

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Índice

1. INTERÉS Y OBJETIVOS.....	15
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1 Restauración ecológica y ajardinamiento de áreas salinas.....	20
2.2 Xerojardinería.....	21
2.2.1 La xerojardinería en España.....	22
2.2.2 Plantas autóctonas mediterráneas con valor ornamental.....	22
2.3 Germinación y crecimiento de las semillas.....	24
2.3.1 Germinación.....	24
2.3.2 Crecimiento.....	25
2.4 Factores ambientales que afectan a la germinación y crecimiento de las semillas.....	26
2.4.1 Salinidad y temperatura.....	26
2.4.1.1 Efecto de la salinidad y la temperatura en la germinación.....	27
2.4.1.2 Efecto de la salinidad y la temperatura en el crecimiento.....	29
2.4.2 Humedad.....	30
2.4.3 Oxígeno.....	31
2.4.4 Luz.....	32
2.4.5 Enriquecimiento del aire con CO ₂	32
2.5 Impedimentos para la germinación: dormición.....	32
2.6 Consejos prácticos para la germinación.....	34
2.6.1 Humedad.....	34
2.6.2 Temperatura.....	35
2.6.3 Luz.....	35
2.6.4 Hormonas.....	36

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

2.6.5	Empleo de productos fitosanitarios.....	36
2.7	Biología de las semillas.....	36
2.7.1	Estructura de las semillas.....	36
2.7.1.1	La flor de los angiospermas.....	37
2.7.2	Estructura básica de las semillas de los angiospermas.....	38
2.7.2.1	El embrión.....	38
2.7.2.2	Endospermo y perispermo.....	39
2.7.2.3	Testa.....	40
2.7.3	Metabolismo de la germinación.....	40
2.7.3.1	Respiración.....	40
2.7.3.2	Movilización de sustancias de reserva.....	41
2.7.4	Biología reproductiva.....	45
2.7.4.1	El sistema reproductivo.....	46
2.7.4.2	Conservación de la diversidad genética.....	47
2.8	Recolección de semillas.....	47
2.8.1	Recolección en campo.....	48
2.8.2	Momento idóneo para la recolección.....	48
2.8.3	La prueba del corte.....	49
2.8.4	Protocolo de recolección.....	50
2.8.5	Procedimiento tipo para la recolección de semillas.....	51
2.9	Tratamientos de las semillas antes de su conservación.....	51
2.9.1	Ingreso de las semillas.....	51
2.9.2	Cuarentena.....	52
2.9.3	Pruebas iniciales para la valoración de los lotes de entrada.....	53
2.9.4	Frutos carnosos.....	53

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

2.9.5	Post-maduración.....	54
2.9.6	Limpieza y manejo de las semillas.....	55
2.9.6.1	Extracción manual.....	55
2.9.6.2	Extracción en frío.....	56
2.9.6.3	Extracción con calor.....	57
2.9.6.4	Métodos mecánicos.....	57
2.9.6.5	Métodos manuales o mixtos.....	58
2.9.7	Caracterización del germoplasma.....	58
2.9.7.1	Capacidad germinativa.....	59
2.9.7.2	Pruebas de vigor germinativo.....	59
2.9.7.3	Viabilidad.....	60
2.9.8	Desecado.....	60
2.9.8.1	Tolerancia a la deshidratación y categorías de conservación.....	60
2.9.8.2	Cámaras de desecado.....	60
2.9.8.3	Desecantes artificiales.....	60
2.10	Conservación de las semillas.....	63
2.10.1	Conservación “ex situ”.....	63
2.10.1.1	Conservación de semillas ortodoxas.....	64
2.10.2	Conservación “in vitro” y criopreservación.....	64
2.10.2.1	Conservación “in vitro”.....	64
2.10.2.2	Criopreservación.....	66
2.10.3	Conservación “in situ”.....	66
3.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	67
3.1	Material vegetal.....	68
3.1.1	<i>Salicornia ramosissima</i> J. Woods.....	68

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

3.1.1.1 Nombres vulgares.....	68
3.1.1.2 Morfología.....	69
3.1.1.3 Fenología.....	69
3.1.1.4 Hábitat.....	70
3.1.1.5 Distribución.....	70
3.1.1.6 Mapa de distribución.....	70
3.1.2 <i>Juncus maritimus</i> L.....	70
3.1.2.1 Nombres vulgares.....	70
3.1.2.2 Morfología.....	71
3.1.2.3 Fenología.....	72
3.1.2.4 Hábitat.....	72
3.1.2.5 Distribución.....	72
3.1.2.6 Mapa de distribución.....	73
3.2 Lugar de recogida de las semillas.....	73
3.2.1 Paraje Natural de Punta Entinas-Sabinar.....	74
3.2.2 Paraje Natural de Cabo de Gata-Níjar.....	76
3.3 Extracción de las semillas.....	79
3.3.1 Material utilizado para la extracción de semillas.....	79
3.3.2 Método de extracción.....	79
3.4 Preparación de muestras.....	79
3.5 Preparación de ensayo.....	80
3.5.1 Germinación.....	80
3.5.1.1 Material para la germinación.....	80
3.5.1.2 Soluciones salinas.....	80
3.5.1.3 Montaje del ensayo de germinación.....	81

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

3.5.2	Crecimiento.....	83
3.5.2.1	Material para el crecimiento.....	83
3.5.2.2	Montaje del ensayo de crecimiento.....	83
3.5.2.3	Desecación del material vegetal.....	86
3.6	Análisis de los parámetros medidos.....	87
3.6.1	Porcentajes de germinación.....	87
3.6.2	Tiempo medio de germinación.....	87
3.6.3	Análisis estadístico de los datos.....	88
4.	RESULTADOS.....	89
4.1	Efectos de la salinidad y la temperatura sobre los parámetros fisiológicos.....	90
4.2	Porcentaje de germinación.....	90
4.2.1	Porcentaje de germinación en <i>Salicornia ramosissima</i>	90
4.2.2	Porcentaje de germinación en <i>Juncus maritimus</i>	93
4.3	Porcentaje final de germinación en cada ensayo.....	96
4.3.1	Porcentaje final de germinación en <i>Salicornia ramosissima</i>	96
4.3.2	Porcentaje final de germinación en <i>Juncus maritimus</i>	99
4.4	Tiempo medio de germinación y análisis estadístico.....	102
4.4.1	Tiempo medio de germinación y análisis estadístico en <i>Salicornia ramosissima</i>	102
4.4.2	Tiempo medio de germinación y análisis estadístico en <i>Juncus maritimus</i>	104
4.5	Medias del peso fresco y análisis estadístico.....	105
4.5.1	Medias del peso fresco y análisis estadístico en <i>Salicornia ramosissima</i>	106
4.5.2	Medias del peso fresco y análisis estadístico en <i>Juncus maritimus</i>	109

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

4.6 Medias del peso seco y análisis estadístico.....	112
4.6.1 Medias del peso seco y análisis estadístico en <i>Salicornia ramosissima</i>	113
4.6.2 Medias del peso seco y análisis estadístico en <i>Juncus maritimus</i>	117
4.7 Variación de los pesos tras tratamiento en estufa.....	118
4.7.1 Variación de los pesos tras estufa en <i>Salicornia ramosissima</i>	119
4.7.2 Variación de los pesos tras estufa en <i>Juncus maritimus</i>	119
5. DISCUSIÓN.....	121
6. CONCLUSIONES.....	127
7. BIBLIOGRAFÍA.....	129

Índice figuras

Figura 1. Esquema de las fases de la imbibición de agua por una semilla, medida mediante el incremento en peso fresco durante el proceso de germinación (Azcón-Bieto & Talón, 2008).....	25
Figura 2. Vigor germinativo de 3 especies de <i>Centranthus</i> a diferentes temperaturas.....	31
Figura 3. Esquema de un óvulo ortótropo. (Besnier-Romero, 1989).....	37
Figura 4. Esquema de un embrión de dicotiledónea. c) cotiledones; h) hipocótilo; hv) haces vasculares; pl) plúmula; r) radícula (Besnier-Romero, 1989).....	38
Figura 5. Sección de una semilla de remolocha. (Besnier-Romero, 1989).....	40
Figura 6. Evolución de la actividad respiratoria durante la germinación de las semillas de guisante (<i>Pisum sativum</i>) (Azcón-Bieto & Talón, 2008).....	41
Figura 7. Variaciones en el contenido de almidón de los cotiledones en la germinación de semillas (Azcón-Bieto & Talón, 2008).....	42
Figura 8. Cambio en el contenido en lípidos en los cotiledones de cítricos durante la germinación (Azcón-Bieto & Talón, 2008).....	43
Figura 9. Acumulación de aminoácidos libres (A) y degradación de las proteínas de reserva (B) durante la germinación de semillas de <i>Lens culinaris</i> (Azcón-Bieto & Talón, 2008).....	44
Figura 10. Prueba del corte en una semilla (Bacchetta <i>et al.</i> , 2008).....	49
Figura 11. Semilla de <i>Astragalus nitidiflorus</i> (Bacchetta <i>et al.</i> , 2008).....	52
Figura 12. Ejemplo del registro informático de datos iniciales sobre un lote de semillas en una hoja de cálculo (Bacchetta <i>et al.</i> , 2008).....	53
Figura 13. Extracción de semillas de <i>Rosa sp.</i> mediante lavado de frutos sobre tamices y agua corriente (Bacchetta <i>et al.</i> , 2008).....	54
Figura 14. Lotes de semillas en proceso de post-maduración (Bacchetta <i>et al.</i> , 2008).....	55
Figura 15. Batería de tamices (Bacchetta <i>et al.</i> , 2008).....	56

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Figura 16. a - Máquina de flujo de aire con cilindro dentado para la separación de semillas (Bacchetta <i>et al.</i> , 2008).....	58
Figura 17. b - Máquina de flujo de aire para la limpieza de grandes lotes de semillas (Bacchetta <i>et al.</i> , 2008).....	58
Figura 18. Ejemplos de diferentes tipos de gel de sílice autoindicadores presentes en el mercado (Bacchetta <i>et al.</i> , 2008).....	62
Figura 19. Comportamientos de las semillas ortodoxas durante la conservación a bajas temperaturas, en función del contenido de humedad.....	64
Figura 20. Cámara conservación “in vitro” (Bacchetta <i>et al.</i> , 2008).....	65
Figura 21. Fotografía de <i>Salicornia ramosissima</i> (Anthos, 2010).....	68
Figura 22. <i>Salicornia ramosissima</i> (Anthos, 2010).....	69
Figura 23. Mapa de distribución de <i>Salicornia ramosissima</i> (Anthos, 2010).....	70
Figura 24. Detalle de la inflorescencia de <i>Juncus maritimus</i> (Anthos, 2010).....	71
Figura 25. Descripción de <i>Juncus maritimus</i> . (Anthos, 2010).....	72
Figura 26. Mapa de distribución de <i>Juncus maritimus</i> (Anthos, 2010).....	73
Figura 27. Humedales de Punta Entinas.....	73
Figura 28. Situación del Paraje Natural de Punta Entinas – Sabinar.....	74
Figura 29. Diagrama bioclimático de la estación meteorológica de Almería (Rivas-Martínez & Rivas-Saenz, 1996-2009).....	76
Figura 30. Situación del Parque Natural Cabo de Gata - Níjar.....	77
Figura 31. Diagrama bioclimático de la estación meteorológica de Níjar (Rivas-Martínez & Rivas-Saenz, 1996-2009).....	78
Figura 32. Cámara frigorífica con el material vegetal recolectado.....	79
Figura 33. Peso de NaCl para la realización de la solución salina.....	80
Figura 34. Material usado para la preparación de las soluciones salinas.....	81
Figura 35. Disposición de las semillas en Placas de Petri.....	81
Figura 36. Detalle de la disposición de las semillas en Placas de Petri.....	82
Figura 37. Emergencia de la radícula.....	82

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Figura 38. Sustrato de cuarzo en maceta troncocónica.....	84
Figura 39. Disposición de las macetas en la cámara de cultivo.....	84
Figura 40. Crecimiento de <i>Salicornia ramosissima</i>	85
Figura 41. Disposición de las plantas en fresco.....	86
Figura 42. Placas Petri con el material vegetal dentro de la estufa.....	86
Figura 43. Material vegetal tras la desecación.....	87

Índice tablas

Tabla 1. Comportamientos de las semillas ortodoxas durante la conservación a bajas temperaturas, en función del contenido de humedad.....	61
Tabla 2. Datos de temperatura y precipitación de la estación meteorológica de Almería (Rivas-Martínez & Rivas-Saenz, 1996-2009).....	75
Tabla 3. Datos de temperaturas y precipitación de la estación meteorológica de Níjar (Rivas-Martínez & Rivas-Saenz, 1996-2009).....	78
Tabla 4. Efecto de la temperatura y salinidad sobre la germinación de <i>Salicornia ramosissima</i> . Se muestra el ANOVA a dos vías para el porcentaje de germinación.....	103
Tabla 5. Efecto de la temperatura y salinidad sobre la germinación de <i>Juncus maritimus</i> . Se muestra el ANOVA a dos vías para el porcentaje de germinación.....	105
Tabla 6. Efecto de la salinidad sobre el peso medio fresco total en <i>Salicornia ramosissima</i>	107
Tabla 7. Efecto de la salinidad sobre el peso fresco de la parte aérea en <i>Salicornia ramosissima</i>	108
Tabla 8. Efecto de la salinidad sobre el peso medio fresco total en <i>Juncus maritimus</i>	110
Tabla 9. Efecto de la salinidad sobre el peso fresco de la parte aérea en <i>Juncus maritimus</i>	112
Tabla 10. Efecto de la salinidad sobre el peso medio seco total en <i>Salicornia ramosissima</i>	114
Tabla 11. Efecto de la salinidad sobre el peso seco de la parte aérea en <i>Salicornia ramosissima</i>	115
Tabla 12. Efecto de la salinidad sobre el peso seco de la parte radical en <i>Salicornia ramosissima</i>	116
Tabla 13. Efecto de la salinidad sobre el peso seco de la parte aérea en <i>Juncus maritimus</i>	118
Tabla 14. Diferencia de peso de las plantas de <i>Salicornia ramosissima</i> tras su introducción en secadora a 60 °C durante 24 horas.....	119

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Tabla 15. Diferencia de peso de las plantas de *Juncus maritimus* tras su introducción en secadora a 60 °C durante 24 horas.....119

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Índice gráficas

Gráfica 1: Evolución del porcentaje de germinación de <i>Salicornia ramosissima</i> a temperaturas 20/10 °C y a distintas concentraciones salinas.....	90
Gráfica 2: Evolución del porcentaje de germinación de <i>Salicornia ramosissima</i> a temperaturas 25/15 °C y a distintas concentraciones salinas.....	91
Gráfica 3: Evolución del porcentaje de germinación de <i>Salicornia ramosissima</i> a temperaturas 30/20 °C y a distintas concentraciones salinas.....	92
Gráfica 4: Evolución del porcentaje de germinación de <i>Salicornia ramosissima</i> a temperaturas 35/25 °C y a distintas concentraciones salinas.....	93
Gráfica 5: Evolución del porcentaje de germinación de <i>Juncus maritimus</i> a temperaturas 20/10 °C y a distintas concentraciones salinas.....	93
Gráfica 6: Evolución del porcentaje de germinación de <i>Juncus maritimus</i> a temperaturas 25/15 °C y a distintas concentraciones salinas.....	94
Gráfica 7: Evolución del porcentaje de germinación de <i>Juncus maritimus</i> a temperaturas 30/20 °C y a distintas concentraciones salinas.....	95
Gráfica 8: Evolución del porcentaje de germinación de <i>Juncus maritimus</i> a temperaturas 35/25 °C y a distintas concentraciones salinas.....	95
Gráfica 9: Representación del porcentaje de germinación total de <i>Salicornia ramosissima</i> para cada concentración salina al final del ensayo correspondiente a las temperaturas de 20/10 °C.....	96
Gráfica 10: Representación del porcentaje de germinación total de <i>Salicornia ramosissima</i> para cada concentración salina al final del ensayo correspondiente a las temperaturas de 25/15 °C.....	96
Gráfica 11: Representación del porcentaje de germinación total de <i>Salicornia ramosissima</i> para cada concentración salina al final del ensayo correspondiente a las temperaturas de 30/20 °C.....	97
Gráfica 12: Representación del porcentaje de germinación total de <i>Salicornia ramosissima</i> para cada concentración salina al final del ensayo correspondiente a las temperaturas de 35/25 °C.....	97
Gráfica 13: Comparativa de los porcentajes de germinación finales de <i>Salicornia ramosissima</i> para cada una de las concentraciones salinas obtenidos en cada uno de los ensayos realizados (20/10 °C, 25/15 °C, 30/20 °C y 35/25 °C).....	98

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Gráfica 14: Representación del porcentaje de germinación total de <i>Juncus maritimus</i> para cada concentración salina al final del ensayo correspondiente a las temperaturas de 20/10 °C.....	99
Gráfica 15: Representación del porcentaje de germinación total de <i>Juncus maritimus</i> para cada concentración salina al final del ensayo correspondiente a las temperaturas de 25/15 °C.....	99
Gráfica 16: Representación del porcentaje de germinación total de <i>Juncus maritimus</i> para cada concentración salina al final del ensayo correspondiente a las temperaturas de 30/20 °C.....	100
Gráfica 17: Representación del porcentaje de germinación total de <i>Juncus maritimus</i> para cada concentración salina al final del ensayo correspondiente a las temperaturas de 35/25 °C.....	100
Gráfica 18: Comparativa de los porcentajes de germinación finales de <i>Juncus maritimus</i> para cada una de las concentraciones salinas obtenidos en cada uno de los ensayos realizados (20/10 °C, 25/15 °C, 30/20 °C y 35/25 °C).....	101
Gráfica 19: Comparativa de los tiempos medios de germinación de <i>Salicornia ramosissima</i> para cada una de las concentraciones salinas obtenidos en cada uno de los ensayos realizados (20/10 °C, 25/15 °C, 30/20 °C y 35/25 °C).....	102
Gráfica 20: Comparativa de los tiempos medios de germinación de <i>Juncus maritimus</i> para cada una de las concentraciones salinas obtenidos en cada uno de los ensayos realizados (20/10 °C, 25/15 °C, 30/20 °C y 35/25 °C).....	104
Gráfica 21: Representación de las medias de los pesos frescos totales de <i>Salicornia ramosissima</i> para cada una de las concentraciones salinas.....	106
Gráfica 22: Representación de las medias de los pesos frescos de la parte aérea de <i>Salicornia ramosissima</i> para cada una de las concentraciones salinas.....	107
Gráfica 23: Representación de las medias de los pesos frescos de la parte radical de <i>Salicornia ramosissima</i> para cada una de las concentraciones salinas.....	109
Gráfica 24: Representación de las medias de los pesos frescos totales de <i>Juncus maritimus</i> para cada una de las concentraciones salinas.....	109
Gráfica 25: Representación de las medias de los pesos frescos de la parte aérea de <i>Juncus maritimus</i> para cada una de las concentraciones salinas.....	111
Gráfica 26: Representación de las medias de los pesos secos totales de <i>Salicornia ramosissima</i> para cada una de las concentraciones salinas.....	113

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Gráfica 27: Representación de las medias de los pesos secos de la parte aérea de *Salicornia ramosissima* para cada una de las concentraciones salinas.....114

Gráfica 28: Representación de las medias de los pesos secos de la parte radical de *Salicornia ramosissima* para cada una de las concentraciones salinas.....116

Gráfica 29: Representación de las medias de los pesos secos totales de *Juncus maritimus* para cada una de las concentraciones salinas.....117

Gráfica 30: Representación de las medias de los pesos secos de la parte aérea de *Juncus maritimus* para cada una de las concentraciones salinas.....117



1. INTERÉS Y OBJETIVOS

1. INTERÉS Y OBJETIVOS

A nivel mundial, es un hecho el aumento de suelos salinos como consecuencia del cambio climático, explotaciones agrícolas, etc. (Dorronsoro, 2010). En Almería estos suelos se presentan en un alto porcentaje. La necesidad de restaurar zonas salinas alteradas es muy importante para evitar un mayor deterioro de las mismas. Así mismo lo es el uso de plantas adecuadas en la jardinería de las zonas urbana. La utilización de especies adecuadas a estos medios es imprescindible.

Se trata de un tema preocupante porque más de dos terceras partes del territorio español pertenecen a las categorías de áreas áridas, semiáridas y subhúmedas secas. En España se observa que toda la mitad sur, a excepción de las cadenas montañosas más elevadas, más la meseta norte, la cuenca del Ebro y la costa catalana entran dentro de las categorías de tierras áridas, semiáridas y subhúmedas secas, y por lo tanto estas áreas son susceptibles de desarrollar el fenómeno de la desertificación (MARM, 2011). La salinidad del suelo y el agua es causada por la presencia de sales solubles que tienen su origen en el deterioro y disolución de rocas, y concentración por evapotranspiración de las plantas (Shannon, 1984). La salinización es un proceso que se produce con relativa facilidad en las zonas áridas (Solé-Benet & Cantón-Castilla, 2005).

En las zonas áridas y semiáridas de la provincia de Almería están desapareciendo matorrales mediterráneos de gran valor protector y ecológico, es la única vegetación capaz de soportar las críticas características ecológicas propias de estos territorios, de mantener el suelo y evitar los procesos de pérdida de agua por escorrentía o evapotranspiración. El agua es un bien escaso por lo que no se debe utilizar mal.

La situación climática de nuestro país, unido al exagerado consumo de agua, hace necesario que se desarrolle una nueva cultura del agua que minimice el consumo en cada uno de los sectores implicados (doméstico, agrario, industrial, etc.). Aunque el valor del consumo de agua en España para el riego de jardines y parques públicos está estimado en un 1.5 % del consumo total del agua, este porcentaje, no deja de ser importante; sobre todo si tenemos en cuenta que el 60 % de la superficie del territorio español es xerofítico (Kunkel, 1998).

La xerojardinería demuestra ser una solución con buenos resultados y de fácil aplicación en la gestión eficiente del consumo de agua. Se impone, por tanto, una pronta implantación de estas técnicas, ya que hasta la fecha son poco incipientes debido al gran número de dificultades que se deben de afrontar (Vicente, 1999). Entre estas dificultades se encuentra la falta de sensibilidad ecológica y la consecuente falta de concienciación respecto al ahorro de agua, tanto en la población como por parte de la administración, principal encargado de dar ejemplo. Además, el bajo coste del agua unido a la percepción de encarecimiento de cualquier innovación, hace que no se

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

encuentre justificado implantar el xerojardín para ahorrar agua. A esto se añade el escaso conocimiento de la xerojardinería de la que existe poca bibliografía y escaso apoyo técnico para su práctica.

El mayor impulso a la xerojardinería podría venir de su implantación en jardines públicos, principal muestra de las tendencias en jardinería, esto implicaría mayor competencia técnica de los responsables de urbanismo por requerir más conocimientos así como una mayor definición en sus proyectos, traducéndose en obras de jardinería más complejas, pero de mayor calidad paisajística, mayor periodo de vida y menor mantenimiento.

Estos hechos permiten considerar la aplicación de técnicas para reducir el consumo de agua en jardinería. No obstante, la adaptación de la jardinería actual a un menor consumo de agua comporta un cambio fundamental en el manejo de jardines, en cuanto a la selección de especies y en las técnicas de implantación y mantenimiento. Para sustituir las técnicas convencionales de un modo rápido y eficiente se cuenta con las nuevas tecnologías provenientes de múltiples ámbitos de la ingeniería y la biología que deberán permitir la adaptación a corto plazo a un cambio conceptual en la jardinería, más acorde con la conservación de los recursos naturales. Así, una jardinería de bajo consumo de agua deberá establecer una selección adecuada de especies, una gestión agronómica apropiada, optimizará el manejo y las instalaciones de riego, etc. Además, la adaptación de las plantas a un menor consumo de agua implica también una serie de cambios a nivel de gestión hidráulica durante el cultivo y en el momento del trasplante.

Durante los últimos años el tema del ahorro de agua en jardinería ha suscitado un interés particular. Las restricciones de agua repercuten de un modo negativo en la implantación y el mantenimiento de los jardines y por lo tanto, constituyen un factor limitante a tener en cuenta en la planificación y el desarrollo tanto de la jardinería privada como de la jardinería pública.

Existe una marcada tendencia a realizar proyectos de jardinería y paisajismo en zonas semiáridas que respondan a diseños sostenibles, donde los criterios de biodiversidad, de uso de especies ornamentales adaptadas a ese medioambiente, y de ahorro de recursos hídricos, horas de mantenimiento y otros inputs, son esenciales (Franco *et al.*, 2002). Para este fin, los aspectos a los que se debe prestar especial atención son la elección apropiada del material vegetal, los métodos de producción y precondicionamiento en vivero para obtener plántula que tolere adecuadamente el trasplante y las primeras fases de crecimiento tras él, y los protocolos de mantenimiento postrasplante para minimizar intervenciones y estrés sobre la planta (Iles, 2003).

En cuanto a la elección apropiada de material vegetal, en los últimos años se está dando un incremento en el uso de plantas autóctonas mediterráneas con fines ornamentales, debido a su capacidad de adaptarse a condiciones ambientales adversas y

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

a su menor consumo de agua, siendo capaces de sobrevivir durante largos períodos de tiempo con baja disponibilidad hídrica, una vez establecidas (Burés, 1993).

Salicornia spss., *Limonium spss.*, *Juncus spss.*, *Arthrocnemum spss.* etc., son especies frecuentes en los saladares de Almería. Estas especies se podrían utilizar tanto en el ajardinamiento de zonas urbanas y periurbanas, como en la restauración de espacios naturales con suelos salinos, ya que el crecimiento de otras especies ornamentales no es del todo adecuado. Algunas de estas especies ya se han utilizado con fines ornamentales con resultados satisfactorios como por ejemplo, *Juncus acutus*.

La respuesta germinativa de los halófitos en condiciones de estrés salino es muy variable entre especies. El conocimiento de dicha ecología germinativa es muy valioso para una correcta gestión de los saladares, ecosistemas que se hallan muy amenazados por la presión antrópica. (Herranz et al., 2004).

Una de las tendencias recientes en jardinería y paisajismo bajo condiciones semiáridas es el uso de diseños con muy bajos o nulos requerimientos de agua, para lo que es necesario utilizar plantas ornamentales adaptadas al déficit hídrico. Algunas administraciones (municipios, confederaciones hidrográficas, etc.) restringen el uso del agua para proyectos de jardinería y paisajismo y ofrecen incentivos para su diseño basado en los anteriores criterios. No obstante, en algunas ocasiones siguen predominando esquemas con inadecuada elección de especies, con plantaciones excesivamente densas y con sobreirrigación de especies xerófitas, que conllevan problemas de consumo excesivo de agua, elevadas necesidades de poda, obstrucciones, etc. (Martínez-Sánchez et al., 2008).

Por ello el objetivo de este trabajo monográfico es el estudio de la influencia de la salinidad del suelo y la temperatura en la germinación y crecimiento de dos especies halófitas, *Salicornia ramosissima* y *Juncus maritimus*, capaces de germinar y crecer en condiciones salinas y a temperaturas excesivas. Por tanto el uso de estas especies en restauración y ajardinamiento de áreas salinas estaría justificado.



2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Restauración ecológica y ajardinamiento de áreas salinas.

El conocimiento de la influencia de los factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de las plantas, resulta de gran utilidad para poder afrontar con garantías de éxito la restauración y ajardinamiento de las áreas salinas (Lentz & Johson, 1998; Herranz *et al.*, 2004).

Las especies halófitas muestran tolerancia a la salinidad porque al tomar agua mantienen bajo el potencial osmótico a través de la acumulación de iones inorgánicos (Bradley & Morris, 1991). Las especies halófitas tienen la capacidad de mantener las semillas viables durante largos períodos de exposición a hipersalinidad, e iniciar la germinación cuando la salinidad disminuye (Chapman, 1960; Wei *et al.*, 2008; Woodel, 1985).

En ocasiones puede suceder que las condiciones óptimas de germinación y crecimiento en laboratorio no coincidan con los resultados experimentales realizados en el campo para el cultivo de la especie. Estas discrepancias son a menudo imputables a diferentes causas, que pueden depender de las variaciones de temperatura, el fotoperiodo o el sustrato, además de las precipitaciones o las condiciones de humedad relativa. Para poder determinar las condiciones ideales de germinación y crecimiento es imprescindible conocer la ecología y hábitat de cada especie, por lo que dicho conocimiento puede ser utilizado para inferir los factores y rangos necesarios para la germinación de un taxón.

El exceso de iones en el suelo tiene una consecuencia inmediata en la absorción y acumulación de los mismos por la planta, lo que conduce a un cambio apreciable de la homeostasis iónica-osmótica del vegetal y de su régimen hídrico. Estos cambios, provocados en el metabolismo de las plantas por acción del estrés salino, varían con las especies, variedades, circunstancias climáticas y nutrición de cultivos (Delgado, 1992).

Así mismo, es conocido que una de las etapas más críticas en el ciclo de vida de los halófitos es el periodo de germinación y establecimiento, siendo la respuesta germinativa en condiciones de estrés salino determinante para el éxito de muchas poblaciones de plantas características de saladares. Numerosos autores han puesto de manifiesto que la mayoría de especies halófitas germinan mejor en agua dulce que en agua salada y cuáles son los niveles de salinidad por encima de los límites de tolerancia de una especie que pueden retrasar la germinación o producir una completa inhibición de la misma, así como que las semillas de los halófitos pueden tolerar la exposición a soluciones hipersalinas durante un largo periodo de tiempo (Khan & Oaiser, 2006, Vicente *et al.*, 2007, Vicente *et al.*, 2009; De Pascale *et al.*, 2005).

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Para comprender la relación existente entre la dispersión de las semillas y el medio de germinación es fundamental predecir el éxito de recuperación de la vegetación tras los disturbios que puedan sufrir, la relativa abundancia de especies, y el potencial natural de colonización según el hábitat. Conocer la dispersión y la germinación es importante para el establecimiento de plantas, sobre todo las especies anuales y la colonización de poblaciones tanto anuales como perennes en zonas de perturbación o sitios de restauración y en particular en las marismas porque tienen un banco de semillas transitorio. Mediante el examen de múltiples factores que suceden después de la dispersión de las semillas, la salinidad y el éxito de la germinación, podemos considerar las condiciones y el medio ambiente para tener éxito en la restauración y hacer predicciones sobre la colonización natural de especies en áreas salinas (Elsey-Quirk *et al.*, 2009).

Las especies halófitas pueden utilizarse como cultivos potenciales que pueden ayudar a la recuperación de los ecosistemas de zonas intermareal y el desarrollo de zonas salinas (Song *et al.*, 2008).

Salicornia spss., *Limonium spss.*, *Juncus spss.*, etc., son especies frecuentes en los saladares de Almería. Estas especies se podrían utilizar tanto en el ajardinamiento de zonas urbanas y periurbanas o como en la restauración de espacios naturales con suelos salinos. En estos ambientes, el crecimiento de otras especies ornamentales está limitado. Puesto que los jardines halófilos están más y mejor adaptados ambientalmente a su hábitat, hace de ellos que sean más rentables económicamente.

2.2 Xerojardinería

El término xerojardinería es una adaptación del término anglosajón “xeriscape”, procedente del griego “xeros” (seco) y del inglés “landscape” (paisaje, jardín). Fue en Colorado (Estados Unidos) donde un grupo del Departamento de Aguas de Denver, tras las fuertes sequías ocurridas en el Oeste de Estados Unidos, establecieron un programa de conservación de agua en jardinería, y acuñaron en 1981 el término “xeriscape” definiéndolo como “un espacio verde economizador de agua”.

Aunque el término xerojardinería es muy reciente, la utilización de especies vegetales con bajo consumo hídrico no es una nueva técnica. De hecho, la mayoría de nuestros jardines históricos, admirados por su belleza, tienen mucho de xerojardines: poseen una gran cantidad y variedad de árboles y arbustos y pocas praderas, y utilizan, en general, especies poco exigentes en cuanto a riego (López Lillo, 1993).

2.2.1 La xerojardinería en España

La situación climática de nuestro país, unido al exagerado consumo de agua, hace necesario que se desarrolle una nueva cultura del agua que minimice el consumo en cada uno de los sectores implicados (doméstico, agrario, industrial, etc.). Aunque el valor del consumo de agua en España para el riego de jardines y parques públicos está estimado en un 1.5 % del consumo total del agua, este porcentaje, no deja de ser importante; sobre todo si tenemos en cuenta que el 60 % de la superficie del territorio español es xerofítico (Kunkel, 1998).

En cuanto a la elección apropiada de material vegetal, en los últimos años se está dando un incremento en el uso de plantas autóctonas mediterráneas con fines ornamentales, debido a su capacidad de adaptarse a condiciones ambientales adversas y a su menor consumo de agua, siendo capaces de sobrevivir durante largos períodos de tiempo con baja disponibilidad hídrica, una vez establecidas (Burés, 1993).

2.2.2 Plantas autóctonas mediterráneas con valor ornamental

Planta autóctona es aquella especie, subespecie o variedad que crece de forma natural en una determinada región sin intervención del hombre. Son, por tanto, aquellas propias de cada lugar, que, lógicamente, fueron las primeras utilizadas en los comienzos de la jardinería. Se distinguen de ellas las plantas exóticas que son aquellas procedentes de otros lugares.

Se puede hablar de plantas autóctonas mediterráneas como una serie de especies vegetales que, aunque provenientes de zonas geográficas diversas, sus características vegetativas les han permitido desenvolverse bien en nuestras zonas, estando su cultivo ampliamente difundido en las provincias bañadas por el Mediterráneo.

Las “plantas mediterráneas” son consideradas como plantas más tolerantes a plagas y enfermedades, estando especialmente adaptadas a condiciones de veranos secos y en ciertos casos a salinidad, un problema común en la Región Mediterránea (Caballero & Cid, 1993). Las estrictas condiciones de la Región Mediterránea, como veranos cálidos e inviernos templados, una irregular distribución de las precipitaciones, unido a fuertes degradaciones edáficas provocadas por causas naturales o antrópicas, que generan problemas de erosión y pérdidas de suelo, hacen que una adecuada elección de las especies autóctonas para revegetación sea de primordial interés (Naveh, 1987).

Las plantas autóctonas pueden contener genes que les transfieren resistencia a plagas y enfermedades, además de mantener la biodiversidad y potenciar su utilización al estar mejor adaptadas al medio (Tutin, 1968).

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Se puede decir, por tanto, que hablar de jardinería autóctona mediterránea equivale, frecuentemente, a hablar de xerojardinería, es decir, jardinería de bajo consumo de agua, lo que a su vez implica el uso de plantas adaptadas a las condiciones climáticas mediterráneas.

Las principales ventajas que presenta el uso de plantas autóctonas mediterráneas son:

- Son plantas propias de la zona, adaptadas al régimen hídrico, temperatura y suelos del lugar.
- Son las más apropiadas para restaurar paisajes degradados por impactos ambientales.
- Las plantas del clima mediterráneo, mayoritariamente siempre verdes, proporcionan interés y cobertura todo el año.
- Los climas mediterráneos favorecen a una gama de plantas extraordinariamente amplia con un creciente incremento de especies nuevas y bien adaptadas a sus condiciones.
- La vegetación autóctona del clima mediterráneo es básicamente rústica, resultando de una manipulación admirablemente baja.
- Las plantas autóctonas se adaptan bien a condiciones adversas y se autorregulan después de ser plantadas.

En los últimos años, el uso de planta autóctona en jardinería privada y pública va en aumento. En jardinería pública, su uso en remodelación y construcción de nuevos jardines presenta ciertos obstáculos que deben ser superados; como el desconocimiento de las técnicas de cultivo, adaptación a otros cultivos artificiales, poca variedad de plantas, etc. (López & Medina, 2000). Del mismo modo, en jardinería privada también se detecta un mayor interés por la planta autóctona, a veces por la facilidad de mantenimiento, y otras por un intento de aproximación a la naturaleza.

Entre las especies más utilizadas en la actualidad encontramos el grupo de las labiadas, con especies como *Lavandula dentata*, *Lavandula stoechas*, *Salvia officinalis* y *Rosmarinus officinalis*, junto a otras como el lentisco, la adelfa (*Nerium oleander*), o el acebuche (*Olea europea* var. *sylvestris*). Sin embargo, existe un elevado número de especies silvestres, con un enorme potencial ornamental, usadas escasamente o que no han sido empleadas nunca en jardinería autóctona como: *Coronilla juncea*, *Salicornia ramosissima*, *Juncus maritimus*, *Lotus creticus*, *Osyris quadripartita*, *Phragmites australis*, etc.

2.3 Germinación y crecimiento de la semilla.

2.3.1 Germinación

La germinación es el proceso que se inicia con la toma de agua por parte de la semilla seca (imbibición) y termina cuando una parte de ésta (eje embrionario en dicotiledóneas o radícula en monocotiledóneas y gimnospermas) se extiende y atraviesa (emergencia) las estructuras que la rodean. En el caso de semillas endospermicas, la resistencia que oponen los tejidos envolventes del embrión (testa y endospermo) es tan importante que para que se produzca la emergencia se requiere la degradación enzimática de ciertas zonas envolventes (Azcon-Bieto & Talón, 2008).

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 morfogénéticos conocidos como germinación. En éste proceso una semilla en dormición o latencia recupera su actividad y origina una nueva planta (Azcón-Bieto & 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; Díaz de la Guardia, 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.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Se distinguen en el proceso de la germinación dos 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.

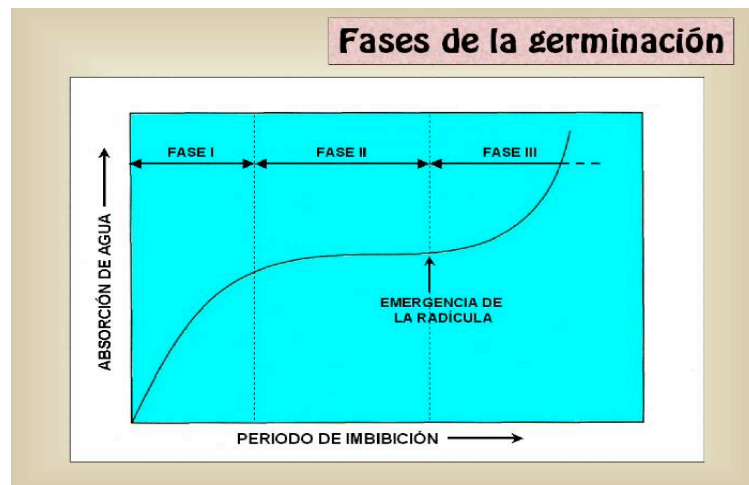


Figura 1. Esquema de las fases de la imbibición de agua por una semilla, medida mediante el incremento en peso fresco durante el proceso de germinación (Azcón-Bieto & Talón, 2008).

2.3.2 Crecimiento

El crecimiento se define como la acción y el efecto de hacerse mayor un organismo o una parte orgánica del mismo aumentando el volumen de la célula o las células que lo constituyen y/o el número de las mismas (Font Quer, 2001).

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 & Martínez-Laborde, 1994; Hopkins, 2004)

2.4 Factores ambientales que afectan en la germinación y crecimiento de las semillas

A continuación se especifican los principales factores ambientales que determinan el inicio del proceso de germinación y de crecimiento, e influyen en sus fases sucesivas.

2.4.1 Salinidad y temperatura

La salinidad del suelo es el principal problema de las zonas áridas que conduce a la desertificación de la tierra. La calidad del suelo se reduce, limita el crecimiento de los cultivos, limita las producciones agrícolas que conducen al abandono de suelos agrícolas, también supone un riesgo ambiental importante al empeorar la calidad del agua y disminuir la vida silvestre (Amezketta, 2006). A lo largo de los últimos años estamos asistiendo a un incremento de la salinidad de los suelos y de la temperatura en el conjunto de la Península Ibérica, y especialmente en el sureste ibérico (Caro-Fernández, 1969). En España sobre el 3% de 3,5 millones de hectáreas son tierras de regadío que están afectadas y un 15 % se encuentran gravemente afectadas por la sal (European Commission, 2002; Amezketta, 2006). Las causas que originan la acumulación de las sales en el suelo son diversas, por lo que según sea el proceso seguido y las transformaciones posteriores experimentadas, el suelo salino originado tendrá unas características peculiares, tanto en su composición química como en sus propiedades físicas (Caro-Fernández, 1969).

El cultivo de invernaderos en España, siendo Almería la provincia con mayor superficie de cultivo intensivo bajo plástico, tiene como consecuencia la utilización de grandes aportes de agua (en la mayoría de los casos salina) y fertilizantes en los cultivos y al cultivar reiteradamente en la misma zona con el mismo manejo puede dar lugar a salinizar gradualmente el suelo. Este proceso de salinización se agrava en regiones áridas y semiáridas debido a que la mayoría de aguas que se utilizan para el riego presentan contenidos elevados de sales solubles (Fernández *et al.*, 1981). La salinidad primaria o natural del suelo se produce en aquellas zonas donde la roca madre es rica en sales y la tasa de evapotranspiración es mayor con respecto a las tasas de precipitaciones sobre todo en zonas áridas y semiáridas (Amezketta, 2006).

La gran diversidad de especies vegetales que soportan condiciones de estrés salino hace que existan numerosos estudios que analizan las implicaciones de la salinidad sobre el crecimiento y desarrollo de las especies vegetales (Navidoo, 1994; Shannon & Grieve., 1999; Khan *et al.*, 2000; Zhu, 2001; Redondo-Gómez *et al.*, 2004; Vicente *et al.*, 2004; Khan & Oaiser, 2006, De Pascale *et al.*, 2005; Vicente *et al.*, 2007; Martínez-Rodríguez *et al.*, 2008; Song *et al.*, 2008; Al-Sherif, 2009; Elsey-Quirk *et al.*, 2009; Guma *et al.*, 2009; Nedjimi, 2009; Pangua *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2010).

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Muchos estudios están dedicados a determinar las condiciones óptimas de germinación para cada especie pudiendo facilitar la gestión de su crecimiento en zonas de suelos salinos (Greenwood & MacFarlane, 2006). La germinación de las especies que crecen en estas zonas está influenciada por la combinación de la salinidad, temperatura y luz, permitiendo a las plantas responder a las variaciones estacionales según las condiciones exteriores (Ekstam *et al.*, 1999; Khan *et al.*, 2000; Kellog *et al.*, 2003; Greenwood & MacFarlane, 2006).

La mayoría de los estudios que se realizan para determinar los efectos de la salinidad llegan a un mismo término, la salinidad provoca una disminución en el crecimiento de la planta, de la raíz, de las hojas provocando también una reducción de su transpiración y de la fotosíntesis (Khan *et al.*, 2000; Zhu, 2001; Redondo-Gómez *et al.*, 2004; Vicente *et al.*, 2004; Vicente *et al.*, 2007; Song *et al.*, 2008; Guma *et al.*, 2009; Pangua *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2010). Además la salinidad del suelo se ha considerado tradicionalmente como uno de los factores físicos más importantes en la zonación de plantas de los saladares (Egan & Ungar, 2000; Vicente *et al.*, 2007)

La temperatura debe ser compatible con las exigencias de la especie, actuando sobre la velocidad de las reacciones bioquímicas y también sobre la velocidad de germinación. Una temperatura inadecuada puede también inducir dormición secundaria.

Las exigencias térmicas son variables dependientes de la especie, su origen geográfico y proveniencia: algunas especies pueden preferir o requerir temperaturas muy bajas. Analizar la germinación a temperatura constante o bien con régimen alternado puede ofrecer resultados diferentes, tanto en el número total de semillas germinadas como en la velocidad del proceso. La ampliación del intervalo de la temperatura óptima puede variar con la especie y con el grado de dormición de las semillas. Se define como temperatura óptima aquella en que el porcentaje máximo de germinación es obtenido en el menor espacio de tiempo. Como regla general, para las especies mediterráneas, la temperatura óptima se sitúa entre 15 °C y 20 °C (Thanos *et al.*, 1989) mientras que las especies árticas necesitan temperaturas más bajas para germinar (Baskin & Baskin, 1998).

2.4.1.1 Efecto de la salinidad y la temperatura en la germinación

La germinación es el proceso que se inicia con la toma de agua por la semilla seca (imbibición) y termina cuando una parte de ésta (eje embrionario en dicotiledóneas o radícula en monocotiledóneas y gimnospermas) atraviesa las estructuras envolventes que la rodean (emergencia) (Azcón-Bieto & Talón, 2008).

Font Quer (2001) define la germinación en los espermatófitos, como el fenómeno en el que embrión contenido en la semilla recobra su actividad vital, amortiguada durante más o menos tiempo. La absorción del agua y una temperatura

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

adecuada la provocan. El embrión y el tejido de nutrición embeben el agua y se hinchan; actúan las enzimas y movilizan las reservas; la plúmula despierta de nueva a la vida y reviven los meristemos.

La síntesis de proteína y la actividad respiratoria se ve involucrada inicialmente por los componentes almacenados en la semilla, a pesar de la transcripción y la traducción que comienza en la fase inicial de la imbibición, como lo demuestran los análisis. Aumenta o modifica a las hormonas, especialmente a las giberelinas (GA) que desempeñan un papel importante en la fase final de la germinación de las semillas. La eliminación o desactivación de la fitohormona ácido abscísico (ABA) es importante debido a las interacciones entre esta y la GA tienen un papel regulador. (Azcón-Bieto & Talón, 2008; Nonogaki *et al.*, 2010).

La salinidad junto con el fuego, las heladas y la sequía son uno de los factores de estrés más estudiados (Álvarez-Rogel *et al.*, 2000; Egan & Ungar, 2000; Khan *et al.*, 2000; Zhu, 2001; Redondo-Gómez *et al.*, 2004; Vicente *et al.*, 2004; Álvarez-Rogel *et al.*, 2006B; Vicente *et al.*, 2007; Song *et al.*, 2008; Guma *et al.*, 2009; Pangua *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2010). En la germinación de la semilla varios son los factores que influyen como el agua, la temperatura, la luz y la salinidad, que interactúan en el interfaz del suelo (Khan *et al.*, 2000).

Las semillas de zonas salinas están influenciadas por la salinidad durante el momento de dispersión y la fase de germinación. Para la mayoría de especies anuales salinas la germinación de las semillas está más afectada por la salinidad que por la temperatura, el fotoperiodo y la humedad del suelo (Noe & Zedler, 2000; Elsey-Quirk *et al.*, 2009).

La salinidad puede reducir o retrasar la germinación de las semillas. Una alta concentración de sales en el suelo impide la germinación, y las semillas sólo germinan cuando las condiciones de temperatura y edáficas son favorables (Song *et al.*, 2008). El efecto inhibitor provocado por el estrés del cloruro sódico (NaCl) en la germinación se debe a un efecto osmótico y/o toxicidad de los iones presentes en el suelo (Tobe *et al.*, 2004). En entornos salinos, la germinación de las semillas ocurre durante los períodos lluviosos, es decir, cuando la salinidad disminuye significativamente. Por lo tanto las interacciones entre dormancia, salinidad y régimen de inundación puede influenciar en la germinación de las semillas que se encuentran en zonas salinas (Elsey-Quirk *et al.*, 2009).

Estudios experimentados por numerosos autores (Álvarez-Rogel *et al.*, 2000, 2006A; Egan & Ungar, 2000; Guma *et al.*, 2009; Khan *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2010; Pangua *et al.*, 2009; Redondo-Gómez *et al.*, 2004; Song *et al.*, 2008; Vicente *et al.*, 2004, 2007; Zhu, 2001) informan que las semillas de las especies halófitas tienen su

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

óptimo de germinación cuando se reduce el estrés salino. En la germinación de especies halófitas, en condiciones hipersalinas, se toleran concentraciones salinas de 200 Mm de cloruro sódico (NaCl) hasta de 1720 Mm NaCl. Esto ocurren en la germinación de *Salicornia bigelovii*, *Salicornia europea*, *Salicornia stricta*, *Cressa cretica*, *Suaeda moquinii* y *Arthrocnemum indicum*,. la semilla de *Salicornia ramosissima* podría ser clasificada como la más tolerante a la salinidad durante la germinación (Khan *et al.*, 2000).

Las semillas de las especies halófitas tienen la capacidad de mantener la viabilidad de la germinación durante largos periodos de tiempo cuando estas están expuestas a condiciones hipersalinas. La germinación de las especies halófitas comienza cuando se reduce el estrés salino (Gull & Weber, 1999; Khan *et al.*, 2000). Sin embargo, la capacidad de recuperación germinativa difiere de unas especies halófitas a otras después de estar sometidas a estrés salino. Esta variación en la respuesta de la recuperación puede ser debido a la diferencia en el régimen de la temperatura a la que se exponen las semillas, como es el caso de las siguientes especies *Arthrocnemum indicum*, *Haloxylon recurvum*, *Suaeda fruticosa*, *Zygophyllum simplex* y *Triglochin marítima* (Khan *et al.*, 2000).

La salinidad no es el único factor ambiental crítico en la germinación de las especies halófitas también tiene una gran importancia el rango de temperatura óptimo para que puedan germinar las semillas. En el caso de *Salicornia ramosissima* su germinación se ve afectada por cambios en la temperatura. Las semillas retrasan su germinación a baja temperatura pero incrementando la temperatura las semillas aumenta la germinación de forma importante. Estas semillas germinan más rápido con altas temperaturas siendo la germinación máxima ya sea en condiciones salinas o no salinas. *Salicornia rubra* es capaz de germinar a 860 mM de cloruro sódico (NaCl) a una temperatura constante 15 °C. También en el desierto de la Gran Cuenca germinaban a mayor temperatura especies como *Salicornia pacifica* var. *utabensis*, *Allenrolfea occidentalis*, *Triglochin marítima* y *Suaeda moquinii*. Sin embargo, especies halófitas de desiertos marítimos subtropicales de Pakistán germinan mejor a bajas temperaturas como *Haloxylon recurvum*, *Zygophyllum simplex*, *Suaeda fruticosa* y *Arthrocnemum macrostachyum* (Khan *et al.*, 2000).

2.4.1.2 Efecto de la salinidad y la temperatura en el crecimiento

El crecimiento se define como la acción y el efecto de hacerse mayor un organismo o una parte orgánica del mismo aumentando el volumen de la célula o las células que lo constituyen y/o el número de las mismas (Font Quer, 2001).

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

La tolerancia a la sal está regulada evolutivamente, y las respuestas al estrés salino pueden ser muy distinta en las diferentes etapas del desarrollo de la planta (Vicente *et al.*, 2004).

Una planta crece, cuando observamos que desde el comienzo de la germinación de la planta hasta la última fase de crecimiento, cuando se encuentra en estado adulto. La planta sufre una serie de cambios, diferenciación celular hasta llegar a la etapa adulta estableciéndose el proceso de diferenciación. El crecimiento de las plántulas de las especies halófitas se reduce con el incremento de la concentración salina (Azcón-Bieto & Talón, 2008).

En las especies halófitas, se han realizado muchos estudios sobre el efecto de la salinidad en el crecimiento de las plantas. Por ejemplo, *Phragmites australis* reduce su crecimiento cuando aumenta la salinidad por encima de un cierto límite de tolerancia cifrado en 15 ‰ y a un 20 ‰ de sal las especies sufrían una mortandad significativa ya que probablemente sería el tamaño de la planta demasiado pequeña para poder sobrevivir en el campo. Una exposición de 25 ‰ interrumpe totalmente el crecimiento de *Phragmites australis*. La biomasa de la planta disminuye con relación al incremento de la salinidad, esto puede ser debido a un efecto directo de la sal en las partes subterráneas o un efecto del tamaño de la planta ya que según este tolerara más o menos la salinidad (Mauchamp & Mesleard, 2001).

La salinidad afecta al crecimiento de las plantas por las interferencias que ocurren en la absorción y translocación de nutrientes, de elementos esenciales para la alimentación, del exceso de iones específicos, de la alteración en la distribución de biomasa y de la acumulación de prolina como se vio en el estudio realizado a *Triglochin bulbosa* (Navidoo, 1994).

La temperatura es otro factor importante a estudiar que puede ayudar al crecimiento o ralentizarlo según las temperaturas alcanzadas. En zonas árida y semiáridas, como Almería, las temperaturas son suaves durante todo el año excepto los meses de verano desde finales de mayo principios de junio hasta septiembre dependiendo del año. Las temperaturas extremas causan el agotamiento del agua contenido en las células (Vicente *et al.*, 2004).

2.4.2 Humedad

Las necesidades de agua son variables de una especie a otra. Para cada especie es necesaria una determinada cantidad de agua que no debe ser superada o de lo contrario la germinación será inhibida. De hecho, en este caso el embrión entraría en condiciones de anoxia. En algunas especies, la germinación puede ser activada apenas por la humedad ambiental mientras que en otras especies, la germinación tiene lugar únicamente en el caso de que estén completamente inmersas en agua. De igual modo, si

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

los tegumentos son impermeables al agua, la germinación no tendrá lugar hasta que esta impermeabilidad desaparezca. La disponibilidad de agua permite la activación del metabolismo que movilizara las sustancias del endospermo como fuente de energía hasta que la plántula tenga capacidad fotosintética.

La rehidratación de las semillas rompe los tegumentos con el fin de permitir el crecimiento de la radícula. En condiciones naturales, el agua del suelo no puede ser utilizada en su totalidad; en función de la naturaleza del suelo, el agua está más o menos retenida por los coloides. Un aumento de la presión osmótica del suelo obstaculiza considerablemente la germinación (por ejemplo, la incorporación de NaCl en el agua de imbibición puede ralentizar considerablemente la capacidad germinativa de una especie). Por esta razón, durante el desarrollo de un ensayo de germinación en laboratorio, el empleo de agua destilada o desmineralizada permite obtener condiciones reproducibles.

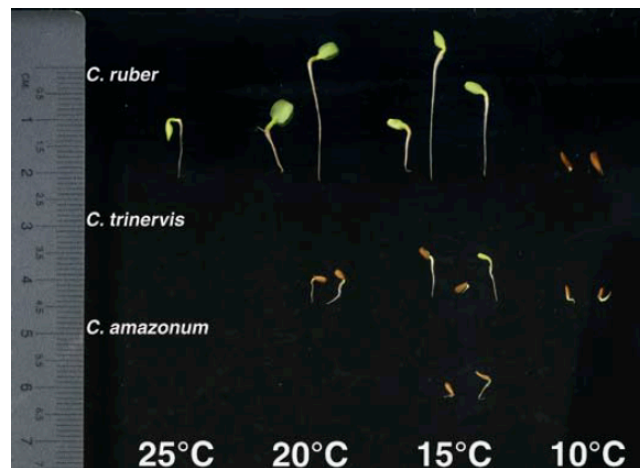


Figura 2. Vigor germinativo de 3 especies de *Centranthus* a diferentes temperaturas.

2.4.3 Oxígeno

La disponibilidad de oxígeno es imprescindible para poder germinar aunque la cantidad necesaria del mismo es variable dependiendo de la especie. En general las especies acuáticas requieren concentraciones de oxígeno menores que las especies terrestres. Este gas es muy poco soluble en agua, con una solubilidad inversamente proporcional a la temperatura. Se trata de uno de los parámetros más difíciles de controlar en el laboratorio de un banco de germoplasma, requiriendo instrumentos específicos, generalmente muy costosos. No obstante, en condiciones normales de laboratorio no parece que este factor resulte crítico, en relación con los ensayos de germinación, aunque es necesario tener en cuenta que pueden existir medidas más adecuadas de oxígeno para la germinación, referidas siempre al oxígeno disuelto en el agua de imbibición, ya que es el único utilizado por el embrión para sus necesidades metabólicas.

2.4.4 Luz

La luz favorece la germinación de la mayor parte de las semillas, definidas en este caso como de “fotosensibilidad positiva”. Otras semillas germinan únicamente en oscuridad (ej. *Cyclamen*), por lo que son denominadas de “fotosensibilidad negativa”. Por último, existen otras semillas que resultan ser indiferentes a la luz. La duración de la disponibilidad de luz (fotoperiodo) y principalmente el tipo de luz son dos factores importantes en la germinación de las semillas. El mecanismo de fotosensibilidad fue objeto de numerosos estudios en la década de los 50, que llevaron al descubrimiento de un sistema fotorreceptor: el fitocromo (Bortwick *et al.*, 1954; Bortwick & Hendricks, 1960). Dicho sistema está constituido por un pigmento localizado en el embrión capaz de adoptar dos estructuras moleculares en función del tipo de luz que recibe. La estimulación con luz roja (660 nm) lo lleva a adoptar la forma inactiva del fitocromo que estimula la germinación, mientras que la luz del rojo lejano (730 nm) lo pasa a la forma activa inhibiendo la germinación. La estimulación del fitocromo debe ser siempre realizada con las semillas hidratadas ya que con las semillas secas el pigmento se encuentra en su forma activa. La fotosensibilidad puede apreciarse empleando luz blanca sobre las semillas intactas y frescas. Esta fotosensibilidad puede desaparecer después de la conservación en seco y en el momento en que los embriones son aislados de los tegumentos, de lo cual derivaría que tal sensibilidad proviene de los mismos tegumentos (Come, 1970). La influencia de la luz sobre la germinación de numerosas especies mediterráneas ha sido estudiada también por Thanos *et al.* (1994,1991) y Thanos & Doussi (1995).

2.4.5 Enriquecimiento del aire con CO₂

El empleo de una atmósfera enriquecida en CO₂ durante la producción en vivero se presenta como una técnica prometedora para incrementar la productividad y obtener plántulas con valores bajos de la relación parte aérea: sistema radical, que sean capaces de tolerar adecuadamente las condiciones estresantes del trasplante en ecosistemas mediterráneos, en general, y en actuaciones de xerojardinería y paisajismo, en particular.

2.5 Impedimentos para la germinación: dormición

Después de haber alcanzado la madurez morfológica, las semillas no sensibles a la deshidratación (ortodoxas), así como también algunas recalcitrantes de clima templado, se encuentran en un estado de vida latente; para el retorno a la vida activa, y que las semillas alcancen la madurez fisiológica, es necesario que las condiciones externas sean favorables. En muchos casos no existe dormición, cuando la madurez morfológica y la madurez fisiológica aparecen al mismo tiempo. La dormición se define

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

como un estado en el cual una semilla viable no germina cuando se la coloca en condiciones consideradas idóneas para la germinación.

Numerosos autores han definido los diferentes tipos de dormición. Trabajos exhaustivos sobre el tema se deben a Côme (1970), Côme & Corbineau (1992) y a Baskin & Baskin (1998). Respecto a la clasificación de los diversos tipos de dormición, si bien por simplicidad en general se utiliza la clasificación de Nikolaeva (1969) actualmente parece más acertada la nueva propuesta de Baskin & Baskin (2004). En la clasificación de Nikolaeva (1969) se individualizan dos grandes grupos de dormición: de tipo endógeno y exógeno. En el primer caso, la ausencia de germinación está provocada únicamente por el embrión, mientras que en el segundo participan algunas estructuras relacionadas (endocarpos leñosos, tegumentos seminales, endospermo, etc.). Cuando la causa de la ausencia de germinación reside en los tegumentos, se habla también de inhibición tegumentaria (Côme, 1970).

Pueden darse, además, diferentes combinaciones de dormición endógena. Las causas específicas que impiden la germinación en el ámbito de la dormición endógena o exógena, y las condiciones para romperlas. Si existen varias causas que provocan dormición (combinaciones de dormición), será necesario entonces realizar un pretratamiento específico para cada una de ellas.

El hecho de que algunos embriones con supuesta dormición endógena (ej. ligera o intermedia) puedan germinar fácilmente y desarrollar plántulas normales cuestiona el hecho de que este tipo de dormición sea de tipo endógeno (provocadas por el embrión) según la clasificación de Nikolaeva. Por este motivo Baskin & Baskin (2003) desarrollaron un sistema de clasificación basado en 5 tipos generales de dormición:

- a) Fisiológica. Desarrollo reducido del embrión, que no consigue rebasar el impedimento mecánico de las cubiertas de la semilla (o del fruto).
- b) Morfológica. Embrión pequeño diferenciado (pero poco desarrollado) o no diferenciado. En este caso el periodo de dormición corresponde al tiempo que el embrión necesita para crecer.
- c) Morfofisiológica. Combinación de un embrión no desarrollado (o indiferenciado) y fisiológicamente durmiente.
- d) Física. La cubierta de la semilla (o fruto) posee una capa impermeable que no permite la absorción de agua.
- e) Combinatoria (física + fisiológica). Semilla impermeable con embrión fisiológicamente durmiente.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Independientemente del sistema de clasificación de la dormición, algunas semillas poseen sistemas de germinación complejos, los cuales implican muchas veces una combinación de los diversos tipos de dormición. Si durante el ensayo de germinación, o después de la siembra, las semillas no durmientes (ya expuestas a un pretratamiento de eliminación de la dormición) son expuestas a condiciones ambientales desfavorables (alta temperatura, anoxia, exceso de agua, etc.), pueden activarse mecanismos fisiológicos de bloqueo de la germinación (Côme & Corbineau, 1992). El resultado de esto son las llamadas “dormiciones inducidas o secundarias”, denominadas así para diferenciarlas de la “dormición primaria” (la que está presente en el momento de la diseminación).

Las semillas sujetas a dormición secundaria prefieren con frecuencia ciclos de temperatura fuertemente variables para germinar, como sucede al final del invierno / inicio de la primavera (noches frías y días calurosos). En estos casos, las siembras tardías que encuentran el terreno demasiado “caliente” pueden provocar dormición secundaria y, por lo tanto, anular la germinación.

2.6 Consejos prácticos para la germinación

Los laboratorios de bancos de germoplasma no siempre están dotados de los instrumentos y el material técnico necesario para realizar ensayos de germinación completos, que lleven a conclusiones rápidas y eficaces sobre las características germinativas de una determinada especie. Resulta por lo tanto muy importante anotar las condiciones verificadas o cualquier otro tipo de observación, con el fin de definir y mejorar los protocolos con los medios disponibles. Algunas combinaciones de temperatura/luz, temperatura/agua, etc., pueden permitir simplificar el trabajo, si bien podrían ser difícilmente reproducibles en otro laboratorio que no disponga del mismo equipamiento. Es necesario recordar que el agua, la temperatura y la luz juegan un papel específico en cada especie, y que las combinaciones de estos factores, si no son controladas con atención, pueden complicar la interpretación de los resultados de un determinado ensayo de germinación. A continuación se ofrecen algunas recomendaciones generales utilizadas en la *Banque de Semences del Conservatoire Botanique National Méditerranéen de Porquerolles*, presentándose como sugerencias prácticas en los casos en que se opere con limitaciones de instrumental o equipamiento necesario para el estudio de la germinación.

2.6.1 Humedad

La calidad del agua debe ser la mejor posible, por tanto se recomienda el empleo de agua destilada o producida por ósmosis. Si el laboratorio no dispone de los medios adecuados para esta labor, se puede utilizar agua mineral de mineralización débil disponible en comercios; este tipo es preferible al agua de fuente o de grifo, cuyas

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

características pueden variar en el tiempo. Si se utiliza agua mineral, es necesario anotar en la ficha de germinación la marca comercial del agua utilizada. La botella de agua, una vez abierta, debe conservarse a +5 °C y consumirse lo antes posible.

Los laboratorios deben valorar la conveniencia de adquirir agua o bien de emplear un destilador o un equipo de tratamiento de agua mediante ósmosis. Debe evitarse el uso de purificadores domésticos, ya que aún eliminando el contenido en cal, los nitratos y los metales pesados presentes en el agua corriente dejan sales de sodio que pueden resultar negativos para la germinación de algunas especies. La cantidad de agua utilizada para embeber el papel de filtro durante el ensayo de germinación debe ser controlada durante las primeras 48 horas, y repuesta regularmente evitando la desecación de las semillas.

2.6.2 Temperatura

En condiciones ideales, el laboratorio de un banco de germoplasma debería disponer de una batería de cámaras de incubación de temperatura constante y/o alterna con iluminación controlada, y/o una cama caliente. Ni siquiera este equipamiento está siempre disponible en estos centros. Desde un punto de vista técnico y económico, un incubador con temperatura constante es más sencillo de adquirir, permitiendo el desarrollo de pruebas fácilmente reproducibles por otros.

2.6.3 Luz

El tiempo de iluminación, los ciclos aplicados, la intensidad, la longitud de onda emitida, la marca comercial de la cámara de crecimiento, la vida media (en la mayor parte de los casos es un año) y la accesibilidad de la lámpara empleada son elementos importantes que es necesario valorar y anotar. Si se combina el parámetro luz con alternancia de temperatura, en ocasiones resulta difícil conseguir reproducir un protocolo de germinación fuera del propio laboratorio. Algunas veces la duración de la iluminación necesaria para inducir la germinación de ciertas plantas no supera los pocos minutos. Según los casos, las exigencias de germinación en cuanto a luz y oscuridad pueden ser anuladas gracias a la deshidratación, decorticación o escarificación de los tegumentos, la utilización de temperaturas más frías para semillas inhibidas por oscuridad o más calientes para semillas inhibidas por la luz. La particular influencia de la luz sobre las semillas explica por qué algunas de ellas, después de permanecer mucho tiempo quiescentes en el suelo, germinan inmediatamente después del paso del arado, al ser llevadas a la superficie. Las semillas fotosensibles a veces germinan mejor después de 6/12 meses de conservación en seco y al frío.

2.6.4 Hormonas

Si la aplicación de giberelinas es necesaria para la producción de plántulas, resulta adecuado recurrir a un método de cultivo apropiado, a menudo realizable sólo en condiciones ambientales controladas: iluminación de al menos 14/24 h y alternancia de temperaturas con un cambio muy pronunciado entre el periodo nocturno y diurno. Aún así, aplicando este método de cultivo no todas las plantas podrán mantenerse vivas. El empleo de giberelinas permite en muchos casos eliminar la dormición debida a la fotosensibilidad positiva de las semillas. La solución de giberelina producida en laboratorio se puede conservar en frío y en oscuridad, durante un periodo máximo de una semana, de otro modo se corre el riesgo de no obtener el efecto deseado.

2.6.5 Empleo de productos fitosanitarios

Algunos fungicidas empleados para evitar infecciones durante la germinación pueden inducir efectos o retardos en el crecimiento, al igual que otros pesticidas aún no testados pueden comportar defectos en el desarrollo, retraso en la floración, etc. Es por ello desaconsejable el empleo de fitosanitarios.

2.6.6 Sustrato

En condiciones de laboratorio, las semillas generalmente se colocan a germinar en placas de Petri sobre uno o dos discos de papel de filtro. Aun así, para determinadas especies es necesario colocar las semillas a germinar sobre agar, ya que el agua no es suficiente para su germinación. En algunas orquídeas cuya germinación está condicionada a la micorrización, resulta necesario disponer agar con la adición de hongos específicos. Semillas demasiado grandes o cuyo desarrollo de la radícula es demasiado sensible, pueden colocarse en rollos horizontales de papel de filtro. El uso de otro tipo de sustratos como arena o turba puede ser adecuado en algunos casos para ayudar a la germinación.

2.7 Biología de las semillas

2.7.1 Estructura de las semillas

Las semillas son unidades de diseminación y reproducción sexual de las plantas superiores, procedentes del desarrollo de los óvulos de sus flores. Están compuestas de uno o varios embriones, reservas nutritivas y una o varias capas protectoras originadas a partir de los tegumentos del óvulo, del ovario, de los tejidos, de otras partes de la flor e, incluso, de la inflorescencia.

Las semillas agamospérmicas, no son diferenciables de las semillas normales pero su constitución genética es muy distinta, pues sólo poseen los cromosomas de la planta madre (Besnier-Romero, 1989).

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

2. 7. 1. 1 La flor de las angiospermas

La flor completa o hermafrodita de las angiospermas consta de dos componentes principales: los órganos vegetativos, que son el receptáculo y las envolturas florales (cáliz y corola) y los órganos reproductivos, constituidos por los estambres con sus anteras llenas de granos de polen y el pistilo con sus óvulos dentro del ovario.

La morfología floral es muy variada y en numerosas familias las flores presentan transformaciones que afectan tanto a las envolturas florales como a los órganos sexuales.

- Estructura del óvulo

La semilla procede del desarrollo del óvulo y el origen de sus distintas partes puede remontarse hasta las distintas partes y tejidos del óvulo de la flor. Un óvulo típico se encuentra encerrado en el ovario y unido a él por el funículo, que está atravesado por los haces vasculares que comunican el óvulo con el resto de la planta.

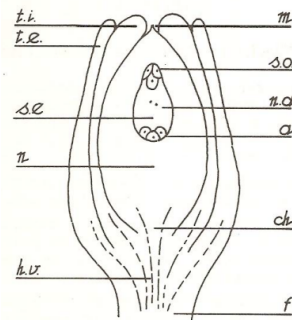


Figura 3. Esquema de un óvulo ortótropo. a) antípodas; ch) cálaza; f) funículo; hv) haces vasculares; m) micropilo; n) nucela; nd) núcleo diploide; se) saco embrionario; s. o.) sinérgidas y oosfera; te) tegumento externo; ti) tegumento interno (Besnier-Romero, 1989).

El funículo se ensancha en la cálaza (chalaza) sobre la que reposa el saco embrionario, que contiene el gameto femenino; de la cálaza parten la nucela, que rodea totalmente al saco embrionario y los tegumentos (uno o dos) que lo protegen pero que dejan en su extremo una abertura, el micropilo, por donde penetrará posteriormente el tubo polínico.

El saco embrionario puede tener varias configuraciones. La más corriente es tipo *Polygonum* en su centro se encuentra el núcleo diploide (núcleos polares); la oosfera o gameto femenino está situada, con las dos células sinérgidas, junto al micropilo.

En el extremo del saco embrionario próximo a la cálaza hay tres o más células antípodas.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

2. 7. 2 Estructura básica de las semillas de las angiospermas

La estructura básica de la semilla de las angiospermas consta de cuatro componentes:

- El embrión, procede del cigoto formado por la unión de la oosfera con una de las células generativas del tubo polínico; normalmente, el embrión es diploide y existe siempre en las semillas viables.
- El endospermo, procede de la unión de los núcleos polares con la segunda célula generativa del tubo polínico. El endospermo es triploide o poliploide; puede formar la mayor parte de las reservas nutritivas, quedar reducido a una sola capa de células o ser reabsorbido.
- El perispermo, procede del desarrollo de la nucela; es diploide y tiene la misma constitución genética que la planta madre. Generalmente el perispermo queda reducido o es reabsorbido poco después de iniciar su desarrollo pero en algunas especies es anatómicamente identificable y, en otras, forma la principal reserva de sustancias nutritivas.
- Las cubiertas, que constan de dos partes bien diferenciadas: una es la testa, que procede del desarrollo de los tegumentos del óvulo y que salvo raros casos existe siempre, siendo diploide y de origen materno; la otra parte está constituida por las cubiertas exteriores, que proceden de orígenes muy diversos y que faltan en las semillas que lo son en pleno sentido botánico.

2. 7. 2. 1 El embrión

El embrión es una planta en miniatura. Consiste en el eje embrionario y los cotiledones, cuya inserción divide en dos partes al eje embrionario. La parte superior, o epicótilo, se compone de un corto tallito, el tallo epicotíleo, y de la plúmula, formada por el primer par de hojas verdaderas que rodea y protege al ápice vegetativo, a veces se denomina plúmula a todo el epicótilo.

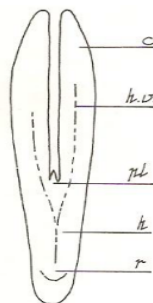


Figura 4. Esquema de un embrión de dicotiledónea. c) cotiledones; h) hipocótilo; hv) haces vasculares; pl) plúmula; r) radícula (Besnier-Romero, 1989).

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

En semillas grandes tanto el tallo epicotíleo como la plúmula tienen un tamaño y una diferenciación apreciables a simple vista, pero en muchas semillas pequeñas el epicótilo se compone de un minúsculo ápice vegetativo con rudimentos de hojas que sólo son distinguibles al microscopio.

La parte inferior del eje embrionario, o eje hipocotíleo, se compone de otras dos partes: el hipocótilo o tallo hipocotíleo y la radícula. Normalmente es muy difícil distinguir estas dos partes pues la diferenciación vascular, que lo permitiría, no comienza hasta después de iniciada la germinación. El hipocótilo tiene geotropismo negativo y la radícula lo tiene positivo.

En las semillas hipogeas, en las que los cotiledones permanecen bajo el suelo durante la germinación y la nascencia, el hipocótilo no se diferencia ni crece y es, prácticamente, inexistente. Por el contrario, en las semillas epigeas el hipocótilo crece rápidamente, arrastrando consigo a los cotiledones y sacándolos a la superficie. La separación entre hipocótilo y radícula se establece entonces, claramente, por el sentido de su crecimiento.

2. 7. 2. 2 Endospermo y perispermo

El endospermo (albumen) acumula la mayor parte de las reservas nutritivas en casi todos los casos en los que los cotiledones no lo hacen. Procede del saco embrionario, donde está inmerso el cigoto, el endospermo rodea casi totalmente al embrión. La semilla con endospermo plenamente desarrollado se compone de dos partes bien diferenciadas: la capa de aleurona y el endospermo harinoso.

La capa de aleurona está formada por células vivas y rodea totalmente al resto del endospermo y al embrión. En las partes surco ventral y de la base del grano los restos del endospermo se desvanecen y también lo hace la capa de aleurona. Esta capa consta de dos a cuatro filas de células, las cuales quedan reducidas a una sola fila de células pequeñas y aplastadas en la zona situada sobre el embrión. Estas células están vivas en todas las semillas donde existen.

El endospermo harinoso consta de una zona central, que ocupa la mayor parte, formada por células parenquimatosas de paredes delgadas, llenas de granos de almidón embebidos en una matriz proteica. Hay también una zona, situada inmediatamente debajo de la capa de aleurona, que tiene células más pequeñas, pero más ricas en proteínas. Finalmente, la zona situada junto al escutelo consta de una capa de células aplastadas, sin contenido celular. Todas las células del endospermo harinoso están muertas en los granos maduros.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

2.7.2.3 Testa

La testa procede del desarrollo de los tegumentos del óvulo y constituye la protección exterior de las semillas, aunque existen casos (*Crinum*) en que la testa ha desaparecido y la cubierta exterior está formada por las capas periféricas del endospermo. La testa es siempre reconocible, salvo en las carióspsides donde el pericarpo está soldado a la testa, posee unas características anatómicas y morfológicas constantes que son útiles a fines de clasificación e identificación.

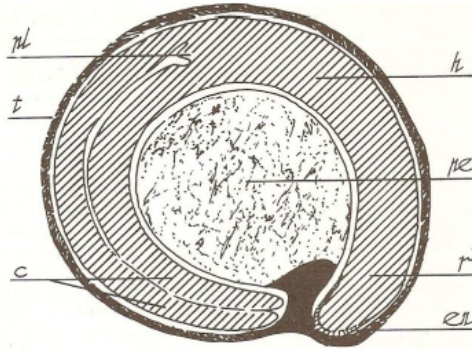


Figura 5. Sección de una semilla de remolocha. c) cotiledones; en) restos de endospermo; h) hipocótilo; pe) perispermo; pl) plúmula; r) radícula; t) testa (Besnier-Romero, 1989).

2.7.3 Metabolismo de la germinación

Los procesos metabólicos relacionados con la germinación que han sido más estudiados son la respiración y la movilización de las sustancias de reserva.

2.7.3.1 Respiración

Tres rutas respiratorias, glucólisis, ciclo de las pentosas fosfato y ciclo de Krebs son funcionales en las semillas embebidas. Estas tres rutas producirán una serie de compuestos intermediarios del metabolismo vegetal, así como considerables cantidades de energía y poder reductor. El objetivo principal del proceso respiratorio es la formación de ATP y pirimidín nucleótidos, necesarios para la intensa actividad metabólica que tiene lugar durante la germinación.

La semilla seca muestra una escasa actividad respiratoria, aumentando el consumo de O₂, después de iniciada la imbibición. A partir de este momento el proceso respiratorio de las semillas puede dividirse en cuatro fases:

- *Fase I*: Se caracteriza por un rápido incremento en la respiración, que generalmente se produce antes de transcurridas 12h desde el inicio de la imbibición. El aumento en la actividad respiratoria es proporcional al incremento de la hidratación de los tejidos de la semilla. El principal sustrato utilizado en esta fase es, posiblemente, la sacarosa.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

- *Fase II*: La actividad respiratoria se estabiliza entre las 12 y 24h desde el inicio de la imbibición. Probablemente las cubiertas seminales, que todavía permanecen intactas, limitan la entrada de O₂. La eliminación de la testa puede acortar o anular esta fase.
- *Fase III*: Se produce un segundo incremento en la actividad respiratoria, que se asocia a la mayor disponibilidad de O₂, como consecuencia de la ruptura de la testa producida por la emergencia de la radícula. Otro factor que contribuye a ese aumento es la actividad de las mitocondrias, recientemente sintetizadas en las células del eje embrionario.
- *Fase IV*: En esta última fase tiene lugar una acusada disminución de la respiración, que coincide con la desintegración de los cotiledones, después de que han exportado las reservas almacenadas.

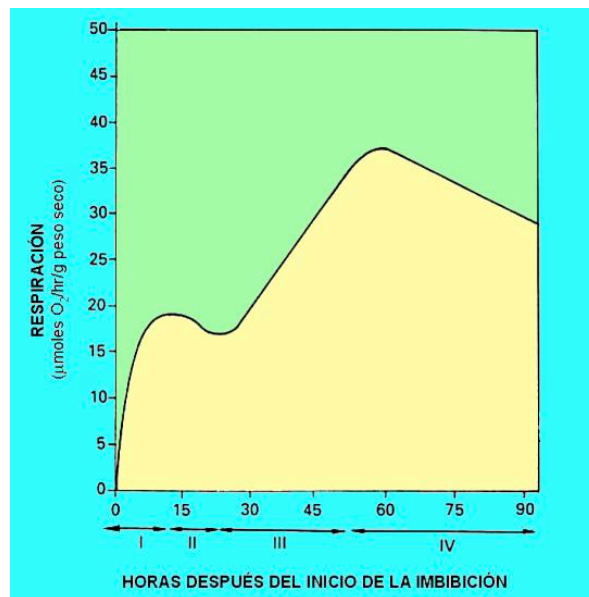


Figura 6. Evolución de la actividad respiratoria durante la germinación de las semillas de guisante (*Pisum sativum*). (Azcón-Bieto & Talón, 2008).

2.7.3.2 Movilización de sustancias de reserva

Las semillas contienen cantidades relativamente importantes de reservas alimenticias, que permitirán el crecimiento y el desarrollo de la plántula hasta que ésta sea capaz de alimentarse por sí misma. Estas reservas se encuentran en su mayor parte, formando cuerpos intracelulares que contienen lípidos, proteínas, carbohidratos y compuestos inorgánicos.

Los compuestos de reserva pueden estar almacenados en el embrión (cotiledones) o en tejidos extraembrionarios, principalmente en el endospermo.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Al iniciarse la germinación de las semillas, y cuando las células están suficientemente hidratadas, se produce una activación de la síntesis proteica y, por lo tanto, la formación de enzimas hidrolíticas que son las que promueven la movilización de las sustancias de reserva.

La movilización de las reservas requiere un proceso previo de hidrólisis para liberar los compuestos de menor peso molecular, que pueden ser utilizados durante el crecimiento inicial de la plántula. Además, en muchos casos, los productos de la hidrólisis sufren una serie de transformaciones metabólicas antes de ser transportados al eje embrionario en desarrollo.

- **Carbohidratos:** El hidrato de carbono más extendido en las semillas, como principal reserva energética, es el almidón. Está formado por los denominados granos de almidón (corpúsculos intracelulares). Dichos granos muestran una apariencia característica en cada especie, pudiendo tener formas esféricas, elípticas, poligonales, etc. En la hidrólisis del almidón sus componentes (la amilosa, y la amilopectina) son hidrolizados por la α -amilasa y la β -amilasa para dar glucosa. La degradación del almidón se incrementa progresivamente durante el proceso de germinación, primero lentamente, y luego de una forma más rápida que termina con la práctica desaparición del polisacárido. (Azcón-Bieto & Talón, 2008).

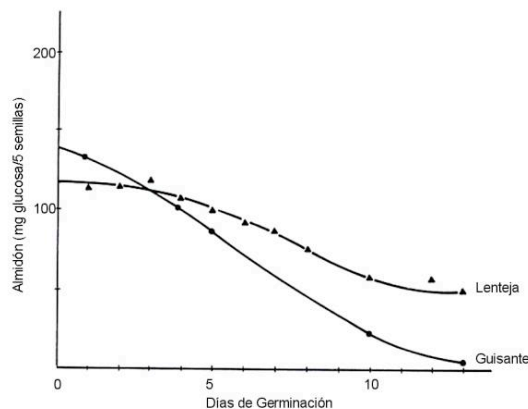


Figura 7. Variaciones en el contenido de almidón de los cotiledones en la germinación de semillas (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

- **Lípidos:** Los lípidos constituyen un grupo de sustancias químicamente heterogéneas que tienen en común su solubilidad en disolventes orgánicos (éter de petróleo, hexano o cloroformo). Los lípidos de reserva predominantes en las semillas son los triglicéridos. En la movilización y metabolismo de las reservas

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

lipídicas están implicados tres tipos de orgánulos: las vesículas que contienen aceites almacenados (cuerpos lipídicos), los glioxisomas y las mitocondrias.

La degradación y metabolismo de los lípidos se produce en varias fases.

- Lipólisis de los triglicéridos para producir ácidos grasos y glicerol. Se produce en los cuerpos lipídicos por acción de las lipasas que rompen los enlaces éster.
- Oxidación de los ácidos grasos a acetyl CoA y posterior formación de succinato en los glioxisomas.
- Conversión de succinato a oxalacetato en las mitocondrias.
- Formación de sacarosa a partir de oxalacetato en el citoplasma.

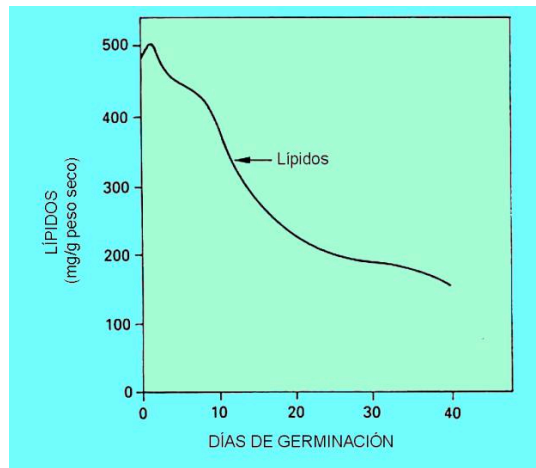


Figura 8. Cambio en el contenido en lípidos en los cotiledones de cítricos durante la germinación (Azcón-Bieto & Talón, 2008).

- **Proteínas:** La hidrólisis de las proteínas de reserva está catalizada por diferentes tipos de enzimas proteolíticas, agrupados bajo el nombre de proteasas. A medida que progresa la germinación, las fracciones proteínicas de reserva se transforman en otras de menor peso molecular, especialmente pequeños péptidos y aminoácidos. Los aminoácidos liberados pueden ser utilizados en la síntesis de nuevas proteínas en la plántula en desarrollo o para proporcionar energía mediante la oxidación de su esqueleto carbonado. En los cereales las proteínas se almacenan en los gránulos de aleurona, acumulados, a su vez, en la capa de aleurona. En las semillas de dicotiledóneas la degradación de las proteínas de reserva se corresponde, generalmente, con una acumulación de aminoácidos libres en los cotiledones (Azcón-Bieto & Talón, 2008).

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

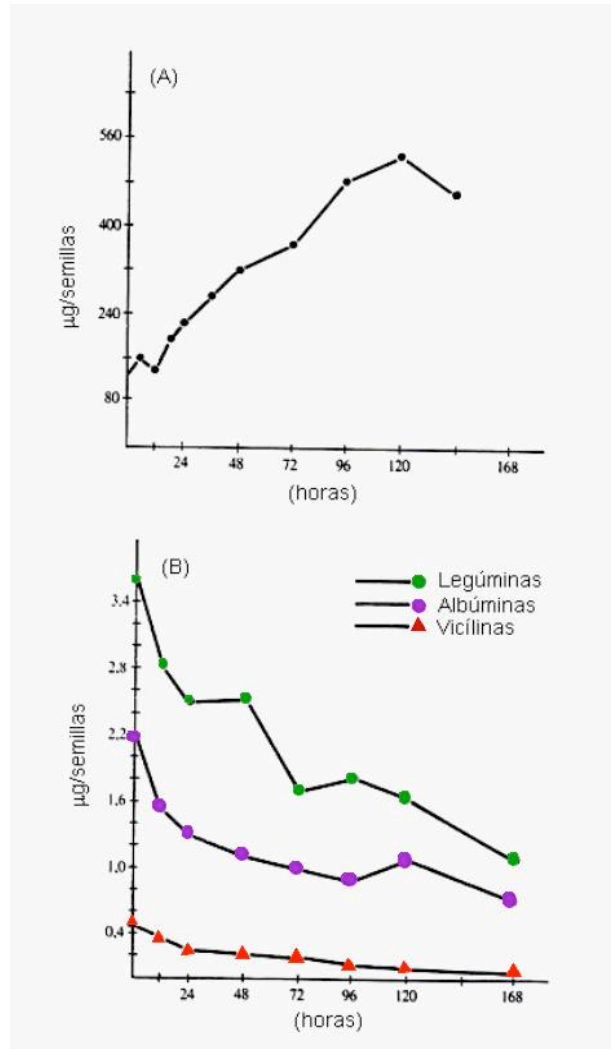


Figura 9. Acumulación de aminoácidos libres (A) y degradación de las proteínas de reserva (B) durante la germinación de semillas de *Lens culinaris* (Azcón-Bieto & Talón, 2008).

- **Ácidos nucleicos:** No hay duda en aceptar que la replicación del ADN es un fenómeno relativamente tardío en la germinación, iniciándose después de que tenga lugar una síntesis considerable de proteínas. Sin duda, en la codificación de éstas ha intervenido un ADN preexistente, formado, probablemente durante las fases de maduración de la semilla. Por lo que respecta al ARN, tanto en las capas de aleurona de cereales como en los cotiledones de las leguminosas, se han detectado varias ribonucleasas cuya función es la de degradar el ARN en nucleótidos que son transportados al embrión para la síntesis de sus ARNs propios. Sin embargo, se ha demostrado que los nucleótidos que llegan al embrión no son suficientes para mantener su crecimiento, por lo que en los embriones debe haber también una síntesis de nucleótidos, utilizando probablemente el nitrógeno de las reservas proteicas (Azcón-Bieto & Talón, 2008).

2.7.4 Biología reproductiva

El interés por la conservación de los recursos vegetales ha potenciado el desarrollo y la aplicación de diversas técnicas de conservación *in situ*, como la protección de los ecosistemas para conservar la diversidad de genes, especies o procesos ecológicos; y *ex situ*, a través de colecciones dispuestas en jardines botánicos o bancos de germoplasma (Moza & Bhatnagar, 2007). Con frecuencia, el material de las colecciones *ex situ* apoya estrategias de conservación *in situ*, con el fin de mantener a largo plazo las poblaciones de plantas en su entorno (Given, 1987; Falk *et al.*, 1996). Sin embargo, parte de ese esfuerzo de conservación puede desaprovecharse si los individuos de las poblaciones naturales o aquellas obtenidas a partir de germoplasma presentan limitaciones reproductivas, por lo que cualquier estrategia de conservación de plantas debería considerar, entre otros aspectos, aquellos relacionados con su biología reproductiva (Bosch *et al.*, 1998; Bernardello *et al.*, 1999, 2004; Evans *et al.*, 2003; Gaudraul & Till-Bottraud, 2004).

La biología reproductiva de las plantas abarca un gran número de elementos relacionados con las características de la reproducción, que van desde el desarrollo de la flor hasta la supervivencia de las plántulas: desarrollo de los gametos, características de la flor, edad de floración, sistema reproductivo, mecanismo de polinización, dispersión de semillas, germinación de las semillas o supervivencia de las plantas, etc. (Barret, 1998; Moza & Bhatnagar, 2007). En los últimos años, las disciplinas que engloba esta materia se han diversificado enormemente (Pérez de Paz *et al.*, 2003), por lo que ha aumentado la dificultad de componer toda la información sobre el mecanismo de reproducción de una determinada especie. Sin embargo, el sistema reproductivo es, entre otros, un punto clave de la biología de una especie, que puede estudiarse de manera relativamente sencilla, y que proporciona conocimiento útil para la actividad de un banco de germoplasma, por diversas razones.

En primer lugar, uno de los objetivos de cualquier banco de germoplasma consiste en la conservación de la diversidad genética, la cual está regulada por factores geográficos, ecológicos, históricos, o de la propia vida de la planta, como su estrategia reproductiva (Hamrick *et al.*, 1979; Hamrick & Godt, 1996). La información sobre el sistema reproductivo ayuda a conocer mejor la extensión y distribución de la diversidad genética y, en consecuencia, permite mejorar la planificación de la recolección (Zoro *et al.*, 1998; Rao & Hodgkin, 2002).

En segundo lugar, un banco de germoplasma debe mantener la disponibilidad del material en su colección, pues con frecuencia se distribuye para usos científicos, o pierde progresivamente la viabilidad. En estos casos se requiere de una continua reposición de material fresco que no es posible obtener en las poblaciones naturales (ej., porque han desaparecido). El desarrollo de estrategias de regeneración

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

de semillas, consistente en reemplazar las semillas del banco de germoplasma a partir del cultivo y de la propagación de las semillas de la propia recolección, supone una alternativa a la recolección en poblaciones naturales y en situaciones críticas. Esta actividad ha sido tradicionalmente recomendada en colecciones de germoplasma de plantas cultivadas, si bien su aplicación puede provocar importantes mermas en la variabilidad genética inicial. Entre las diferentes aproximaciones para conocer la implicación de estas estrategias, es necesario elaborar estudios experimentales sobre el sistema reproductivo de la planta (Porceddu & Jenkins, 1982; Lawrence, 2002), los cuáles pueden ser de especial utilidad en el caso de plantas en peligro de extinción.

Finalmente, la detección de fenómenos que reducen la cantidad y la calidad del material de recolección (ej., limitación de polen y depresión por endogamia) puede abordarse con un estudio del sistema reproductivo que, a su vez, permita el diseño de estrategias de actuación orientadas a paliar los déficit en este sentido (Johnson *et al.*, 2004; Takagawa *et al.*, 2006; Uesugi *et al.*, 2007).

2.7.4.1 El sistema reproductivo

El sistema reproductivo de las plantas comprende las estructuras reproductivas y los procesos que afectan a la fecundidad y a la composición genética de la descendencia de una planta (Barret & Eckert, 1990; Dafni *et al.*, 2005). En términos generales, las plantas pueden reproducirse de forma sexual o asexual, y sólo en el primer caso es posible incorporar variabilidad genética en la descendencia (Grant, 1989). La reproducción asexual puede ser vegetativa o por agamosperma (producción de semillas sin fecundación previa). En la reproducción sexual se pueden producir semillas por autogamia, a partir de la fertilización de los óvulos con polen de la propia flor; alogamia, a partir de la fertilización de los óvulos con polen de otra flor de la misma (geitonogamia) o de una planta distinta (xenogamia); o bien por una mezcla de autogamia y alogamia (Richards, 1997).

Con frecuencia, la alogamia se ve favorecida por fenómenos como la dioecia (sexos separados en distintos pies), la hercogamia (separación espacial de los órganos masculinos y femeninos), la dicogamia (separación temporal en la maduración de los órganos masculinos y femeninos), o el sistema de auto-incompatibilidad (incapacidad de una planta fértil de producir cigotos después de ser polinizada con polen propio). Las diferencias en el sistema reproductivo suelen correlacionarse con otras características reproductivas y ecológicas de las plantas. Así, las plantas autógamias tienen flores de menor tamaño y producen menor cantidad de polen que las flores de plantas alógamas con las que están emparentadas, mientras que las plantas autógamias suelen ser colonizadoras de hábitats degradados o propias de los primeros estados sucesionales de la vegetación, siendo las plantas alógamas características de estados sucesionales más tardíos (Baker, 1955; Cruden, 1977).

2.7.4.2 Conservación de la diversidad genética

El sistema reproductivo es un factor que afecta significativamente a la extensión y distribución de la diversidad genética y puede proporcionar información sobre la distribución genotípica en las poblaciones. En general, las especies autóгамas, comparadas con las xenógamas, tienen un nivel menor de diversidad genética total, menor variación genética intra-poblacional y mayor diferenciación genética inter-poblacional (Hamrick & Godt, 1996). Estas consideraciones son importantes cuando se desarrollan estrategias de recolección del germoplasma enfocadas al mantenimiento de la diversidad genética de recursos vegetales (Rao & Hodgkin, 2002).

Aunque existen numerosos ejemplos de plantas que cumplen las generalidades arriba mencionadas se conocen algunas excepciones. Por ejemplo, hay casos de especies autóгамas y xenógamas con niveles similares de variación genética intra-poblacional e inter-poblacional, autóгамas con mayor diversidad genética total que sus xenógamas relacionadas o xenógamas con gran variación inter-poblacional. Esta aparente contradicción se explica porque hay además otros factores ecológicos, geográficos o históricos que afectan a la diversidad genética (Hamrick & Godt, 1996) y pone de manifiesto que la información del sistema reproductivo es complementaria a la de los análisis genéticos que evalúan la diversidad genética.

2.8 Recolección de semillas

2.8.1 Recolección en campo

Durante la recolección es importante tener en cuenta el estado de maduración de los frutos y semillas, así como su localización en la planta, ya que la diferente posición en la inflorescencia puede dar lugar a una maduración escalonada de las semillas (Hendrix, 1984).

La observación de la polinización también puede aportar datos importantes a la forma de proceder a la recolección. La polinización con polen proveniente de distintos donantes puede llevar a una maduración heterogénea de los frutos producidos; en los óvulos de plantas que han sido fecundadas en un primer momento es más fácil que se desarrollen semillas que en las plantas fertilizadas tardíamente (Lee, 1988). Para reducir el riesgo de pérdida de semillas maduras, la recolección debería desarrollarse a lo largo de todo el periodo de dispersión de las semillas, registrando de manera individual cada recolección. La longevidad de una muestra de semillas que llega al banco de germoplasma está fuertemente determinada por su calidad en el momento de la recolección, sobre todo en las semillas consideradas “ortodoxas”. Como norma general, debería recogerse el mismo número de semillas (o frutos) de cada planta, en el mismo estado de maduración y justo antes del momento de la diseminación.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

La forma en que se han recogido las semillas puede igualmente influir en los resultados de los ensayos de germinación realizados en el laboratorio y en la capacidad para superar posibles dormiciones. Ha sido demostrado que, para algunas especies, dichas variaciones pueden depender de la posición que las semillas tienen en el interior del fruto (ej. Semillas basales más durmientes que semillas apicales) o de su distribución en la planta (Toole *et al.*, 1964). Además, el peso y el tamaño de las semillas también pueden influenciar la calidad del lote y su respuesta en los ensayos de viabilidad. En concreto, algunas especies de la familia *Poaceae* desarrollan dos tipos morfológicos de semillas, de las cuales las más grandes dan lugar a plantas más vigorosas y con mayor capacidad de germinación (Lahiri & Kharabanda, 1961).

2.8.2 Momento idóneo para la recolección

En muchos casos las semillas no pueden ser recolectadas separadamente, sino junto a los frutos que las contienen. De este modo se evitará interrumpir el proceso de maduración fisiológica que se está produciendo, a la vez que se favorece la adquisición, por parte de las semillas, de la tolerancia a la deshidratación.

Sabiendo que las semillas producidas por los frutos no carnosos, sean éstos dehiscentes o indehiscentes, son en las primeras fases del desarrollo intolerantes a la deshidratación, la recolección se debe efectuar en una fase posterior, cuando la semilla es capaz de absorber agua y, por lo tanto, tolera la deshidratación. Seleccionar este momento no es fácil. Cuando no existe experiencia, algunos indicios en el fruto (carnoso o no carnosos) pueden ayudar en la forma de proceder:

- El cambio de coloración puede ser un buen indicador, aunque no siempre es fiable. (Ellis & Roberts, 1981).
- El tamaño del fruto en las drupas está relacionada con el desarrollo completo de sus semillas (Smith, 1995).
- El endurecimiento del pericarpo de determinados frutos se manifiesta únicamente cuando el embrión se ha desarrollado.

Los frutos carnosos deben ser recogidos en un estado de maduración óptimo. Una recolección anticipada puede proveer de materiales con bajo poder de germinación. Por otro lado, una recolección demasiado tardía puede ocasionar pérdidas de material debidas a la dispersión natural, como la predación por parte de animales o a fenómenos meteorológicos como granizo o lluvias intensas.

2.8.3 La prueba del corte

Después de seleccionar la población que se va a muestrear se debería examinar con atención una primera muestra de las semillas usando la “prueba del corte” utilizando en el caso de semillas muy pequeñas una lupa de campo. Este simple análisis preliminar permitirá realizar una estimación bastante aproximada sobre la calidad del material, la cantidad de semillas vacías o estropeadas y el momento óptimo para la recolección. La prueba consiste en realizar una sección de un número representativo de semillas por la mitad, utilizando una cuchilla o un bisturí; las semillas de buena calidad presentan sus tejidos turgentes, sanos, con el color típico de cada especie (generalmente blancos o marfileños) y sin daños producidos por patógenos o insectos. El número adecuado de semillas utilizadas varía en función de cada especie, si bien es necesario tener en cuenta que en el caso de lotes de calidad mediocre el corte de pocas semillas puede llevar a sobrestimar el número de semillas sanas (Suszka *et al.*, 1994).



Figura 10. Prueba del corte en una semilla (Bacchetta *et al.*, 2008).

Los problemas que pueden surgir al realizar estos análisis preliminares están relacionados con una limitada experiencia del recolector, o la manipulación de semillas de muy pequeño tamaño (Piotto & Di Noi., 2001). En este último caso, y cuando el aumento de la lupa no permita un buen análisis de la semilla, se puede recoger el material en bolsas transpirables y posponer la investigación de la calidad de las semillas al banco de germoplasma, donde la prueba puede realizarse examinando tres réplicas de 30 semillas cada una (Crosti *et al.*, 2006).

2.8.4 Protocolo de recolección

Si existe suficiente cantidad de semillas en el momento de la recolección, puede llevarse a cabo el siguiente protocolo:

- a) Conservar las semillas maduras y secas en bolsas de papel o algodón.
- b) Conservar las semillas enteras, dentro de los frutos, en bolsas de papel.
- c) Conservar los frutos carnosos en bolsas de plástico y mantenerlas aireadas: se pueden descomponer rápidamente y una mala conservación puede perjudicar la viabilidad de sus semillas. En general, la limpieza de las semillas debería ser llevada a cabo por el equipo del laboratorio del banco de germoplasma.
- d) Recoger un ejemplar para el herbario con el fin de asegurar su correcta determinación, siempre que ello no perjudique a la población.
- e) Para ejemplares muy raros o amenazados, repetir la recolección en dos años sucesivos, para tener la certeza de haber recogido el material en un estado idóneo, o bien repetir varios muestreos en el mismo año.
- f) La cantidad ideal de semillas a recolectar es aquella que permite:
 - Disponer de una muestra representativa que pueda ser conservada en un banco de germoplasma a largo plazo, en caso de desaparición de la población o como base para realizar estudios sobre la genética y biología de la especie, a través de análisis tanto cuantitativos como cualitativos, no destructivos.
 - Obtener semillas suficientes para realizar los ensayos de germinación y de viabilidad.
 - Realizar pruebas periódicas de viabilidad en el banco de germoplasma.
 - Que una parte de la colección pueda destinarse a la producción de lotes para la duplicación de las colecciones y para la validación de los protocolos de germinación que se realicen, bien en el banco de germoplasma, bien en otros centros de investigación.

En el caso de que se prevea que la recolección pueda influenciar negativamente en el desarrollo demográfico de una especie o de una determinada población que está ya fuertemente amenazada, la recolección no debe efectuarse, aplicando otros métodos de multiplicación compatibles con la forma biológica del taxón (ej. multiplicación in vitro, realización de esquejes o regeneración a partir de multiplicación de germoplasma proveniente de otros bancos de germoplasma, etc.).

2.8.5 Procedimiento tipo para la recolección de semillas

A continuación se especifica la secuencia de trabajo recomendable para la recolección de germoplasma:

- a) Identificación inicial del taxón objetivo.
- b) Si no existe certeza de su naturaleza, utilizar floras para la determinación; en el caso de que no pueda ser determinado el taxón con total certeza, indicar en la ficha: “se necesita regeneración para la determinación”.
- c) Delimitar la localidad de muestreo.
- d) Si la localidad de muestreo tiene dimensiones cuantificables, determinar los límites, la extensión, la presencia de posibles microhábitats, etc., reflejando todos estos datos en la ficha de recolección. Es importante, además de la información geográfica, indicar datos sobre el régimen de propiedad y uso del espacio afectado, así como las medidas de protección existentes.
- e) Recolectar el material.
- f) Indicar en la ficha de campo el número de individuos de los que se ha recogido material y la cantidad obtenida de cada unos de ellos, además de la metodología llevada a cabo en el muestreo.
- g) Finalizar la ficha anotando cualquier dato que pueda resultar útil al banco de germoplasma.
- h) Registrar el pliego testigo recogido para el herbario.

2.9 Tratamiento de las semillas antes de su conservación

2.9.1 Ingreso de las semillas

Una vez que el material se encuentra en el laboratorio y se han realizado los controles fitosanitarios necesarios, se procede a la introducción de la información en la base de datos, comprobando si existe la necesidad de adoptar determinadas precauciones en su manipulación. En las dependencias donde se almacena el material, se comprueba la validez e integridad material recogido, efectuando la “prueba del corte” en el caso de que no haya sido ya efectuada en el campo y determinando el porcentaje de semillas frescas.

El registro de las entradas de material es una operación rutinaria fundamental para la correcta gestión y para el inicio de todos los procedimientos realizados sobre el material que ingresa en el banco. El banco controla la correspondencia entre la relación

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

de entradas que entrega el recolector y las bolsas con las que se acompaña, anotando las posibles dudas y ausencias de información.

Por tanto, es de fundamental importancia indicar en el registro la siguiente información:

- Nombre del taxón.
- Número de entrada del lote.
- Fecha de ingreso en el banco.
- Calidad de la limpieza de las semillas o el tipo de tratamientos a los que han sido sometidas.
- Procedencia del lote: nombre de la localidad de muestreo y nombre o código del recolector o del centro del que proviene el material.
- Objetivo o proyecto para el cual se ha llevado a cabo la recolección.

2.9.2 Cuarentena

Antes de introducir en las dependencias del banco el material recogido en el campo, se debe respetar un periodo de cuarentena, de tiempo variable, en el que el germoplasma se almacena en un ambiente externo y aislado del banco. Este procedimiento permite valorar el estado fitosanitario del material y determinar la presencia de hongos o parásitos fitófagos o dañinos.



Figura 11. Semilla de *Astragalus nitidiflorus* (Bacchetta *et al.*, 2008).

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

2.9.3 Pruebas iniciales para la valoración de los lotes de entrada

Si las condiciones del lote lo permiten, se puede realizar una serie de pruebas (germinación, viabilidad, cálculo de la humedad interna, estimación del número y del peso inicial de las semillas, etc.) al material fresco (semillas, frutos, etc.) para recopilar los datos necesarios y poder así planificar su destino, el número de réplicas de las pruebas y el número de semillas por réplica, además de monitorizar la productividad de la población. Los resultados de cada prueba se registran en una ficha específica, que acompañará a la ficha de limpieza y a toda la documentación relativa al material.

FICHA TEST INICIALES				ID progresivo:	Fecha de ingreso:
Nº	Taxon				Operario:
4.	Fecha:			Precisión:	
5.	Número total frutos			Peso fresco de la aceción	#DIV/0!
6.	Estado de los frutos			Tipo de fruto	cajuela
PESO DE LOS FRUTOS			VOLUMEN DE LOS FRUTOS		
X: Réplica (nº frutos)	A: Peso tot (g)	B: Peso medio de frutos por réplica	A: Réplica (nº frutos en 100 ml)	B: nº frutos por litro	
1		#DIV/0!	1	0	
2		#DIV/0!	2	0	
3		#DIV/0!	3	0	
4		#DIV/0!	4	0	
Peso medio de los frutos			Volumen de los frutos		
Número de frutos por Kg			Procedencia		
Nota			Nota		

Figura 12. Ejemplo del registro informático de datos iniciales sobre un lote de semillas en una hoja de cálculo (Bacchetta *et al.*, 2008).

2.9.4 Frutos carnosos

La pulpa de los frutos carnosos se debe eliminar manualmente y/o mecánicamente (primera limpieza), preferiblemente en las 48 horas posteriores a la recogida, con agua corriente para limitar el desarrollo de micosis y procesos fermentativos que reducirían la capacidad de germinación de las semillas, comprometiendo su viabilidad. En los casos en los que este proceso no se pueda realizar en el tiempo deseado, se debe conservar el material en una cámara frigorífica a temperaturas entre 0° C y 5° C.

Si en el momento de la recolección los frutos se encuentran demasiado deshidratados, antes de quitarles la pulpa se deben sumergir en agua durante un periodo de tiempo comprendido entre unas pocas horas o incluso días, para facilitar la limpieza y separación de las semillas. Después de eliminar la pulpa, las semillas deben de contener sólo impurezas de pequeño tamaño; si no es así, será necesario realizar una segunda limpieza manual (más selectiva que la primera) en un contenedor lleno de agua donde se puedan eliminar hasta los residuos carnosos más pequeños.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

El agua en exceso de las semillas se elimina, secándolas durante un periodo de tiempo variable de entre uno y siete días, en función del tipo de semilla y de las condiciones ambientales. Posteriormente se procede a la eliminación manual de los residuos inertes que aún estén presentes y a la deshidratación, siguiendo los procedimientos descritos más adelante para los frutos no carnosos. Cuando las cantidades de material a procesar son grandes, este proceso se puede realizar mecánicamente con máquinas que extraen las semillas de la pulpa.



Figura 13. Extracción de semillas de *Rosa sp.* mediante lavado de frutos sobre tamices y agua corriente (Bacchetta *et al.*, 2008).

2.9.5 Post-maduración

Se denomina post-maduración al proceso de maduración fisiológica que se desarrolla en las semillas y en los frutos después de haber sido recogidos. Es un proceso necesario para que las semillas inmaduras adquieran la capacidad de germinación (Schimdt & Joker, 2001). De hecho, aunque la recolección se realice con atención, es muy frecuente recoger semillas en diferentes estados de maduración. El periodo de post-maduración tiene como objetivo obtener una muestra homogénea, permitiendo que las semillas aptas lleguen al estado de maduración. Para conseguirlo, se conserva el material temporalmente en recipientes de plástico, cartón, aluminio o acero por un periodo variable, desde algunas semanas hasta un máximo de un mes, dependiendo del taxón (se debe eliminar la pulpa en los frutos carnosos). La temperatura ambiental se debe mantener por debajo de 20°C y la humedad relativa por debajo del 40%. Para periodos superiores a un mes, se debe bajar aún más la temperatura. El riesgo que se corre es el de acelerar el proceso de envejecimiento de la muestra, y esto dificultará la posterior interpretación de los ensayos de germinación, a la vez que provocará una reducción en el tiempo de conservación (Probert, 2003).

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

En esta fase se eliminarán las impurezas (ramas secas, hojas o detritos del suelo) del material almacenado, pero sin ser manipulado. De esta manera las semillas no se deshidratan rápidamente; en función de las condiciones de la recogida y del tipo de fruto, se determina el tiempo que debe transcurrir antes de que el germoplasma pueda ser manipulado. El material, distribuido homogéneamente en el fondo de los contenedores, se mezcla cada 2-3 días, para asegurar la uniformidad del tratamiento y favorecer una mejor aireación y la consiguiente deshidratación, cubriendo los contenedores con una malla para impedir la contaminación con semillas de otras muestras.



Figura 14. Lotes de semillas en proceso de post-maduración (Bacchetta *et al.*, 2008).

2.9.6 Limpieza y manejo de las semillas

De las semillas que cumplen los requisitos adecuados, se extrae una pequeña cantidad que será testada para estimar el porcentaje de germinación y la validez del material recogido.

La calidad del lote puede ser también estimada a través de observaciones directas (de color, tamaño, presencia de parásitos) o mediante pruebas de viabilidad como la “prueba del corte”, si no ha sido ya realizada en el campo en el momento de la recolección. Además, deben eliminarse las impurezas presentes en las semillas: polvo, residuos resinosos, semillas vacías o abortadas, semillas dañadas por insectos y/o infectadas. Estos trabajos pueden realizarse mecánicamente, manualmente o de ambas formas.

2.9.6.1 Extracción manual

En muchos casos, el uso de técnicas mecánicas puede dañar las semillas, exponerlas a infecciones fúngicas y deteriorar el tegumento. El trabajo manual, a pesar de ser muy laborioso, casi siempre es imprescindible a la hora de desarticular los frutos o las infrutescencias. Para esta labor generalmente se utiliza una base construida con plástico blando, sobre la que se depositan pequeños trozos de los frutos o inflorescencias. El operario, utilizando un tampón de madera (revestido en su parte inferior con el mismo plástico que la base sobre la que se trabaja), ejerce fuerza de forma más o menos perpendicular al plano de trabajo, para desmenuzar y separar las semillas de otras estructuras de la flor o del fruto, para luego ser cribadas mediante tamices con diferentes mallas.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

En los casos en los que no se pueda desarrollar esta técnica, el trabajo manual se podrá llevar a cabo con utensilios y/o instrumentos de laboratorio (ej. pinzas, agujas, etc.). Cuando las dimensiones de las semillas sean muy pequeñas, incluso microscópicas (ej. *Plumbaginaceae*, *Scrophulariaceae*, *Orchidaceae*), no se pueden separar utilizando estos instrumentos, por lo que se debe recurrir al uso de microscopios estereoscópicos y lupas binoculares.



Figura 15. Batería de tamices (Bacchetta *et al.*, 2008).

2.9.6.2 Extracción en frío

Esta técnica se utiliza con el género *Abies*, *Cedrus* y algunas especies del género *Pinus*, con procedimientos algo particulares para cada especie. Al finalizar la post-maduración, las brácteas de los conos se abren mucho y las semillas pueden ser extrañas con una simple máquina cribadora. Puesto que se trata de especies ricas en resina es necesario esperar a que ésta se seque, antes de utilizar la criba. El paso por la cribadora da lugar a una mezcla de semillas aladas, polvo, escamas rotas, semillas vacías, fragmentos de acículas, pecíolos, pequeñas ramas, etc., de la que se deben seleccionar las semillas limpias. Se obtiene mayor éxito cuando se recogen los conos en el momento en el que las brácteas comienzan a separarse unas de otras (Gorian, 2001). A veces es necesario realizar algún trabajo de tipo manual, tanto antes como después de efectuar la criba.

2.9.6.3 Extracción con calor

Este procedimiento se aplica a los géneros *Cupressus* y *Pinus*, con pocas excepciones, aunque también puede ser utilizado en la extracción de las semillas de *Fagus* y *Alnus*. En el caso de las coníferas, los conos bien cerrados y poco resinosos se limpian con máquinas y posteriormente se extienden sobre una superficie de madera para su post-maduración. En esta última fase se mezclan cada cierto tiempo, facilitando su deshidratación mediante corrientes de aire. Transcurrido cierto tiempo, que varía en función de la especie, los conos comienzan a abrirse, momento en que se empieza a aplicar calor mediante hornos, a temperatura y tiempo variables en función de la especie y del contenido en agua de los estróbilos. Para no arriesgar la viabilidad de la especie, la temperatura no debe en ningún caso superar los 50 °C (Gorian, 2001).

Después de la extracción, sigue una fase de selección y limpieza de las semillas para eliminar impurezas como polvo, residuos, semillas vacías o abortadas y semillas dañadas por insectos, que ya no son conservables. Estos procesos pueden realizarse mecánicamente, manualmente o de ambas formas.

2.9.6.4 Métodos mecánicos

El trabajo con pocas cantidades de semillas normalmente se lleva a cabo con pequeños aparatos en el laboratorio (Gorian, 2001). Los más comunes realizan una selección de tipo gravimétrico, emitiendo un flujo de aire que separa las impurezas de las semillas y las semillas viables de las vacías, estandarizando las semillas por dimensiones y peso.

Cada grupo de semillas necesitara de un número de ciclos directamente proporcional a la homogeneidad del material y al tipo de germoplasma que se está limpiando. Regulando los flujos de aire, en los primeros ciclos se eliminan las impurezas y el polvo y, a continuación, se seleccionan las semillas. Si estas operaciones no se realizan de forma correcta, se puede producir un empobrecimiento genético de la muestra respecto a la población de la que proviene, ya que se podrían perder todas las semillas que, aun siendo viables, no poseen un peso diferente respecto al del material de desecho. Al finalizar el trabajo se puede valorar de forma aproximada el porcentaje del material de desecho respecto a las semillas y el rendimiento de la campaña de recolección por cada muestra recogida.

Si se trabaja con cantidades muy grandes de semillas y no es imprescindible un grado muy elevado de limpieza, como por ejemplo en los lotes destinados a la hidrosiembra, se puede recurrir a maquinaria industrial.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.



Figura 16. a - Máquina de flujo de aire con cilindro dentado para la separación de semillas (Bacchetta *et al.*, 2008).

Figura 17. b - Máquina de flujo de aire para la limpieza de grandes lotes de semillas (Bacchetta *et al.*, 2008).

2.9.6.5 Métodos manuales o mixtos

En algunos casos, las técnicas automatizadas no pueden desarrollar perfectamente el trabajo, por ejemplo cuando el tamaño de las semillas es tan pequeño que es parecido a las dimensiones del polvo o de los tejidos fragmentados o reducidos a polvo. Con este fin, se utiliza una batería de tamices (Figura 14) con diámetro de malla variable entre 1 cm y 0.1 mm, para ir selectivamente eliminando las impurezas. En los casos más complejos las semillas se separan manualmente ayudándose con pinzas y otros utensilios de laboratorio. El uso combinado de técnicas manuales y mecánicas se utiliza cuando a una primera limpieza manual, más grosera, le sigue una posterior limpieza mecánica y, para finalizar, una tercera limpieza manual muy precisa.

2.9.7 Caracterización del germoplasma

La caracterización de germoplasma es una función comúnmente atribuida a los bancos de semillas de plantas cultivadas, que en el caso de especies silvestres debería corresponderse con una actividad de investigación complementaria, de gran utilidad para la conservación, pero que requiere de una infraestructura y recursos no siempre disponibles. Entre los principales factores que condicionan la calidad de las semillas figuran: el patrimonio genético, la edad y el tipo de gestión a la que se ha sometido la planta madre, las condiciones climáticas y fisiológicas de la planta madre durante la formación de la semilla, el grado de madurez en el momento de la recogida, la técnica de recolecta y los métodos de conservación (Piotto & Di Noi, 2001).

La calidad del germoplasma se puede expresar mediante parámetros que midan el comportamiento de la semilla *in situ* y *ex situ*. Antes de ser conservadas, las semillas deben ser sometidas a pruebas cualitativas, para determinar su capacidad de germinación y viabilidad; existen otras pruebas que caracterizan genéticamente la semilla y otros aspectos importantes de su fisiología que no son evidenciados con las pruebas de germinación.

2.9.7.1 Capacidad germinativa

La capacidad germinativa es el porcentaje de semillas germinadas (normales y anómalas). Es considerado el parámetro más útil para valorar un lote de semillas, aunque no explica otros componentes de su calidad. El ISTA define la germinación como el proceso que lleva a las semillas a un estado en el cual su aspecto puede indicar si serán capaces de desarrollarse en una planta normal, siempre que las condiciones ambientales lo permitan (ISTA, 2004). Algunos autores consideran la germinación como el proceso de desarrollo de la planta mediante la emisión de 1 mm de la radícula, límite mínimo para la observación macroscópica de la germinación. La velocidad es un aspecto importante en la germinación, ya que puede proporcionar importante información acerca de la calidad de la semilla, aunque no resulta indicadora de la presencia de posibles taras genéticas, como por ejemplo los fenómenos de introgresión (ej. *Orchidaceae*).

2.9.7.2 Pruebas de vigor germinativo

El vigor germinativo de las semillas se define como la suma total de las propiedades que determinan el nivel de actividad y el comportamiento de los lotes durante la germinación en una amplia gama de ambientes (ISTA, 2004). El vigor no se puede medir a través de un solo parámetro porque es un concepto que agrupa diferentes aspectos del comportamiento de las semillas, como la velocidad y la uniformidad de la germinación y el desarrollo de la plántula; la capacidad de emergencia de la plántula en condiciones desfavorables; o el comportamiento tras la conservación (en particular la capacidad de conservar su poder germinativo inicial). Las semillas vigorosas son potencialmente capaces de tener un comportamiento óptimo en condiciones que no son consideradas como las ideales para la especie a la que pertenece la muestra.

Las diferencias en el vigor germinativo se pueden manifestar en los procesos bioquímicos y en las reacciones que se desarrollan durante la germinación (reacciones enzimáticas, actividad respiratoria, etc.), en la velocidad y uniformidad de emergencia de las plántulas, en el crecimiento durante el desarrollo y después de ser trasplantada y en la capacidad de germinación en condiciones ambientales desfavorables. El grado de vigor puede condicionar también el crecimiento de las plantas adultas, su fructificación y producción. La definición de vigor hace referencia a la semilla y al comportamiento inicial de la plántula, pero no considera la posible dormición y la composición genética. Las pruebas que se basan en aspectos específicos del comportamiento de la semilla durante la germinación, como la prueba del envejecimiento acelerado, el cold-test (Piotto & Di Noi., 2001) y la prueba de la conductividad, generalmente son empleadas para la valoración de determinados componentes específicos del vigor (Piotto & Di Noi., 2001; Elias *et al.*, 2006).

2.9.7.3 Viabilidad

Se considera que una semilla es viable cuando presenta las características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas fundamentales para su germinación. La pérdida de viabilidad generalmente viene acompañada de la reducción de la capacidad respiratoria, del contenido de ácidos grasos insaturados, de lípidos de membrana, de actividad enzimática y del contenido de ARNm. Las pruebas para determinar la viabilidad sólo dan una estimación de la calidad de la semillas (indicando si la semilla está “viva” o no), pero son muy rápidos (24 / 28 horas) en relación a las pruebas de germinación.

La viabilidad no debe ser confundida con la capacidad germinativa, de hecho las semillas viables durmientes no necesariamente germinan. Aunque erróneamente utilizados como sinónimo de viabilidad, los ensayos de germinación nos permiten cuantificar la capacidad germinativa de los lotes de semillas analizados, pero poco o nada nos aportan sobre las semillas que no han germinado. La utilización paralela de ensayos de germinación y de ensayos de viabilidad nos aporta información más fiable sobre el estado de las semillas que pretendemos conservar o estamos conservando.

Principalmente se utilizan 4 métodos para analizar la viabilidad (Freeland, 1976): tetrazólio, catalasa, sustancias reductoras y electrolitos. Los dos primeros son los más fáciles de ejecutar en cualquier laboratorio y no representan costes elevados siendo por ello los más generalizados y los que desarrollamos en este apartado.

2.9.8 Desecado

2.9.8.1 Tolerancia a la deshidratación y categorías de conservación

Las semillas pueden ser clasificadas en dos categorías principales en base a su respuesta frente a la deshidratación y a su comportamiento durante la conservación. El primer grupo, definido como semillas “ortodoxas”, son aquellas cuya conservación depende esencialmente del contenido de humedad y de la temperatura. Este grupo de semillas pueden ser sometidas sin problemas a bajos valores de humedad (incluso a niveles muy inferiores a los que se alcanzan en condiciones naturales); su longevidad aumenta al disminuir la temperatura y el contenido en humedad, y puede ser calculada mediante la ecuación de viabilidad de las semillas (Roberts, 1973; Ellis & Roberts, 1981; Ellis, 1988; Pritchard & Dickie, 2003). Actualmente las semillas ortodoxas son también denominadas como “tolerantes a la deshidratación”. Pertenecen a este grupo la mayor parte de las semillas de climas templados y mediterráneos (Hong *et al.*, 1998).

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Contenido de humedad	Posibles alteraciones durante la conservación
Inferior al 5%	Oxidación de lípidos
Entre 5 y 6%	Prácticamente ninguna (nivel óptimo para la conservación de semillas de numerosas especies)
Entre 10 y 18%	Marcado desarrollo de la actividad de criptógamas
Superior al 18 %	Aumento de la respiración
Superior al 30%	Germinación de semillas no durmientes

Tabla 1. Comportamientos de las semillas ortodoxas durante la conservación a bajas temperaturas, en función del contenido de humedad.

La tolerancia a la desecación está ligada a las propiedades del protoplasma celular. Para poder afrontar la deshidratación, los tejidos celulares deben ser capaces de limitar o reparar los daños sufridos y mantener su integridad fisiológica durante el periodo en el que el tejido está seco. Además, deben poner en marcha, durante la fase de rehidratación, los mecanismos necesarios para la posible reparación de los tejidos (Black & Pritchard, 2002). De forma específica, algunos de los mecanismos que permiten la desecación están relacionados con la capacidad de simplificar las estructuras intracelulares (en particular las mitocondrias), la capacidad de inhibir la actividad metabólica, la eficiencia de los sistemas antioxidantes, la facultad de elaborar las proteínas de la membrana celular (proteínas LEA), la existencia de proteínas hidrófobas que rodean los cuerpos grasos e impiden que se aglomeren durante la deshidratación y la capacidad de vitrificar durante la deshidratación algunas sustancias como los azúcares (Berjak & Pammenter, 2002).

El segundo grupo, el de las semillas “recalcitrantes”, también llamadas “sensibles a la deshidratación”, agrupa a las semillas que no toleran una deshidratación significativa respecto al contenido de humedad presente en el momento de la diseminación (en general variable entre un 20% y un 70%, aunque más frecuentemente entre el 30% y 50%). Estas semillas no pueden conservarse con altos niveles de humedad porque tienden a germinar en poco tiempo, ni pueden mantenerse a temperaturas inferiores a 0° C, ya que los tejidos sufrirían daños por congelación del agua contenida en ellas. Para la conservación de este tipo de semillas se están desarrollando técnicas alternativas que prevén la criopreservación en nitrógeno líquido de los embriones, estructuras muy pequeñas bastante resistentes a la desecación y

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

relativamente uniformes en dimensiones y contenido en humedad y, por tanto, en grado de ser sometidas a una deshidratación “crioprotectora” controlada. Las semillas recalcitrantes acumulan un mayor número de reservas (razón por la que presentan un mayor peso y dimensiones), y generalmente un mayor contenido en humedad. El porcentaje de agua en el momento de la dispersión es un buen índice de la aptitud para la conservación: un valor elevado caracteriza las semillas de difícil conservación.

2.9.8.2 Cámaras de desecado

La disminución de la humedad de las muestras de semillas se puede realizar de diferentes formas, mediante la exposición al aire en ambientes secos, ventilados y sombríos. Los bancos de germoplasma generalmente utilizan cámaras de deshidratación que, aunque son bastante costosas, producen óptimos resultados. El material destinado a la deshidratación se almacena en una cámara que, mediante deshumidificadores y aire acondicionado, mantienen valores de humedad relativa del 10-15% y temperaturas entre los 10° C y 25° C (FAO/IPGRI, 1994), para evitar que los tegumentos seminales sufran bruscas fracturas y/o arrugamientos. Este tratamiento tiene una duración variable en función de las características de las semillas y puede oscilar entre 30 y 180 días.

2.9.8.3 Desecantes artificiales

También se puede conseguir la deshidratación de las semillas utilizando desecantes artificiales como el gel de sílice, poniéndolo en contacto con las semillas dentro de contenedores herméticos. Con su poder de absorción este compuesto disminuye el contenido de humedad interna de los lotes de semillas hasta valores que garanticen su conservación a medio y largo plazo (Probert, 2003). La cantidad de desecante que se debe usar varía en función de la composición de las semillas, de la cantidad de material y, sobre todo, de su contenido en aceites.



Figura 18. Ejemplos de diferentes tipos de gel de sílice autoindicadores presentes en el mercado (Bacchetta *et al.*, 2008).

2.10 Conservación de las semillas

2.10.1 Conservación “ex situ”

El objetivo de los bancos de germoplasma es el de conservar al máximo posible la biodiversidad existente para garantizar la posibilidad de usarla en el presente o futuro (Witt, 1985). Esto surge como respuesta de emergencia ante el grave problema de pérdida de biodiversidad (erosión genética) detectado en la última mitad del siglo XX, debido al abandono del cultivo de las variedades locales, sustituidas por variedades comerciales mejoradas mucho más uniformes. Esta pérdida de biodiversidad es un verdadero riesgo para la humanidad, dado que nuestra alimentación se basa en el aprovechamiento de los recursos genéticos vegetales (Perrino & Terzi, 2003).

Para conseguir conservar esta diversidad genética, se emplean diversos métodos que permiten distinguir distintos tipos de Bancos de Germoplasma. El más empleado (por su facilidad) es la conservación de semillas en condiciones de baja humedad y temperatura. La gran ventaja es que permiten preservar una gran diversidad genética en un espacio relativamente pequeño, con un coste modesto y durante grandes períodos de tiempo (hasta cientos de años). El mayor inconveniente, aparte del riesgo de pérdidas catastróficas del material conservado, es que las variedades conservadas se separan de su medio natural, lo que supone una necesidad de multiplicarlas y regenerarlas en un ambiente que no es el suyo (alto riesgo de erosión genética).

Otros grandes problemas encontrados al recurrir al material conservado en los bancos de germoplasma, y que son inherentes a los mismos, son que el material proporcionado puede no corresponder exactamente con la variedad que se pretendía obtener debido a la gran variabilidad de nombres locales, posibles mezclas en los procesos de multiplicación, errores de documentación, etc. El material conservado en los bancos no siempre está disponible.

Dadas las limitaciones de los bancos de germoplasma, las muestras que se pueden proporcionar de cada entrada son pequeñas (del orden de 100 o 200 semillas) La información (datos de pasaporte y caracterización) que los bancos de germoplasma pueden proporcionar del material que conservan, muchas veces es insuficiente para llegar a conocer cómo eran las variedades tradicionales de una comarca, ya que con frecuencia no se dispone de datos agronómicos.

Por tanto, este tipo de conservación no debe entenderse como una alternativa de la conservación “in situ” (o en finca), sino un complemento de esta.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

2.10.1.1 Conservación de semillas ortodoxas.

Las semillas ortodoxas son aquellas que pueden conservarse en condiciones de baja humedad y baja temperatura. Son de este tipo las semillas de leguminosas y cereales de climas templados. Sólo se pueden conservar en bancos de semillas las ortodoxas.

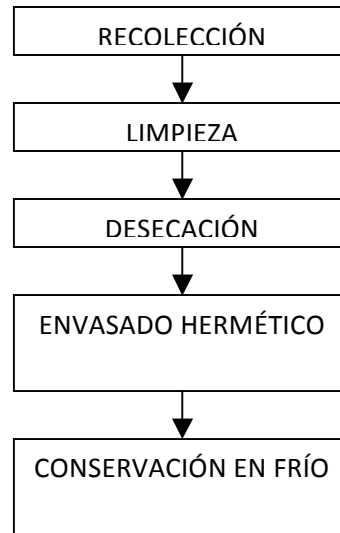


Figura 19. Comportamientos de las semillas ortodoxas durante la conservación a bajas temperaturas, en función del contenido de humedad.

2.10.2 Conservación “in vitro” y Criopreservación

2.10.2.1 Conservación “in vitro”

El cultivo in vitro cobra cada vez mayor importancia como herramienta de conservación e intercambio de germoplasma porque permite mantener un amplio rango de especies, en diversidad de muestras sanas y en poco espacio, e intercambiarlas fácilmente. Sin embargo, requiere tecnología y conocimientos aún en desarrollo, protocolos para cada especie y recursos considerables por lo que conviene evaluar la alternativa de conservar germoplasma in vitro frente a otras opciones de conservación, y aplicarla principalmente en aquellas especies difíciles de conservar como semilla o en campo.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.



Figura 20. Cámara conservación “in vitro” (Bacchetta *et al.*, 2008).

2.10.2.2 Criopreservación

La criopreservación consiste en colocar los explantes en nitrógeno líquido (-196 °C) para detener su crecimiento pero conservando la viabilidad y la estabilidad genética y fisiológica. Es una técnica reciente y con buenas perspectivas, pues permite almacenar por períodos indefinidos cualquier especie que tolere y sobreviva al congelamiento. Por esta razón, resulta particularmente útil para conservar especies de semilla no ortodoxa o de reproducción vegetativa, difíciles de conservar en cámaras o en campo

La criopreservación consiste en cultivar el explante in vitro (precrecimiento), desecarlo al mínimo permisible según la especie, tratarlo con crioprotectores (glicerol, sacarosa, manitol, prolina, polietilenglicol) para evitar la cristalización de líquidos intracelulares, congelarlo en nitrógeno líquido, almacenarlo, descongelarlo y tratarlo para recuperar plantas viables.

El éxito de la crioconservación depende de la reacción de la especie al congelamiento por lo que requiere protocolos específicos. Existen diversas técnicas como la deshidratación-encapsulación, la vitrificación, la encapsulación-vitrificación, la desecación, el precrecimiento, el precrecimiento-desecación y el goteo-congelamiento pero las investigaciones en este campo, como las que realiza el CIP (Perú) con papas tolerantes al congelamiento y el CIAT con yuca, todavía se basan en el ensayo y el error. La metodología tiene limitantes siendo las principales la dificultad y el tiempo requeridos para regenerar plantas completas a partir de las estructuras conservadas.

2.10.3 Conservación “in situ”

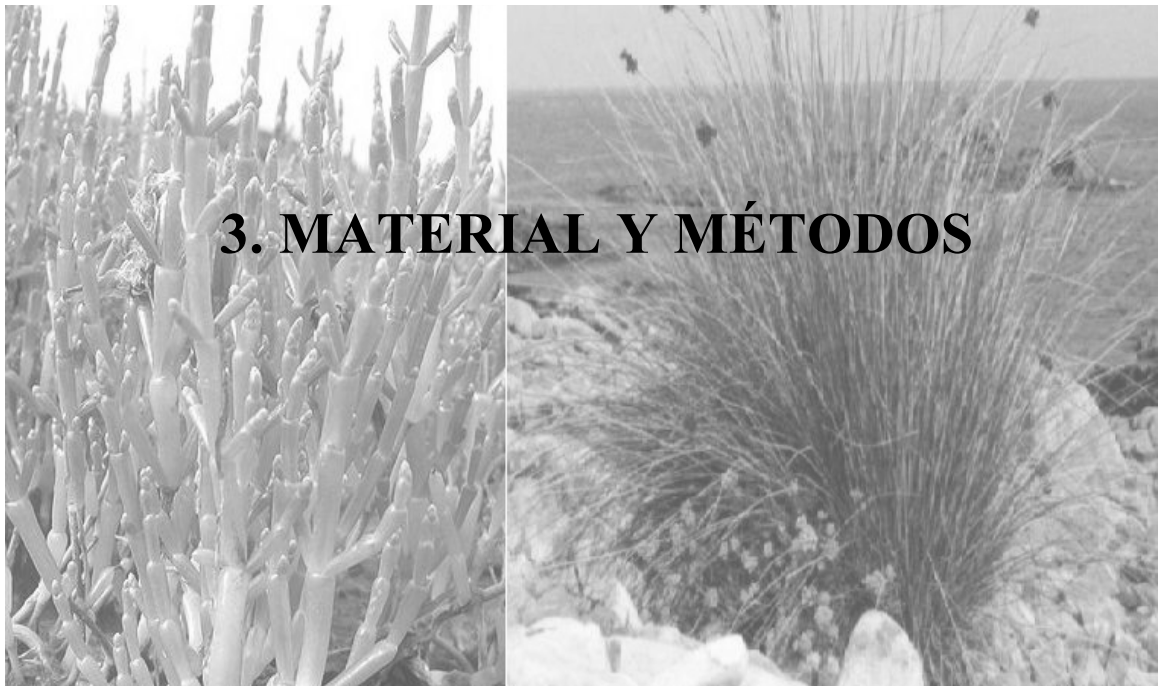
Idealmente, la forma más apropiada de conservar una entidad biológica es dentro del ecosistema del que naturalmente forma parte. En la conservación in situ no sólo se preservan cada uno de los componentes del ecosistema sino también todas sus relaciones recíprocas y se permite la continuación de los procesos evolutivos de las plantas.

La conservación in situ resulta especialmente adecuada en las especies silvestres y presenta menos problemas que en las plantas cultivadas debido a que sus hábitats son ecosistemas naturales en los que no interviene la acción humana.

La conservación in situ de las especies silvestres implica la adecuada protección y gestión de los ecosistemas en los que habitan y, para ello, existen un gran número de figuras de salvaguardia de espacios naturales (parque natural, parque nacional, reservas, etc.). Los costes de este tipo de conservación disminuyen cuando en la zona protegida están concentradas diferentes especies. Contrariamente, cuando las áreas de distribución de las plantas son demasiado extensas el establecimiento de medidas de protección se dificulta por su coste y su interferencia con otras actividades humanas. La conservación in situ de variedades locales, denominada actualmente conservación “en finca” implicaría en un sentido estricto el cultivo de estos materiales en sus zonas de origen y con las técnicas tradicionales.

En general, este tipo de conservación ha sido considerada problemática por su complejidad y coste ya que, en principio, precisaría de constante supervisión y de incentivos a los agricultores para compensar los menores rendimientos de las variedades tradicionales. Sin embargo, en los últimos años, ha creado gran expectación en el ámbito internacional, ha visto incrementado el número de proyectos e iniciativas para respaldar y fomentar la ordenación, conservación y mejora de los recursos fitogenéticos en explotaciones agrícolas.

Desde una perspectiva real, la conservación “en finca” de variedades locales parece poco viable si no se realiza con un enfoque de utilización. En este sentido, el desarrollo de sistemas agrícolas sin grandes insumos (mano de obra, materia prima, energía, parte del equipo, capital amortizado, etc.), más respetuosos con el medio ambiente y más diversificados; en resumen, más sostenibles ofrece buenas expectativas para revalorizar y preservar la diversidad genética contenida en los cultivares tradicionales, especialmente adaptados a este tipo de agricultura. Además, las variedades locales pueden ofrecer unas características de calidad organoléptica en cuanto a diversidad de sabores, aromas, aspecto, etc., que son valoradas cada vez más positivamente, al menos en un sector de la población dentro del mundo desarrollado, como ya se comentó anteriormente en la introducción de este trabajo.



3. Material y métodos

3.1. Material vegetal

3.1.1 *Salicornia ramosissima*

Salicornia ramosissima pertenece a la familia *Chenopodiaceae*, familia en la que se incluyen plantas de interés agronómico como la acelga, la remolacha y la espinaca. Comprende poco más de un centenar de géneros y alrededor de un millar y medio de especies repartidas por las regiones templadas y cálidas de casi todo el mundo. En su mayoría están adaptadas a colonizar terrenos salinos (marismas, saladares) o terreno alterados ricos en derivados nitrogenados (escombreras, basureros, barbechos, etc.), donde se acumulan restos vegetales o excrementos de animales (Navarro & Jiménez, 2009).

3.1.1.1 Nombres vulgares

A *Salicornia ramosissima* se le denomina en español alacranera, alacranera de las marismas, coral, hierba de cristal, hierba del jabón, hierba salada, lechuguinas, pollo, polluelo, polluelo ramoso, salicor, salicornia, salicor pollo, sapina, yerba del cristal, yerba del jabón, yerba salada. (Anthos, 2010)



Figura 21. Fotografía de *Salicornia ramosissima* (Anthos, 2010).

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

3.1.1.2 Morfología

Se trata de un arbusto de 30 a 40 cm. Es anual, crasa, purpúreas antes de las ántesis. Tallos erectos, articulados, muy ramificados. Hojas pequeñas opuestas, escuamiformes, soldadas entre sí y con el tallo formando un artejo craso, aparenta no tener hojas. Muchas especies son verdes, pero su follaje torna a rojo en otoño; brácteas similares a las hojas, formando artejos fértiles más o menos cilíndricos. Inflorescencias espiciformes, densas, laterales y terminales, con dos cimas trifloras opuestas en cada segmento, dejando al desprenderse tres oquedades cada una. Perianto trímero, con tépalos soldados, carnosos. Flor central hermafrodita. Estambres (0)1(2); anteras incluidas. Ovario súpero, estigmas 2. Semillas 0,6–1,4 mm, verticales, las de las flores centrales de cada cima mayores que las de las laterales, algo comprimidas, con pelos adpresos uncinados, pardas o verdosas, mates. El fruto es pequeño, suculento que contiene una sola semilla (Navarro & Jiménez, 2009).



Figura 22. *Salicornia ramosissima* (Anthos, 2010).

3.1.1.3 Fenología

Florece de mayo a noviembre con una cierta variación en función de los acontecimientos climatológicos del año. Polinización anemófila (Navarro & Jiménez, 2009).

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

3.1.1.4 Hábitat

Se encuentra en salinas y saladares temporalmente encharcados del litoral y lagunas salobres o salinas del interior, 0–1500 m. Submediterránea. Guadalquivir, Almería, Ronda (Navarro & Jiménez, 2009).

3.1.1.5 Distribución

Se encuentra muy distribuido por la Península Ibérica pero puntualmente en Andalucía, Aragón, Asturias, Castilla y León, Castilla-La Mancha, Cataluña, Extremadura, Galicia, Islas Baleares, Islas Canarias, La Rioja, Madrid, Murcia, Navarra, País Vasco y Valencia (Anthos, 2010).

3.1.1.6 Mapa de distribución

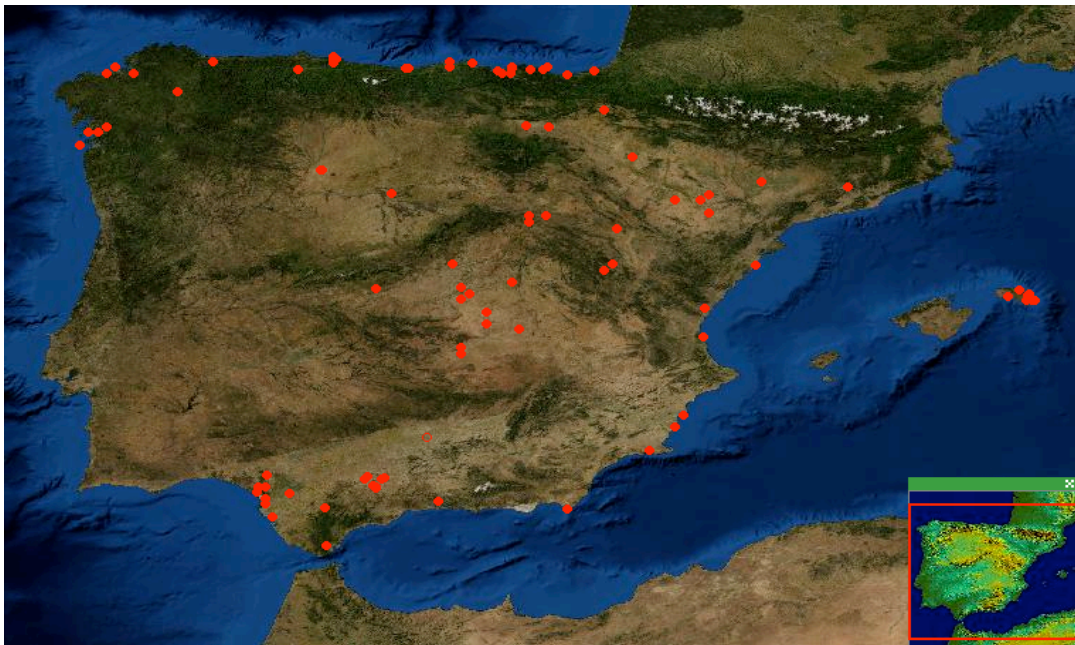


Figura 23. Mapa de distribución de *Salicornia ramosissima* (Anthos, 2010).

3.1.2 *Juncus maritimus* L.

Juncus maritimus pertenece a la familia *Juncaceae*. Se distribuye principalmente por las zonas templadas y frías de ambos hemisferios, siendo raras en zonas tropicales.

3.1.2.1 Nombres vernáculos

A *Juncus maritimus* se le denomina en español junco, junco marino, junco marítimo, junco merino (Anthos, 2010).



Figura 24. Detalle de la inflorescencia de *Juncus maritimus* (Anthos, 2010).

3.1.2.2 Morfología

Es una planta perenne de hasta 100 cm. Contiene un rizoma horizontal, grueso. Los tallos son afilos o con hojas todas basales. Tallos y hojas cilíndricos, parecidos entre sí de 1,5 – 4 mm de diámetro, con ápice punzante; vainas basales pardas y brillantes. Inflorescencia 4 – 9 cm, cimosa, multiflora y laxa, aparentemente lateral; bráctea inferior que contiene un tallo, similar a éste, mayor que la inflorescencia, de ápice punzante. Flores solitarias o en grupos de 2 – 3, sin bractéolas en su base, actinomorfas, hermafroditas, trímeras. Contiene seis tépalos, con ancho margen escarioso, no rígidos, verde–amarillentos o pajizos; los externos 3–3,5 mm, ovados, agudos, cortamente mucronados; los internos más cortos, obtusos, sin aurículas apicales. Estambres (3)6. Cápsulas 3–4 mm, trígono–ovoideas, obtusas o subagudas, mucronadas, brillantes, polispermas. Las semillas son apendiculadas, negras, brillantes e inferiores a 1 mm. (Salazar & Quesada, 2009).



Figura 25. Descripción de *Juncus maritimus*. a. Hábito de la planta; b. Parte superior; c. Inflorescencia; d. Flor en ántesis; e. Tépalos externo; f. Tépalos interno; g. Detalle de la inflorescencia; h. Cápsula con perigonio; i. cápsula (Anthos, 2010).

2.7.2.3. Fenología

El periodo de floración va desde junio a octubre. Su polinización es anemofilia y su dispersión autocoria (Salazar & Quesada, 2009).

2.7.2.4 Hábitat

Se encuentra como vegetación halófila costera y continental (juncales halófilos), 0 –1000 m (Salazar & Quesada, 2009).

2.7.2.5 Distribución

Presente en Europa occidental y central, en la zona mediterránea, norte de África y oeste de Asia. En la Península aparece en todo el litoral e incluso también en lagunas saladares interiores (Anthos, 2010).

2.7.2.6 Mapa de distribución



Figura 26. Mapa de distribución de *Juncus maritimus* (Anthos, 2010).

3.2. Lugar de recogida de semillas

Las semillas de *Salicornia ramosissima* y *Juncus maritimus*, se recolectaron en los humedales de Punta Entinas (Paraje Natural de Punta Entinas-Sabinar), mientras que las de *Juncus maritimus*, también fueron recolectadas en la misma época en las salinas del Cabo de Gata (Parque Natural de Cabo de Gata-Níjar). Ambas localidades pertenecen a la provincia de Almería.



Figura 27. Humedales de Punta Entinas.

3.2.1 Paraje Natural de Punta Entinas-Sabinar.

El Paraje Natural de Punta Entinas-Sabinar se sitúa en el suroeste de la provincia de Almería, entre los términos municipales de Roquetas de Mar y El Ejido. El Paraje Natural se extiende a lo largo de una estrecha franja costera de unos 15 Km de longitud por 2 Km de anchura, entre las urbanizaciones de Roquetas de Mar y Almerimar (El Ejido). El Paraje Natural tiene una extensión de 1960 hectáreas de las cuales 785 están declaradas como Reserva Natural. En virtud de la Ley 2/89, este Paraje fue incluido en el Inventario de Espacios Naturales Protegidos de la Junta de Andalucía (BOJA de 25 de julio 1989). A pesar de haber soportado la presión que ha supuesto la agricultura intensiva bajo plásticos, este punto de la geografía española destaca por su buena conservación. Hay que considerar la gran diversidad de medios existentes (vegetación dunar, vegetación higrófila, saladares, etc.) recogidos por la Directiva Hábitats (92/43/CEE), que permiten a esta área peninsular ser el refugio tanto de aves como de plantas de gran interés, por tratarse de especies endémicas o comunidades poco frecuentes con muy buen estado de conservación. El Paraje Natural Punta Entinas-Sabinar presenta bioclima Mediterráneo xérico-oceánico (el índice de continentalidad es inferior o igual a 21, el índice ombrotémico oscila entre los valores 1 y 2, y el número de meses sin sequía oscila entre 0 y 8). El termotipo es inframediterráneo superior y el ombrotipo semiárido inferior (Giménez Luque *et al*, 2003).

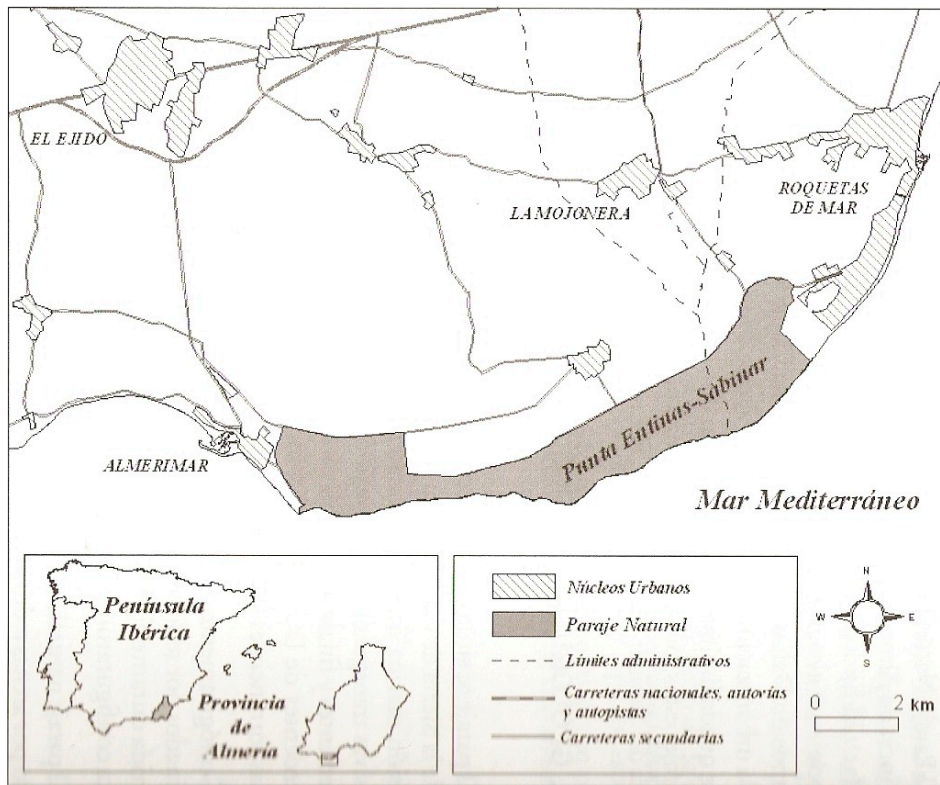


Figura 28. Situación del Paraje Natural de Punta Entinas – Sabinar.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Los materiales geológicos afloran solamente en rocas pertenecientes al Alpujárride, están distribuidos en dos mantos de corrimiento, el denominado Manto de Lújar y el Manto de Murtas. Así mismo, afloran materiales terciarios y cuaternarios no afectados por procesos de corrimientos. Ocasionalmente afloran rocas volcánicas terciarias. Desde el punto de vista morfológico el área está constituida por una gran extensión suavemente ondulada, rodeada al Sur y al Este por el mar y limitada al Norte por los escarpes montañosos de la Sierra de Gádor (Baena & Ewert, 1983).

El clima es representado en esta tabla con sus dos parámetros fundamentales que son la temperatura y precipitación, con una media de temperaturas anual de 18 °C, con una precipitación total anual de 231 mm.

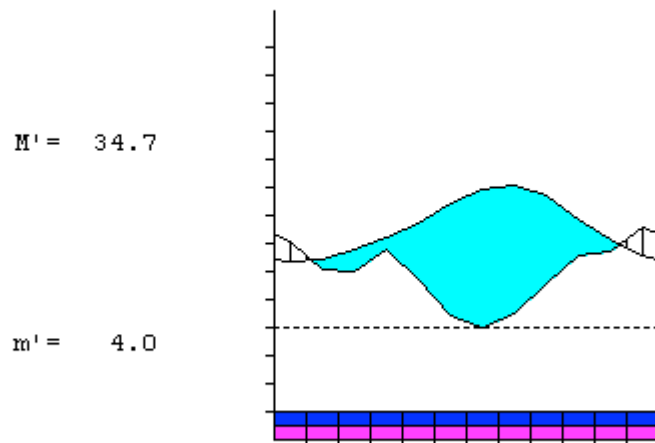
°C/mm	T ^a	P
Enero	11,7	31
Febrero	12,2	21
Marzo	14,1	20
Abril	16,1	28
Mayo	18,4	17
Junio	22,0	4
Julio	24,7	0
Agosto	25,3	5
Septiembre	23,4	16
Octubre	19,3	26
Noviembre	15,6	27
Diciembre	12,8	36
Anual	18,0	231

Tabla 2. Datos de temperatura y precipitación de la estación meteorológica de Almería (Rivas-Martínez & Rivas-Saenz, 1996-2009).

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Los valores máximos corresponden a los meses de julio y agosto y descienden de forma visible en el mes de octubre para alcanzar los valores mínimos durante los meses de diciembre, enero y febrero, aunque tampoco se puede hablar de invierno en sentido climático al no ser de ninguna medida mensual inferior a 6°. La amplitud de la oscilación térmica durante el año es pequeña, debido a la acción termorreguladora del mar Mediterráneo. La distribución de las lluvias y la dinámica de las temperaturas es la típica de un clima mediterráneo.

P= 231	36°50'N	002°27'W	37/37 y.
T= 18	Ic= 13.6	Tp= 2156	Tn= 0
m= 7.9	M= 15.4	Itc= 413	Io= 1.1



MEDITERRANEAN XERIC-OCEANIC
LOW THERMOMEDITERRANEAN LOW SEMIARID

Figura 29. Diagrama bioclimático de la estación meteorológica de Almería (Rivas-Martínez & Rivas-Saenz, 1996-2009).

3.2.2 Parque Natural de Cabo de Gata-Níjar

El Parque Natural marítimo-terrestre de Cabo de Gata-Níjar, está ubicada totalmente en la Provincia de Almería, entre las coordenadas 36° 50' 04,7'' y 36°43' de latitud Norte y 2° 01' y 2° 31' 10,9'' de longitud E según el meridiano de Greenwich. (Aguilar & Fernández, 1990).

Se sitúa en el extremo suroriental de la provincia de Almería, incluye parte de los municipios de Almería, Carboneras y Níjar. Tiene una superficie de 46.000 hectáreas de las cuales 34.000 hectáreas son terrestres y 12.000 hectáreas marítimas (Ministerio del medio ambiente de la Junta de Andalucía, 2010). El Parque Natural de Cabo de Gata-Níjar (Figura 26) presenta bioclima Mediterráneo xérico-oceánico, un termotipo entre termomediterráneo e inframediterráneo y un ombrotipo árido-semiárido.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

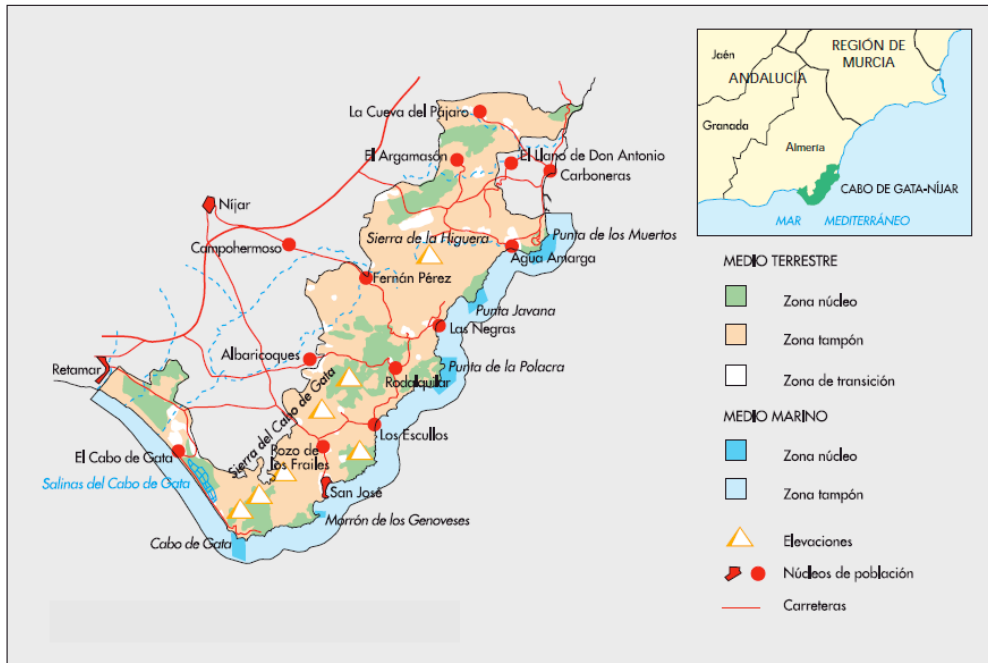


Figura 30. Situación del Parque Natural Cabo de Gata - Níjar.

El área estudiada se sitúa en la zona interna de las Cordilleras Béticas, los materiales geológicos cubren la zona con sedimentos postmantos neógenos, además de volcanismo presente en el área costera que se extiende entre los cabos de Gata y de Palos de Murcia. Estas características geológicas están bien definidas en el área estudiada, aflorando los materiales béticos internos en el ángulo NO, que constituye el borde SE de la Sierra de Gádor; los materiales volcánicos, por su parte, están muy bien representados dando lugar a la Sierra de cabo de Gata; y los sedimentos postmantos neógenos y cuaternarios adquieren su máximo desarrollo en la zona deprimida central (Aguilar y Fernández, 1990).

El clima es representado en esta tabla con sus dos parámetros fundamentales que son la temperatura y precipitación, con una media de temperaturas anual de 17,7 °C, con una precipitación total anual de 268 mm.

°C/mm	T ^a	P
Enero	11,5	32
Febrero	11,8	24
Marzo	13,4	33
Abril	15,0	29

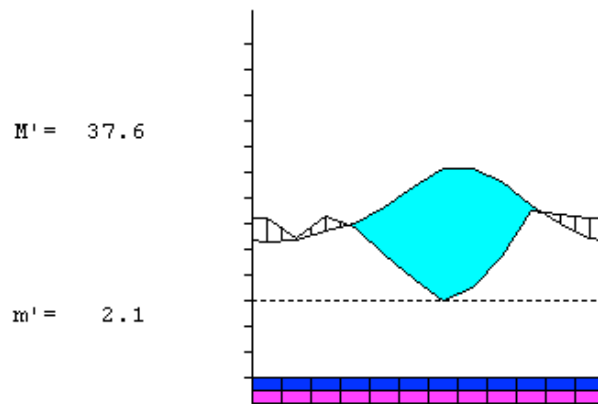
Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Mayo	18,2	18
Junio	22,2	8
Julio	25,6	0
Agosto	25,7	5
Septiembre	23,2	17
Octubre	18,7	35
Noviembre	15,1	34
Diciembre	12,1	32
Anual	17,7	268

Tabla 3. Datos de temperaturas y precipitación de la estación meteorológica de Níjar (Rivas-Martínez & Rivas-Saenz, 1996-2009).

Los valores máximos corresponden a los meses de julio y agosto y descienden de forma visible en el mes de octubre para alcanzar los valores mínimos durante los meses de enero y febrero. La amplitud de la oscilación térmica durante el año es pequeña, debido a la acción termorreguladora del mar Mediterráneo. La distribución de las lluvias y la dinámica de las temperaturas es la típica de un clima mediterráneo.

P= 268 36°58'N 002°12'W 39/30 y.
 T= 18 Ic= 14.2 Tp= 2125 Tn= 0
 m= 5.9 M= 17.0 Itc= 406 Io= 1.3



MEDITERRANEAN XERIC-OCEANIC
 LOW THERMOMEDITERRANEAN LOW SEMIARID

Figura 31. Diagrama bioclimático de la estación meteorológica de Níjar (Rivas-Martínez & Rivas-Saenz, 1996-2009).

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

3.3 Extracción de semillas

3.3.1 Material utilizado para la extracción de semillas:

- Material vegetal seco
- Lupa
- Pinzas
- Lanceta
- Placas de Petri
- Papel de filtro.
- Recipientes herméticos

3.3.2 Método de extracción

La extracción de semillas de las dos especies ha sido sencilla teniendo en cuenta que se desprenden rápidamente al desmenuzar las ramas fructíferas secas de la planta. Se tuvieron el tiempo necesario en laboratorio hasta que secaron y luego procedimos a desmenuzarlas. Las semillas de *Salicornia ramosissima* y *Juncus maritimus* han sido extraídas con ayuda de unas pinzas y lupa. Las semillas de *Juncus maritimus* tuvieron mayor dificultad en el momento de la extracción por su pequeño tamaño.

3.4 Preparación de las muestras

El material vegetal recolectado de los humedales de Cabo de Gata y Punta Entinas-Sabinar se llevó al laboratorio, donde se dejó que se deshidratara sobre papel de filtro. Una vez secado el material vegetal se extrajeron las semillas y se guardaron en botes herméticos con sílica gel (3-6 mm con indicador) para evitar la humedad, en una cámara frigorífica a una temperatura de 8 °C.



Figura 32. Cámara frigorífica con el material vegetal recolectado.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

3.5 Preparación del ensayo

3.5.1 Germinación

3.5.1.1 Material para la germinación

- Placas de Petri de 90 mm de diámetro
- Discos de papel de filtro
- Pipetas
- Agua destilada
- Hipoclorito de sodio
- 25 semillas de *Juncus maritimus* y *Salicornia ramosissima*, por cada placa
- Cámara de germinación con fotoperiodo de 14/10 h (luz/oscuridad), iluminada en su interior una lámpara fluorescente ($25\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$, 400-700 nm)
- Balanza de precisión
- Disoluciones salinas de distinta concentración (0, 100, 200, 400 mM de NaCl)

3.5.1.2 Soluciones salinas

Como fuente de salinidad utilizamos NaCl por ser Cl^- y Na^+ los iones más comunes y abundantes en los suelos salinos y probablemente los más nocivos para la germinación y crecimiento de las plantas. Se plantea un ensayo con cuatro concentraciones salinas, 0, 100, 200 y 400 mM que son las concentraciones más habitualmente empleadas en experiencias similares previas realizadas por diversos autores (Gulzar *et al.*, 2001).

Las soluciones salinas que se emplean para la germinación de las semillas se preparan con sales de calidad R.A. Las soluciones se prepararon de la siguiente manera:

Para la solución de salinidad 0 mM se utilizó agua destilada, considerándose la muestra testigo. Para el resto de las soluciones, se preparan en matraces de 250 ml de 100, 200 y 400 mM:



Figura 33. Peso de NaCl para la realización de la solución salina.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

- 100 mM: Pesamos 1,461 g de sal (NaCl) y enrasamos a 250 ml con agua destilada.
- 200 mM: Pesamos 2,922 g de sal (NaCl) y enrasamos a 250 ml con agua destilada.
- 400 mM: Pesamos 5,844 g de sal (NaCl) y enrasamos a 250 ml con agua destilada.



Figura 34. Material usado para la preparación de las soluciones salinas.

Se le añade 5 ml a cada una de las placas Petri que contienen las soluciones que se utilizan como medio de cultivo de las semillas.

3. 5. 1. 3 Montaje del ensayo de germinación

Para la germinación de las semillas, se dispusieron semillas de cada especie por separado en placas Petri de 90 mm de diámetro con papel de filtro esterilizado. En cada placa echamos 5 ml de solución salina con una pipeta.

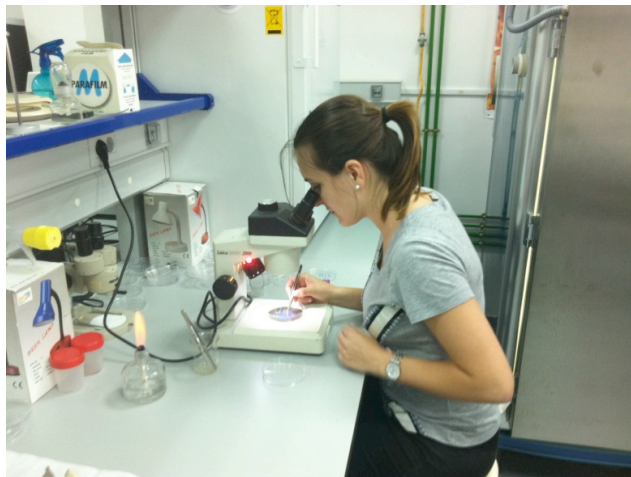


Figura 35. Disposición de las semillas en Placas de Petri.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Se pusieron 25 semillas por placa, antes de ser colocadas en las placas Petri, han sido desinfectadas con una solución de hipoclorito sódico, manteniéndolas en este medio durante 5 minutos y lavadas posteriormente con abundante agua destilada.

Se hicimos 4 repeticiones por solución colocándolas en una cámara de cultivo con un fotoperiodo controlado de 14/10 h luz/oscuridad (25 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{S}^{-1}$, 400-700 nm con lámparas fluorescentes).

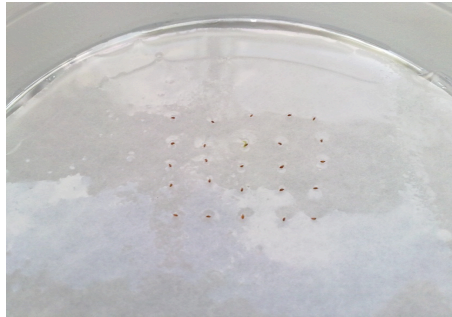


Figura 36. Detalle de la disposición de las semillas en Placas de Petri.

El estudio se hizo con cuatro concentraciones distintas (0, 100, 200 y 400 mM de NaCl), cuyo objetivo era imitar sus condiciones de elevada conductividad eléctrica presentes en el hábitat natural de la planta y cuatro temperaturas diferentes en cada ensayo:

- Primer ensayo: 20/10 °C.
- Segundo ensayo: 25/15 °C.
- Tercer ensayo: 30/20 °C.
- Cuarto ensayo: 35/25 °C.

Cada 2 días se tomó nota de las semillas que habían germinado (cuando emergía la radícula) durante 25 días.

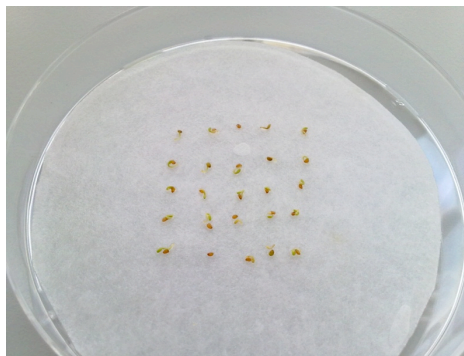


Figura 37. Emergencia de la radícula.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Cuando las placas se encontraron a temperaturas máximas (35/25 °C) se echó 1 ml de solución mM de NaCl para evitar la desecación de las semillas y evitar el aumento de la concentración de NaCl. Al final se calculó el porcentaje de germinación y el tiempo medio de germinación (MGT).

3. 5. 2. Crecimiento

3. 5. 2. 1 Material para el crecimiento

- Macetas troncocónicas
- Sustrato arena de cuarzo de 1 y 2 mm para *Salicornia ramosissima*, y 0,5 y 2 mm para *Juncus maritimus*.
- Cámara de germinación con fotoperiodo de 14/10 h (luz/oscuridad), iluminada en su interior una lámpara fluorescente ($25\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}^1$, 400-700 nm).
- 25 semillas de *Juncus maritimus* y *Salicornia ramosissima*, por cada maceta.
- Hipoclorito de sodio
- Peso
- Bisturí
- Estufa
- Solución salina de distinta concentración.

3. 5. 2. 2 Montaje del ensayo de crecimiento

Una vez conocidas las condiciones de germinación más óptimas se utilizaron para medir el crecimiento de las plantas, para ello se plantaron 25 semillas de *Juncus maritimus* y *Salicornia ramosissima* en macetas troncocónicas con arena de cuarzo.

Se utiliza para esta parte del proyecto arena de cuarzo, ya que como queríamos recuperar las raíces este material nos dio la máxima facilidad para ello ya que no es difícil eliminarlo con un simple lavado

Las macetas fueron desinfectadas con una solución de hipoclorito sódico durante 24 horas y posteriormente lavadas con abundante agua destilada.

En cada maceta pondremos con 900 g de sustrato de cuarzo. En el fondo de la maceta se colocó 300 g de la arena de mayor grosor de 2 mm y la parte superior 600 g de la arena de menor grosor de 1 mm para el caso de *Salicornia ramosissima*, y de 0,5 mm para el caso de *Juncus maritimus* con el fin de evitar que se cueilen las semillas por entre los poros de dicha arena debido a su pequeño tamaño.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.



Figura 38. Sustrato de cuarzo en maceta troncocónica.

Una vez llenas las macetas se siembran 25 semillas de las dos especies, y ya hayan sido desinfectadas con hipoclorito sódico. Con ayuda de unas pinzas se entierran a 2 mm las semillas de *Salicornia ramosissima* y a 1 mm las semillas de *Juncus maritimus*.

El primer riego se realizó con 100 ml de las distintas soluciones (0, 100, 200 y 400 mM) de NaCl.

Se introdujeron las macetas en la cámara de cultivo con un fotoperiodo controlado de 14/10 h (luz/oscuridad) a distinta salinidad y a la temperatura (20/10 °C) que parece la más favorable previamente obtenida en el ensayo de germinación.



Figura 39. Disposición de las macetas en la cámara de cultivo.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Se introducen las macetas en la cámara durante 50 días, se repitió el riego cada 3 días con 50 ml de las distintas soluciones, hasta que consideramos que las plantas tenían un tamaño adecuado para realizar los posteriores estudios de parámetros fisiológicos. Se supone que al desarrollarse en un medio inerte, como es la arena de cuarzo, solo crecen con las reservas de sus cotiledones, por lo tanto 50 días son más que suficientes para que alcancen su desarrollo.



Figura 40. Crecimiento de *Salicornia ramosissima*.

Tras 50 días de cultivo se considero que las plantas tenían el tamaño adecuado para medir el crecimiento de las plantas. Se separaron con ayuda de un bisturí la parte aérea de la parte radical, donde se determinó el peso fresco. Primero pesamos la parte aérea, luego la parte radical y por último, el total.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

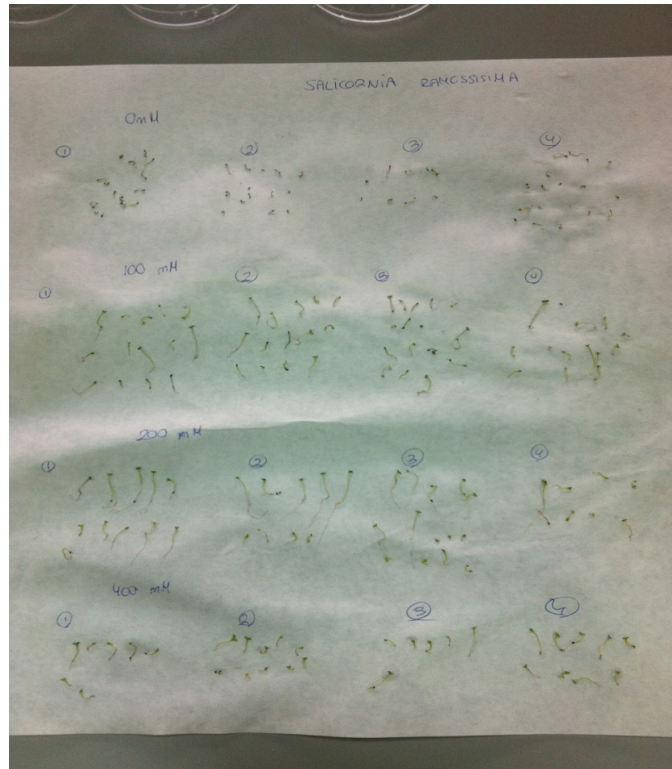


Figura 41. Disposición de las plantas en fresco.

3. 5. 2. 3 Desección del material vegetal

Para la desecación de las plántulas, las introdujimos en una estufa durante 24 horas a 60°.



Figura 42. Placas Petri con el material vegetal dentro de la estufa.

Una vez seco el material vegetal se volvió a pesar, tanto la parte aérea como la parte radical y el total.

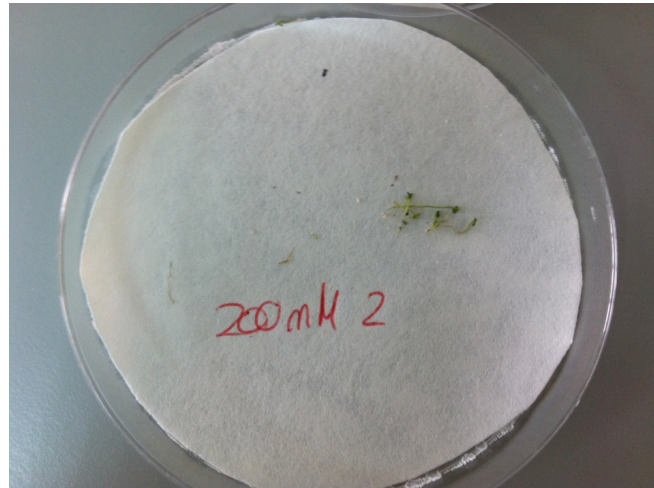


Figura 43. Material vegetal tras la desecación.

3. 6 Análisis de los parámetros medidos

3.6.1 Porcentajes de germinación

El porcentaje de germinación se calculó para cada réplica y viene dado por la relación entre el número de semillas germinadas y el número total de semillas menos las semillas vacías, multiplicado por 100 (Bachetta *et al*, 2008), es decir:

$$\frac{\text{Número de semillas germinadas}}{(\text{Número total de semillas} - \text{Semillas vacías})} \times 100$$

El porcentaje final del ensayo se calculó haciendo la media entre todas las réplicas sometidas a las mismas condiciones de germinación.

3.6.2 Tiempo medio de germinación

Paralelamente también puede ser calculado el tiempo medio de germinación (MGT) medido en días (Tompsett & Pritchard, 1998). Este valor se calcula determinando el número de semillas germinadas cada día, considerando el total de semillas germinadas:

$$\text{MGT} = \frac{\sum n_i d_i}{N}$$

Donde:

n_i : número de semillas germinadas en el día d

d_i : número de días desde el inicio del test de germinación

N : número total de semillas germinadas al final del ensayo.

3. 6. 3 Análisis estadístico de los datos

La ordenación y presentación de los datos se realizó con la hoja de cálculo de Microsoft Excel, que también nos aportó la configuración de tablas y gráficas y nos dio una idea de las tendencias de germinación de las semillas.

En nuestro caso utilizamos el programa informático PASW Statistics 18 para llevar a cabo el análisis estadístico ANOVA, siendo el modelo utilizado aquel que tiene como criterio el número de factores; de tal manera que el análisis realizado será el conocido como ANOVA a dos vías puesto que, nuestras variables independientes serán la temperatura y la salinidad del medio de cultivo.

Esto fue así en el caso del estudio del porcentaje final de germinación y para el tiempo medio de germinación (MGT), los cuales, además, fueron consideradas como variables dependientes.

Por otro lado, para el caso del estudio de los pesos tanto en fresco como en seco de las plantas de *Salicornia ramosissima* y *Juncus maritimus*, se aplicó un análisis ANOVA a una vía, puesto que, en este caso, tan sólo se estableció una variable independiente, a saber, la salinidad, siendo en este caso la variable dependiente aquella relativa tanto a los pesos frescos como a los pesos secos de las plantas en su totalidad, así como de los pesos de la parte aérea como radical de éstas.

Finalmente, la prueba de Tukey (Tukey, 1949) fue usada para detectar diferencias significativas ($< 0,05$) en las comparaciones entre pares de ensayos.

Previamente, la hipótesis de normalidad fue comprobada por la prueba de David (David *et al.*, 1954) y la homogeneidad de las varianzas por la prueba de Cochran (Cochran, 1941).

En los casos del porcentaje de germinación y del tiempo medio de germinación, los datos precisaron una transformación mediante el cálculo del arcoseno puesto que no cumplían una distribución normal.



Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

4. Resultados

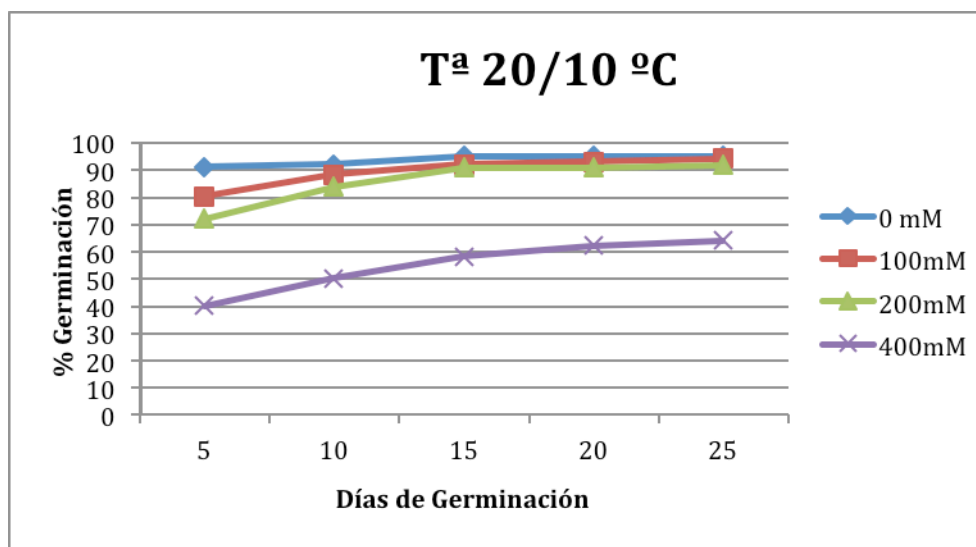
4.1. Efectos de la salinidad y la temperatura sobre los parámetros fisiológicos.

La germinación y el crecimiento de las plantas resultan afectadas por el medio de cultivo con una concentración salina mayor y la temperatura si se sale del rango normal que soporta una plántula afecta a los procesos fisiológicos de la misma.

4.2 Porcentaje de germinación

El porcentaje de germinación de las semillas disminuye en las especies *Juncus maritimus* y *Salicornia ramosissima* cuando hay aumento de la concentración salina.

4.2.1 Porcentaje de germinación en *Salicornia ramosissima*.



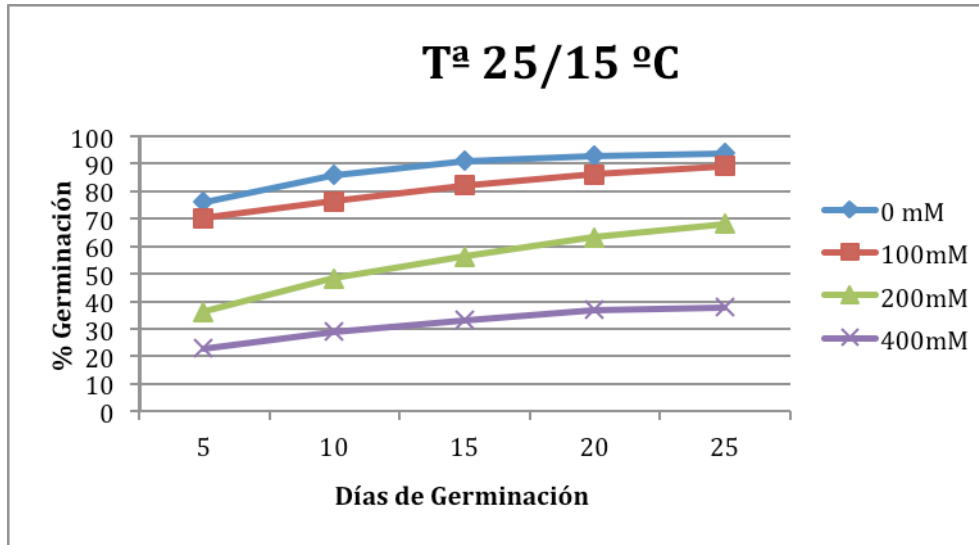
Gráfica 1: Evolución del porcentaje de germinación de *Salicornia ramosissima* a temperaturas 20/10 °C y a distintas concentraciones salinas.

En el primer ensayo (20/10°C) se puede observar que hay una gran diferencia en el porcentaje de germinación entre las disoluciones de 0, 100 y 200 mM y la disolución de 400 mM a lo largo de los veinticinco días de duración del experimento. Se aprecia una notable diferencia de las disoluciones con menor concentración salina con respecto a la concentración que alcanza valores más elevados.

El 95% de las semillas de *Salicornia ramosissima* han germinado a los 5 días de comenzar el ensayo en una disolución de NaCl a 0 mM, seguida con un valor también muy elevado para las de concentración 100 mM con un 80% y las de concentración 200 mM con un 70%. Por el contrario, los valores en la disolución de 400 mM son más bajos, siendo un 40% de germinación a los 5 días de comenzar el ensayo.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Se debe aclarar que la germinación en los primeros 5 días a la concentración de 0 mM se mantuvo casi constante, mientras que en las otras concentraciones hubo un aumento de la germinación de entre un 10 y un 25%.



Gráfica 2: Evolución del porcentaje de germinación de *Salicornia ramosissima* a temperaturas 25/15 °C y a distintas concentraciones salinas.

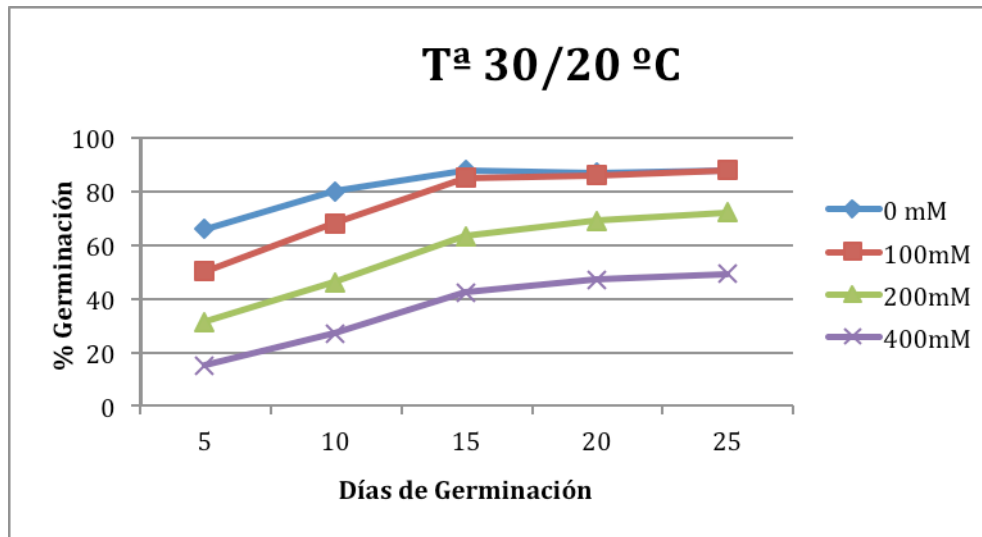
En el segundo ensayo (25/15°C) nos encontramos con una evolución en los porcentajes de germinación inferiores con respecto a la gráfica 1. La germinación en las placas con disoluciones de NaCl de 0 mM y 100 mM es de un 75 y 70% respectivamente a los 5 días de comenzar el ensayo y finalizando con un 94% y 90% de germinación.

La solución 200 mM es la que mayor descenso en cuanto a germinación ha sufrido con respecto al ensayo anterior; comenzando con un 35% el quinto día y finalizando con un 58%.

La disolución de 400 mM ha tenido también un descenso respecto al ensayo anterior, comenzando en los primeros 5 días de ensayo con un 23% y terminando con un 38%.

En todas las soluciones tratadas no se alcanza el máximo en el porcentaje de germinación hasta llegar al final del ensayo.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.



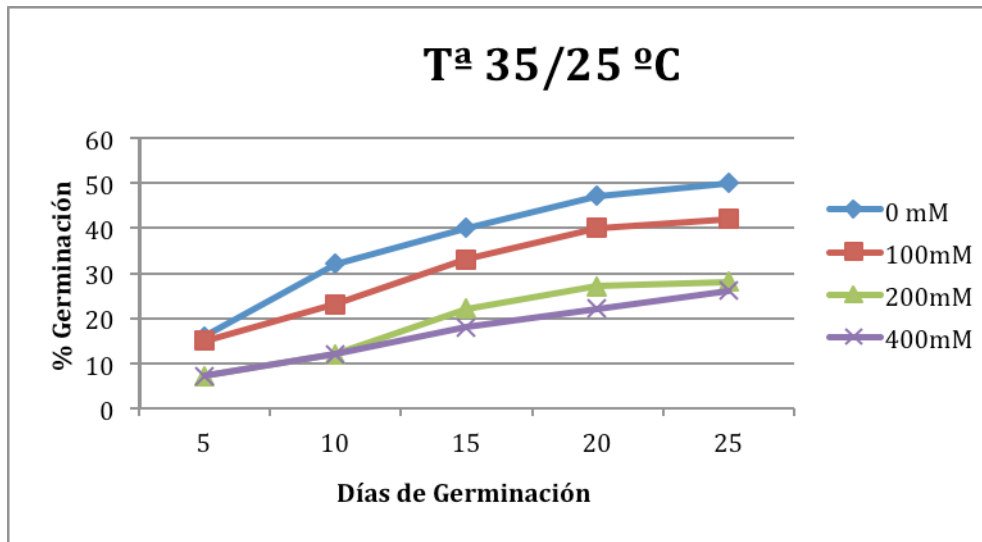
Gráfica 3: Evolución del porcentaje de germinación de *Salicornia ramosissima* a temperaturas 30/20 °C y a distintas concentraciones salinas.

El tercer ensayo, con un rango de temperatura 30/20 °C, Gráfica 3, define más claramente que a mayor concentración salina menos porcentaje de germinación en los primeros 5 días de ensayo, siendo las diferenciadas significativas entre las distintas salinidades.

Al iniciar el ensayo a los 5 días, las concentraciones de 0 mM y 100 mM se diferencian en un 68 y 50% respectivamente pero al finalizar a los 25 días de ensayo se igualan a un 88 % de germinación, por lo tanto una baja concentración salina de NaCl no afecta nada al porcentaje de germinación de *Salicornia ramosissima*.

En las concentraciones de 200 mM y 400 mM, se mantiene estable con respecto el ensayo anterior con un 30 y 15% de germinación en los primeros 5 días de ensayo y finalizando con un 70% y 50% respectivamente.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

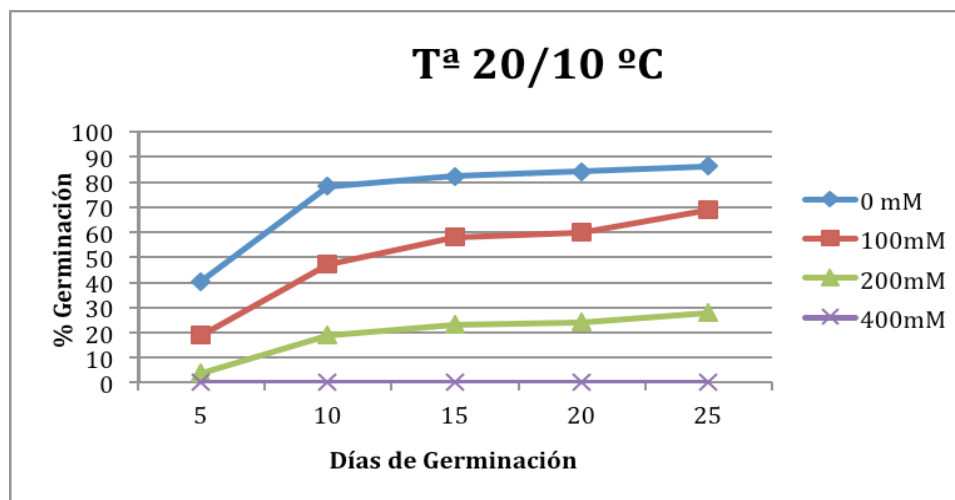


Gráfica 4: Evolución del porcentaje de germinación de *Salicornia ramosissima* a temperaturas 35/25 °C y a distintas concentraciones salinas.

En el último ensayo (35/25°C), Gráfica 4, las concentraciones de 0 mM y 100 mM se igualan con un 15% de germinación en los primeros 5 días del ensayo, luego finalizan con un 50% y un 42% respectivamente. Estas temperaturas afectan de modo significativo a la evolución en el porcentaje de germinación independientemente de la concentración salina.

Las concentraciones de 200 mM y 400 mM se igualan entre los primeros 10 días de ensayo, luego varían un poco entre los siguientes días pero terminan el ensayo con un porcentaje del 27-28% de germinación.

4.2.2 Porcentaje de germinación en *Juncus maritimus*.



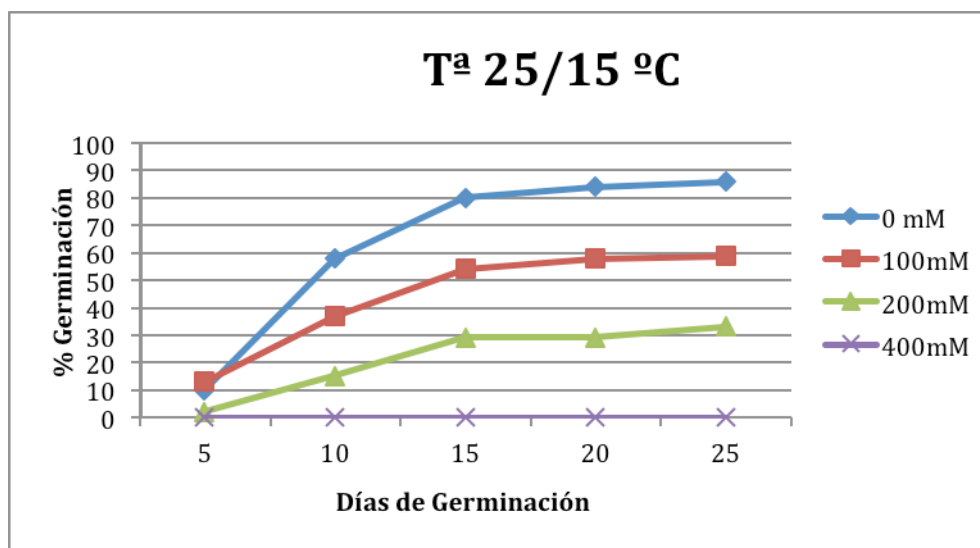
Gráfica 5: Evolución del porcentaje de germinación de *Juncus maritimus* a temperaturas 20/10 °C y a distintas concentraciones salinas.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

En el primer ensayo (20/10 °C), Gráfica 5, las concentraciones de 0 mM a los primeros 5 días empezó con un 40% de germinación, con un salto hasta el 80 % a los siguientes 5 días y finalizando con un 85% mantendiéndose casi estable en los últimos 15 días del ensayo.

Las concentraciones de 100 mM y 200 mM empiezan con un 20% y un 3% respectivamente, con un aumento gradual hasta finalizar con un 70% y un 38% de germinación.

En la solución de NaCl con una concentración de 400 mM, hizo no germinar ninguna semilla durante los 25 días del ensayo.

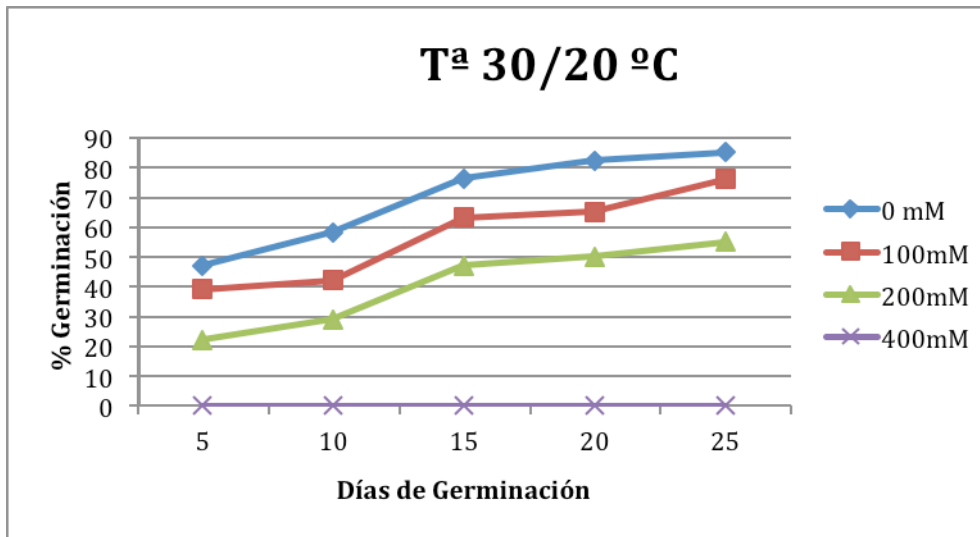


Gráfica 6: Evolución del porcentaje de germinación de *Juncus maritimus* a temperaturas 25/15 °C y a distintas concentraciones salinas.

En el segundo ensayo (25/15 °C), Gráfica 6, las concentraciones de 0 mM y 100 mM inician la germinación en los primeros 5 días con un 12% finalizando con un aumento gradual en un 85% y 60% de germinación, respectivamente.

En la concentración de 200 mM no hubo germinación en los primeros 5 días de ensayo, posteriormente hubo un aumento de un 30% de germinación a los 15 días de ensayo y que se mantuvo hasta finalizar los 25 días del experimento. En la concentración de 400 mM no hubo germinación.

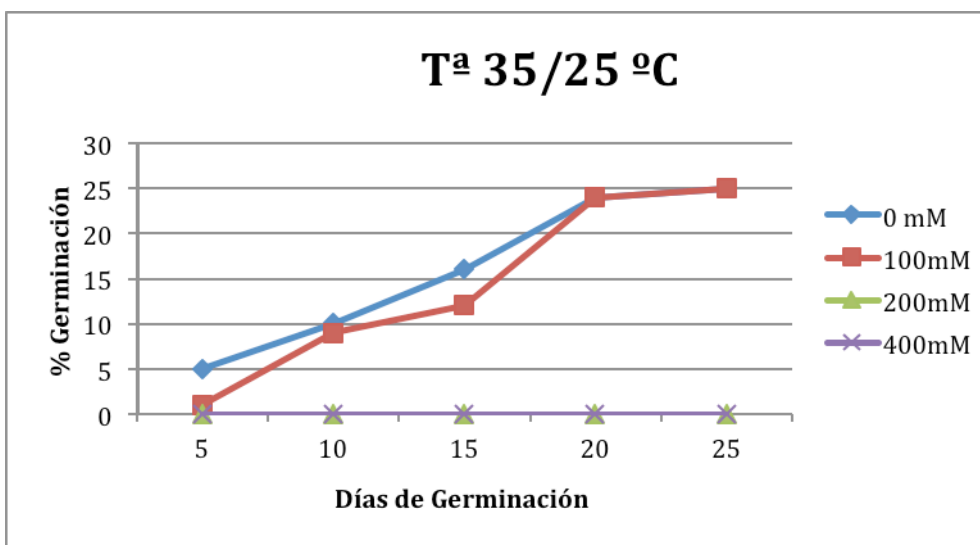
Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.



Gráfica 7: Evolución del porcentaje de germinación de *Juncus maritimus* a temperaturas 30/20 °C y a distintas concentraciones salinas.

En el tercer ensayo (30/20 °C), Gráfica 7, hay mayor germinación que en el segundo ensayo, las concentraciones de 0 mM, 100 mM y 200 mM tuvieron en los primeros 5 días de ensayo una germinación de 48%, 40% y 22%, respectivamente y finalizando con un aumento gradual de 85%, 78% y 53% respectivamente, con respecto al porcentaje de germinación.

Las semillas de *Juncus maritimus* no germinan en la solución de NaCl con una concentración de 400 mM, a lo largo de los 25 días del ensayo.



Gráfica 8: Evolución del porcentaje de germinación de *Juncus maritimus* a temperaturas 35/25 °C y a distintas concentraciones salinas.

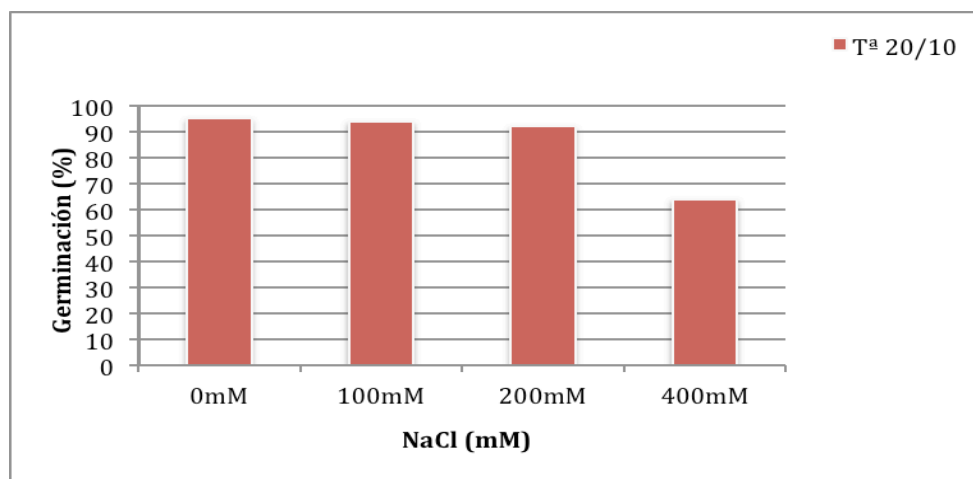
Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

En el último ensayo (35/25 °C), Gráfica 8, se produce un descenso significativo en la evolución de la germinación, la única concentración que germina en los primeros 5 días es la de 0 mM, y a lo largo de los siguientes 5 días germina la concentración de 100 mM finalizando las dos concentraciones con un 25% de germinación. Las semillas de *Juncus maritimus* no germinan a las concentraciones de 200 mM y 400 mM de NaCl en los 25 días de duración del ensayo.

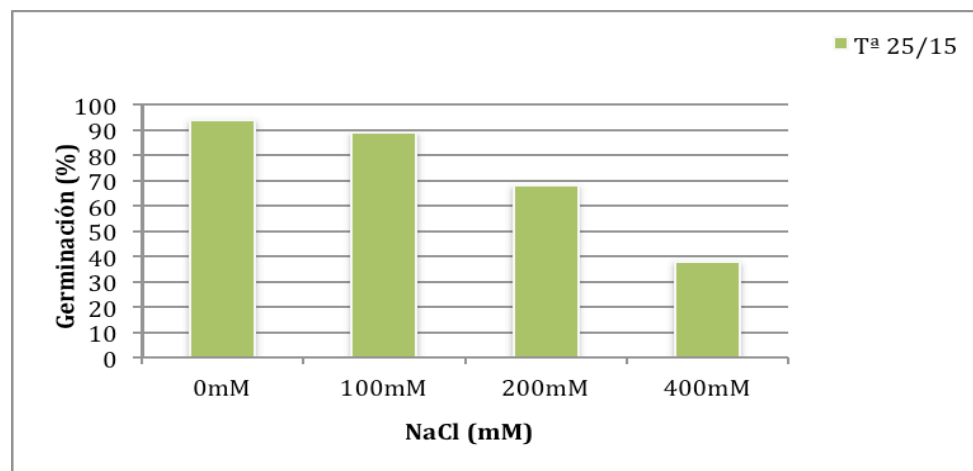
4.3 Porcentaje final de germinación en cada ensayo

En los siguientes diagramas de barras, estudiaremos el porcentaje de germinación total alcanzado al final de los 25 días de experimento.

4.3.1 Porcentaje final de germinación de *Salicornia ramosissima*.

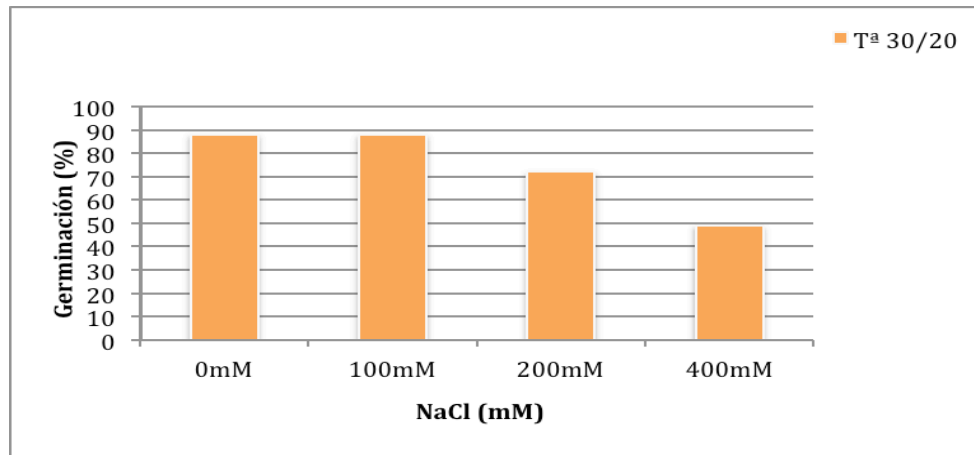


Gráfica 9: Representación del porcentaje de germinación total de *Salicornia ramosissima* para cada concentración salina al final del ensayo correspondiente a las temperaturas de 20/10 °C.



Gráfica 10: Representación del porcentaje de germinación total de *Salicornia ramosissima* para cada concentración salina al final del ensayo correspondiente a las temperaturas de 25/15 °C.

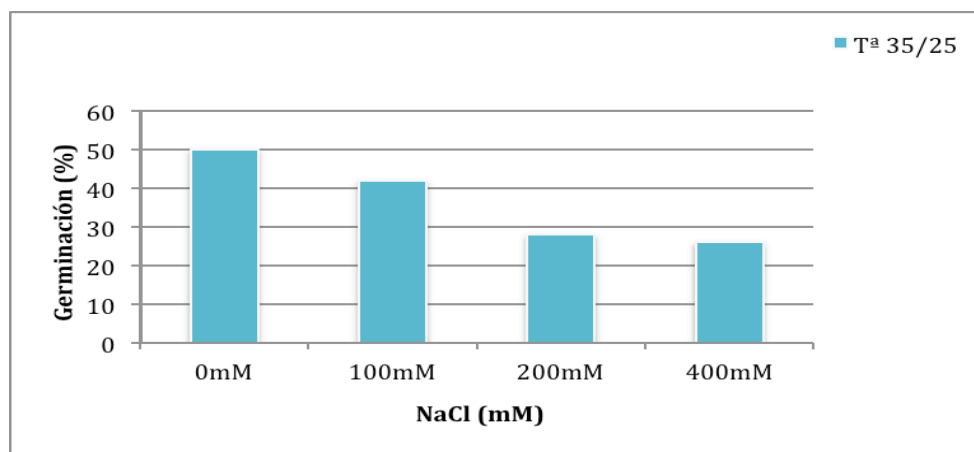
Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.



Gráfica 11: Representación del porcentaje de germinación total de *Salicornia ramosissima* para cada concentración salina al final del ensayo correspondiente a las temperaturas de 30/20 °C.

En los tres primeros ensayos (20/10 °C, 25/15 °C y 30/20 °C), Gráficas 9, 10 y 11, se ve claramente una cierta similitud del porcentaje final de germinación. Se observa una disminución en el porcentaje de germinación de *Salicornia ramosissima* con el aumento de la salinidad

Las soluciones de NaCl con concentración 0 mM y 100 mM está alrededor del 90% final de germinación, la concentración de 200 mM en el primer ensayo se encuentra también en el 90% y, en el segundo y tercer ensayo, está en un 70% en el porcentaje final de germinación. La concentración de 400 mM en el primer ensayo tiene un porcentaje final de germinación de un 62%, en el segundo ensayo un 36% y en el tercer ensayo un 48%.

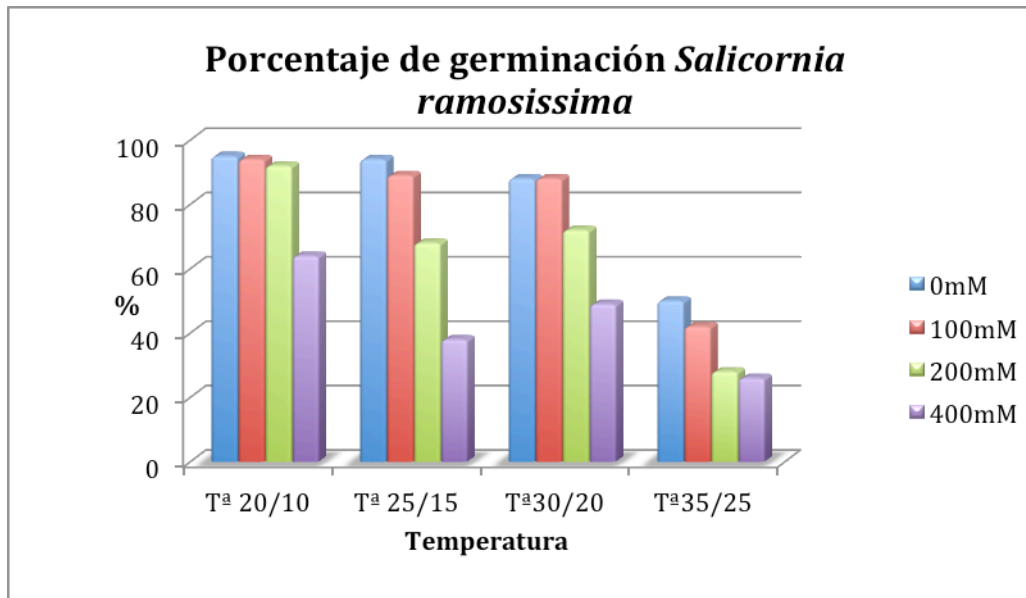


Gráfica 12: Representación del porcentaje de germinación total de *Salicornia ramosissima* para cada concentración salina al final del ensayo correspondiente a las temperaturas de 35/25 °C.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

En el último ensayo (35/25 °C), Gáfica 12, se producen descensos significativos en el porcentaje de germinación final, con respecto a los otros regímenes de temperatura, en todas las soluciones salinas. Las semillas de *Salicornia ramosissima* no supera el 50% en el porcentaje de germinación final a ninguna concentración estudiada. El porcentaje de germinación final más alto es el alcanzado por las semillas de *Salicornia ramosissima* que son cultivadas en ausencia de salinidad (0 mM). La concentración 100 mM produce un porcentaje de germinación final del 40%, la concentración de 200 mM del 28% y por último, la concentración de 400 mM del 25%.

Se ha observado claramente, que a mayor concentración salina y mayor temperatura, disminuye considerablemente el porcentaje final de germinación.

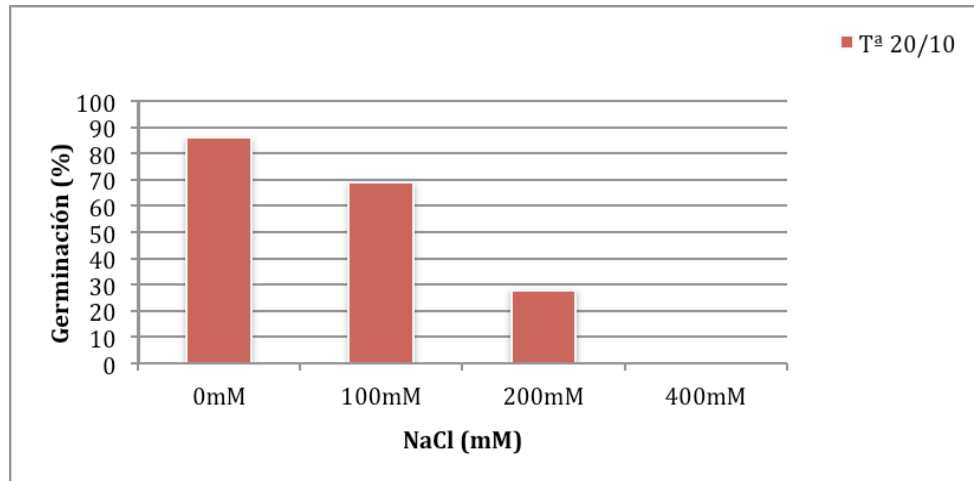


Gráfica 13: Comparativa de los porcentajes de germinación finales de *Salicornia ramosissima* para cada una de las concentraciones salinas obtenidos en cada uno de los ensayos realizados (20/10 °C, 25/15 °C, 30/20 °C y 35/25 °C).

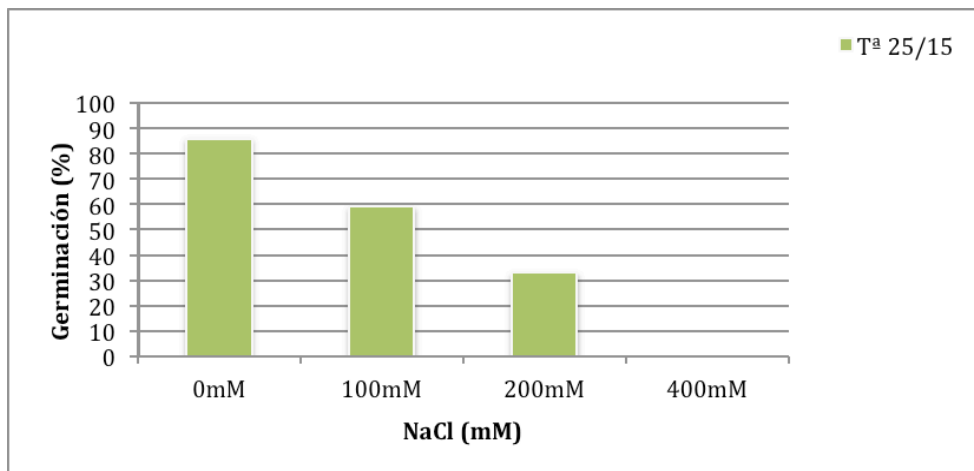
En la Gráfica 13 se analizan conjuntamente los efectos de la salinidad y los distintos rangos de temperatura en el porcentaje de germinación final de las semillas de *Salicornia ramosissima*. Se ha observado claramente, que a mayor concentración salina y mayor temperatura, disminuye considerablemente el porcentaje final de germinación. Se alcanzan siempre los mayores porcentajes germinación en aquellas semillas que son cultivadas en ausencia de salinidad (0 mM) y las temperaturas 20/10 °C y 25/15 °C. La salinidad más alta (400 mM de NaCl) presenta los valores más bajos en el porcentaje de germinación de las semillas de *Salicornia ramosissima*.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

4.3.2 Porcentaje final de germinación de *Juncus maritimus*.



Gráfica 14: Representación del porcentaje de germinación total de *Juncus maritimus* para cada concentración salina al final del ensayo correspondiente a las temperaturas de 20/10 °C.



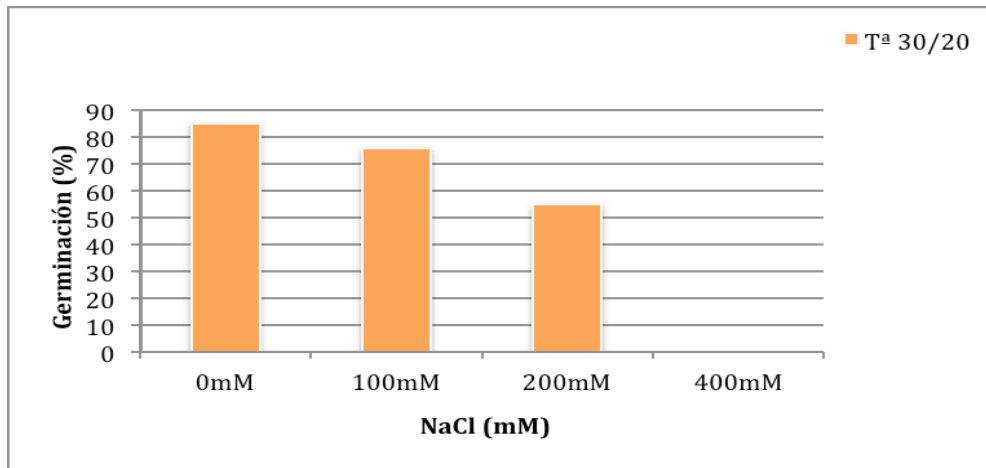
Gráfica 15: Representación del porcentaje de germinación total de *Juncus maritimus* para cada concentración salina al final del ensayo correspondiente a las temperaturas de 25/15 °C.

En los primeros ensayos (20/10°C y 25/15°C), Gráficas 14 y 15, se observa que el comportamiento de las semillas de *Juncus maritimus* con respecto al porcentaje de germinación final es muy similar.

El porcentaje de germinación final de las semillas de *Juncus maritimus* es máximo cuando se cultiva en ausencia de salinidad (0 mM de NaCl), alcanzándose valores del 85% en el primer ensayo y del 84% en el segundo. Dicho porcentaje final de germinación va disminuyendo progresivamente conforme la concentración salina del medio de cultivo va aumentando, encontrándonos con una germinación del 69% y 29% en las disoluciones de 100 y 200 mM respectivamente en el primer ensayo, y del 59% y 31% para las mismas soluciones en el segundo ensayo. En una concentración salina de

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

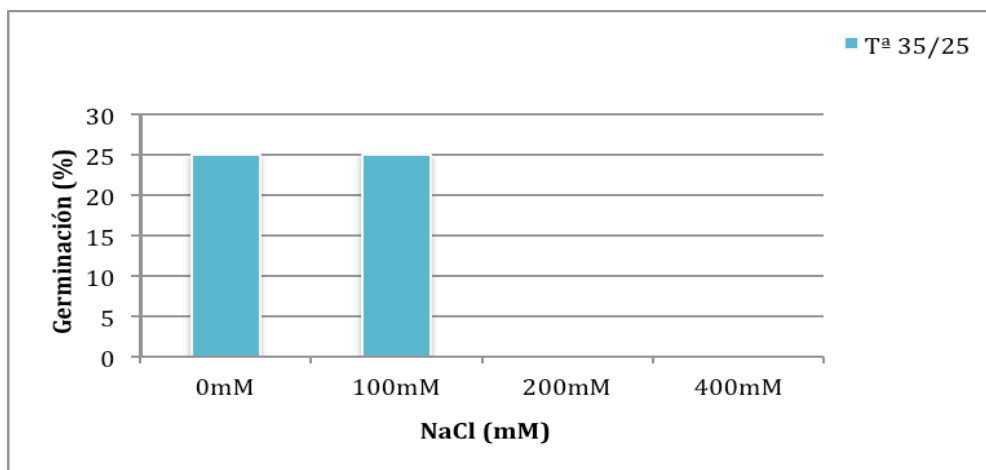
400 mM de NaCl no se observa ninguna germinación en las semillas de *Juncus maritimus*.



Gráfica 16: Representación del porcentaje de germinación total de *Juncus maritimus* para cada concentración salina al final del ensayo correspondiente a las temperaturas de 30/20 °C.

En el tercer ensayo (30/20°C), Gráfica 16, la evolución es similar a la de los ensayos anteriores.

En ausencia de salinidad (0 mM de NaCl) las semillas de *Juncus maritimus* alcanzan un porcentaje final de germinación de un 84%, valores idénticos a los alcanzados en los dos anteriores regímenes de temperatura. Podemos observar, además, que el porcentaje de germinación de estas semillas es del 75% y 54% en las soluciones de 100 y 200 mM respectivamente, valores superiores a los alcanzados en los anteriores regímenes de temperatura. De nuevo en este ensayo las semillas que fueron cultivadas a una salinidad superior (400 mM) no germinaron.

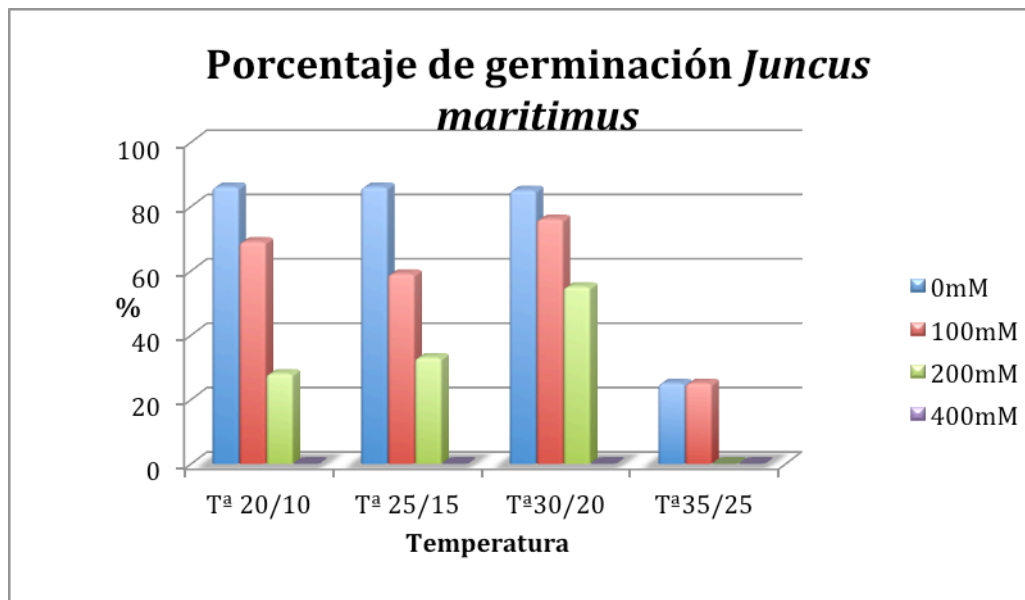


Gráfica 17: Representación del porcentaje de germinación total de *Juncus maritimus* para cada concentración salina al final del ensayo correspondiente a las temperaturas de 35/25 °C.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

En el último ensayo (35/25 °C), Gráfica 17, se observa un descenso muy acusado en el porcentaje final de germinación donde las concentraciones de 0 mM y 100 mM solo alcanzan un 25% de semillas germinadas al final del ensayo y en las concentraciones de 200 y 400 mM, las semillas de *Juncus maritimus* no llegan a germinar.

En la Gráfica 18 se analizan conjuntamente los efectos de la salinidad y los distintos rangos de temperatura en el porcentaje de germinación final de las semillas de *Juncus maritimus*. Se ha observado, claramente, que a mayor concentración salina disminuye considerablemente el porcentaje de germinación final. Pero el aumento de la salinidad no sigue el mismo patrón que en el caso de *Salicornia ramosissima*.



Gráfica 18: Comparativa de los porcentajes de germinación finales de *Juncus maritimus* para cada una de las concentraciones salinas obtenidos en cada uno de los ensayos realizados (20/10 °C, 25/15 °C, 30/20 °C y 35/25 °C).

Se alcanzan siempre los mayores porcentajes de germinación en aquellas semillas que son cultivadas en ausencia de salinidad (0 mM de NaCl) a temperaturas 20/10 °C, 25/15 °C y 30/20 °C, con valores próximos al 85 % de semillas germinadas. Solo un rango de temperatura más alta 35/25 °C afecta de forma significativa a los porcentajes de germinación de las semillas de *Juncus maritimus*.

El aumento de la concentración salina del medio (100 y 200 mM) provoca descensos en el porcentaje de germinación de aquellas semillas que se cultivan a temperaturas de 20/10 y 25/15 °C alcanzando valores del 69 y 29% para la primera temperatura y del 59 y 31% en la segunda, pero a un régimen de temperatura de 30/20 °C se produce un aumento en el porcentaje de germinación de estas dos concentraciones salinas alcanzándose valores del 75 y 54% respectivamente. A una temperatura superior

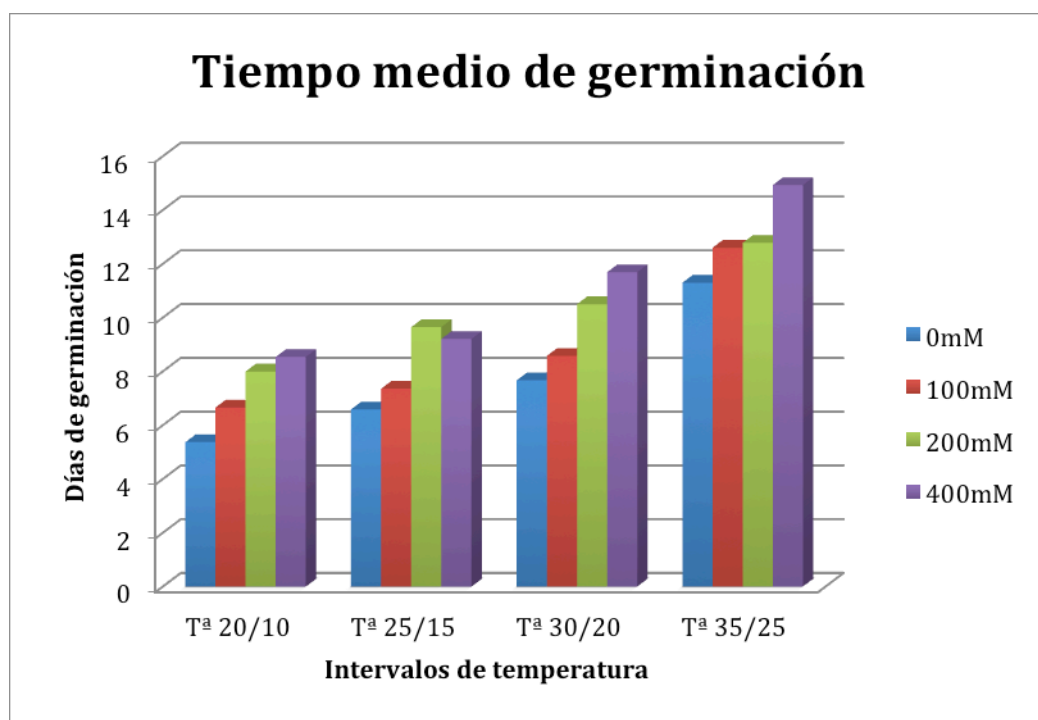
Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

del 35/30 °C el porcentaje de germinación de las semillas de *Juncus maritimus* se ve afectado de forma significativa alcanzándose valores del 25% en una concentración salina de 100 mM y del 0% para una salinidad de 200 mM.

Por otra parte, la germinación de semillas de *Juncus maritimus* ha sido nula a concentración salina de 400 mM y a todas las temperaturas. *Juncus maritimus* además bajo esta concentración salina es incapaz de germinar independientemente del valor de la temperatura.

4.4. Tiempo medio de germinación y análisis estadístico.

4.4.1 Tiempo medio de germinación y análisis estadístico en *Salicornia ramosissima*



Gráfica 19: Comparativa de los tiempos medios de germinación de *Salicornia ramosissima* para cada una de las concentraciones salinas obtenidos en cada uno de los ensayos realizados (20/10 °C, 25/15 °C, 30/20 °C y 35/25 °C).

En el diagrama de barras, Gráfica 19, podemos observar el tiempo medio de germinación de las semillas de *Salicornia ramosissima* en cada ensayo y en las diferentes disoluciones salinas a las que han sido sometidas en cada uno de ellos. De modo que podemos obtener así también una idea de la velocidad a la que germinan dichas semillas en cada caso.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

En las soluciones de 0 mM, con las temperaturas 20/10 °C, 25/15 °C y 30/20 °C se produce la germinación a una velocidad considerablemente mayor, siendo su tiempo medio de germinación menor que en el resto de las salinidades.

Las semillas dispuestas en soluciones a 100, 200 y 400 mM tienen un comportamiento similar al anterior, aumentando el tiempo medio de germinación conforme aumenta la temperatura.

Por tanto el tiempo medio de germinación aumenta, de forma general, con la concentración salina del medio y con el aumento de la temperatura.

Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	Sig.
Modelo corregido	1190,140 ^a	15	79,343	,000
Intersección	295740,192	1	295740,192	,000
T	1025,765	3	341,922	,000
S	23,078	3	7,693	,797
T * S	141,297	9	15,700	,712
Error	1088,522	48	22,678	
Total	298018,854	64		
Total corregida	2278,662	63		

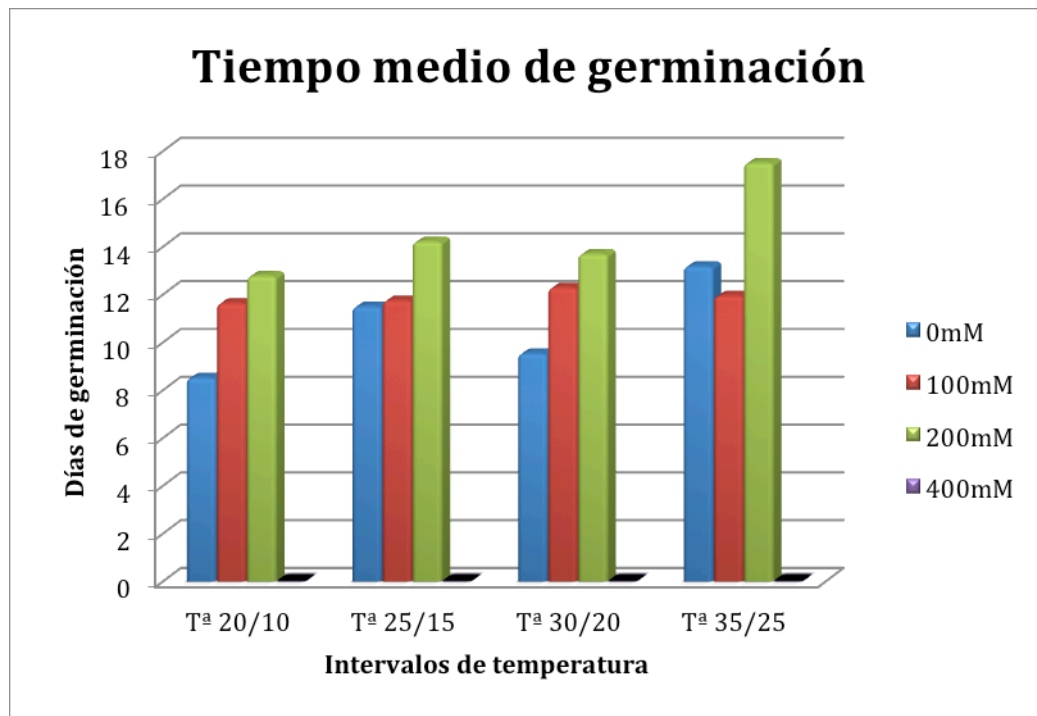
a. R cuadrado = ,522 (R cuadrado corregida = ,373). Donde gl = grados de libertad y F= valor estadístico de contraste.

Tabla 4. Efecto de la temperatura y salinidad sobre la germinación de *Salicornia ramosissima*. Se muestra el ANOVA a dos vías para el porcentaje de germinación.

En la Tabla 4 se observa que la temperatura (T), muestran un valor de significación (Sig) inferior al 0,05; de modo que existe una correlación positiva entre la germinación y la variable dependiente de la temperatura.

Por otra parte, observamos que, la salinidad (S) y el conjunto de ambas (T*S), muestran un valor de significación (Sig.) superior al 0,05; por lo que no existe una correlación positiva entre la germinación y las variables dependientes de la salinidad y el conjunto de la temperatura y la salinidad.

4.4.2 Tiempo medio de germinación y análisis estadístico en *Juncus maritimus*



Gráfica 20: Comparativa de los tiempos medios de germinación de *Juncus maritimus* para cada una de las concentraciones salinas obtenidos en cada uno de los ensayos realizados (20/10 °C, 25/15 °C, 30/20 °C y 35/25 °C).

En la Gráfica 20 podemos observar el tiempo medio de germinación, obteniendo así también una idea de la velocidad a la que germinan las semillas *Juncus maritimus* en cada caso.

En ausencia de salinidad (0 mM), las semillas ha tenido un menor tiempo medio de germinación con la temperatura 20/10 °C del primer ensayo, aumentando levemente en el tercer ensayo y aumentando de forma más significativa en los rangos de temperatura de 25/15 °C y 35/25 °C. Por tanto en este caso el tiempo medio de germinación no sigue una correlación.

Las semillas cultivadas a la concentración de 100 mM, aumenta levemente el tiempo medio de germinación con las temperaturas 20/10 °C, 25/15 °C y 30/20 °C disminuyendo el número de días en el ultimo ensayo con la temperatura 35/25 °C. Estas disminuciones no son significativas.

En la solución de 200 mM, en los dos primeros ensayos (20/10 °C, 25/15 °C) hay un tiempo medio de germinación que aumenta, disminuye levemente el tercer ensayo (30/20 °C) pero no de forma significativa y aumentando de nuevo de forma considerable en el cuarto ensayo (35/25 °C).

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Las semillas de *Juncus maritimus* no han germinado a una concentración de 400 mM, en ninguno de los regímenes de temperaturas estudiados. Por lo tanto no se ha podido medir este valor.

Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	Sig.
Modelo corregido	3830,703 ^a	15	255,380	,998
Intersección	127115,424	1	127115,424	,000
T	2869,793	3	956,598	,452
S	389,783	3	129,928	,947
T * S	571,127	9	63,459	1,000
Error	51428,005	48	1071,417	
Total	182374,132	64		
Total corregida	55258,709	63		

R cuadrado = ,069 (R cuadrado corregida = -,222). Donde gl = grados de libertad y F= valor estadístico de contraste.

Tabla 5. Efecto de la temperatura y salinidad sobre la germinación de *Juncus maritimus*. Se muestra el ANOVA a dos vías para el porcentaje de germinación.

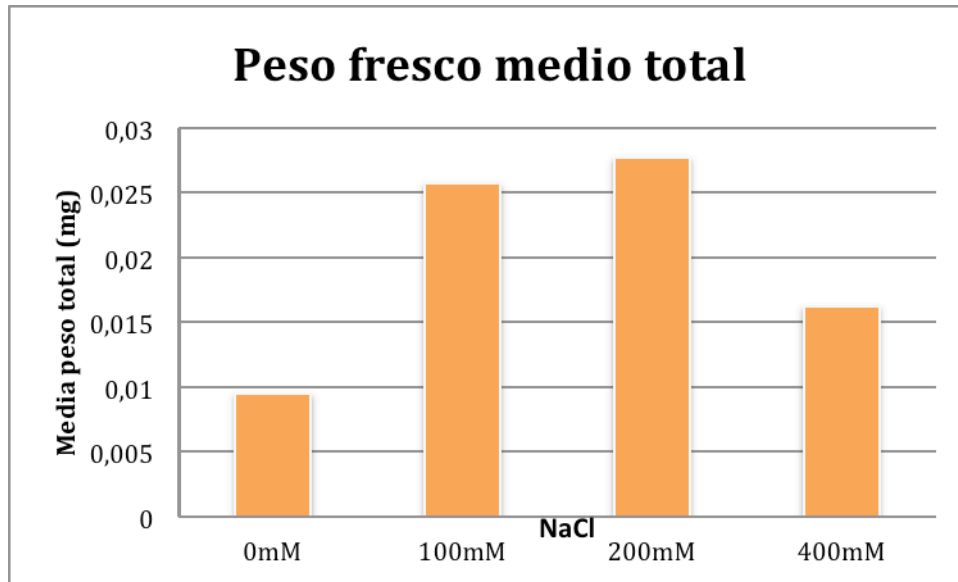
En la Tabla 15 se puede observar que, tanto la temperatura (T), como la salinidad (S) y el conjunto de ambas (T*S) no muestran un valor de significación (Sig.) inferior al 0,05; de modo que no existe una correlación positiva entre la germinación y las variables independientes introducidas.

4.5 Medidas del peso fresco y análisis estadístico.

Tras lo observado en los estudios anteriores, las temperaturas con mayor éxito germinativo en las dos especies halófitas fue a las temperaturas de 20/10 °C.

Debido a esto, el ensayo llevado a cabo en macetas troncocónicas se realizó con este mismo rango de temperaturas, obteniéndose los resultados que a continuación se exponen tras los 50 días que duró el experimento.

4.5.1 Medidas del peso fresco y análisis estadístico en *Salicornia ramosissima*



Gráfica 21: Representación de las medias de los pesos frescos totales de *Salicornia ramosissima* para cada una de las concentraciones salinas.

En primer lugar se pesaron de forma conjunta todas aquellas plantas que habían germinado en la misma maceta. Ya que el ensayo consistía en tratar con la misma disolución salina cuatro macetas troncocónicas con 25 semillas cada una, se procedió a obtener la media de los pesos de las plantas germinadas para cada grupo de macetas regadas con la misma concentración de NaCl.

En la Gráfica 21, representa las medias del peso fresco total de las plántulas a distintos niveles salinos. Se puede observar claramente que el peso fresco de las plántulas de *Salicornia ramosissima* aumenta en función de la concentración salina hasta un valor de 200 mM, pero por el contrario, disminuyendo con la concentración de 400 mM, pero a esta salinidad alcanza valores superiores que los obtenidos en ausencia de salinidad.

Así, el mayor peso se alcanza en aquellas plántulas regadas con agua con una solución salina de 200 mM con una media de 0,02775 mg, siendo considerable la diferencia con el peso de aquellas tratadas a una concentración 0, 100 y 400 mM con unas medidas de 0,02575 mg, 0,02575 mg y 0,01625 respectivamente.

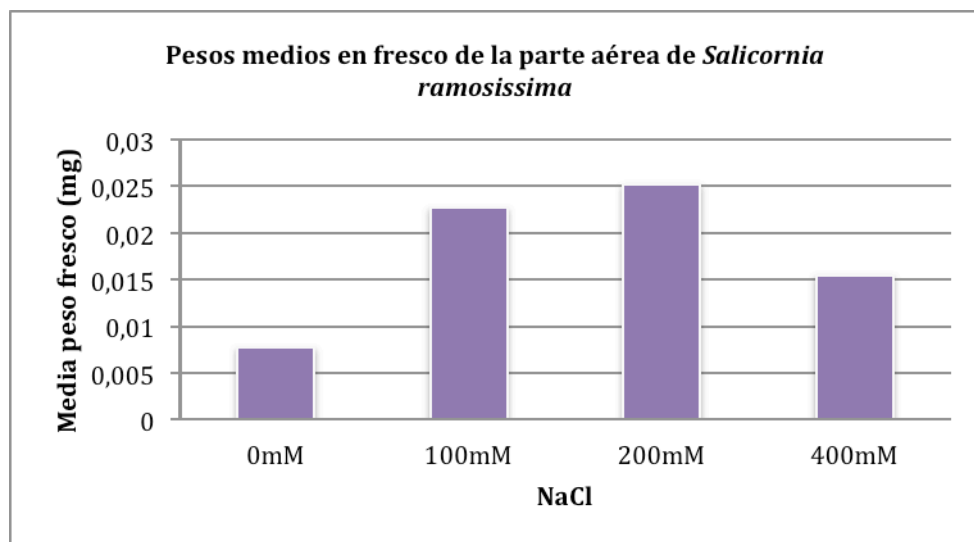
Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Origen	Suma de cuadrados	gl	F	Sig.
Modelo corregido	,001 ^a	3	17,569	,000
Intersección	,007	1	286,201	,000
Salinidad	,001	3	17,569	,000
Error	,000	12		
Total	,008	16		
Total corregida	,002	15		

R cuadrado = ,815 (R cuadrado corregida = ,768) Donde gl = grados de libertad y F = valor estadístico de contraste.

Tabla 6. Efecto de la salinidad sobre el peso medio fresco total en *Salicornia ramosissima*.

En la Tabla 6 se representa la interacción entre la salinidad y el peso fresco medio total de *Salicornia ramosissima*, se puede comprobar que los valores de significación son inferiores a 0,05, lo cual nos indica, que existe una correlación positiva entre la salinidad y el peso calculado.



Gráfica 22: Representación de las medias del peso fresco de la parte aérea de *Salicornia ramosissima* para cada una de las concentraciones salinas.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Tras calcular el peso en fresco de las plantas, el siguiente paso consistió en separar la parte aérea de la parte radical con el fin de repetir el procedimiento anterior pero de forma separada.

En la Gráfica 22 se observa que el peso medio total, un aumento gradual de 0 mM a 200 mM y luego disminuye en 400 mM.

Las plántulas con mayor peso correspondieron a las tratadas con concentración 200 mM, con un peso medio de 0,02525 mg, seguidas de las regadas con la solución de 100 mM con un peso de 0,02275 mg, seguido por último de las sometidas a concentraciones de salinidad de 400 mM con un peso medio total de 0,0155 mg y finalmente las de 0 mM con un peso medio total de 0,00775 mg.

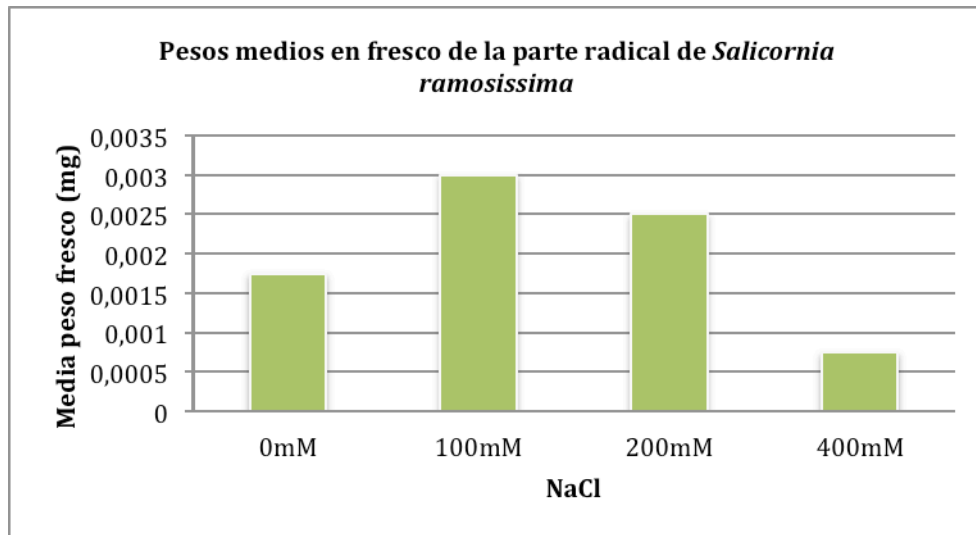
Origen	Suma de cuadrados	gl	F	Sig.
Modelo corregido	,001 ^a	3	23,062	,000
Intersección	,005	1	471,325	,000
Salinidad	,001	3	23,062	,000
Error	,000	12		
Total	,006	16		
Total corregida	,001	15		

R cuadrado = ,852 (R cuadrado corregida = ,815). Donde gl = grados de libertad y F = valor estadístico de contraste.

Tabla 7. Efecto de la salinidad sobre el peso fresco de la parte aérea en *Salicornia ramosissima*.

La Tabla 7 representa la interacción entre la salinidad y el peso fresco de la parte aérea en *Salicornia ramosissima*, por lo que se puede comprobar que los valores de significación son inferiores a 0,05, lo cual nos indica, que existe una correlación positiva entre la salinidad y el peso calculado.

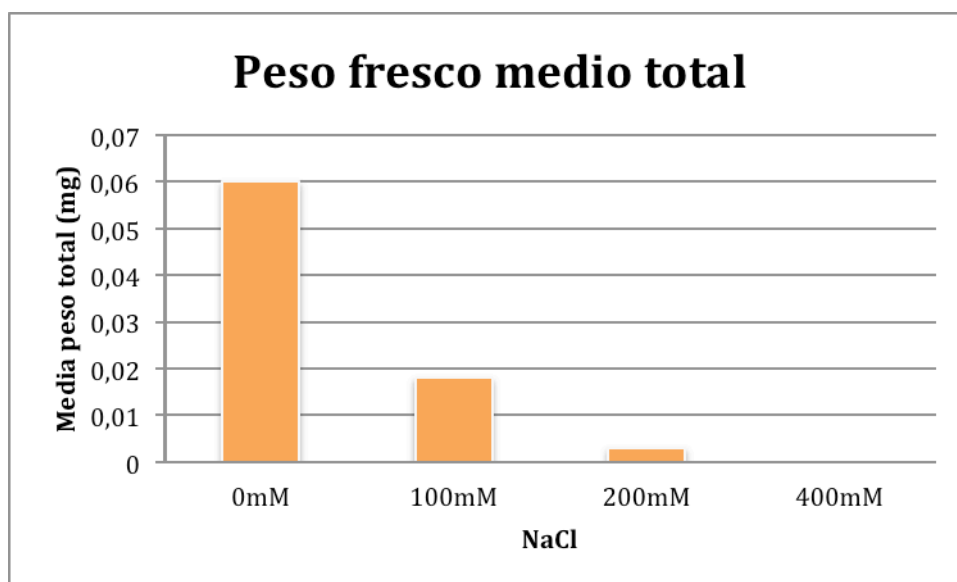
Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.



Gráfica 23: Representación de las medias del peso fresco de la parte radical de *Salicornia ramosissima* para cada una de las concentraciones salinas.

Por último, se calcularon el peso medio fresco de la parte radical, Gráfica 23. Las raíces con más peso fresco fueron las de la concentración de 100 mM, seguidas de las de 200 mM, 0 mM y por último, las de 400 mM. Los pesos de las concentraciones 0 mM, 100 mM, 200 mM y 400 mM fueron 0,00175 mg, 0,003 mg, 0,0025 mg y 0,00075 mg, respectivamente.

4.5.2 Medidas del peso fresco y análisis estadístico en *Juncus maritimus*



Gráfica 24: Representación de las medias del peso fresco total de *Juncus maritimus* para cada una de las concentraciones salinas.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

En la Gráfica 24 se muestran las medias calculadas del peso fresco de las plántulas. Como se puede observar, resulta evidente que el peso fresco de las plántulas de *Juncus maritimus* disminuye conforme la concentración salina del agua de riego aplicada crece. Así, el mayor peso se alcanza en aquellas plántulas regadas con agua carente de NaCl con una media de 0,06 mg, siendo considerable la diferencia con el peso de aquellas tratadas a una concentración 100, 200 y 400 mM con unas medidas de 0,018, 0,003 y 0 mg respectivamente.

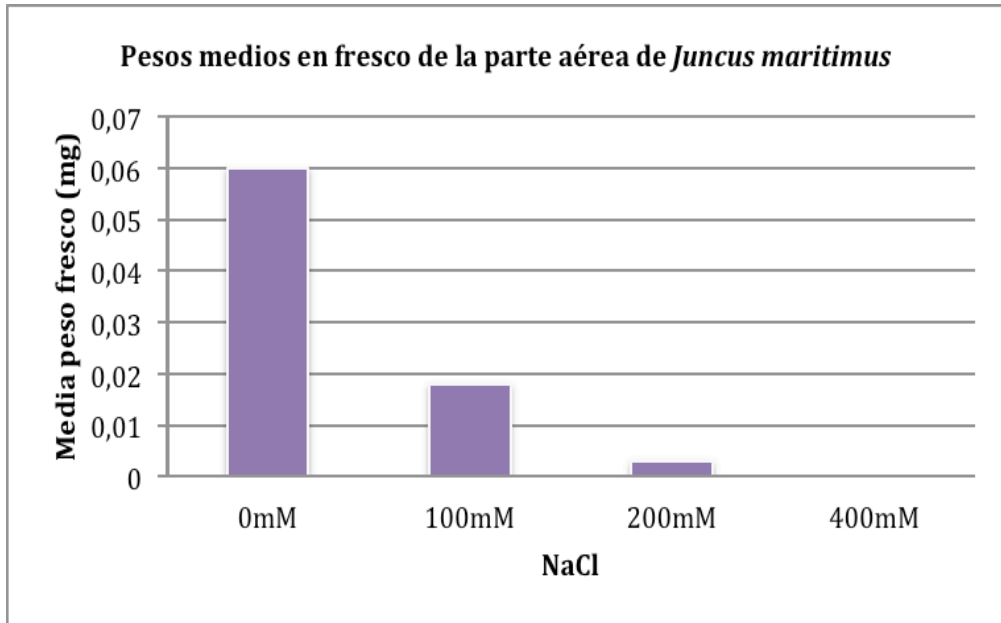
Origen	Suma de cuadrados	gl	F	Sig.
Modelo corregido	,001 ^a	3	167,704	,000
Intersección	,000	1	334,690	,000
Salinidad	,001	3	167,704	,000
Error	1,775E-5	12		
Total	,001	16		
Total corregida	,001	15		

R cuadrado = ,977 (R cuadrado corregida = ,971). Donde gl = grados de libertad y F = valor estadístico de contraste.

Tabla 8. Efecto de la salinidad sobre el peso medio fresco total en *Juncus maritimus*.

En la Tabla 8 anterior expuesta, representa la interacción entre la salinidad y el peso medio fresco total en *Juncus maritimus*, se puede comprobar que los valores de significación son inferiores a 0,05, lo cual nos indica, que existe una correlación positiva entre la salinidad y el peso calculado.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.



Gráfica 25: Representación de las medias del peso fresco de la parte aérea de *Juncus maritimus* para cada una de las concentraciones salinas.

En la Gráfica 25, podemos observar los pesos en fresco de la parte aérea de *Juncus maritimus*. Tal y como ocurría con el peso total estudiado en la Gráfica 24, el peso en fresco de la parte aérea disminuye progresivamente conforme la concentración salina del agua aplicada para el riego se incrementaba, hasta el punto de que la balanza de precisión no fue capaz de detectar el peso de aquellas tratadas a concentración salina de 400 mM.

Las plántulas con mayor peso correspondieron a las tratadas en ausencia de NaCl, con un peso medio de 0,06 mg, seguidas de las regadas con la solución de 100 mM con un peso de 0,018 mg, seguido por último de las sometidas a concentraciones de salinidad de 200 mM con un peso medio total de 0,003 mg.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Origen	Suma de cuadrados	gl	F	Sig.
Modelo corregido	,001 ^a	3	105,414	,000
Intersección	,000	1	226,241	,000
Salinidad	,001	3	105,414	,000
Error	2,175E-5	12		
Total	,001	16		
Total corregida	,001	15		

R cuadrado = ,963 (R cuadrado corregida = ,954). Donde gl = grados de libertad y F = valor estadístico de contraste.

Tabla 9. Efecto de la salinidad sobre el peso fresco de la parte aérea en *Juncus maritimus*.

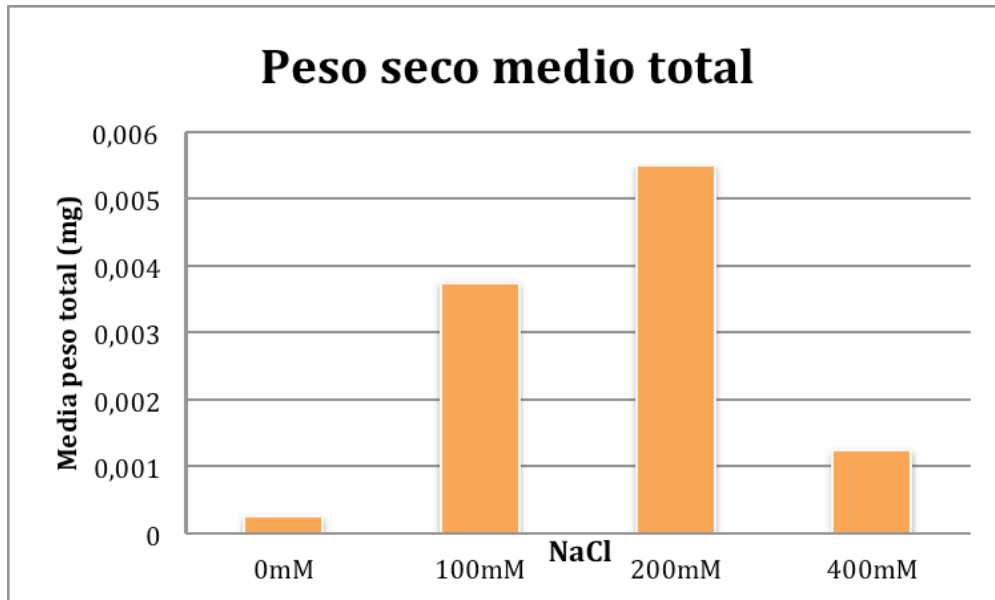
La Tabla 9 representa el efecto de la salinidad sobre el peso fresco de la parte aérea en *Juncus maritimus*, se observa que los valores de significación son inferiores a 0,05, lo cual nos indica, que existe una correlación positiva entre la salinidad y el peso calculado.

El peso fresco de la parte radical de *Juncus maritimus* fue tan pequeño que no pudo utilizarse para realizar ningún tipo de estudio.

4.6 Medias del peso seco y análisis estadístico.

Después de la obtención de los datos de los pesos frescos, se dispusieron las plantas en una estufa durante 24 horas a 60 °C, con la finalidad de, transcurrido este tiempo, repetir las mediciones anteriores, consiguiendo de esta forma el peso seco de las muestras.

4.6.1 Medias del peso seco y análisis estadístico en *Salicornia ramosissima*



Gráfica 26 Representación de las medias del peso seco total de *Salicornia ramosissima* para cada una de las concentraciones salinas.

Los datos resultantes se representan en la Gráfica 26, donde se observa un aumento del peso seco medio total de las plántulas de *Salicornia ramosissima* al incrementar la concentración salina del medio de cultivo de 0 mM a 200 mM y posteriormente su peso disminuye a una salinidad superior (400 mM).

Así, el mayor peso se alcanza en aquellas plántulas regadas con una solución salina de 200 mM de NaCl con una media de 0,0055 mg, siendo considerable la diferencia con el peso de aquellas tratadas a una concentración 0, 100 y 400 mM con unas medidas de 0,00025 mg, 0,00375 mg y 0,00125 respectivamente.

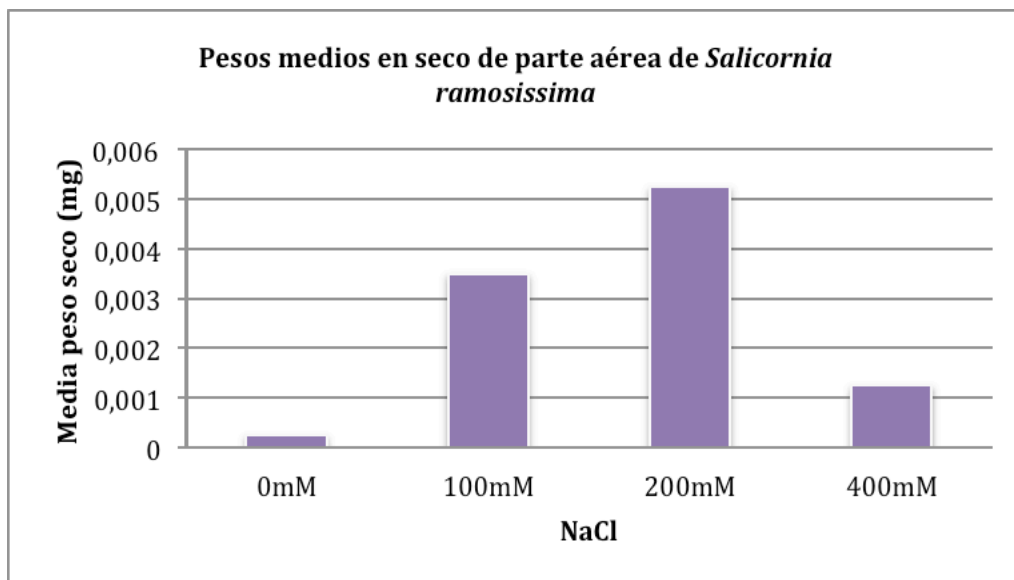
Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Origen	Suma de cuadrados	gl	F	Sig.
Modelo corregido	1,800E-5 ^a	3	4,235	,029
Intersección	8,100E-5	1	57,176	,000
Salinidad	1,800E-5	3	4,235	,029
Error	1,700E-5	12		
Total	,000	16		
Total corregida	3,500E-5	15		

R cuadrado = ,514 (R cuadrado corregida = ,393). Donde gl = grados de libertad y F = valor estadístico de contraste.

Tabla 10. Efecto de la salinidad sobre el peso medio seco total en *Salicornia ramosissima*.

En la Tabla 10 se representa la interacción entre la salinidad y el peso medio seco total en las plántulas de *Salicornia ramosissima*. En ella se puede observar que los valores de significación son inferiores a 0,05, lo cual nos indica, que existe una correlación positiva entre la salinidad y el peso calculado.



Gráfica 27: Representación de las medias del peso seco de la parte aérea de *Salicornia ramosissima* para cada una de las concentraciones salinas.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

En la Gráfica 27, se observa que la mayor media del peso seco de la parte aérea de las plántulas de *Salicornia ramosissima* se obtuvo en la concentración salina de 200 mM con un peso medio de 0,00525 mg. Así mismo, le sigue con mayor media de peso la concentración de 100 mM con 0,0035 mg, después con un cambio brusco la de 400 mM con 0,00525 mg y por último, todo lo contrario a *Juncus maritimus*, la concentración de 0 mM con un peso de 0,00025 mg.

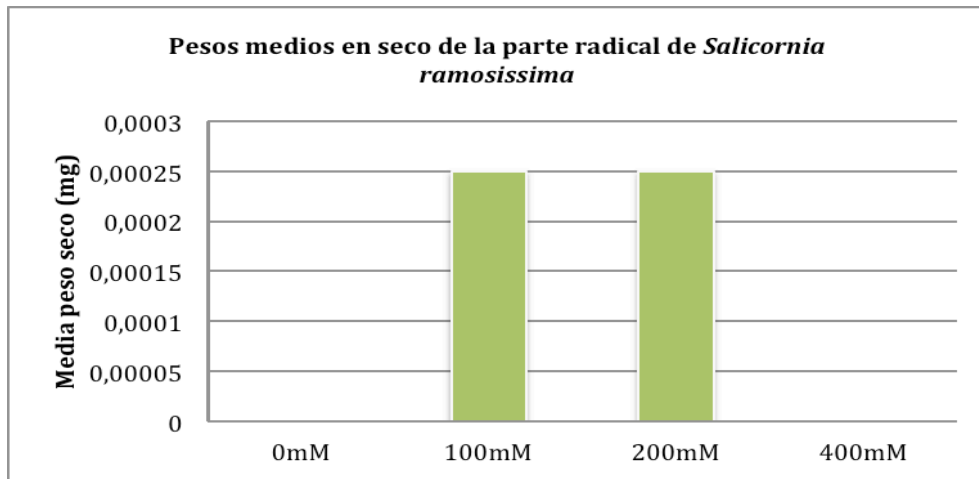
Origen	Suma de cuadrados	gl	F	Sig.
Modelo corregido	6,069E-5 ^a	3	4,929	,019
Intersección	,000	1	25,599	,000
Salinidad	6,069E-5	3	4,929	,019
Error	4,925E-5	12		
Total	,000	16		
Total corregida	,000	15		

R cuadrado = ,552 (R cuadrado corregida = ,440). Donde gl = grados de libertad y F = valor estadístico de contraste.

Tabla 11. Efecto de la salinidad sobre el peso seco de la parte aérea en *Salicornia ramosissima*.

La Tabla 11 representa la interacción entre la salinidad y el peso seco de la parte aérea en *Salicornia ramosissima*, observándose que, los valores de significación son inferiores a 0,05, lo cual nos indica, que existe una correlación positiva entre la salinidad y los diferentes pesos calculados.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.



Gráfica 28: Representación de las medias del peso seco de la parte radical de *Salicornia ramosissima* para cada una de las concentraciones salinas.

En la Gráfica 28, se puede observar que los valores del peso seco de la radícula de las plántulas de *Salicornia ramosissima* fueron iguales para las salinidades de 100 y 200 mM de NaCl con un peso de 0,00025 mg en los dos casos. La balanza de precisión no detectó ningún peso de la parte radical en las concentraciones 0 mM y 400 mM.

Origen	Suma de cuadrados	gl	F	Sig.
Modelo corregido	2,500E-7 ^a	3	,667	,588
Intersección	2,500E-7	1	2,000	,183
Salinidad	2,500E-7	3	,667	,588
Error	1,500E-6	12		
Total	2,000E-6	16		
Total corregida	1,750E-6	15		

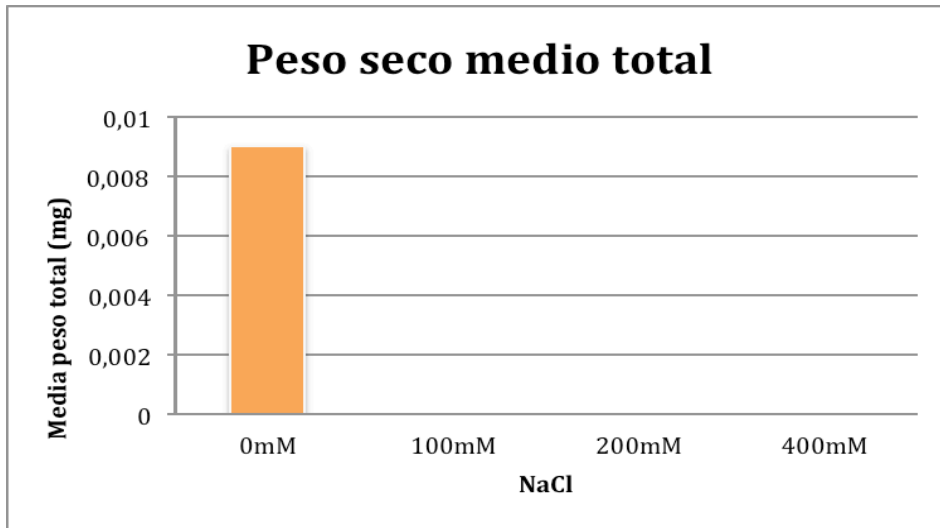
R cuadrado = ,143 (R cuadrado corregida = -,071). Donde gl = grados de libertad y F = valor estadístico de contraste.

Tabla 12. Efecto de la salinidad sobre el peso seco de la parte radical en *Salicornia ramosissima*.

En la Tabla 12 se representa la interacción entre la salinidad y el peso seco de la parte radical en *Salicornia ramosissima*, se puede comprobar que los valores de significación superan el valor de 0,05, lo cual nos indica, que no existe una correlación positiva entre la salinidad y el peso seco de parte radical.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

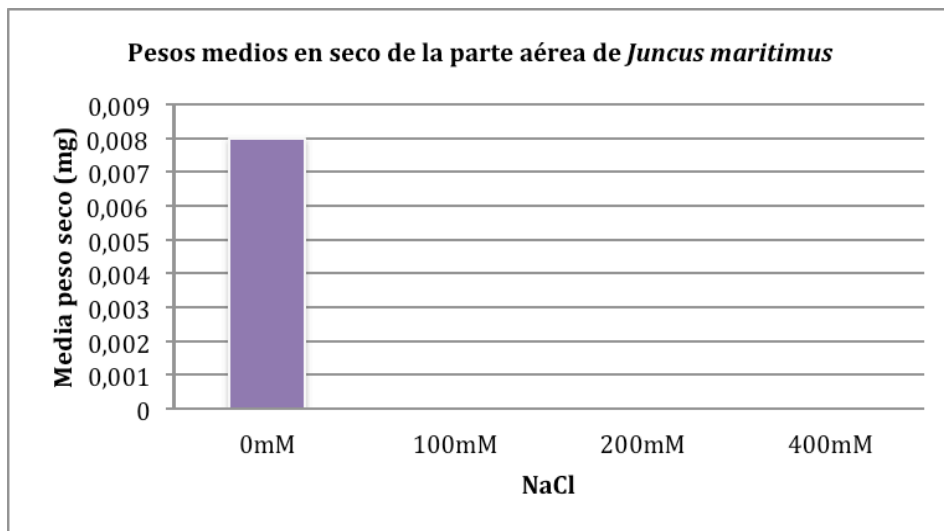
4.6.2 Medias del peso seco y análisis estadístico en *Juncus maritimus*



Gráfica 29: Representación de las medias del peso seco total de *Juncus maritimus* para cada una de las concentraciones salinas.

Como podemos observar en la Gráfica 29, después del secado en estufa, la balanza de precisión no fue capaz de detectar ningún peso seco total de las concentraciones 100 mM, 200 mM y 400 mM. Solo detectó una pequeña parte en la concentración de 0 mM con un peso medio de 0,009 mg.

Vemos que se repite el mismo patrón que hasta ahora se ha ido observando, es decir, conforme la concentración salina del medio ha ido aumentando el peso de las plántulas de *Juncus maritimus* ha ido disminuyendo.



Gráfica 30: Representación de las medias de los pesos secos de la parte aérea de *Juncus maritimus* para cada una de las concentraciones salinas.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

En la Gráfica 30, la balanza de precisión no fue capaz de detectar ningún peso seco de la parte aérea de las concentraciones 100 mM, 200 mM y 400 mM. Solo detectó una pequeña parte en la concentración de 0 mM con un peso medio de 0,008 mg.

Origen	Suma de cuadrados	gl	F	Sig.
Modelo corregido	1,200E-5 ^a	3	24,000	,000
Intersección	4,000E-6	1	24,000	,000
Salinidad	1,200E-5	3	24,000	,000
Error	2,000E-6	12		
Total	1,800E-5	16		
Total corregida	1,400E-5	15		

R cuadrado = ,857 (R cuadrado corregida = ,821). Donde gl = grados de libertad y F = valor estadístico de contraste.

Tabla 13. Efecto de la salinidad sobre el peso seco de la parte aérea en *Juncus maritimus*.

En la Tabla 13 representa el efecto de la interacción entre la salinidad y el peso seco de la parte aérea y se puede comprobar que los valores de significación son inferiores a 0,05, lo cual nos indica que existe una correlación positiva entre la salinidad y el peso calculado.

4.7 Variación de los pesos tras tratamiento en estufa.

En este apartado se presenta la diferencia existente en las medias de los pesos de las plantas tras su tratamiento en estufa a 60 °C durante 24 horas.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

4.7.1 Variación de los pesos tras tratamiento en estufa de *Salicornia ramosissima*.

Diferencias de pesos (peso fresco – peso seco) en mg			
Salinidad (mM)	Peso total	Peso parte aérea	Peso parte radical
0	0,00925	0,0075	0,00175
100	0,2203	0,01925	0,00275
200	0,02225	0,02	0,00225
400	0,015	0,01425	0,00075

Tabla 14. Diferencia de peso de las plantas de *Salicornia ramosissima* tras su introducción en secadora a 60 °C durante 24 horas.

En la tabla 14, observamos que las plántulas que han perdido mayor contenido de agua tras el tratamiento en estufa en la parte aérea han sido los de concentración salina de 200 mM. A continuación la de 100 mM, después la de 0 mM y por último, la de 400 mM.

En la parte radical, las mayores pérdidas de contenido de agua tras el tratamiento en estufa, ha sido en la concentración salina de 100 mM y la de menos pérdidas ha sido la de 400 mM, debido que apenas había raíces.

4.7.2 Variación de los pesos tras tratamiento en estufa de *Juncus maritimus*.

Diferencias de pesos (peso fresco – peso seco) en mg			
Salinidad (mM)	Peso total	Peso parte aérea	Peso parte radical
0	0,052	0,052	0
100	0,018	0,018	0
200	0,003	0,003	0
400	0	0	0

Tabla 15. Diferencia de peso de las plantas de *Juncus maritimus* tras su introducción en secadora a 60 °C durante 24 horas.

Se aprecia en la Tabla 15 claramente, que la mayor disminución en el peso las han sufrido aquellas plantas que han sido tratadas en ausencia de salinidad (0 mM).

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

A continuación, le sigue con mayor pérdida de peso las concentraciones de 100 y 200 mM, lo cual se relaciona en cuanto a menor concentración salina mayor pérdida de agua. A 400 mM no emergió ninguna semilla por lo cual no tenemos ningún dato referente a ello.



5. Discusión

Las plantas halófitas como *Salicornia ramosissima* y *Juncus maritimus* crecen bajo condiciones de estrés, incluido sequía, altas temperaturas y alta salinidad. Las semillas de las especies halófitas presentan diferentes límites de tolerancia a la salinidad. El estudio sobre la germinación de estas dos especies halófitas (*Salicornia ramosissima* y *Juncus maritimus*) en distintas concentraciones salinas y a diferentes rangos de temperatura facilita el conocimiento sobre las mejores condiciones de germinación de cada especie.

Algunas especies que viven en saladares o depresiones salinas, frecuentemente de biotipo suculento (*Arthrocnemum*, *Halocnemum*, *Salicornia*, *Sarcocornia*, *Suaeda*...), pueden germinar a altas concentraciones de NaCl (Ungar, 1962; Pujol *et al.*, 2000; Pujol *et al.*, 2001). Sin embargo, la mayoría de las plantas halófitas germinan mejor en ausencia de salinidad y, el porcentaje de germinación disminuye y aumenta el tiempo medio de germinación con el aumento de la salinidad en el medio (Khan *et al.*, 2002; Khan & Ungar, 1996, 1999; Gulzar & Khan, 2001; Khan *et al.*, 2001; Song *et al.*, 2005). En nuestro estudio se observó que los niveles más altos de germinación para las dos especies se obtuvieron bajo condiciones no salinas (0 mM), ya que no están sometidas a un estrés fisiológico.

Normalmente, la germinación de especies halófitas en el campo es controlada por varios factores ambientales, en particular la luz (Gutterman, 1992; Huang & Gutterman, 1999), la temperatura (Badger & Ungar, 1989) y la salinidad (Pujol *et al.*, 2000). Según Badger & Ungar (1989) la germinación ocurre en respuesta a una señal que predice unas condiciones ambientales favorables, sobre todo de salinidad y temperatura. Sin embargo, existe un amplio rango de tolerancia a la salinidad en las semillas de las especies halófitas durante su germinación (Khan *et al.*, 2002; Ungar, 1996). La germinación es uno de los procesos más críticos en el ciclo de vida de los halófitos (Ungar, 1996). Según Caro *et al.* (1973) y Delgado & Sánchez-Raya (2007) es en esta primera etapa de la vida del vegetal donde se hace crítico el efecto de las sales, pudiendo, incluso, influir en el desarrollo posterior. Distintos estudios (Greenwood & MacFarlane, 2006; Vicente *et al.*, 2007; Engloner, 2009; Vicente *et al.*, 2009) ponen de manifiesto que las semillas de los halófitos se comportan de manera parecida frente a la salinidad, se retrasa el comienzo de la germinación y algunas semillas permanecen dormidas. En el estudio de las dos especies, *Salicornia ramosissima* y *Juncus maritimus*, el incremento de la salinidad causa una disminución en el porcentaje de germinación y un aumento en el tiempo medio de germinación. Al igual que observaron Gulzar & Khan (2001), Wei *et al.* (2008) y Pangua *et al.* (2009) cuyos ensayos ponen de manifiesto que un aumento de la salinidad conlleva una disminución de la germinación al igual que la inhibición completa de la germinación a salinidades más allá de los límites de la tolerancia de las especies (Ungar, 1991). Sin embargo, el efecto del

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

incremento de la salinidad y la temperatura sobre la germinación de las especies estudiadas fue diferente.

Salicornia ramosissima es la especie de las dos estudiadas que mejor germinaba. En nuestro trabajo observamos que la evolución de la germinación de las semillas de esta especie y a las distintas salinidades durante los 25 días que duró cada ensayo era controlada por la temperatura del experimento. La mayoría de las semillas germinaban a los pocos días de empezar la experiencia en rangos de temperatura de 20/10 °C, 25/15 y 30/20 °C alcanzando porcentajes de germinación muy elevados incluso a altos niveles de NaCl (400 mM) donde se consiguieron germinar más del 60% de las semillas de *Salicornia ramosissima*. A los 5 días de empezar los distintos ensayos las semillas sumergidas en ausencia de salinidad o a salinidad baja (100 y 200 mM) alcanzaban valores muy altos. El porcentaje de germinación más elevado de *Salicornia ramosissima* se obtiene a temperaturas suaves 20/10 °C y a una concentración de 100 mM y 200 mM y en ausencia de NaCl, siendo sus porcentajes de germinación final del 90%. A este rango de temperatura el aumento de la salinidad no afecta significativamente al porcentaje de germinación. Sin embargo, en el estudio realizado por Silva *et al.* (2007), *Salicornia ramosissima* no se desarrolló bien en condiciones de salinidad elevada o moderada, ya que su crecimiento fue óptimo en baja salinidad. Para Rubio-Casal *et al.* (2003), una exposición a altas concentraciones salinas no solo provocaba una inhibición de la germinación sino también una disminución en el tiempo medio de germinación, lo que no coinciden con nuestros datos.

La germinación de *Salicornia ramosissima* en el último ensayo (35/25 °C) fue baja, donde todas las semillas, y de forma independiente a la salinidad con que eran tratadas, mostraron una tendencia similar. La evolución de la germinación en el tiempo parecía no estar influenciada de forma notable por la concentración de NaCl presente en el agua con que eran regadas, ya que las variaciones observadas no son significativas, pero si se observaron influencias por el rango de temperatura. Esta disminución en la germinación y el aumento del tiempo necesario para que las semillas germinen está apoyado por el trabajo de Greenwood & MacFarlane (2006) que observaron, en distintas especies de Halófito, que las altas temperaturas de verano eran menos favorables para la germinación de las semillas.

En nuestro ensayo el porcentaje final de germinación de *Salicornia ramosissima*, sufre variaciones no significativas en el número de semillas germinadas conforme la salinidad aumenta para los tres primeros ensayos (20/10, 25/15 y 30/20 °C) únicamente un rango de temperatura superior (35/25 °C) altera de forma significativa el porcentaje final de esta especie. Estas observaciones nos permiten afirmar que únicamente temperaturas muy altas alteran de forma significativa el porcentaje de germinación final de *Salicornia ramosissima*.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

La presencia de condiciones hipersalinas en el sustrato durante los meses estivales donde las temperaturas son elevadas y existe una alta evapotranspiración, puede dar lugar a que estos ambientes sean inapropiados temporalmente para la germinación y el normal desarrollo de las plántulas, como han puesto de manifiesto Ungar (1977), Khan & Ungar (1997) y Khan & Gulzar (2003). Pero no para todos los halófitos esta tendencia es la normal, ya que los estudios realizados por Gulzar *et al.* (2001), indican que *Urachondra setulosa* no germina bien a temperaturas bajas del orden de 20/10 °C ni a temperaturas elevadas del orden de 35/25 °C, lo que nos hace pensar que cada especie de halófito tendrá su temperatura favorable de germinación por encima y por debajo de la cual su porcentaje de germinación se verá disminuido. Silva *et al.* (2007) observa que la germinación de *Salicornia ramosissima* se produce cuando los suelos no están encharcados y la temperatura es moderada.

La incidencia de la salinidad en el crecimiento vegetal se ha investigado en numerosas especies (Al-Kateed, 2006; Carter *et al.*, 2005, Williams & Ungar, 1972), poniendo de manifiesto que la salinidad de los suelos o del agua de riego reduce el crecimiento vegetativo de las especies halófitas debido a un ajuste en el potencial osmótica de sus tejidos al ambiente salino.

Pero este hecho no sucedía lo mismo en nuestro ensayo sino que el peso total de las plántulas de *Salicornia ramosissima* aumentaba con el aumento de la salinidad en el medio de cultivo alcanzando la mayor biomasa a una salinidad de 200 mM de NaCl. Esto también fue observado en *Cakile marítima* (Debez *et al.*, 2004), la cual fue tratada a concentraciones salinas de 50, 100, 200, 300, 400 y 500 mM y, como resultado, se obtuvo que la biomasa mostró un ligero incremento en aquellas plantas que fueron tratadas con la solución salina de 100 mM con respecto a aquellas control (0 mM). Este efecto es debido a la ley de Arnt-Schulz (Tingery, 1980) que establece que hay una tendencia universal a que los tóxicos en bajas concentraciones estimulen los procesos biológicos y en altas concentraciones los depriman, siendo en nuestro caso una concentración de 400 mM la que produce la disminución del crecimiento

El 86% de las semillas de *Juncus maritimus* germinaban en condiciones no salinas a rangos de temperaturas entre 20/10 °C, 25/15 °C y 30/20 °C, aunque la evolución en el porcentaje de germinación fuera algo inferior en la última. Estudios sobre *Juncus maritimus* y *Scirpus maritimus* (Mucha *et al.*, 2008) y sobre *Juncus acutus* y *Juncus kraussi* (Greenwood & MacFarlane, 2006) determinan que su germinación era mejor en condiciones no salinas igual que en nuestro estudio, pero a temperaturas del rango 25/10 °C, indicando que las altas temperaturas eran menos favorables para su germinación lo que no ocurría en nuestro caso que un rango de temperatura 30/20 °C, que igualaba el porcentaje de germinación final al de las dos temperaturas más bajas. Para Martínez-Sánchez *et al.*, 2006, las temperaturas idóneas para la germinación de *Juncus maritimus* coinciden con las obtenidas en nuestro trabajo que son 20/10 °C y

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

25/15 °C donde ellos obtienen un porcentaje superior al 90% muy semejante al observado en nuestro ensayo. En todos los casos ensayados con los distintos regímenes de temperatura el aumento de la salinidad producía disminuciones en el porcentaje de germinación final. En nuestro estudio se comprobó que el 75% de las semillas germinaban a una concentración de 100 mM de NaCl con una temperatura de 30/20 °C, tanto temperaturas inferiores como temperaturas superiores producían una disminución en el porcentaje de germinación y un aumento en el tiempo medio de germinación llegando a ser casi nula a altos niveles salinos. Esto contradice los resultados obtenidos por los estudios de Vicente *et al.* (2007) y Vicente *et al.* (2009) donde una especie del mismo género, *Juncus acutus*, no soporta la salinidad del suelo, ni elevadas temperaturas (30-35 °C).

El peso total de las plantas de *Juncus maritimus* va disminuyendo progresivamente conforme la concentración salina del medio de cultivo va aumentando. Este hecho se apoya en los estudios realizados por Orlovsky *et al.* (2011) tratando plantas de *Kochia prostrata* y *Kochia scoparia* con disoluciones de 0,5, 1, 2, 3 y 5% de NaCl, en los cuales mostraron una tendencia igual a la de *Juncus maritimus*, ya que, en este caso, el incremento en la salinidad reflejó una disminución en la altura y en el peso de las plantas.

Igual resultados se obtuvieron al estudiar el peso de forma separada tanto de la parte aérea como de la parte radicular, donde la disminución de ambas partes de la planta reducen su biomasa con el aumento de la salinidad incluso llega a ser nula a 200 y 400 mM de NaCl. Todos estos resultados nos indican que se produce una drástica disminución en el crecimiento total de *Juncus maritimus* como consecuencia del incremento en la concentración salina del agua con que fue tratada, tal y como reflejan experiencias similares realizadas por Bewley & Black (1994) para la planta *Sorghum sudanese* y por Li (2008) para *Glycine soja*. Según De Villiers *et al.* (2001), las etapas tempranas del crecimiento de algunas plantas halófitas parecen ser menos tolerantes a la salinidad que durante la germinación y las etapas maduras.

En los humedales costeros mediterráneos donde se encuadra nuestra zona de estudio la primavera es la estación del año donde las condiciones son más favorables para que se produzca la germinación de las especies estudiadas. Para Pujol *et al.* (2000) no existen muchos datos en el Sureste de España con respecto a las condiciones de temperatura y luz que podría influir en la germinación. Sin embargo, según ellos debido a la homogeneidad del clima Mediterráneo en este sector (inviernos cálidos sin heladas y días soleados durante todo el año), el principal factor determinante de la germinación de las semillas es la disminución de la salinidad del suelo. Nuestras especies halófitas germinan en primavera después de las lluvias, coincidiendo con temperaturas suaves y una reducción de la salinidad del suelo por lixiviación de las sales al igual que se observo en los estudios realizados por Allison (1996) y Pujol *et al.* (2000).

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Las especies estudiadas viven en humedales costeros del sudeste ibérico. La elevada evaporación que se produce en verano debido a las altas temperaturas, incrementa la concentración salina del suelo y disminuye su potencial agua, lo que dificulta la hidratación de las semillas e inhibe la germinación de éstas.

El requisito necesario para que se produzca la germinación es la reducción de la salinidad del suelo (Chapman, 1960), que en estos climas áridos y semiáridos ocurre en otoño y/o primavera, principalmente. Las lluvias esporádicas que ocurren en estas estaciones elevan el potencial osmótico del suelo, hidrata las semillas y rompen su dormancia (Ungar 1991; Werner & Finkelstein, 1995; Katemben *et al.*, 1998). La tolerancia de las semillas a la salinidad mientras permanecen en el suelo y su capacidad para germinar cuando la concentración salina del medio se minimiza puede considerarse como una adaptación de las plantas a la salinidad (Ungar, 1978; Uchiyama 1987; Keiffer & Ungar, 1997; Khan *et al.*, 2000, 2001; Abbad *et al.*, 2004) y una ventaja evolutiva frente a las especies halófitas (Ungar, 1991; Ungar, 1996). En los climas áridos, tras las lluvias escasas e irregulares, las condiciones favorables de humedad en el suelo no se mantienen durante suficiente tiempo para que las plantas se puedan establecer. Por lo que debido a la capacidad de germinar de estas especies en medios salinos, consideramos que son idóneas para incluirlas en planes de recuperación de áreas erosionada y mejora de las zonas que constituyen los humedales costeros de la zona Mediterránea.

En resumen, la especie que mejor germinaba era *Salicornia ramosissima* gradualmente disminuían su germinación con un incremento de las concentraciones de sal, aunque *Juncus maritimus* solo germinaba en agua destilada o a muy bajas concentraciones de salinidad. En el trabajo realizado por Greenwood & MacFarlane (2006) el inicio del programa de restauración se debe realizar después de las lluvias de la temporada otoño e invierno, ya que coincide con una época en la que la salinidad del suelo disminuye considerablemente, el inconveniente es que no coincida con la época de germinación de las especies.

El objetivo final de nuestro estudio era comprobar cuál de las dos especies analizadas se adaptaba mejor a las condiciones locales para su utilización como planta restauradora y especie para utilizar en el ajardinamiento de áreas salinas. Comprobamos que *Salicornia ramosissima* es la especie mejor adaptada a las condiciones de salinidad y temperatura tanto en germinación como en crecimiento, en los humedales costeros del sureste Mediterráneo, lo que el resultado es común al estudio realizado por Figueroa *et al.* (1987), en el cual nos habla que *Salicornia ramosissima* es la especie más abundante, ocupando la mayor parte de los espacios afectados por la marea que están desnudos de vegetación perenne de gran porte.



6. Conclusiones

1. Las semillas de *Salicornia ramosissima* y *Juncus maritimus* se ven afectadas de forma paulatina por la presencia de salinidad en el medio de cultivo alcanzando los mayores porcentajes de germinación en ausencia de sal (0 mM NaCl).
2. Las semillas de *Salicornia ramosissima* presentan los mejores porcentajes de germinación y un menor tiempo medio de germinación a temperatura 20/10 °C. Fue de las dos especies estudiadas la que obtuvo un mayor porcentaje de germinación en todas las concentraciones salinas y a los distintos rangos de temperatura.
3. Las semillas de *Juncus maritimus* presentaron los mejores porcentajes de germinación y un tiempo medio de germinación menor a unas temperaturas de 20/10 °C , 25/15 °C y 30/20 °C. Siendo la especie que peor germinación tuvo en condiciones salinas, no soportando la salinidad más alta (400 mM) donde no tuvo ninguna germinación.
4. Ambas semillas alcanzan los mejores porcentajes de germinación en el mismo rango de temperatura 20/10 °C, por lo tanto podemos considerar esta temperatura la más adecuada para conseguir plántulas en vivero y para su transplante a zonas de ajardinamiento.
5. La temperatura y la concentración salina afectan de forma interrelacionada a la germinación, ya que cuando aumenta la temperatura el efecto de las sales es más negativo sobre éste parámetro.
6. Los pesos frescos y secos de *Salicornia ramosissima* no sufren variaciones con el aumento de las concentraciones salinas no siendo su crecimiento afectado por la presencia de salinidad en el medio de cultivo.
7. Los pesos frescos y secos de *Juncus maritimus*, se ven afectados de forma significativa por el aumento de las concentraciones salinas.
8. De las dos especies estudiadas, *Salicornia ramosissima* es la que mejor se adapta a la salinidad del suelo, por ello es la especie más idónea para restauración de humedales salinos y ajardinamiento de áreas salinas.



7. Bibliografía

- Abbad, A., El Hadrami, A. & Benchaabane, A., 2004. Germination responses of the Mediterranean saltbush (*Atriplex halimus* L.) to NaCl treatment. *Journal of Agronomy*, 3 (2): 111-114.
- Aguilar, J. & Fernández, J., 1990. Memoria y Hoja Geológica nº 1059 (El Cabo de Gata). Mapa geológico de España a E 1:100.000. IGME. Madrid.
- Al-Khateed, S.A., 2006. Effect of salinity and temperature on germination, growth and ion relations of *Panicum turgidum* Forssk. *Bioresource Technology* 97: 292-298
- Álvarez-Rogel, J., Alcaraz, F. & Ortiz, R., 2000. Soil salinity and moisture gradients and plant zonation in Mediterranean salt marshes of Southeast Spain. *Wetlands*, 20: 357-372.
- Álvarez-Rogel, J., Martínez Sánchez, J.J., Carrasco Blázquez, L. & Marín Semitiel, C. M., 2006A. A conceptual model of salt marsh plant distribution in coastal dunes of southeastern Spain. *The Society of Wetland Scientists*, 26 (3): 703-717.
- Álvarez-Rogel, J., Martínez Sánchez, J.J., Carrasco Blázquez, L. & Marín Semitiel, C. M., 2006B. Soils of a dune coastal salt marsh system in relation to groundwater level, micro-topography and vegetation under a semiarid Mediterranean climate in SE Spain. *Catena*, 11.
- Allison, S.K., 1996. Recruitment and establishment of salt marsh plants following disturbance by flooding. *American Midland Naturalist*, 136: 232-247.
- Al-Sherif, E.A., 2009. *Melilotus indicus* (L.) All., a salt-tolerant wild leguminous herb with high potential for use as a forage crop in salt-affected soils. *Flora*, 204: 737-746.
- Amezketta, E., 2006. An integrated methodology for assessing soil salinization, a pre-condition for land desertification. *Journal of Arid Environments*, 67: 594-606.
- Anthos, 2010. Sistema de información de las plantas de España. Real Jardín Botánico, CSIC-Fundación Biodiversidad. Recurso electrónico en: <http://www.anthos.es>.
- Azcón-Bieto, J. & Talón M., 2008. Fundamentos de Fisiología vegetal. 2ª edición. Mc Graw-Hill-Interamericana.
- Bacchetta, G., Bueno-Sánchez, A., Fenu, G., Jiménez-Alfaro, B., Mattana, E., Piotto, B. & Virevaire, M., 2008. Conservación ex situ de plantas silvestres. Principado de Asturias. La Caixa, 378 pp.
- Badger, K.S. & Ungar, I.A., 1989. The effects of salinity and temperature on the germination of the inland halophyte *Hordeum jubatum*. *Canadian Journal of Botany*, 67: 1420-1425.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

- Baena, J. & Ewert, K., 1983. Memoria y Hoja Geológica nº 1058 (Roquetas de Mar). Mapa geológico de España a E 1:50.000 (Segunda serie). IGME. Madrid.
- Baker, H.G., 1955. Self-compatibility and establishment after “long-distance” dispersal. *Evolution*, 9: 397-410.
- Barceló, J., Nicolás, G., Sabater, B. & Sánchez, R., 2001. Fisiología vegetal. Pirámide. Madrid.
- Barret, S.C.H. & Eckert, C.G., 1990. Variation and evolution of mating systems in seed plants. In: KAWANO S. (ed.). Biological approaches and evolutionay trends in plants. London. Academic Press. pp. 229-254.
- Barret, S.C.H., 1998. The evolution of mating strategies in flowering plants. *Trends in Plant Sciences*, 9: 335-341.
- Baskin, C.C. & Baskin J.M., 1998. Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. Academic Press, San Diego, CA, USA.
- Baskin, J.M. & Baskin C.C., 2003. Classification, biogeography, and phylogenetic relationships of seed dormancy. In: Smith R.D., Dickie J.B., Linington S.L., Pritchard H.W. & Probert R.J. (eds.), 2004. Seed conservation: turning science into practice. Kew: Royal Botanic Gardens, Kew. pp. 518-554.
- Baskin, J.M. & Baskin C.C., 2004. A classification system for seed sormancy. *Seed Science Research*, 14: 1-16.
- Berjak, P. & Pammenter, N.W., 2002. Orthodox and recalcitrant seeds. In: Vozzo (ed). Tropical tree seed manual. USDA Forest Service. Agriculture Handbook.
- Bernardello, G., Anderson, G.L., Lopez, P., Cleland, M.A., Stuessy, T.F. & Crawford, D.J., 1999. Reproductive biology of *Lactoris fernandeziana* Lactoridaceae. *American Journal of Botany*, 86: 829-840.
- Besnier-Romero, F., 1989. Semillas: Biología y tecnología. Ediciones Mundi Prensa, 637 pp.
- Bewley, J.D. & Black, M., 1994. Seeds: Physiology of Development and Germination. 2nd Edn. Plenum Press, New York and London. 147 pp.
- Black, M. & Pritchard, H.W. (eds), 2002. Dessication and survival in plants, drying without dying. CABI Publishing, Oxon, UK.
- Bortwick, H.A. & Hendricks, S.B., 1960. Photoperiodism in plants. Growth is controlled by light and the measurement of night length trough reversible reaction of a pigment. *Science*, 132: 1223-1228.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Bortwick, H.A, Hendricks, S.B., Toole, E.H. & Toole, V.K., 1954. Action of light on lettuce seed germination. *Botanical Gazette*, 115: 205-225.

Bosch, M., Simon, J., Molero, J. & Blanché, C., 1998. Reproductive biology, genetic variation and conservation of the reare endemic dysploid *Delphinium bolosii* Ranunculaceae. *Biological Conservation*, 86: 57-66.

Bradley, P.H. & Morris, J.T., 1991. Relative importance of ion exclusive, secretion and accumulation in *Spartina alterni* Loisel. *Journal Experimental of Botany*, 42: 1525-1532.

Burés, S. 1993. Xerojardinería. Compendios de Horticultura 5. Ed. Horticultura.

Caballero, M. & Cid, M.C., 1993. Development of new ornamentals from Canary Islands native plants as alternative crops for Mediterranean areas. En: Environmental constraints in protected cultivation for new growing techniques and crops. Ed. P.F. Martínez, pp: 163-168. Report EUR 15123.

Caro-Fernández, M., 1969. Suelos salinos y procesos de salinización en el Sureste español. Servicio de publicaciones de la Universidad de Murcia, 28: 1-3.

Caro, M., Cerdá, A., Fernández, F.G. & Guillén, M.G., 1973. Tolerancia a la salinidad de portainjertos cítricos durante la germinación. I. Congreso mundial de citricultura. International Society of Citriculture.

Carter, C.T.; Grieve C.M. & Poss, J.A., 2005 Salinity effects on emergence, survival, and ion accumulation of *Limonium perezii*. *Journal of Plant Nutrition* 28: 1243-1257.

Chapman, V.J., 1960. Salt Marshes and Salt Deserts of the Word. Interscience Publishers, New York.

Cochran W.G., 1941. The distribution of the largest of a set of estimated variances as a fraction of their total. *Ann. Eugenics*, 11: 47-61.

Côme, D. & Corbineau, F., 1992. Les semences et le froid. In: Come D. Les végétaux et le froid. Hermann Editeur des sciences & des arts, Paris.

Côme, D., 1970. Les obstacles à la germination. Masson & CIE, Paris.

Crosti, R., Ladd, P.G., Dixon, K.W. & Piotto, B., 2006. Post-fire germination: The effect smoke on seed of selected species from the central Mediterranean basin. *Forest Ecology and Management*, 221: 306-312.

Cruden, R.W., 1977. Pollen-ovule ratios: conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution*, 31: 32-46.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

- Dafni, A., Kevan, P.G. & Husband B.C., 2005. Practical pollination biology. Enviroquest Ltd., Cambridge, ON, Canadá.
- David, H.A., Hartley H.O., Pearson E.S., 1954. The distribution of the ratio in a single normal sample of range to standard deviation. *Biometrika*, 41: 482-493.
- Debez, A., Ben Hamed, K., Grignon, C. & Abdelly, C., 2004. Salinity effects on germination, growth, and seed production of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant and Soil*, 262 (1-2): 179-189.
- Delgado, I.C., 1992. Distribución de nutrientes minerales en plantas de girasol (*Helianthus annuus L.*) sometidas a estrés salino. Tesis doctoral. Universidad de Granada-Facultad de Ciencias, 336 pp.
- Delgado, I.C. & Sánchez-Raya, J., 2007. Effect of sodium chloride and mineral nutrients on initial stages of development of sunflower life. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 38: 2013-2027.
- De Pascale, S., Maggio, A. & Barbieri, G., 2005. Soil salinization affects growth, yield and mineral composition of cauliflower and broccoli. *European Journal of Agronomy*, 23: 254-264.
- De Villers, A.J., Van Rooyen, M.W. & Theron G.K., 2001. Seedling emergent and supervival of three Namaqualand pioneer plant species grown under saline soil conditions. *South Africa Journal of Botany* 67: 354-357.
- Díaz de la Guardia, M., 2004. Fisiología de las plantas. Universidad de Córdoba.
- Dickie, J.B. & Pritchard, H.W., 2002. Systematic and evolutionary aspects of desiccation tolerance in seeds. In: Black, M. & Pritchard, H.W. (eds). Desiccation and survival in plants, drying without dying. CABI Publishing, Oxon, UK.
- Dorransoro, C., 2010. Lección 10. Degradación del suelo. Recurso electrónico en: <http://edafologia.ugr.es/conta/tema10/degra.htm> 4 junio de 2010.
- Egan, T.P. & Ungar, I.A., 2000. Similarity between seed Banks and above-ground vegetation along a salinity gradient. *Journal of Vegetation Science*, 11: 189-194.
- Ekstam, B., Johannesson, R. & Milberg, P., 1999. The effect of light and number of diurnal temperature fluctuations on germination of *Phragmites australis*. *Seed Science Research*, 9: 165-170.
- Elias, S., Garay, A. & Schweitzer, L., 2006. Seed quality testing of native species. *Native Plants* (spring 2006): 15-19.
- Ellis, R.H., 1988. The viability equation, seed viability nomographs, and practical advice on seed storage. *Seed Science and Technology*, 16: 29-50.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

- Ellis, R.H. & Roberts, E.H., 1981. Improved equations for the prediction of seed longevity. *Annals of Botany*, 45: 13-30.
- Elsley-Quirk, T., Middleton, B.A. & Proffitt, C.E., 2009. Seed flotation and germination of salt marsh plants. The effects of stratification, salinity and/or inundation regime. *Aquatic Botany*, 91: 40-46.
- Engloner, A.I., 2009. Structure, growth dynamics and biomass of reed (*Phragmites australis*) – A review. *Flora*, 204: 331-346.
- European Commission, 2002. Towards a strategy for soil protection. COM (2002) 179 final. Brussels, 39 pp.
- Evans, M.E.K., Menges, E.S. & Gordon, D.R., 2003. Reproductive biology of three sympatric endangered plants endemic to Florida scrub. *Biological Conservation*, 111: 235-246.
- Falk, D.A., Millar, C.I. & Olwell M., 1996. Restoring diversity: strategies for reintroduction of endangered plants. Island Press, Washington DC. 400 pp.
- FAO/IPGRI, 1994. Genebank standards. Food and Agriculture Organization of the United Nations/International Plant Genetic Resources Institute, Rome.
- Fernández, F.G., Caro, M. & Cerda, A., 1981. Interacción salinidad-fertilización nitrogenada en el cultivo del pimiento (*Capsicum annum*). *Anales de Edafología y Agobiología*, 40: 9-10.
- Figuroa, A., Jimenez-Nieva, J., Carranza, J. & González, C., 1987. Distribución y nutrición mineral de *Salicornia ramosissima*, *Salicornia europea* y *Salicornia dolichostachya*. *Asociación Española de Limnología*, 3(2): 307-310.
- Font-Quer, P., 2001. Diccionario de botánica. 2ª edición. Eds. Península.
- Franco, J.A., Cros, V., Bañon, S. & Martínez Sánchez, J.J., 2002. Nursery irrigation regimes and establishment irrigation affect the postplanting growth of *Limonium cossonianum* in semiarid conditions. *Israel Journal of Plant Science*, 50: 25-32.
- Freeland, P.W., 1976. Tests for the viability of seeds. *Journal of Biological Education*, 10: 57-64.
- Gaudeul, M. & Till-Bottraud, I., 2004. Reproductive ecology of the endangered alpine species *Eryngium alpinum* L. Apiaceae: phenology, gene dispersal and reproductive success. *Annals of Botany*, 93: 711-721.
- Giménez-Luque, E., Navarro-Pastor, J., Oña-Uroz, J.A. & Gómez-Mercado, F., 2003. Paraje Natural Punta Entinas-Sabinar (Almería). Flora, vegetación y ornitofauna. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Almería, 181 pp.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

- Given, D.R., 1987. What the conservation requires of ex situ collections. In: Branwell, D., Hamann, O., Hey-Wood, V. & Syge, H. (eds.). *Botanic gardens and the world conservation strategy*. Academic Press. London, UK. pp 103-106.
- Gorian, F., 2001. La lavorazione di sementi di alberi e arbusti. In: PIOTTO B. & DI NOI A. (eds). *Propagazione per seme di alberi e arbusti della flora mediterranea*. ANPA, Roma.
- Grant, V., 1989. *Especiación vegetal*. Limusa ed, México DF, 587.
- Greenwood, M.E. & MacFarlane, G.R., 2006. Effects of salinity and temperature on the germination of *Phragmites australis*, *Juncus kraussii* and *Juncus acutus*: Implications for estuarine restoration initiatives. *Wetlands*, 26 (3): 854-861.
- Gul, B. & Weber, D.J., 1999. Effect of salinity, light, and thermoperiod on the seed germination of *Allenrolfea occidentalis*. *Canadian Journal of Botany*, 77:1-7.
- Gulzar, S. & Khan, M.A., 2001. Seed germination of a halophytic grass *Aeluropus lagopide*. *Annals of Botany*, 87: 319-324.
- Gulzar, S., Khan, M.A. & Ungar, I.A., 2001. Effect of salinity and temperature on the germination of *Urochondra setulosa* (Trin.) C.E. Hubbard. *Seed Science & Technology*, 29: 21-29.
- Guma, I.R., Padrón-Mederos, M.A., Santos-Guerra, A. & Reyes-Betancort, J.A., 2009. Effect of temperature and salinity on germination of *Salsola vermiculata* L. (Chenopodiaceae) from Canary Islands. *Journal of Arid Environments*, 1-4 pp.
- Gutterman, Y., 1992. *Seed Germination of desert plants*. Belin: Springer-Verlag.
- Hamrick, J.L. & Godt, M.J.W., 1996. Conservation genetics of endemic plant species. In: Avise, J.C. & Hamrick, J.L. (eds.). *Conservation genetics: case histories from nature*. Chapman & Hall, New York.
- Hamrick, J.L., Linhart, Y.B. & Mitton, J.B., 1979. Relationships between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 10: 173-200.
- Hendrix, S.D., 1984. Variation in seed weight and its effects on germination in *Pastinaca sativa* L. (Umbelliferae). *American Journal of Botany*, 71: 795-802.
- Herranz, J. M^a., Ferrandis, P. & Copete, M.A., 2004. Germinación de tres halófitos amenazados en Castilla – La Mancha en condiciones de estrés salino. *Invest Agrar*, 13 (2): 357-367.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

- Hong, T.D., Linington, S. & Ellis, R.H., 1998. Compendium of information on seed storage behaviour, I: A-H. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Hopkins, W.G., 2004. Introduction to plant physiology. Wiley and Sons. Nueva York.
- Huang, Z. & Gutterman, Y., 1999. Water absorption by mucilaginous achenes of *Artemisia monosperma*: Floating and germination as affected by salt concentrations. *Israel Journal of Plant Sciences*, 47 (1): 27-34.
- Iles, J.K., 2003. The science and practice of stress reduction in managed landscapes. *Acta Horticulturae*, 618: 117-24.
- ISTA, 2004. International rules for seed testing. Edition 2004. The International Seed Testing Association (ISTA), Bassersdorf, CH-Switzerland.
- Jackson L.L.N., Lopukine, N. & Hillyard, D., 1995. Ecological restoration: a definition and comments. *Restoration Ecology*, 3: 71-75.
- Johnson, S.D., Neal, P.R., Peter, C.I. & Edwards, T.J., 2004. Fruiting failure and limited recruitments in remnant populations of the hawkmoth-pollinated tree *Oxyanthus pyriformis* subsp. *Pyriformis*. Rubiaceae. *Biological Conservation*, 120: 31-39.
- Katembe, W.J., Ungar, I.A. & Mitchell, J.P., 1998. Effect of Salinity on germination and seedling growth of two *Atriplex* species (Chenopodiaceae). *Annals of Botany*, 82: 167-175.
- Keiffer, C.H. & Ungar, I.A., 1997. The effect of extended exposure to hypersaline conditions on the germination of five inland halophytes species. *American Journal*, 84 (1): 104-111.
- Kellog, C.H., Bridgham, S.D. & Leicht, S.A., 2003. Effects of water level, shade and time on germination and growth of freshwater marsh plants along a simulated successional gradient. *Journal of Ecology*, 91: 274-282.
- Khan, M.A. & Gulzar S., 2003. Germination responses of *Sporobolus iocados*; a potential forage grass. *Journal of Arid Environment*, 53: 387-394.
- Khan, M.A. & Ungar, I.A., 1996. Influence of salinity and temperature on the germination of *Haloxylon recurvum*. *Annals of Botany*, 78: 547-551.
- Khan, M.A. & Ungar I.A., 1997. Effects of light, salinity, and thermoperiod on the seed germination of halophytes. *Canadian Journal of Botany*, 75: 835-841.
- Khan, M.A. & Ungar, I.A., 1999. Seed germination and recovery of *Triglochin maritime* from salt stress under different thermoperiods. *Great Basin Naturalist*, 59: 144-150.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

- Khan, M.A., Gul, B. & Darrell, D.J., 2000. Germination response of *Salicornia rubra* to temperature and salinity. *Journal of Arid Enviroments*, 45: 207-214.
- Khan, M.A., Gul, B. & Weber, D.J., 2001. Influence of salinity and temperature on the germination of *Kochia scoparia*. *Wetlands Ecology and Management*, 9: 483-489.
- Khan, M.A., Gul, B. & Weber, D.J., 2002. Seed germination in the great basin halophyte *Salsola iberica*. *Canadian Journal of Botany*, 80: 650-655.
- Kunkel, G., 1998. Jardinería en zonas áridas, Almería, Ediciones Alternativas.
- Lahiri, A.N. & Kharabanda, B.C., 1961. Dimorphic seeds in some arid zone grasses and the significance of growth differences in their seedlings. *Science and Culture*, 27(9): 448-450.
- Lawrence, M.J., 2002. A comprehensive collection and regeneration strategy for ex situ conservation. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49: 199-209.
- Leck, M.A., 1989. Wetland seed banks. In: Leck, M.A., Parker, V.T. & Simpson, R.L. (eds). *Ecology of Soil Seed Bank*. Academic Press, San Diego.
- Lee, T.D., 1988. Patterns of fruit and seed production. In: Lovett Doust J. & Lovett Doust L. (eds). *Plant reproductive ecology: patterns and strategies*. Oxford University Press, New York.
- Lentz, K.A. & Johnson, H.A., 1998. Factor affecting germination of endangered northeastern bulrush, *Scirpus ancistrochaetus Schuyler (Cyperaceae)*. *Seed Sci Technol*, 26: 733-741.
- Li, Y., 2008. Effect of salt stress on seed germination and seedling growth of three salinity plants. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 11(9): 1268-1272.
- Li, R., Shi, F. & Fukuda, K., 2010. Interactive effects of various salt and alkali stresses on growth organic solutes, and cation accumulation in a halophyte *Spartina alterniflora* (Poaceae). *Environmental and Experimental Botany*, 68: 66-74.
- López Lillo, A.S., 1993. “Elementos ornamentales de la flora autóctona”, en *Uso del agua en las áreas verdes urbanas*, Madrid, Canal de Isabel II y Agencia de Medio Ambiente de la Comunidad de Madrid, 1993; pp. 21-65.
- López, S. & Medina, F. 1999. Jardines y plantas autóctonas en Murcia. IV Jornadas del Grupo de Ornamentales. *Actas de Horticultura, SECH*; 31: 113-122.
- MARM (2011). Conceptos básicos sobre el Cambio Climático. Enlace electronic en : <http://www.marm.es/es/cambio-climatico/temas/que-es-el-cambio-climatico-y-como-nos-afecta/default.aspx>.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Martínez-Rodríguez, M.M., Estaño, M.T., Moyano, E., García-Albellan, J.O., Flores, F.B., Campos, J.F., Al-Azzawi, M.J., Flower, T.J. & Bolarín, M.C., 2008. The effectiveness of grafting to improve salt tolerance in tomato when an “excluder” genotype is used as scion. *Environmental and Experimental Botany*, 63: 392-401.

Martínez-Sánchez, J.J., Conesa, E., Vicente, M.J., Jiménez, A. & Franco, J.A., 2006. Germination responses of *Juncus acutus* (Juncaceae) and *Schoenus nigricans* (Cyperaceae) to Light and temperature. *Journal of Arid Environments*, 66(1): 187-191.

Martínez-Sánchez, J.J., Franco, J.A., Vicente, M.J., Muñoz, M., Bañón, S., Conesa, E., Fernández, J.A., Valdés, R., Miralles, J., Ochoa, J., Aguado, M., Esteva, J., López, J. & Aznar, L., 2008. Especies silvestres mediterráneas con valor ornamental. Selección, producción viverística y utilización en jardinería. Dirección General de Patrimonio Natural y Biodiversidad. Consejería de Agricultura y Agua. Región de Murcia. 224 pp. Murcia.

Mauchamp, A. & Mesleard, F., 2001. Salt tolerance in *Phragmites australis* populations from coastal Mediterranean marshes. *Aquatic Botany*, 70: 39-52.

Miller, M., 2000. Fire autoecology. In: Brown, J.K. & Smith, J.K. Wildland fire in ecosystems, effects on fire and flora. Gen.Tech. Rep. RMRS-42, 2. Ogden UT, USDA Forest Service, Rocky Mt. Res. St.

Mucha, A. P., Almeida, C.M., Bordalo, A.A. & Vasconcelos, M.T., 2008. Salt marsh plants (*Juncus maritimus* and *Scirpus maritimus*) as sources of strong complexing ligands. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 77: 104-112.

Moza, M.K. & Bhatnagar, A.K., 2007. Plant reproductive studies crucial for conservation. *Current Science*, 92: 1207.

Navarro F. B. & Jiménez M. N., 2009. *Iris* L. En: G. Blanca, B. Cabezudo, M. Cueto, C. Fernández López & C. Morales Torres (eds.), *Flora Vascular de Andalucía Oriental* 1: 182–186. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, Sevilla.

Naveh, Z., 1987. Landscape ecology, management and conservation of European and Levant Mediterranean uplands. En: Plant response to stress. Functional analysis in Mediterranean ecosystems. NATO ASI Series Ecological Sciences. Ed. J.D. Tenhunen, F.M. Catarino, O.L. Lange, W.C. Oechel; Vol. 15.

Navidoo, G., 1994. Growth, water and ion relationship in the coastal halophytes *Triglochin bulbosa* and *Triglochin striata*. *Environmental and Experimental Botany*, 34: 419-426.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

- Nedjimi, B., 2009. Salt tolerance strategies of *Lygeum spartum* L.: A new fodder crop for Algerian saline steppes. *Flora*, 204: 747-754.
- Nikolaeva, M.G., 1969. Physiology of deep dormancy in seeds. Israel Programme for Scientists Translations Jerusalem. 200 pp.
- Noe, G.B. & Zedler, J.B., 2000. Differential effects of four abiotic factors on the germination of salt marsh annuals. *American Journal of Botany*, 87: 169-1692.
- Nonogaki, H., Bassel, G.W. & Derek Bewley, J., 2010. Germination-Still a mystery. *Plant Science*, 8 pp.
- Orlovsky, N. S., Japakova, U. N., Shulgina, I. & Volis, S., 2011. Comparative study of seed germination and growth of *Kochia prostrata* and *Kochia scoparia* (Chenopodiaceae) under salinity. *Journal of Arid Environments* 75: 532-537.
- Pangua, E., Belmonte, R. & Pajarón, S., 2009. Germination and reproductive biology in salty conditions of *Asplenium marinum* (Aspleniaceae), a European coastal fern. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 204 (9): 673-684.
- Pérez de Paz, P.L., Rodríguez Delgado, O., del Arco Aguilar, M.J., & Reyes Betancort, J.A., 2003. Guía botánica y cultural del trayecto de la excursión y de las localidades visitadas pp. 209-248 in O. Rodríguez Delgado (Editor): Apuntes sobre la Flora y Vegetación de Gran Canaria (Guía de la excursión geobotánica de las XIX Jornadas de Fitosociología y Simposio Internacional de la FIP 2003). 271 pp.
- Pérez-García, F. & Martínez-Laborde, J.B., 1994. Introducción a la Fisiología Vegetal. Mundi-Prensa.
- Perrino, P. & Terzi, M., 2003. Importanza della conservazione del germoplasma. In: Bressan, M., Magliaretta, L. & Pino, S. (eds). Cereali del Veneto. Regione Veneto/Prov. Di Vicenza/Veneto Agricoltura.
- Piotto, B. & Di Noi, A., 2001. Manuale ANPA. Propagazione per seme di alberi e arbusti della flora mediterranea. ANPA, Roma.
- Porceddu, E. & Jenkins, G., 1982. Seed regeneration in cross-pollinated species. In: Proceedings of the C.E.C./ EUCARPIA Seminar. Nyborg, Denmark, 15-17 July 1981.
- Pritchard, H.W. & Dickie, J.B., 2003. Predicting Seed Longevity: the use and abuse of seed viability equations. In: Smith, R.D., Dickie, J.B., Linington, S.H., Pritchard, H.W & Probert, R.J. (eds). Seed Conservation: turning science into practice. Royal Botanic Gardens, Kew, 653-722 pp.
- Probert, R.J., 2003. Seed Viability under Ambient Conditions, and the Importance of Drying. In: Smith, R.D., Dickie, J.B., Linington, S.H., Pritchard, H.W & Probert, R.J.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

(eds). Seed Conservation: turning science into practice. Royal Botanic Gardens, Kew, 337-365 pp.

Pujol, J.A, Calvo, J.F. & Ramírez-Díaz, L., 2000. Recovery of germination from different osmotic conditions by four halophytes from southeastern Spain. *Annals of Botany*, 85: 279-286.

Pujol, J.A, Calvo, J.F. & Ramírez-Díaz, L., 2001. Seed germination, growth, and osmotic adjustment in response to NaCl in a rare succulent halophyte from Southeastern Spain. *Wetlands*, 21(2): 256-264

Rao, V.R. & Hodgkin, T., 2002. Genetic diversity and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 68: 1-19.

Raven, P.H., Evert, R. & Eichhorn, S., 1992. *Biology of plants*. Reverté. Barcelona.

Redondo-Gómez, S., Rubio-Casal, A.E., Castillo, J.M., Luque, C.J., Álvarez, A.A., Luque, T. & Figueroa, M.E., 2004. Influences of salinity and light on germination of three *Sarcocornia* taxa with contrasted habitats. *Aquatic Botany*, 78: 255-264.

Richards, A.J., 1997. Plant Breeding Systems. Chapman & Hall, London.

Rivas-Martinez, S. & Rivas-Saenz, S., 1996-2009. Worldwide Bioclimatic Classification System. Phytosociological Research Center, Spain. (Disponible en <http://www.globalbioclimatics.org>)

Roberts, E.H., 1973. Predicting the storage life of seeds. *Seed Science and Technology*, 1: 499-514.

Rubio-Casal, A.E., Castillo, J.M., Luque, C.J. & Figueroa, M.E., 2003. Influence of salinity on germination and seeds viability of two primary colonizers of Mediterranean Salt pans. *Journal of Arid Environments*, 53(2): 145-154.

Salazar C. & Quesada J. 2009. *Populus* L. En: G. Blanca, B. Cabezudo, M. Cueto, C. Fernández López & C. Morales Torres (eds.), *Flora Vascular de Andalucía Oriental 2*: 298–301. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, Sevilla.

Schimdt, L. & Joker, D., 2001. *Technical note no. 59*. Glossary of seed biology and technology. Danida Forest Seed Centre. Humlebaek, Denmark.

Shannon, M.C., 1984. Breeding, selection and the genetics of Salt tolerance. In: Staples, R.C (Ed), *Salinity tolerance in plant: strategies for crop improvement*. Ohn Wiley & Sons, New York, 231-254 pp.

Shannon, M.C. & Grieve, C.M., 1999. Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia Horticulturae*, 78: 5-38.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Silva, H., Caldeira, G. & Freitas, H., 2007. *Salicornia ramosissima* population dynamics and tolerance of salinity. *Ecological Research*, 2: 125-134.

Smith, R.D., 1995. Collecting and handling seeds in the field. In: Guarino L., Ramanantha Rao V. & Reid R. (eds.). *Collecting Plant Genetic Diversity. Technical guidelines*. CABI. Wallingford D.C.

Solé-Benet, A. & Cantón-Castilla, Y., 2005. Mejora de suelos salinos y control de la erosión en zonas áridas. CSIC, 1-23 pp.

Song, J., Feng, G., Tian, C.H. & Zhang, F., 2005. Strategies for Adaptation of *Suaeda physophora*, *Haloxylon ammodendron* and *Haloxylon persicum* to a Saline environment during seedgermination stage. *Annals of Botany*, 96: 399-405.

Song, J., Fan, H., Zhao, Y., Jia, Y., Du, X. & Wang, B., 2008. Effect of salinity on germination, seedling emergence, seedling growth and ion accumulation of a euhalophyte *Suaeda salsa* in an intertidal zone and on saline inland. *Aquatic Botany*, 88: 331-337.

Suszka, B., Muller, C. & Bonnet-Masimbert, M., 1994. *Graines des feuillus forestiers, de la recolte au semis*. INRA Editions, Paris.

Takagawa, S., Washitani, I., Uesugi, R. & Tsumura, Y., 2006. Influence of inbreeding depression on a lake population of *Nymphoides peltata* after restoration from the soil seed bank. *Conservation genetics*, 7: 705-716.

Terry, J., Probert, R.J. & Linington, S.H., 2003. Processing and Maintenance of the Millenium Seed Bank Collections. In: Smith, R.D., Dickie, J.B., Linington, S.H., Pritchard, H.W. & Probert, R.J. (eds). *Seed Conservation: turning science into practice*. Royal Botanic Gardens, Kew, 307-325 pp.

Thanos, C.A., Georghiou, K. & Skarou, F., 1989. *Glaucium flavum* seed germination: an ecophysiological approach. *Annals of Botany*, 63: 121-130.

Thanos, C.A., Georghiou, K., Douma, D.J. & Marangaki, C.J., 1991. Photoinibition of seed germination in Mediterranean maritime plants. *Annals of Botany*, 68: 469-475.

Thanos, C.A., Georghiou, K. & Delipetrou, P., 1994. Photoinibition of seed germination in the maritime plant *Matthiola tricuspidata*. *Annals of Botany*, 73: 639-644.

Thanos, C.A. & Doussi, M.A., 1995. Ecophysiology of seed germination in endemic *Labiates* of Crete. *Israel Journal of Plant Science*, 43: 227-237.

Tingery, D.T., 1980. Stress ethylene production-A measure of plant response to stress. *HortScience*, 15(5): 630-633.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Tobe K., Li, X.M. & Omasa, K., 2004. Effects of five different salts on seed germination and seedling growth of *Haloxylon ammodendron* (Chenopodiaceae). *Seed Science Research*, 14: 345-353.

Tompsett, P.B. & Pritchard, H.W., 1998. The effect of chilling and moisture status on the germination, desiccation tolerance and longevity of *Aeusculus hippocastanus* L. seed. *Annals of Botany*, 82: 249-261.

Toole, V.K., Bailey, W.K. & Toole, E.H., 1964. Factors influencing dormancy of peanut seeds. *Plant physiology*, 39(5): 768-772.

Tukey, J.W., 1949. Comparing individual means in the analysis of variance. *Biometrics*, 5: 99-114.

Tutin, J.R., 1968. *Flora Europea*, Cambridge University Press.

Uchiyama, Y., 1987. Salt tolerance of *Atriplex nummularia*. *Technical Bulletin of the tropical Agriculture Research Center*, 22: 1-69.

Ungar, I. A., 1962. Influence of Salinity on Seed Germination in Succulent Halophytes. *Ecology*, 43(4): 763-764.

Ungar, I.A., 1977. Salinity, temperature, and growth regulator effects on seed germination of *Salicornia europaea* L. *Aquatic Botany*, 3: 329-335.

Ungar, I.A., 1978. Halophyte seed germination. *Botanical Review*, 44: 233-264.

Ungar, I.A., 1991. *Ecophysiology of Vascular Halophytes*. CRC Press, Boca Raton, FL.

Ungar, I.A., 1996. Effect of salinity on seed germination, growth, and ion accumulation of *Atriplex patula* (chenopodiaceae). *American Journal of Botany*, 83 (5): 604-607.

Vicente, J. De, 1999. "Programas de conservación y mantenimiento en parques públicos y privados, para el ahorro de agua", en Eficiencia del agua en las ciudades. Encuentro internacional, Zaragoza, 20-22 de Enero de 1999.

Vicente, O., Boscaiu, M., Naranjo, M.A., Estrelles, E., Bellés, J.M. & Soriano, P., 2004. Responses to salt stress in the halophyte *Plantago crassifolia* (Plantaginaceae). *Journal of Arid Enviroments*, 58: 463-481.

Vicente, M.J., Conesa, E., Álvarez-Rogel, J., Franco, J.A. & Martínez-Sánchez, J.J., 2007. Effects of various salts on the germination of three perennial salt marsh species. *Aquatic Botany*, 87: 167-170.

Efecto de distintos factores ambientales sobre la germinación y crecimiento de dos especies halófitas: Propuestas para la restauración y ajardinamiento de áreas salinas.

Vicente, M.J., Conesa, E., Álvarez-Rogel, J., Franco, J.A. & Martínez-Sánchez, J.J., 2009. Relationships Between Salt Type and Seed Germination in Three plant Species Growing in Salt Marsh Soils of Semi-Arid Mediterranean Environments. *Arid Land Research and Management*, 23: 103-114.

Wei, Y., Dong, M., Huang, Z.Y., & Tan, D.Y., 2008. Factor influencing seed germination of *Salsola affinis* (Chenopodiaceae), a dominant annual halophyte inhabiting the deserts of Xinjiang, China. *Flora*, 203(2): 134-140.

Werner, J.E. & Finkelstein, R.R., 1995. *Arabidopsis* mutants with reduced response to NaCl and osmotic stress. *Physiologia Plantarum*, 93: 659-666.

Williams, M.D. & Ungar, I.A., 1972. Effects of environmental parameters on the germination, growth, and development of *Suaeda depressa*. *American Journal of Botany*, 59: 912-918.

Witt, S., 1985. Biotechnology and Genetic Diversity. California Agricultural Lands Project, San Francisco, 145 pp.

Woodel, S.R.J., 1985. Salinity and seed germination patterns in coastal plants. *Vegetation*, 61: 223-229.

Zhu, J.K., 2001. Plant salt tolerance. *Plant Science*, 6: 2.

Zoro, B.I., Maquet, A., Degreef, J., Wathelet, B. & Baudoin, J.P., 1998. Sample size collecting seeds in germplasm conservation: the case of Lima bean *Phaseolus lunatus* L. *Theoretical and Applied Genetics*, 97: 187-194.