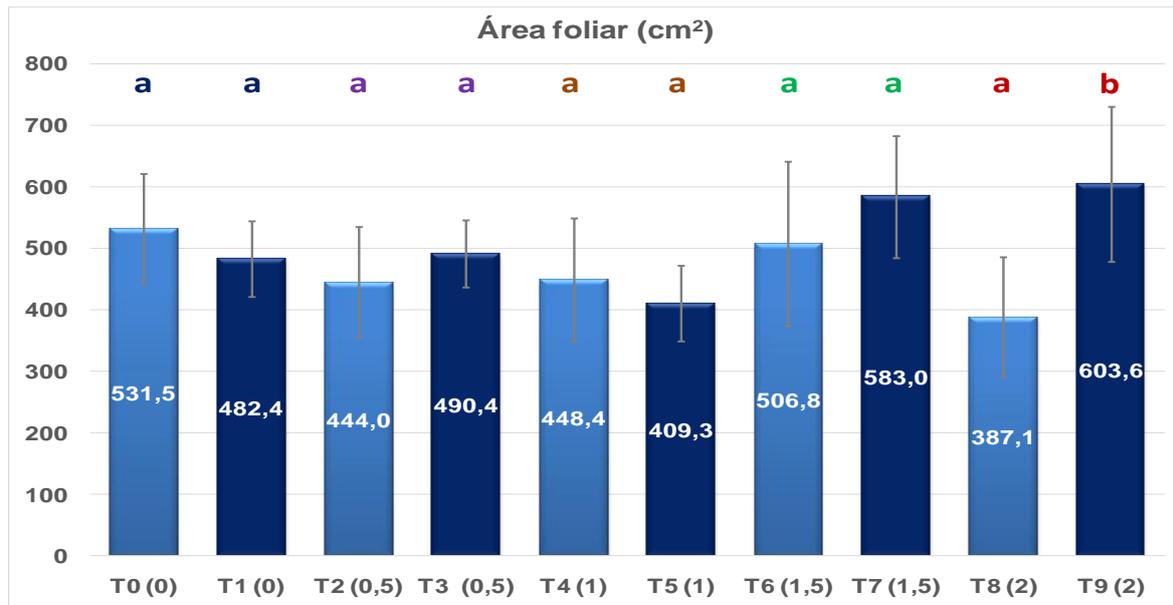


Figura 29: Representación gráfica del valor promedio del área foliar en cada uno de los tratamientos. Las letras de distinto color identifican distintos análisis t de Student.

El área foliar se puede observar en la Figura 29. Donde se observa que en los tratamientos con una concentración de 0 y 1 g/L de NaCl los valores numéricos son superiores en las bandejas que no contienen el microorganismo con respecto a las que lo contenían y en los tratamientos con una concentración de 0,5, 1,5 y 2 g/L de NaCl los valores numéricos son superiores en las bandejas con microorganismo. En el tratamiento con una concentración de 2 g/L de NaCl existe una diferencia estadísticamente significativa entre la bandeja T9 que contiene el microorganismo y la bandeja T8 que no lo contiene y además su valor numérico es superior al resto de bandejas del ensayo lo que significa que el microorganismo CDG 17 ayuda al desarrollo foliar en concentraciones elevadas de sal.

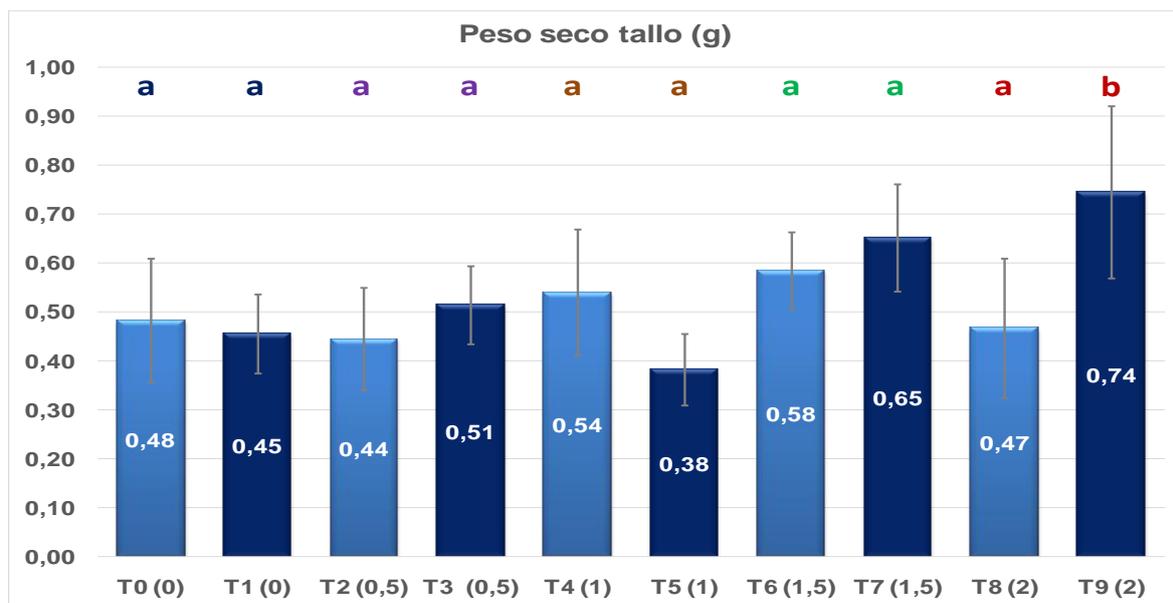


Figura 30: Representación gráfica del valor promedio del peso seco del tallo en cada uno de los tratamientos. Las letras de distinto color identifican distintos análisis t de Student.

La figura 30 representa el peso seco del tallo, donde se puede observar que en los tratamientos con concentraciones de 0,5, 1,5 y 2 g/L de NaCl los valores numéricos son superiores en las bandejas con microorganismo y en los tratamientos con concentraciones de 0 y 1 g/L de NaCl son inferiores. En el tratamiento con una concentración de 2 g/L de NaCl existe una diferencia estadísticamente significativa entre la bandeja T9 que contiene el microorganismo y la bandeja T8 que no lo contiene.

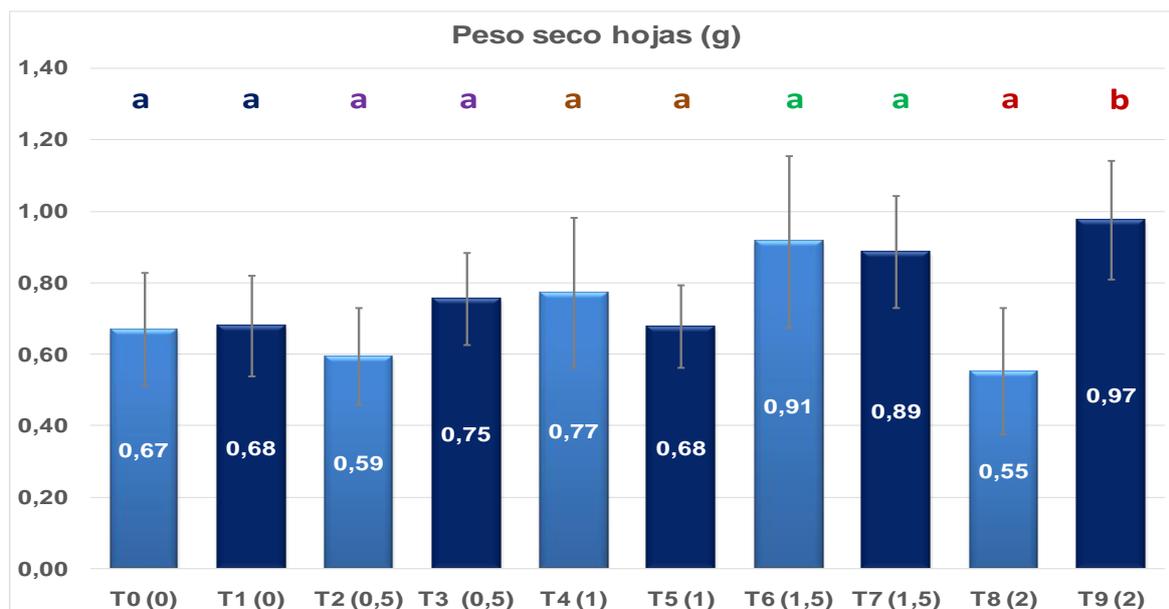


Figura 31: Representación gráfica del valor promedio del peso seco de las hojas en cada uno de los tratamientos. Las letras de distinto color identifican distintos análisis t de Student.

El peso seco de las hojas está representado en la figura 31. En el tratamiento con una concentración de 2 g/L de NaCl existe una diferencia estadísticamente significativa entre la bandeja T9 que contiene el microorganismo y la bandeja T8 que no lo contiene. Con respecto a los valores numéricos son superiores en las bandejas con microorganismo de los tratamientos con concentraciones 0, 0,5 y 2 g/L de NaCl y en las bandejas sin microorganismos de los tratamientos con concentraciones 1 y 1,5 g/L de NaCl.

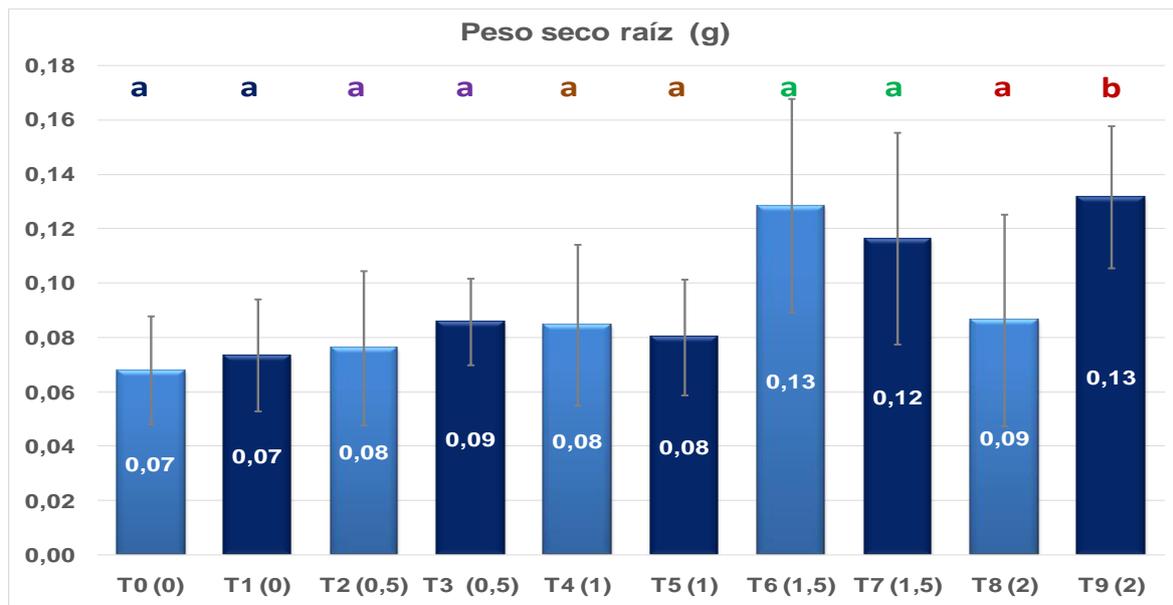


Figura 32: Representación gráfica del valor promedio del peso seco de la raíz en cada uno de los tratamientos. Las letras de distinto color identifican distintos análisis t de Student.

En el caso del peso seco de la raíz se puede ver en la figura 32. En los tratamientos con concentraciones de 0,5 y 2 g/L de NaCl el valor numérico de las bandejas con microorganismo es superior, en el tratamiento con una concentración de 1,5 g/L de NaCl el valor numérico de la bandeja T6 es mayor que el de la bandeja T7 y en los tratamientos con concentraciones de 0 y 1 g/L de NaCl los valores numéricos son iguales. También se puede observar una diferencia estadísticamente significativa entre la bandeja T9 que contiene el microorganismo y la bandeja T8 que no lo contiene.

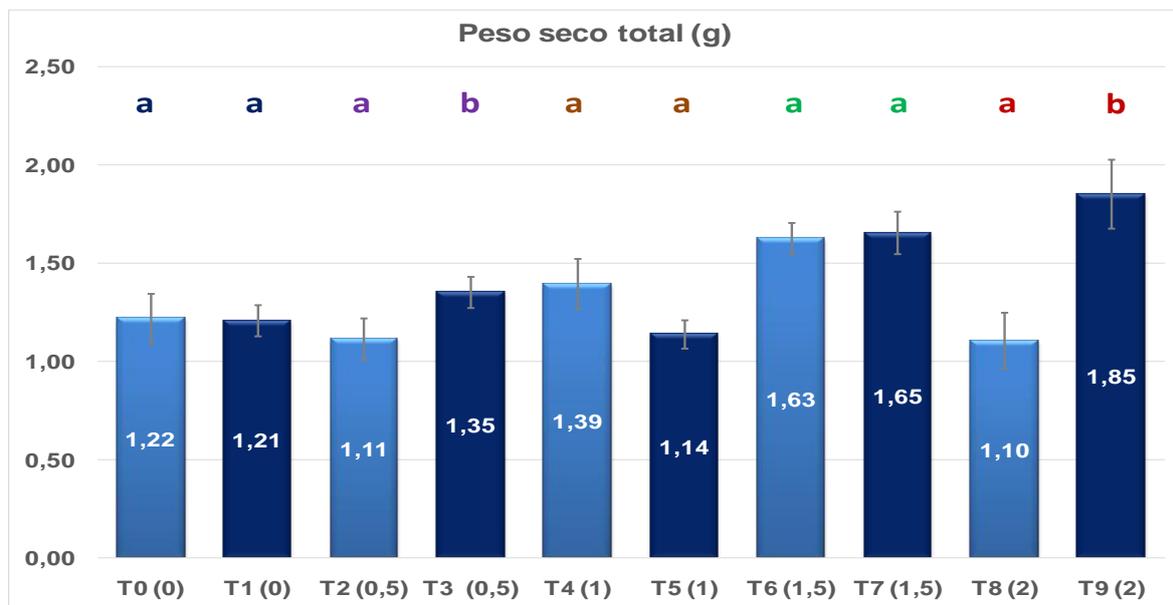


Figura 33: Representación gráfica del valor promedio del peso seco total en cada uno de los tratamientos. Las letras de distinto color identifican distintos análisis t de Student.

El peso seco total de la planta representado en la figura 33 es la suma de los pesos secos anteriores de las distintas partes de la planta que se pueden observar en las Figuras 30 (peso seco del tallo), 31 (peso seco de las hojas) y 32 (peso seco de la raíz). En las cuatro figuras se observó que la bandeja T9 con microorganismo y con la mayor concentración de NaCl tiene los valores numéricos más altos y su compañera la T8 sin microorganismo y con la misma concentración mostraba los datos numéricos más bajos con respecto a las otras bandejas. En las bandejas con microorganismo correspondientes a los tratamientos con una concentración de 0,5, 1,5 y 2 g/L de NaCl los valores numéricos son mayores con respecto a las que no lo contienen y en los tratamientos con una concentración de 0 y 1 g/L de NaCl los valores numéricos son superiores en las bandejas que no lo contienen. Se pueden observar dos diferencias estadísticamente significativas, la primera se encuentra en el tratamiento con una concentración de 0,5 g/L de NaCl entre la bandeja T3 que contiene el microorganismo y la bandeja T2 que no lo contiene y la segunda se encuentra en el tratamiento con una concentración de 2 g/L de NaCl entre la bandeja T9 que contiene el microorganismo y la bandeja T8 que no lo contiene.

Existen estudios en los que se ha estudiado que la adicción de microorganismos ayuda a la supervivencia y desarrollo de las plantas tanto de la parte aérea como radicular, además se ha observado que con el aumento de la concentración salina los resultados de área foliar y peso seco son mayores con respecto a concentraciones más bajas como es el caso de (Sánchez-Montesinos et al., 2019) y (Estrada Velasco, 2020).

4. 1.2. Análisis estadístico de los índices de calidad de la plántula.

Una vez que se han analizado los datos de los parámetros morfológicos se procede al cálculo y análisis de los índices de calidad de la planta como viene explicado en la Figura 25. Los índices se pueden clasificar en dos grupos:

- Valores bajos positivos: ITR, AFE, CAF y IE.
- Valores altos positivos: QI y ICPH.

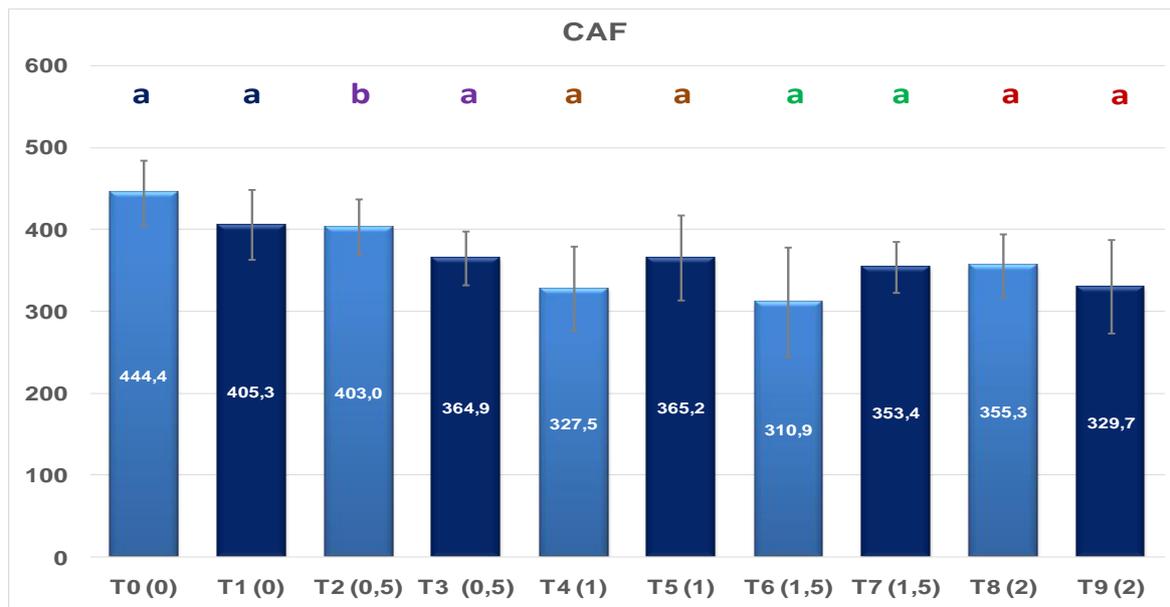


Figura 34: Representación gráfica del valor promedio del índice de calidad CAF en cada uno de los tratamientos. Las letras de distinto color identifican distintos análisis t de Student.

La Figura 34 muestra el índice de calidad CAF (área foliar/ peso seco tota). Al compararse las bandejas de dos en dos se puede ver que en los tratamientos con concentraciones de 0 y 0,5 g/L de NaCl y en el tratamiento con una concentración de 2 g/L de NaCl las plantas que contienen el microorganismo tienen valores numéricos más bajos (positivo) que las que no poseen el microorganismo y en los tratamientos con concentraciones de 1 y 1,5 g/L de NaCl ocurre lo contrario. En el tratamiento con una concentración de 0,5 g/L de NaCl existe una diferencia estadísticamente significativa entre la bandeja T2 que no contiene el microorganismo y la bandeja T3 que si lo contiene.

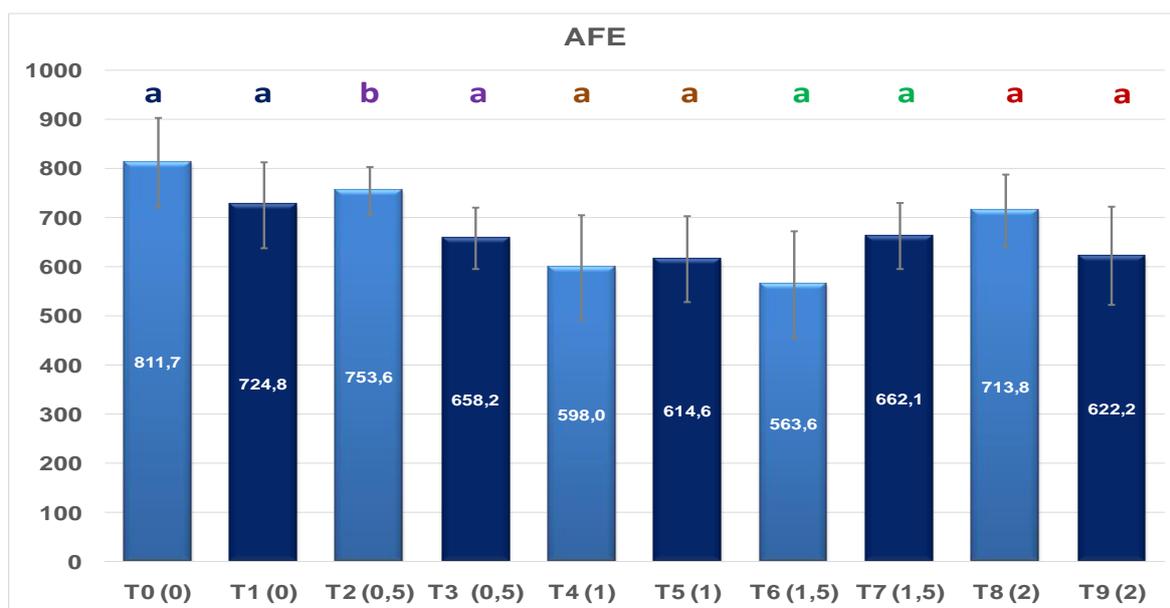


Figura 35: Representación gráfica del valor promedio del índice de calidad AFE en cada uno de los tratamientos. Las letras de distinto color identifican distintos análisis t de Student.

Con respecto al índice de calidad AFE (área foliar/peso seco hojas) que está representado en la Figura 35 se observa que el valor numérico más bajo se encuentra en la bandeja T6 y conforme se aumenta o disminuye la dosis aumenta su valor numérico. Por otro lado las plantas con microorganismo poseen un valor numérico menor que las que no lo contienen en los tratamientos con concentraciones de 0, 0,5 y 2 g/L de NaCl y ocurre lo contrario en los tratamientos de concentraciones 1 y 1,5 g/L de NaCl. En el tratamiento con una concentración de 0,5 g/L de NaCl existe una diferencia estadísticamente significativa entre la bandeja T2 que no contiene el microorganismo y la bandeja T3 que si lo contiene.

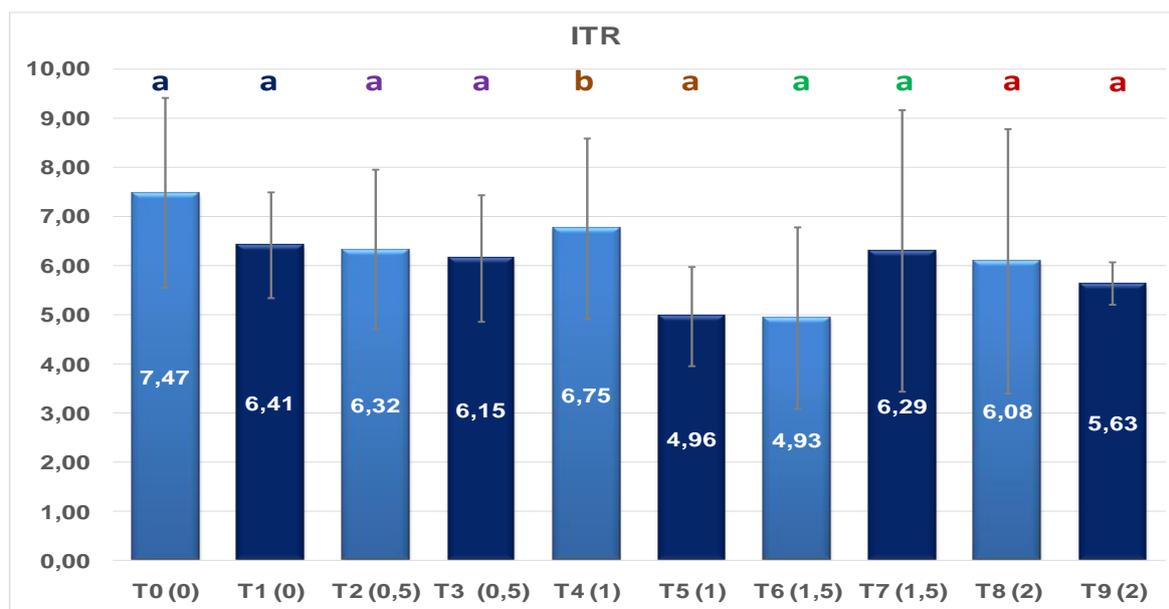


Figura 36: Representación gráfica del valor promedio del índice de calidad ITR en cada uno de los tratamientos. Las letras de distinto color identifican distintos análisis t de Student.

En la Figura 36 se presenta el valor promedio del índice de calidad ITR (peso seco del tallo/ peso seco de la raíz). Se observa un valor numérico superior en las plantas que no contenían microorganismo exceptuando la dosis con concentración de 1,5 g/L NaCl. En el tratamiento con una concentración de 1 g/L de NaCl existe una diferencia estadísticamente significativa entre la bandeja T4 que no contiene el microorganismo y la bandeja T5 que si lo contiene.

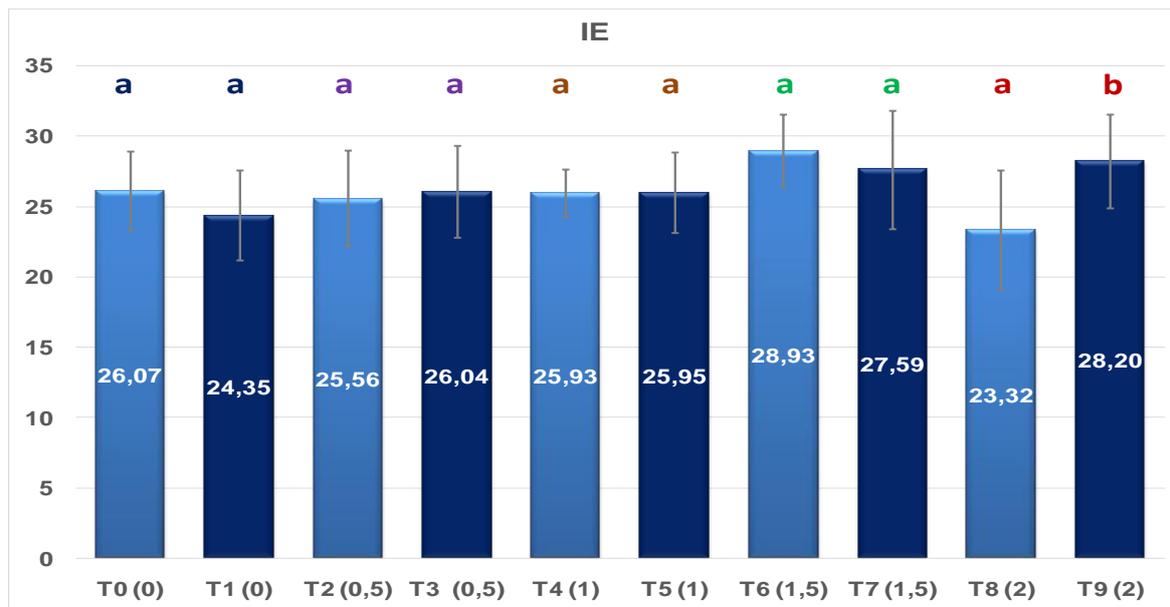


Figura 37: Representación gráfica del valor promedio del índice de calidad IE en cada uno de los tratamientos. Las letras de distinto color identifican distintos análisis t de Student.

El índice de calidad IE (altura del tallo/diámetro) se observa en la Figura 37 donde se puede ver que los valores numéricos son muy similares ya que los diámetros de todas las plantas eran muy parecidos. Las bandejas T0, T3, T5, T6 y T9 son mayores numéricamente que sus respectivas parejas de tratamiento. En el tratamiento con una concentración de 2 g/L de NaCl existe una diferencia estadísticamente significativa entre la bandeja T9 que contiene el microorganismo y la bandeja T8 que no lo contiene.

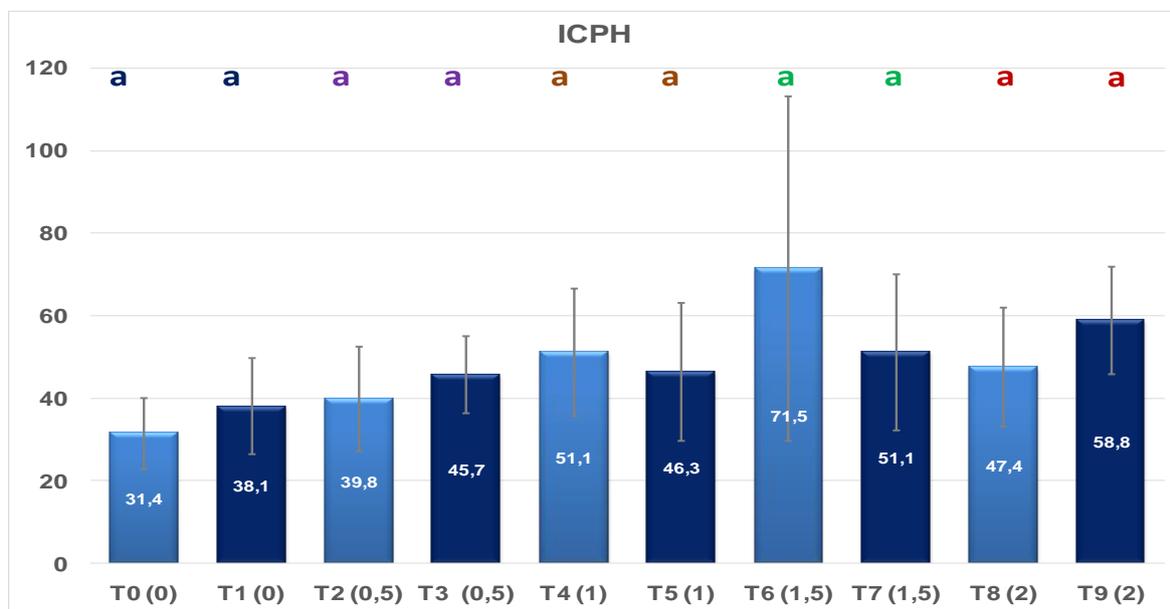


Figura 38: Representación gráfica del valor promedio del índice de calidad ICPH en cada uno de los tratamientos. Las letras de distinto color identifican distintos análisis t de Student.

En los índices de calidad QI (peso seco total/IE+ITR) e ICPH (10000*peso seco aéreo*peso seco raíz*calibre/área foliar *peso seco total*altura del tallo) los valores más altos son positivos al contrario que en los otros índices de calidad de la planta y están representados en las Figuras 38 y 39. Con respecto a la Figura 38 en primer lugar no se aprecia ninguna diferencia estadísticamente significativa pero si se aprecian diferencias en los valores numéricos de las distintas bandejas como en el caso de las bandejas T1, T3, T4, T6 y T9 que sus valores numéricos son superiores a los de sus compañeras de tratamiento.

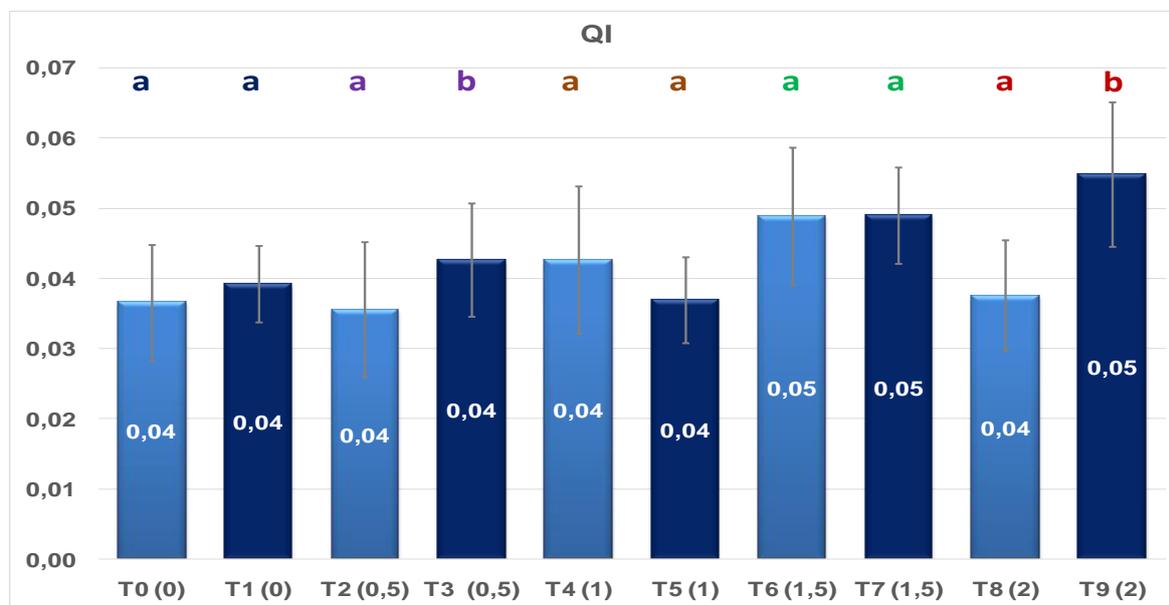


Figura 39: Representación gráfica del valor promedio del índice de calidad QI en cada uno de los tratamientos. Las letras de distinto color identifican distintos análisis t de Student.

En la figura 39 se puede ver el índice de calidad QI (peso seco total/IE+ITR). Se puede apreciar que en los tratamientos con concentraciones de 0, 0,5, 1 y 1,5 g/L de NaCl los valores numéricos son iguales y en el tratamiento con concentración de 2 g/L de NaCl la bandeja con microorganismo es mayor que la que no contiene el microorganismo. Además en el tratamiento con una concentración de 0,5 g/L de NaCl existe una diferencia estadísticamente significativa entre la bandeja T3 que contiene el microorganismo y la bandeja T2 que no lo contiene e igualmente en el tratamiento con una concentración de 2 g/L de NaCl existe una diferencia estadísticamente significativa entre la bandeja T9 que contiene el microorganismo y la bandeja T8 que no lo contiene.

4. 1.3. Resultados y discusión del análisis estadístico de t de Student.

TRATAMIENTO	L	D	Nºh	Ph	Pta	Pr	Pto	Áf	QI	IE	ITR	AFE	CAF	ICPH
T0 (0)	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
T1 (0)	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
T2 (0,5)	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A
T3 (0,5)	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	A	A	A	A
T4 (1)	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A
T5 (1)	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
T6 (1,5)	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
T7 (1,5)	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
T8 (2)	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
T9 (2)	B	A	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	A

Tabla 2: Cuadro de síntesis de resultados del análisis estadístico t de Student. Color de las letras: amarillo es un valor normal, verde significa mejor y rojo peor. Leyenda: L (Longitud (cm)), D (Diámetro (mm)), Nºh (Número de hojas), Ph (Peso seco hojas (g)), Pta (Peso seco tallo (g)), Pr (Peso seco raíz (g)), Pto (Peso seco total (g)) y Áf (Área foliar (cm²))

- En primer lugar se analizaron los parámetros morfológicos. Tal y como se observa en la Tabla 2 el análisis se realizó comparando las bandejas de dos en dos (en la Tabla se representan con el mismo color) con la misma dosis pero con la diferencia de si contenían o no el microorganismo. En este caso las bandejas sin microorganismo son los testigos. Las columnas correspondientes a la longitud del tallo, número de hojas, área foliar, peso seco de hojas, tallo y raíz tienen el mismo comportamiento estadístico que en este caso es en todos los tratamientos las bandejas sin y con microorganismo no presentan diferencias significativas, representados por una A y de color amarillo que representa un valor normal, exceptuando el tratamiento concentración de 2 g/L de NaCl donde se existe una diferencia estadísticamente significativa entre la bandeja T9 que contiene el microorganismo, representada por una B que significa que es un valor superior y de color verde que significa que es mejor que el amarillo, y la bandeja T8 que no contiene el microorganismo.

En el caso del parámetro del diámetro todos los tratamientos no presentan diferencias estadísticas (letra A y color amarillo) menos en el tratamiento con una concentración de 1 g/L de NaCl donde existe una diferencia estadísticamente significativa entre la bandeja T5 con microorganismo (letra A) la bandeja T4 sin microorganismo (letra B) y además es el único tratamiento donde la bandeja con microorganismo es inferior a la que no tiene microorganismo por eso es de color rojo.

Por último en la columna del peso seco total se puede observar una diferencia estadísticamente significativa entre la bandeja T3 con microorganismo y la bandeja T2 sin microorganismo pertenecientes al tratamiento con una concentración de 0,5 g/L de NaCl y entre la bandeja T9 con microorganismo y la bandeja T8 sin microorganismo pertenecientes al tratamiento con una concentración de 2 g/L de NaCl.

- Después se analizaron los índices de calidad. En este caso se pueden agrupar en dos grupos por así decirlo:

-Índices de calidad donde los valores altos son positivos. Estos índices son el QI, donde se presenta una diferencia estadísticamente significativa entre la bandeja T3 con microorganismo y la bandeja T2 sin microorganismo pertenecientes al tratamiento con una concentración de 0,5 g/L de NaCl y entre la bandeja T9 con microorganismo y la bandeja T8 sin microorganismo pertenecientes al tratamiento con una concentración de 2 g/L de NaCl. Además están representados de un color verde que significa que son mejores, y el ICPH, todos los valores están representados por una A y de color amarillo lo que significa que son estadísticamente iguales.

-Índices de calidad donde los valores bajos son positivos. Engloba a los índices IE, ITR, AFE, CAF. En la Tabla 2 se puede ver que los tratamientos son todos iguales estadísticamente comparando las bandejas de dos en dos como se dijo anteriormente pero con algunas excepciones. En el caso de AFE y CAF se observa una diferencia estadísticamente significativa entre la bandeja T2 sin microorganismo (representada con una B verde) y la bandeja T3 (representada por A) con microorganismo pertenecientes al tratamiento con una concentración de 0,5 g/L de NaCl, en el IE entre la bandeja T9 con microorganismo (representada con una B roja) y la bandeja T8 (representada por A) sin microorganismo pertenecientes al tratamiento con una concentración de 2 g/L de NaCl y en el ITR entre la bandeja T4 sin microorganismo (representada con una B) y la bandeja T5 (representada por A) con microorganismo pertenecientes al tratamiento con una concentración de 1 g/L de NaCl pero en estos casos al ser los valores bajos positivos la A tiene un color verde significando que son mejores.

4. 2. Análisis ANOVA dos vías.

En este apartado se realizó un análisis estadístico anova dos vía, esto quiere decir que se evaluaron por separado los dos factores:

- Factor 1 consta de 2 niveles que se diferencian en la incorporación o no del microorganismo endófito "CDG17" (bandejas pares no y las impares si). Se representan con un color azul en las gráficas.
- Factor 2 consta de cinco niveles que se diferencian en la adición de 5 dosis de NaCl (0, 0,5, 1, 1,5, 2) a la fertilización estándar. Se representa con un color rojo en las gráficas.

4. 2.1. Análisis estadístico de los parámetros morfológicos de la plántula.

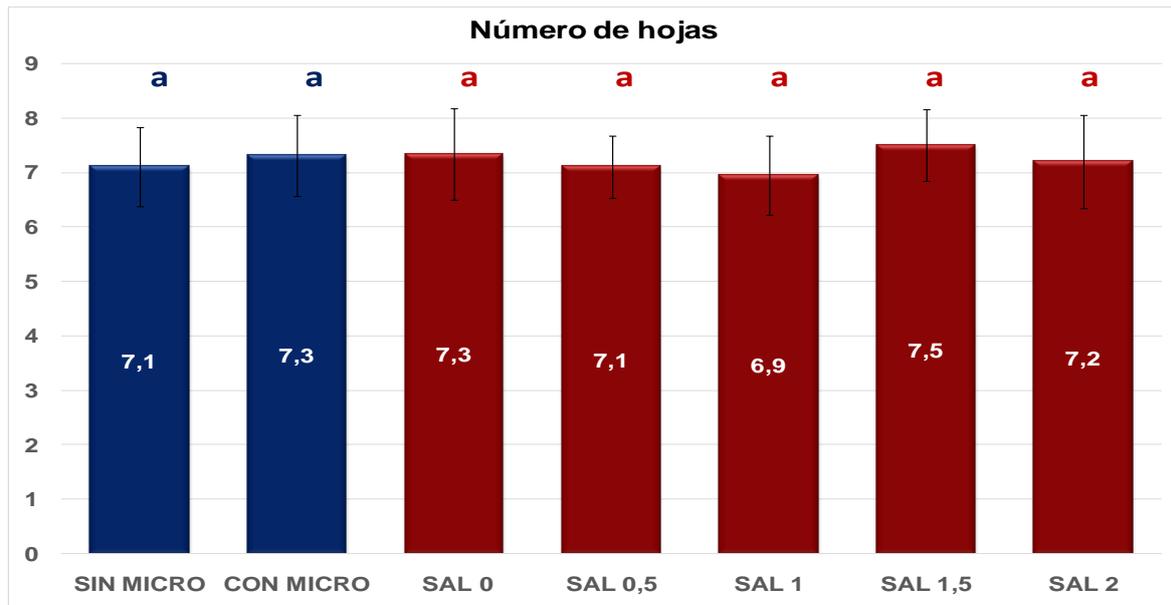


Figura 40: Representación gráfica del valor promedio del número de hojas en los dos factores analizados. Las letras de distinto color identifican análisis multifactoriales distintos para el factor adición de microorganismo y concentración salina.

Como se puede ver en la Figura 40 la media numérica del número de hojas es superior en las plantas que tenían el microorganismo y con respecto a los tratamientos se observa un decrecimiento numérico cuando se aumenta la concentración salina pero al superar la concentración de 1 g/L de NaCl se produce un aumento numérico del número de hojas aunque no existe ninguna diferencia estadísticamente significativa.

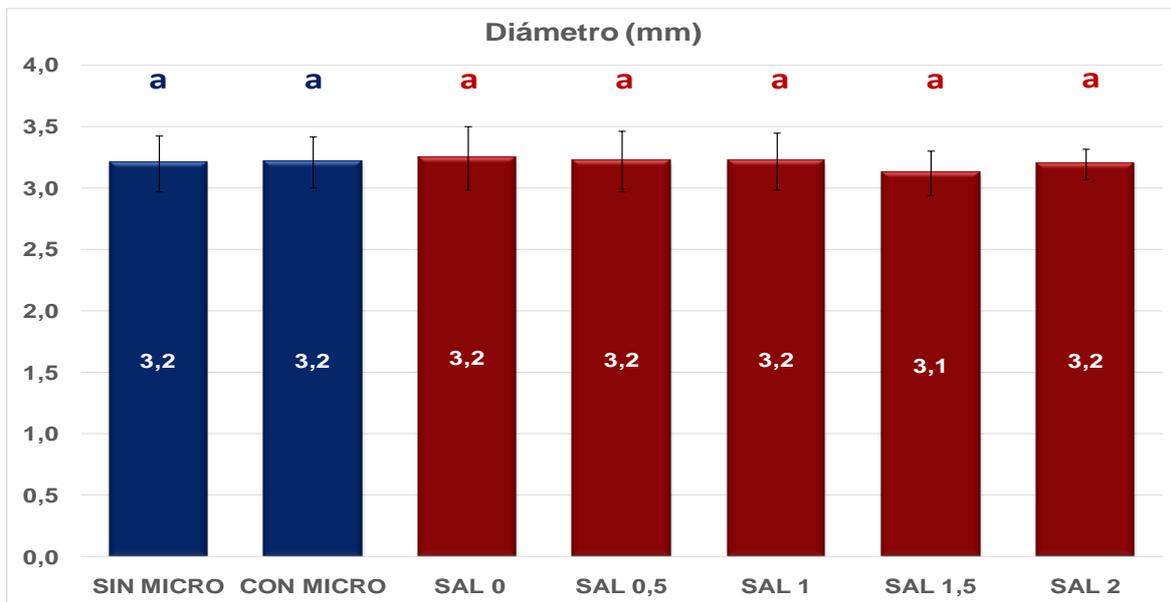


Figura 41: Representación gráfica del valor promedio del diámetro del tallo en los dos factores analizados. Las letras de distinto color identifican análisis multifactoriales distintos para el factor adición de microorganismo y concentración salina.

La Figura 41 muestra el diámetro del tallo que como se puede ver los resultados de las medias numéricas son iguales en las plantas sin y con microorganismo y en los cinco tratamientos excepto en la concentración de 1,5 g/L de NaCl que es un poco más baja que el resto aunque no hay diferencia estadísticamente significativa.

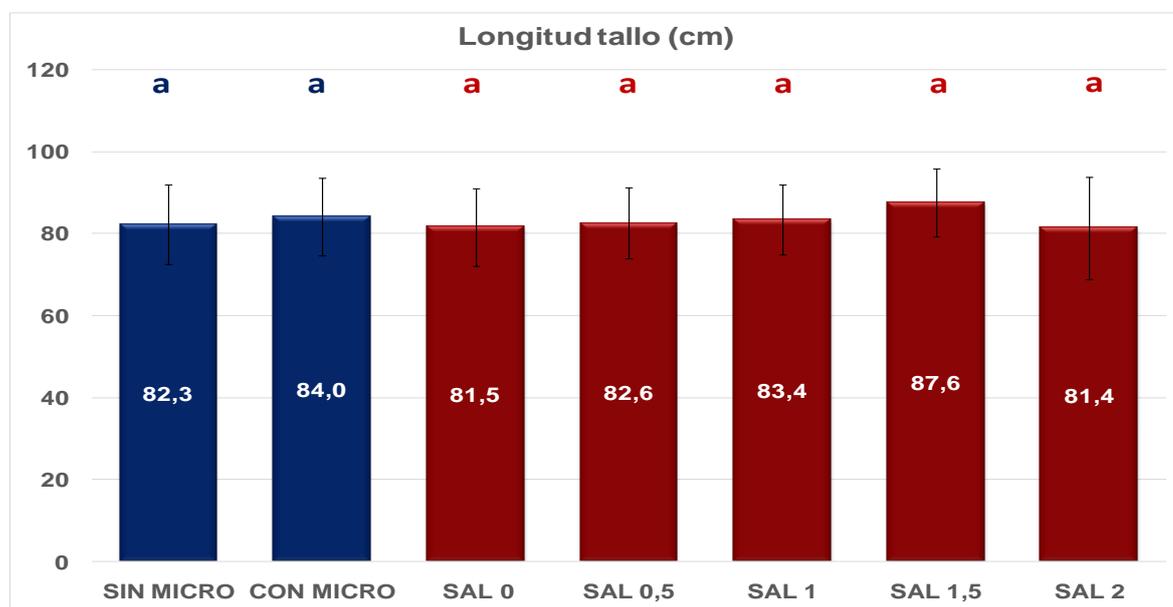


Figura 42: Representación gráfica del valor promedio de la longitud del tallo en los dos factores analizados. Las letras de distinto color identifican análisis multifactoriales distintos para el factor adición de microorganismo y concentración salina.

La longitud del tallo está representada en la Figura 42 donde se puede observar un aumento del valor numérico en la longitud a medida que se aumenta la concentración salina pero cuando se sobrepasa la concentración de 1,5g/L se produce un descenso en el valor numérico. Por otro lado las plantas con microorganismo poseen una mayor longitud del tallo que las que no lo tienen, aunque no hay diferencia estadísticamente significativa.

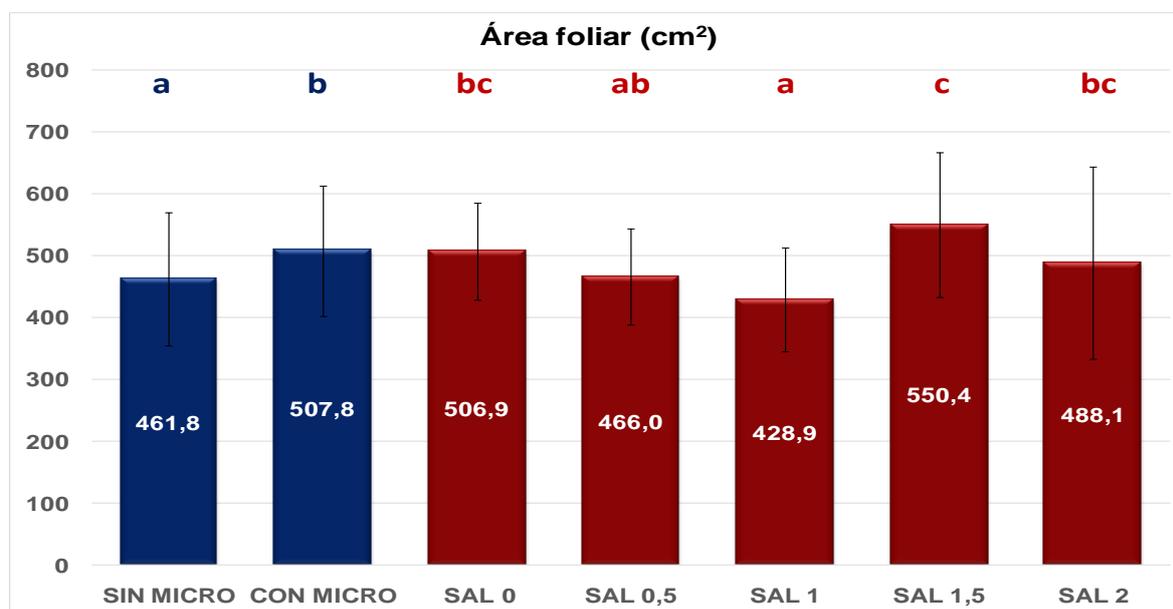


Figura 43: Representación gráfica del valor promedio del área foliar en los dos factores analizados. Las letras de distinto color identifican análisis multifactoriales distintos para el factor adición de microorganismo y concentración salina.

En la Figura 43, se observa el área foliar expresada en cm^2 . En esta figura se puede ver que las bandejas con microorganismo poseen un valor numérico mayor y existe una diferencia estadísticamente significativa entre las bandejas que contienen el microorganismo y las bandejas que no lo contienen. Con respecto a los tratamiento se produce un descenso en el valor numérico del área foliar conforme se aumenta la concentración hasta la dosis de 1,5 g/L de NaCl donde se produce un aumento y luego vuelve a disminuir el valor numérico. Además existen diferencias estadísticamente significativa entre todos los tratamientos siendo el tratamiento con una concentración de 1 g/L de NaCl el valor más bajo seguido del tratamiento con una concentración de 0,5g/L de NaCl, después les siguen los tratamientos con unas concentraciones de 0 y 2 g/L de NaCl y por último el tratamiento con una concentración de 1,5 g/L de NaCl.

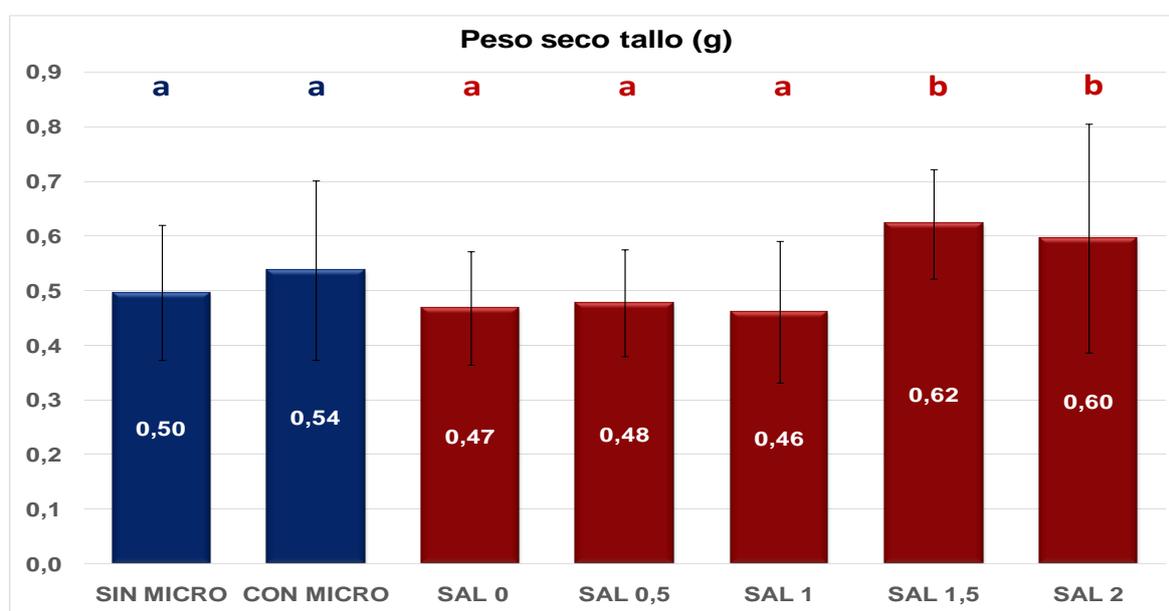


Figura 44: Representación gráfica del valor promedio del peso seco del tallo en los dos factores analizados. Las letras de distinto color identifican análisis multifactoriales distintos para el factor adición de microorganismo y concentración salina.

Con respecto al peso seco del tallo se muestra en la figura 44. Se observa que en la parte de los tratamientos (color rojo) los valores numéricos más altos se dan en las concentraciones más altas y en los que contienen el microorganismo. Además existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con concentraciones de 1,5 y 2 g/L de NaCl y los otros tres tratamientos con concentraciones de 0, 0,5 y 1 g/L de NaCl.

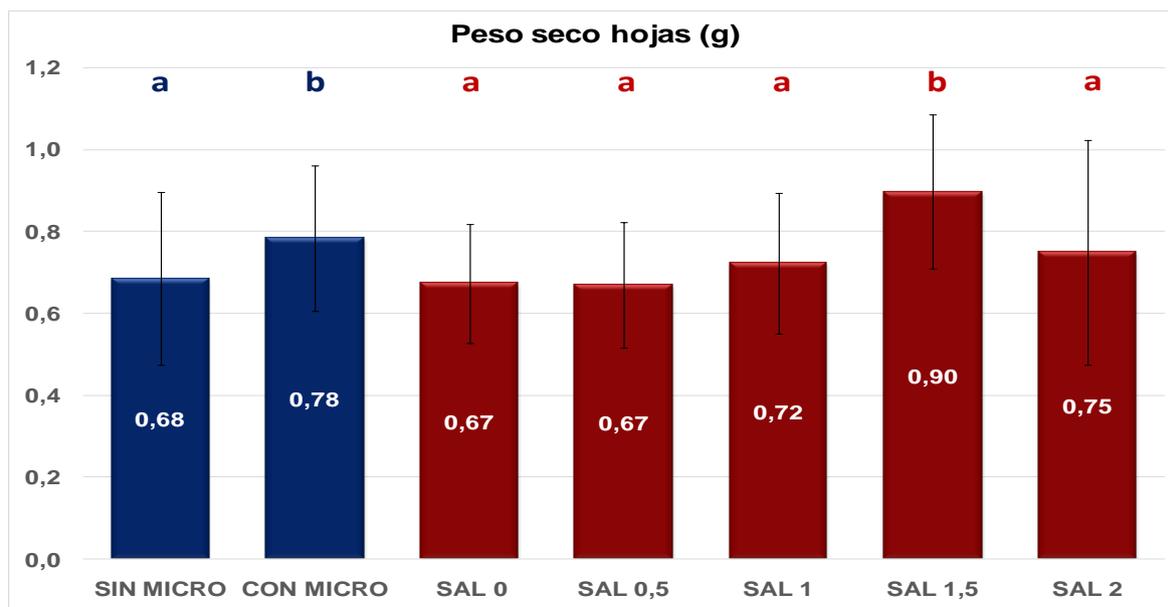


Figura 45: Representación gráfica del valor promedio del peso seco de las hojas en los dos factores analizados. Las letras de distinto color identifican análisis multifactoriales distintos para el factor adición de microorganismo y concentración salina.

En la figura 45 se puede ver el peso seco de las hojas. Se observa que en la parte de los tratamientos (color rojo) los valores numéricos más altos se dan en las concentraciones más altas sobretodo en el tratamiento con una concentración de 1,5 g/L de NaCl y en los que contienen el microorganismo. Existen diferencias estadísticamente significativa entre el tratamiento con una concentración de 1,5 g/L de NaCl y los otros cuatro tratamientos con concentraciones de 0, 0,5, 1 y 2 g/L de NaCl. También existe una diferencia estadísticamente significativa entre las plantas que contienen el microorganismo y las que no lo contienen.

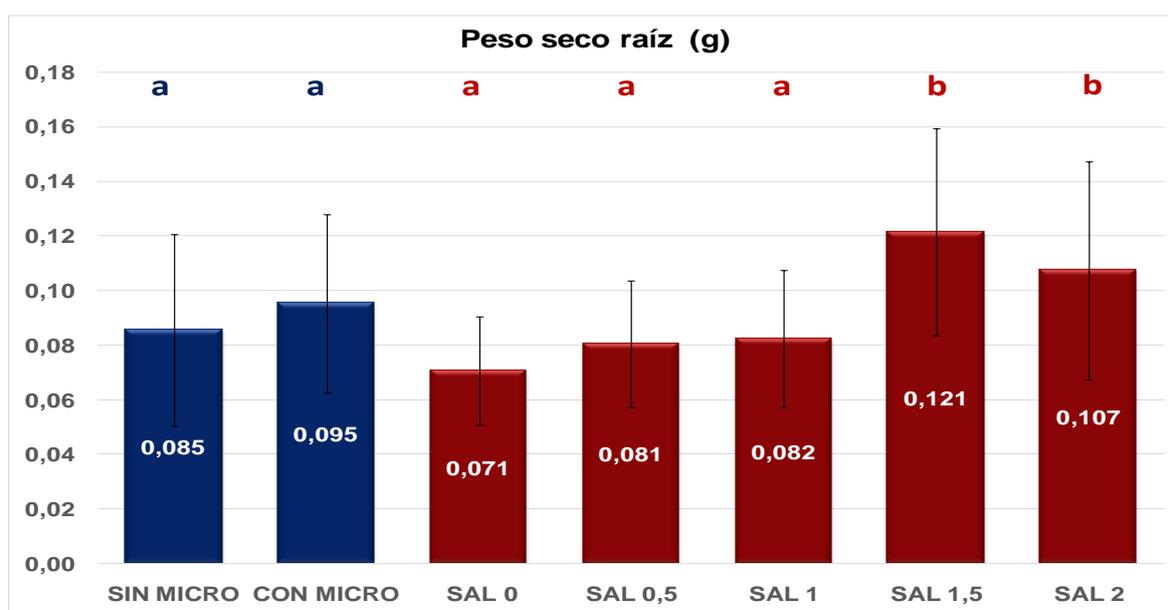


Figura 46: Representación gráfica del valor promedio del peso seco de la raíz en los dos factores analizados. Las letras de distinto color identifican análisis multifactoriales distintos para el factor adición de microorganismo y concentración salina.

En la figura 46 se puede ver el peso seco de la raíz. Se observa que en la parte de los tratamientos (color rojo) los valores numéricos más altos se dan en las concentraciones más altas sobretodo en el tratamiento con una concentración de 1,5 g/L de NaCl y en los que contienen el microorganismo. También existe una diferencia estadísticamente significativa entre las bandejas con concentraciones de 1,5 y 2 g/L de NaCl y a los demás tratamientos.

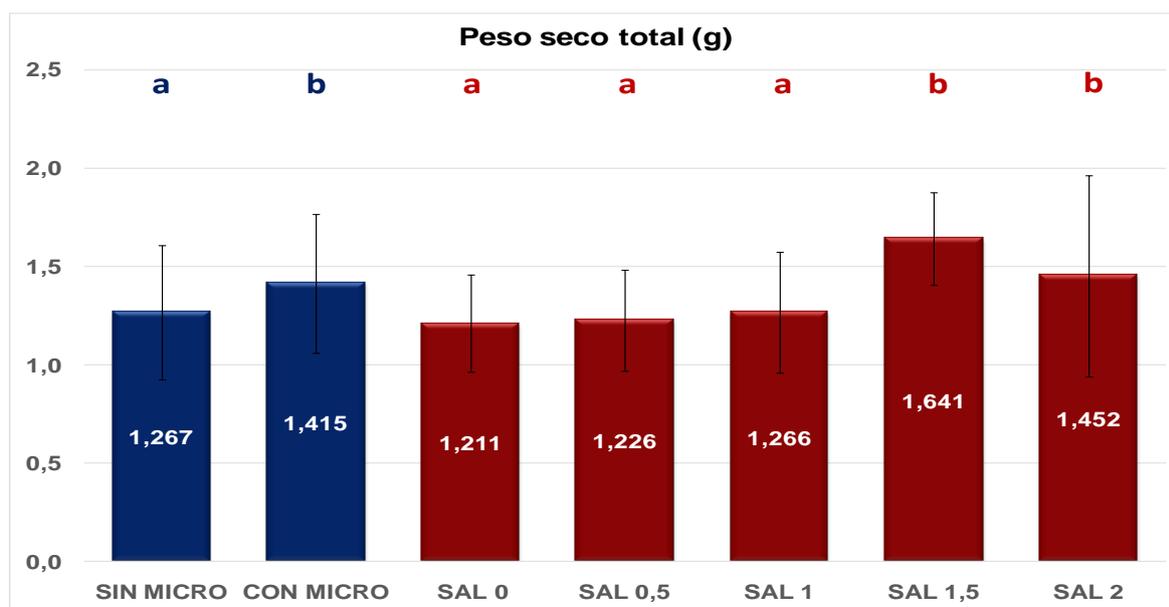


Figura 47: Representación gráfica del valor promedio del peso seco total en los dos factores analizados. Las letras de distinto color identifican análisis multifactoriales distintos para el factor adición de microorganismo y concentración salina.

En las Figuras 44, 45, 46 y 47 están representados los pesos secos de tallos, raíces, hojas y el total. En la figura 47 se muestra el peso seco total que es la suma de los tres anteriores y se observa que en la parte de los tratamientos (color rojo) los valores numéricos más altos se dan en las concentraciones más altas y en los que contienen el microorganismo. Existen dos diferencias estadísticamente significativas una entre las plantas que contienen el microorganismo y las que no lo contienen y entre los tratamientos con concentraciones de 1,5 y 2 g/L de NaCl y a los demás tratamientos.

4. 2.2. Análisis estadístico de los índices de calidad de la plántula.

Al igual que en el análisis a una vía, una vez analizado los datos de los parámetros morfológicos se procede al cálculo y análisis de los índices de calidad de la planta.

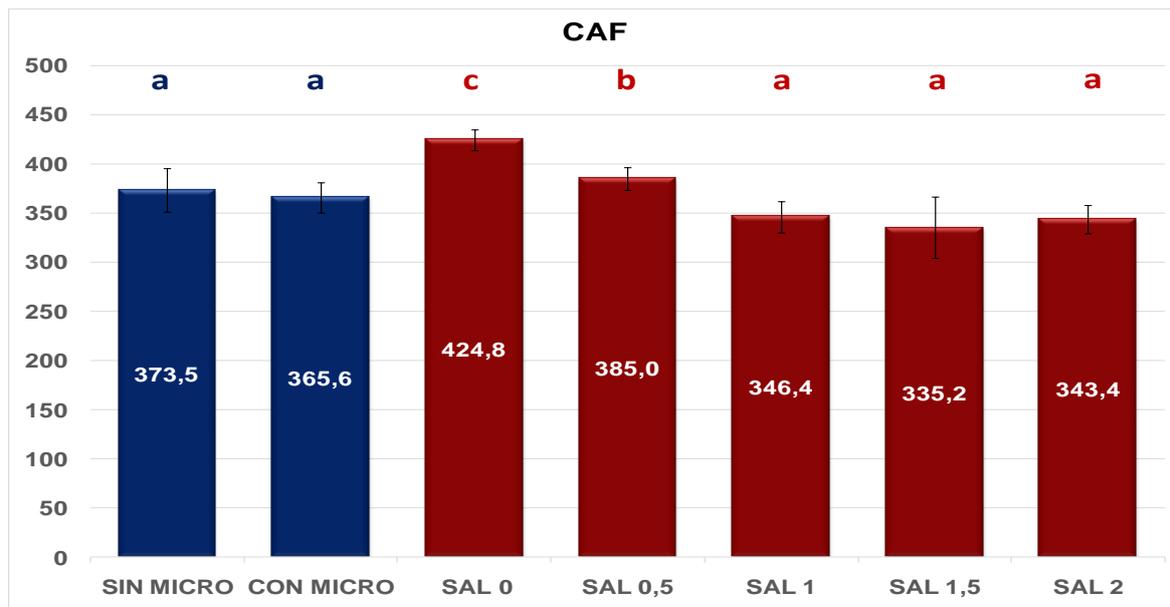


Figura 48: Representación gráfica del valor promedio del índice de calidad CAF en los dos factores analizados. Las letras de distinto color identifican análisis multifactoriales distintos para el factor adición de microorganismo y concentración salina.

En la Figura 48 se observa que el valor numérico del índice de calidad CAF (área foliar/ peso seco total) es ligeramente superior en las bandejas sin microorganismo y que disminuye numéricamente a medida que la concentración salina aumenta y aumenta numéricamente en el último tratamiento. También se aprecia una diferencia estadísticamente significativa en los tratamientos con una concentración de 0 g/L de NaCl que es superior a todos los demás tratamientos y en el tratamiento con una concentración de 0,5 g/L de NaCl que es superior a los tratamientos con concentraciones de 1, 1,5 y 2 g/L de NaCl pero inferior al tratamiento con una concentración de 0 g/L de NaCl. En este caso los valores más bajos son positivos lo que significa que los mejores resultados son los de las bandejas con microorganismo y una mayor concentración salina.

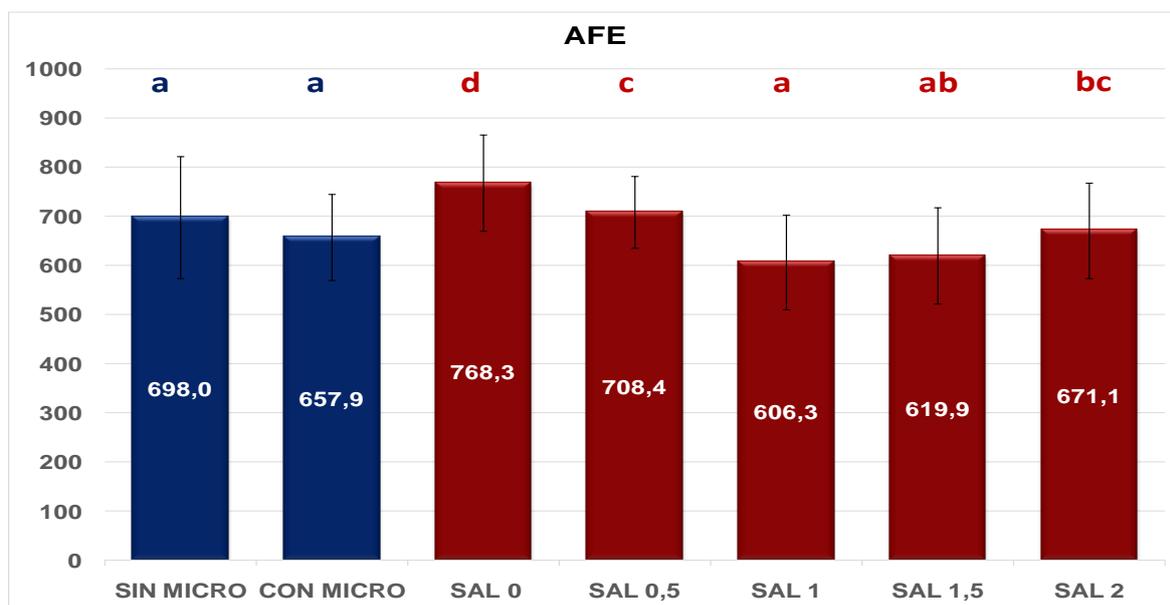


Figura 49: Representación gráfica del valor promedio del índice de calidad AFE en los dos factores analizados. Las letras de distinto color identifican análisis multifactoriales distintos para el factor adición de microorganismo y concentración salina.

Con respecto al índice de calidad AFE (área foliar/peso seco hojas) que está representado en la Figura 49 se observa que el valor numérico más bajo se encuentra en la dosis de 1 g/L de NaCl y conforme se aumenta o disminuye la dosis aumenta su valor numérico. Por otro lado las plantas con microorganismo poseen un valor numérico menor que las que no lo contienen. También se observa una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos empezando por el tratamiento con una concentración de 1 g/L de NaCl al que corresponde el valor estadístico más bajo seguido del tratamiento con una concentración de 1,5 g/L de NaCl, el tratamiento con una concentración de 2 g/L de NaCl, el tratamiento con una concentración de 0,5 g/L de NaCl y el tratamiento con una concentración de g/L de NaCl que es el que tiene el valor estadístico más alto.

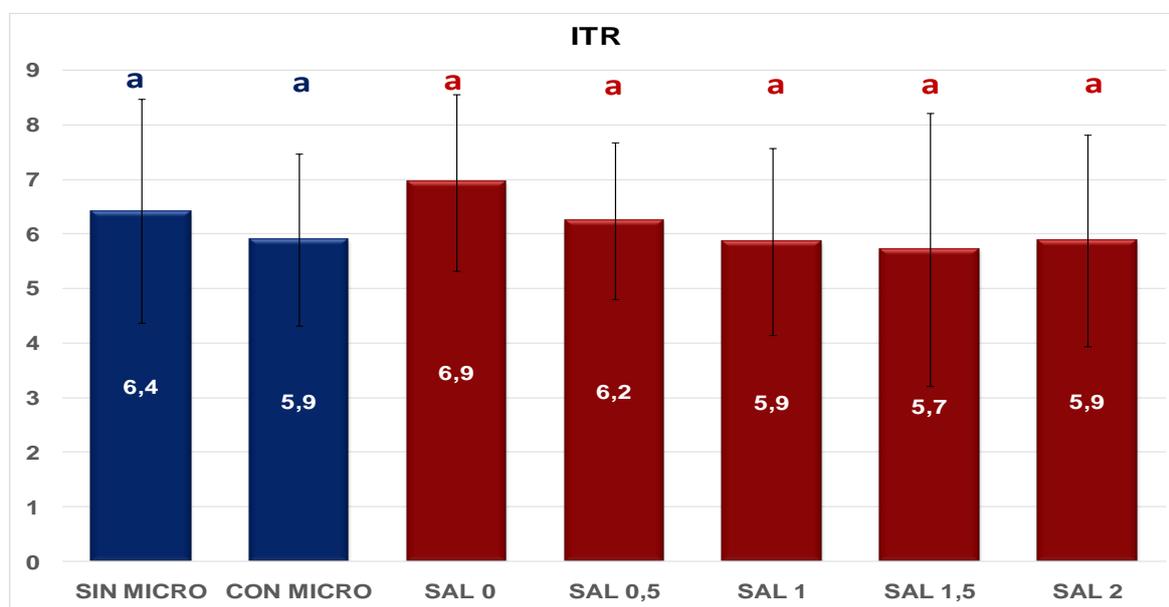


Figura 50: Representación gráfica del valor promedio del índice de calidad ITR en los dos factores analizados. Las letras de distinto color identifican análisis multifactoriales distintos para el factor adición de microorganismo y concentración salina.

En la Figura 50 se observa un decrecimiento del valor numérico del índice de calidad ITR (peso seco del tallo/ peso seco de la raíz) a medida que se aumenta la concentración salina pero en el tratamiento con una concentración de 2 g/L de NaCl aumenta numéricamente y un valor numérico superior en las plantas que no contenían microorganismo aunque no hay una diferencia estadísticamente significativa.

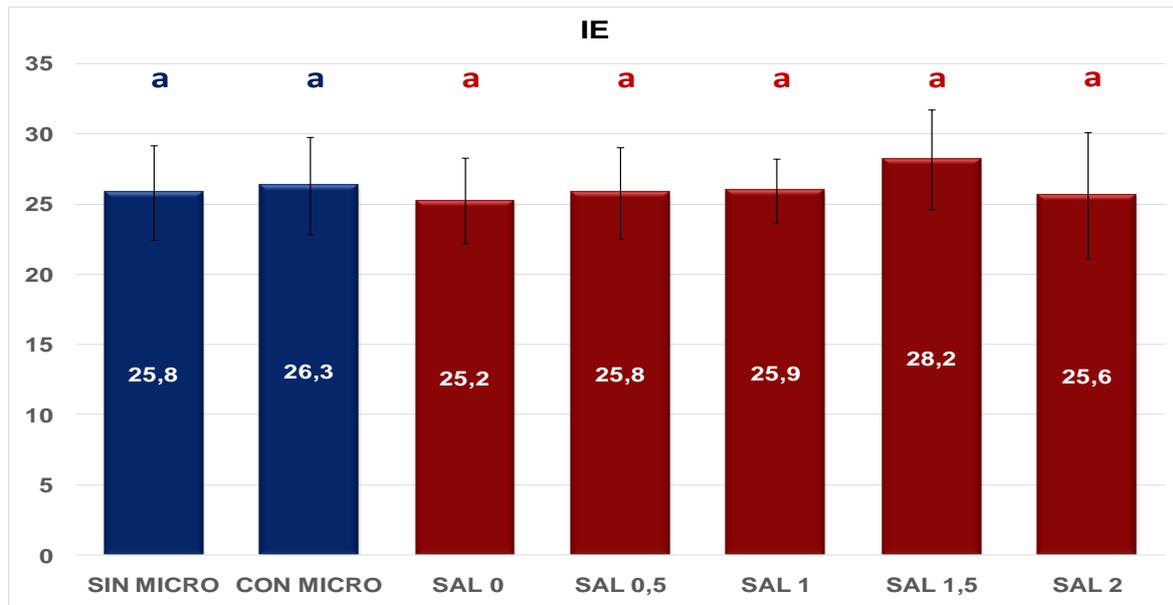


Figura 51: Representación gráfica del valor promedio del índice de calidad IE en los dos factores analizados. Las letras de distinto color identifican análisis multifactoriales distintos para el factor adición de microorganismo y concentración salina.

El índice de calidad IE (altura del tallo/diámetro) se observa en la Figura 51 donde se puede ver que los valores numéricos son muy similares ya que los diámetros de todas las plantas eran muy parecidos exceptuando el tratamiento con 1,5 g/L de NaCl que el valor numérico es superior al resto. En las plantas con microorganismo el valor numérico es superior a las que no lo contenían aunque no hay diferencia estadísticamente significativa.

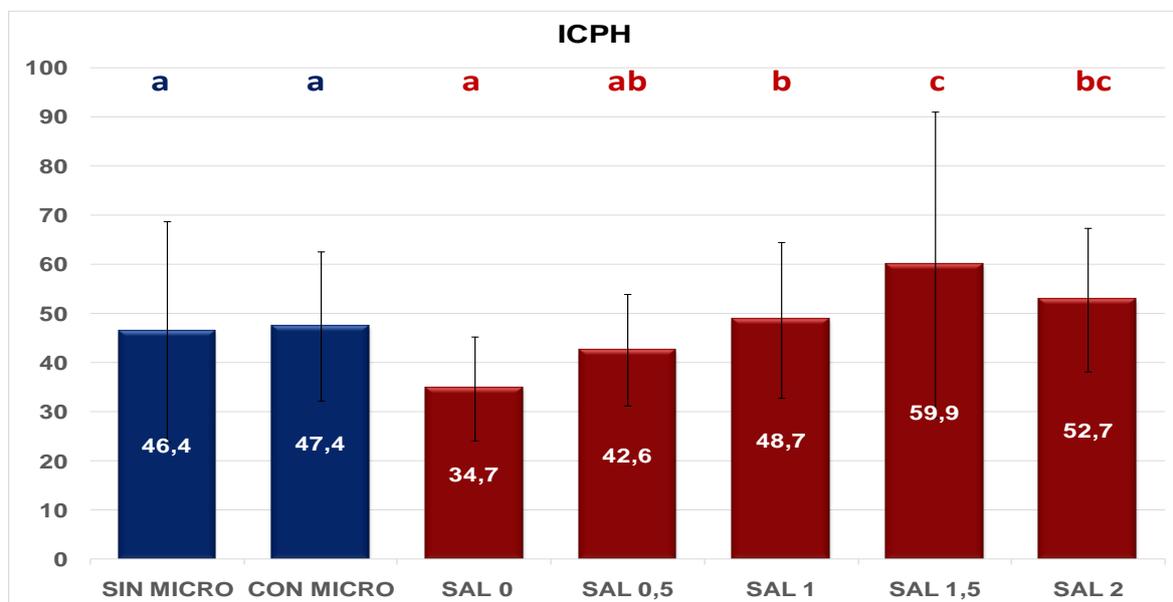


Figura 52: Representación gráfica del valor promedio del índice de calidad ICPH en los dos factores analizados. Las letras de distinto color identifican análisis multifactoriales distintos para el factor adición de microorganismo y concentración salina.

En la figura 52 se representa el índice de calidad ICPH (10000*peso seco aéreo*peso seco raíz*calibre/área foliar *peso seco total*altura del tallo). Se observa que el valor numérico de las plantas con microorganismo es superior al valor de las plantas sin microorganismo. Por el lado de los tratamientos se produce un crecimiento de los valores numéricos hasta el último tratamiento donde decrece el valor numérico. También se observa una diferencia estadísticamente significativa en el apartado de los tratamientos teniendo el valor estadístico más bajo lo posee el tratamiento con una concentración de 0 de g/L de NaCl seguido del tratamiento con una concentración de 0,5 de g/L de NaCl, el tratamiento con una concentración de 1 de g/L de NaCl, el tratamiento con una concentración de 2 de g/L de NaCl y el tratamiento con una concentración de 1,5 de g/L de NaCl que es el que posee el valor estadístico más alto.

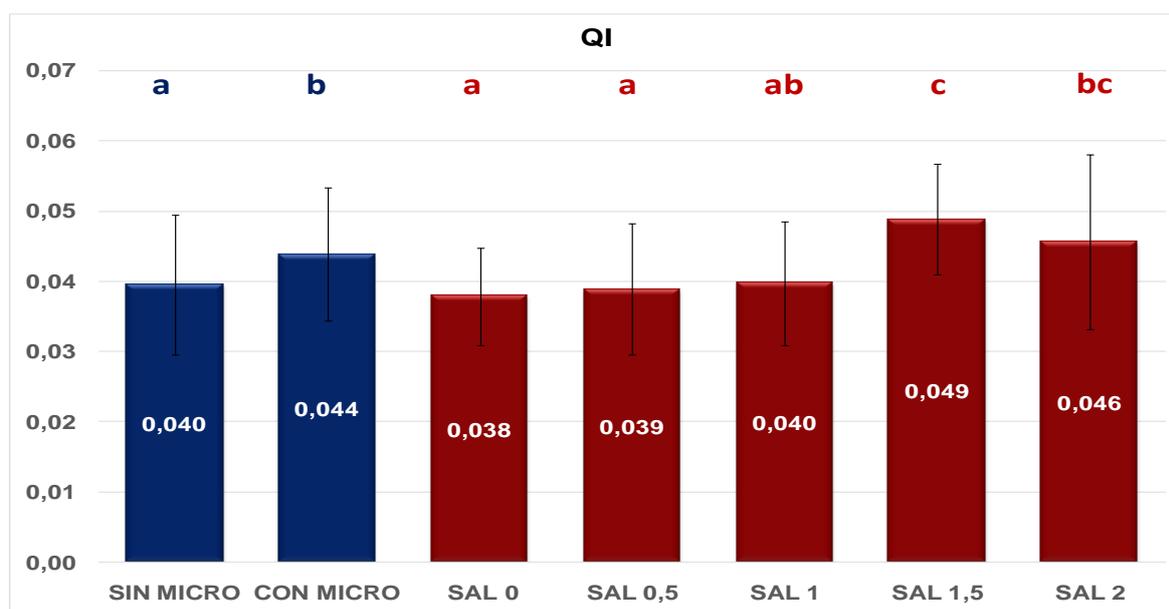


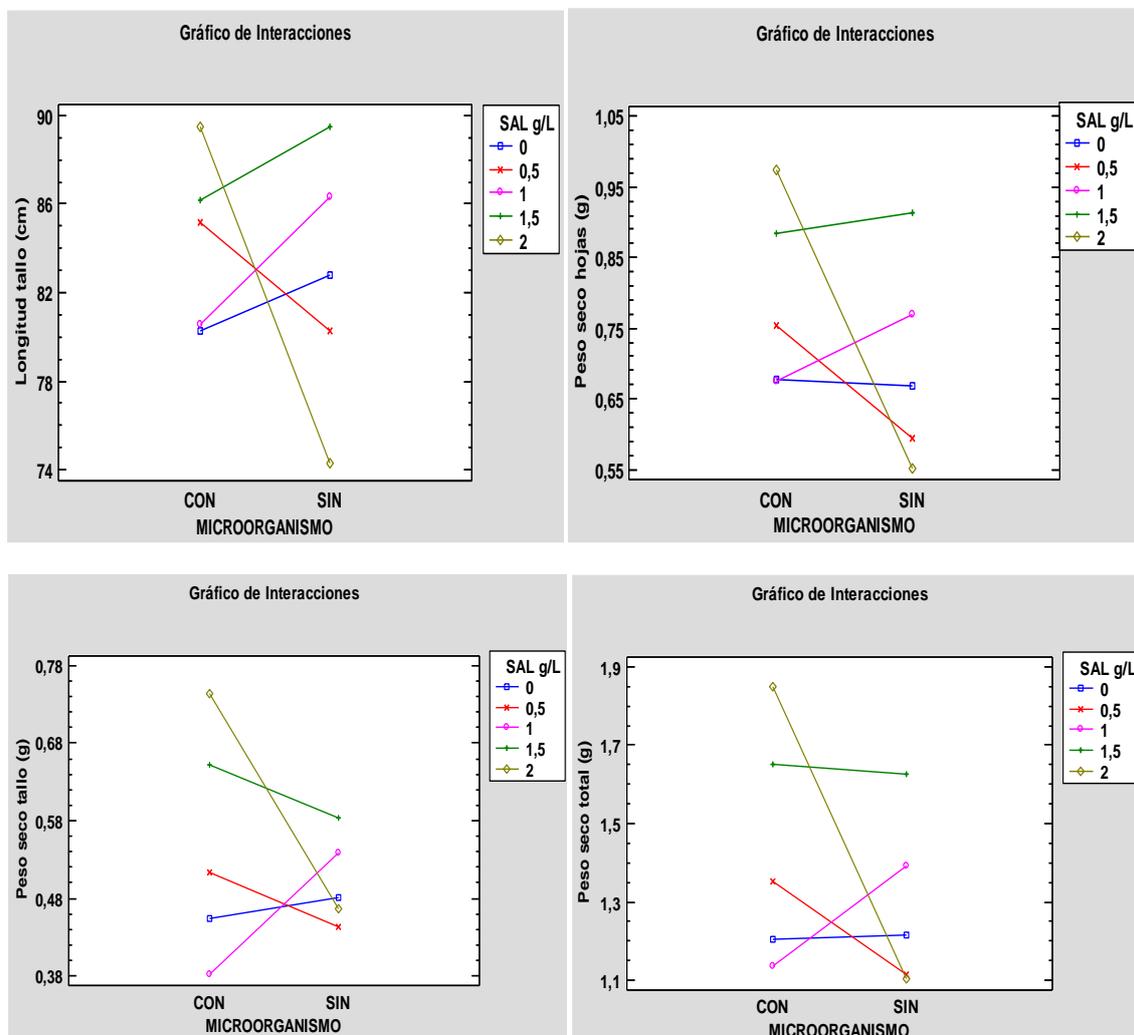
Figura 53: Representación gráfica del valor promedio del índice de calidad QI en los dos factores analizados. Las letras de distinto color identifican análisis multifactoriales distintos para el factor adición de microorganismo y concentración salina.

En los índices de calidad QI (peso seco total/IE+ITR) e ICPH (10000*peso seco aéreo*peso seco raíz*calibre/área foliar *peso seco total*altura del tallo) los valores estadísticos más altos son positivos al contrario que en los otros índices de calidad de la planta y están representados en las Figuras 52 y 53. En la figura 53 se observa que las plantas que contienen el microorganismo el valor numérico es superior al de las plantas sin microorganismo y con respecto a los tratamientos a medida que se aumenta la concentración se produce un aumento de los valores numéricos y en la última dosis decrece el valor numérico. Además presenta una diferencia estadísticamente significativa en la parte de los tratamientos donde los tratamientos con concentraciones de 0 y 0,5 g/L de NaCl les corresponden los valores estadísticos más bajos seguidos de los tratamientos con concentraciones de 1, 2 y 1,5 g/L de NaCl. También existe una diferencia estadísticamente significativa entre las plantas que contienen el microorganismo y las que no.

4. 2.3. Resultados del análisis estadístico de anova dos vías.

p-valor	Longitud tallo (cm)	Diámetro (mm)	Número de hojas	Peso seco hojas (g)	Peso seco tallo (g)	Peso seco raíz (g)	Peso seco total (g)
EFFECTOS PRINCIPALES							
A:MICROORGANISMO	0,3898	0,8405	0,1498	0,0107	0,0664	0,1553	0,016
B:SAL g/L	0,3409	0,565	0,2637	0,0014	0,0000	0,0000	0,0001
INTERACCIONES							
AB	0,0107	0,1083	0,1003	0,0002	0,0000	0,0701	0,0000
p-valor	Área foliar (cm ²)	QI	IE	ITR	AFE	CAF	ICPH
EFFECTOS PRINCIPALES							
A:MICROORGANISMO	0,0153	0,0175	0,6102	0,287	0,0908	0,6473	0,9476
B:SAL g/L	0,0093	0,0019	0,1441	0,2358	0,0000	0,0000	0,0006
INTERACCIONES							
AB	0,0006	0,005	0,0593	0,1699	0,0051	0,0119	0,1003

Tabla 3: Resultados del análisis estadístico anova dos vías.



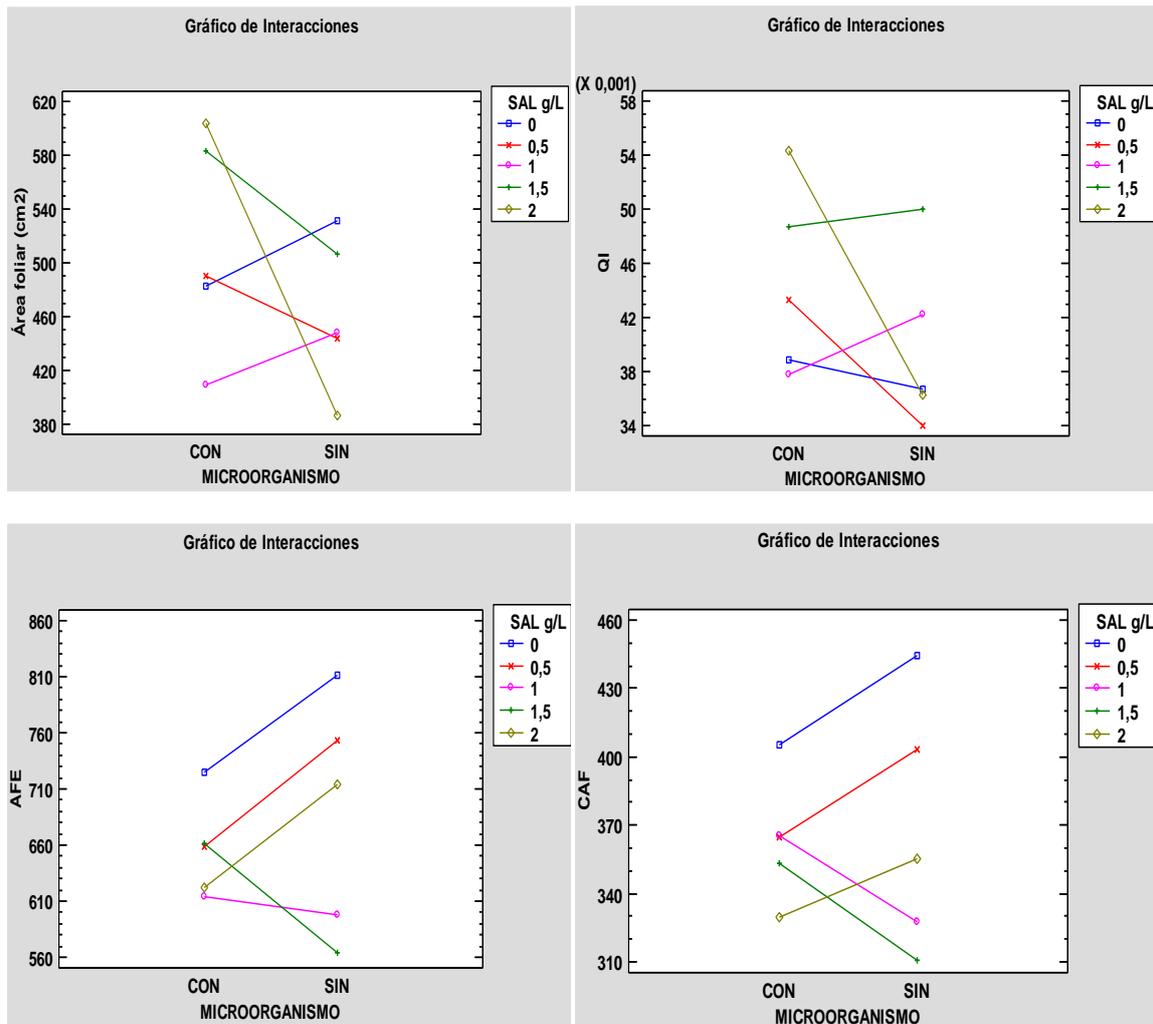


Figura 54: Representación de los datos del análisis estadístico. Eje de abscisas representa las bandejas con o sin microorganismo y el eje de ordenadas los resultados numéricos de cada tratamiento de la longitud del tallo, peso seco de la hoja, peso seco del tallo, peso seco total, área foliar, QI, AFE y CAF.

Como se ha explicado al comienzo de este apartado se analizaron por un lado los datos de los cinco tratamientos y por otro los datos de las bandejas con y sin microorganismo. Una vez analizados estos datos se realizó la Tabla 3 donde se calculó el p-valor de la interacción de los datos anteriores que se muestra en las dos filas encabezadas por el símbolo. Para que los resultados sean significativos este valor tiene que ser menor de 0,05 como es el caso de la longitud del tallo, peso seco de la hoja, peso seco del tallo, peso seco total, área foliar, QI, AFE y CAF con los que se realizó unas gráficas como se muestra en la Figura 54 donde se puede ver que en el tratamiento con 2g/L de NaCl (bandeja T8 Y T9) hay una gran interacción cuando las plantas contienen el microorganismo como se puede ver en la Figura que los resultados son mucho más altos que cuando o contienen el microorganismo.

5. CONCLUSIONES.

5. CONCLUSIONES.

Las conclusiones finales que se pueden extraer del ensayo descrito en la siguiente memoria son:

1. De la comparación dos a dos de los tratamientos, con y sin microorganismos, a distintas concentraciones salinas, podemos concluir que: No se observa un efecto positivo sobre el desarrollo de las plantas de pepino con la incorporación del microorganismo CDG17, cuando las concentraciones de sal añadidas a la solución nutritivas son menores o iguales de 1,5 g/L, sin embargo a la concentración de 2 g/L se observa un claro efecto estimulante del desarrollo vegetal, mejorando de forma estadísticamente significativa 7 de los 8 parámetros morfológicos evaluados y el índice de calidad de Dickson.
2. Derivado del análisis multifactorial obtenemos la siguiente conclusión, se ha detectado la existencia de interacción entre el factor microorganismo y concentración salina, en 5 de los 8 parámetros morfológicos y en 3 de los 6 índices de calidad de planta. Siendo los tratamientos a la máxima concentración salina ensayada 2 g/L, los que han manifestado una respuesta positiva más clara a la adición del microorganismo.

Propuesta de futuros trabajos:

Los resultados obtenidos sugieren que el microorganismo CDG17 puede tener un interés agronómico en condiciones de estrés biótico por salinidad. Sería deseable profundizar en su estudio, en ensayos en condiciones de salinidad tanto de suelo como de aguas de riego, ensayos en los que se evalúen la influencia sobre los rendimientos y la morfología de los cultivos.

6. BIBLIOGRAFÍA.

6. Bibliografía.

Adams J.F., Doerge T.A. 1987. Soil salinity and soil acidity as factors in plant nutrition. *Future Developments in Soil Science Research* 193-203.

Alguacil MM, Torres MP, Torrecillas E, Díaz G, Roldán A. 2011. Plant type differently promote the arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity in the rhizosphere after revegetation of a degraded, semiarid land. *Soil Biology & Biochemistry* 43, 167-173.

ASHLEY, P., 2020. *PEPINO ASHLEY - MascarellSemillas*. [online] MascarellSemillas. Available at: <<https://www.mascarellsemillas.com/es/pepino/607-pepino-ashley.html>> [Accessed 20 April 2020].

Ashraf M., Athar H.R., Harris P.J., Kwon T.R. 2008. Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. *Advance in Agronomy* 97: 45-110.

Ayers R.S., Wescott D.W. 1985. Water quality for agriculture, FAO Irrigation and Drainage Paper no. 29, Rome, Italy, 174 pp.

Brito I, de Carvalho M, Goss MJ. 2011. Summer survival of arbuscular mycorrhiza extraradical mycelium and the potential for its management through tillage options in Mediterranean cropping systems. *Soil Use and Management* 27, 350- 356.

Cheeseman J.M. 1988. Mechanisms of salinity tolerance in plants. *PlantPhysiology*87: 547-550.

Contreras París, J., 2020. OPTIMIZACIÓN DE LAS ESTRATEGIAS DE FERTIRRIGACIÓN DE CULTIVOS HORTÍCOLAS EN INVERNADERO UTILIZANDO AGUAS DE BAJA CALIDAD (AGUA SALINA Y AGUA REGENERADA) EN CONDICIONES DEL LITORAL DE ANDALUCÍA. [online] Educacion.gob.es. Available at:<<https://www.educacion.gob.es/teseo/imprimirFicheroTesis.do?idFichero=BXR2ZdDNHCY%3D>> [Accessed 1 May 2020].

Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio (CMAOT). 2012. Demarcación Hidrográfica de las Cuencas Mediterráneas Andaluzas. Documentos plan hidrológico de la demarcación hidrográfica de las cuencas mediterráneas andaluzas. Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio. Junta de Andalucía.

Demidchik V, Maathuis FJM. 2007. Physiological roles of nonselective cation channels in plants: from salt stress to signalling and development. *New Phytologist*175, 387-404.

Estrada Velasco, B., 2020. Caracterización De Los Procesos De Adaptación De Hongos Formadores De Micorrizas A Ambientes Afectados Por La Sequía Y Salinidad Y Su Implicación En La Mejora De La Tolerancia De Las Plantas A Tales Ambientes. [online] Digibug.ugr.es. Available at: <<https://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/26385/21786756.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> [Accessed 1 May 2020].

Evelin H, Kapoor R, Giri B. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. *Annals of Botany* 104, 1263-1280.

- Feigin A. 1985. Fertilization management of crops irrigated with saline water. In *Biosalinity in Action: Bioproduction with Saline Water* (pp. 285-299). Springer Netherlands.
- Flower T.J., Colmer T.D. 2008. Salinity tolerance in halophytes. *New Phytology* 179: 945-963.
- Google Maps. 2020. *Google Maps*. [online] Available at: <<https://www.google.com/maps/@37.0258016,-2.2421281,80097m/data=!3m1!1e3>> [Accessed 1 May 2020].
- Greenway H, Munns R. 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes *Annual Review of Plant Physiology* 31, 149-190.
- Guzmán J.M. 2011. Reutilización de aguas residuales para riego en agricultura. En: Sustratos, manejo del clima, automatización y control en sistemas de cultivo sin suelo, Ed. Víctor Julio Flórez Roncancio. – Bogotá : Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural: Colciencias, 294 pp.
- Hamdy A. 2005. Saline irrigation management for a sustainable use. In: Hamdy, A., El Gamal, F., Lamaddalena, N., Bogliotti, C. and Guelloubi, R. (eds.). *Nonconventional water use: WASAMED project*. Bari: CIHEAM/EU DG Research. 3-42 pp.
- Hoffman G.J., Shannon M.C. 2007. Salinity. *Developments in Agricultural Engineering* 13: 131-160.
- Instituto Tecnológico Geo-Minero de España (ITGE). 1995. Situación de los acuíferos del Campo de Dalías (Almería) en relación con su declaración de sobreexplotación. Publicado en: VI Simp. Hidrogeol. XXI, Sevilla: 443-467.
- Kafkafi U. 1984. Plant nutrition under saline conditions. *Soil Salinity under Irrigation: Processes and Management*. Berlin: Springer-Verlag, 319-338.
- Maathuis FJM, Amtmann A. 1999. K⁺ nutrition and Na⁺ toxicity: the basis of cellular K⁺/Na⁺ ratios. *Annals of Botany* 84, 123-133.
- Mahajan S, Tuteja N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444, 139-158.
- MAPAMA. (2020). Retrieved 28 April 2020, from <https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/publicaciones/anuario-de-estadistica/2019/default.aspx?parte=3&capitulo=07&grupo=6>.
- Marschner H. 1995. *Mineral Nutrition in Higher Plants*. New York. Academic Press. 889 pp.
- Munns R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell & Environment* 25, 239-250.
- Munns R, Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59, 651-681.

- Niu G., Cabrera R. 2010. Growth and physiological responses of landscape plants to saline water irrigation: A review. *HortScience*45: 1605-1609.
- Pitman M, Läuchli A. 2002. Global impact of salinity and agricultural ecosystems. In: Läuchli A, Lüttge U, eds. *Salinity: environment-plants-molecules*. Netherlands: KluwerAcademicPublishers, 3-20.
- Prats D., Melgarejo J. 2006. Desalación y reutilización de aguas. Situación en la provincia de Alicante, Fundación COEPA, Alicante.
- Ravikovitch S., Porath A. 1967. The effect of nutrients on the salt tolerance of crops. *Plant and Soil* 26(1):49-71.
- Rhoades J.D., Kandiah A., Mashali A.M. 1992. The use of saline waters for crop production [FAO Irrigation and Drainage Paper 48]. FAO, Rome, 133.
- Ruiz-Lozano JM, Porcel R, Azcón R, Aroca R. 2012. Regulation by arbuscular mycorrhizae of the integrated physiological response to salinity in plants: new challenges in physiological and molecular studies. *Journal of Experimental Botany*63, 4033-4044.
- Salas M. C., Urestarazu M. 2004. Métodos de riego y fertirrigación en cultivos sin suelo. En: *Tratado de Cultivo sin suelo*. M. Urrestarazu (ed). Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. pp: 161-201.
- Sánchez-Montesinos, B., Diánez, F., Moreno-Gavira, A., Gea, F. and Santos, M., 2019. Plant Growth Promotion and Biocontrol of *Pythium ultimum* by Saline Tolerant *Trichoderma* Isolates under Salinity Stress. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(11), p.2053.
- Serrano A. 2009. Efecto de diferentes factores: fertilización, salinidad y procesado, sobre parámetros objetivos de calidad en pimiento. Tesis Doctoral. Departamento de Tecnología de la Alimentación y Nutrición. Universidad Católica San Antonio, Murcia.
- Shabala S, Cui TA. 2008. Potassium transport and plant salt tolerance. *Physiologia Plantarum*133, 651-669.
- Shannon M.C., Grieve C.M. 1999. Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia Horticulturae*78: 5-38.
- Sivritepe, N., Sivritepe, H.O., Eris, A., 2003. The effects of NaCl priming on salt tolerance in melon seedlings grown under saline conditions. *Scientia Horticulturae* 97, 229-237.
- Sonneveld C. 2004. La nutrición mineral y salinidad en los cultivos sin suelo: su manejo. En Urrestarazu, M. (ed). *Tratado de Cultivo sin suelo*. 3ra edición. Ediciones Mundi- Prensa, Madrid. pp: 305-366.
- Sonneveld C., Voogt W. 2009. Salinity and water quality. In: *Plant nutrition greenhouse crops*. C. Sonneveld and W. Voogt (eds). Springer, Dordrecht, pp. 127-155.

Tanji K., Grattan S., Grieve C., Harivandi A., Rollins L., Shaw D., Sheikh B., Wu L. 2008. A comprehensive literature review on salt management guide for landscape irrigation with recycled water in coastal southern California. http://www.salinitymanagement.org/Literature_Review.pdf.

Tester M, Davenport R. 2003. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higherplants. *Annals of Botany* 91, 503-527.

Tuteja N. 2007. Mechanisms of high salinity tolerance in plants. *Methods in Enzymology* 428, 419-438.

University of Almería. 2020. *University Of Almería*. [online] Available at: <<https://www.google.com/maps/place/Universidad+de+Almer%C3%ADa/@36.8286624,-2.4065781,314m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0xd7a9c2188f8d897:0x18f22cf3aafe035b!8m2!3d36.8290435!4d-2.4063528>> [Accessed 20 April 2020].

White PJ, Broadley MR. 2001. Chloride in soils and its uptake and movement within the plant: a review. *Annals of Botany* 88, 967-988.

Xu G, Magen H, Tarchitzky J, Kafkafi U. 2000. Advances in chloride nutrition. *Advances in Agronomy* 68, 96-150.

Zhu J.K. 2003. Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Current Opinion in Plant Biology* 6: 441- 445.

Zhu J.K., Shi J., Singh U., Wyatt S.E., Bressan R.A., Hasegawa P.M. , Capita N.C. 1993. Enrichment of vitronectin and fibronectin like proteins in NaCl-adapted plant cells and evidence for their involvement in plasma membrane-cell wall adhesion. *Plant Journal* 3: 637-646.