

UNIVERSIDAD POLITECNICA DE VALENCIA

ESCUELA POLITECNICA SUPERIOR DE GANDIA

LICENCIADA EN CIENCIAS AMBIENTALES



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA



ESCUELA POLITECNICA
SUPERIOR DE GANDIA

**“Germinación de semillas, desarrollo de
plántulas y niveles de prolina en dos especies del
género *Gypsophila*”**

TRABAJO FINAL DE CARRERA

Autora:

Marta García Casanova

Tutora:

Dra. Monica T. Boscaiu Neagu

Co-Tutor:

Dr. Óscar Vicente Meana

GANDIA, 2011

A mi familia.
A mis compañeros.
A mis profesores.
A mi tutora.
Por su tiempo, dedicación y cariño.

La constancia es la virtud por la que todas las cosas dan su fruto. (Arturo Graf)

INDICE

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1. Plantas gipsófilas.....	6
1.2. Osmorregulación.....	9
1.2.1. Prolina.....	11
2. ÁREA DE ESTUDIO.....	13
2.1. Localización.....	15
2.2. Características generales.....	16
2.3. Vegetación.....	17
2.4. Figuras de protección.....	18
2.5. Climatología.....	23
3. ESPECIES ESTUDIADAS.....	26
3.1. Generalidades del género Gypsophila.....	27
3.1.1. generalidades de cada especie.....	29
3.1.2. Morfología.....	32
3.1.3. Flores, frutos y semillas.....	33
3.1.4. Dispersión.....	33
3.1.5. Distribución.	34
4. OBJETIVOS.....	35
4.1. Objetivos generales.....	36
4.2. Objetivos específicos.	36
5. MATERIAL Y MÉTODOS.....	38
5.1. Material.....	39

5.2. Métodos.....	39
5.3. Medidas de supervivencia y desarrollo.....	40
5.4. Cuantificación de prolina.....	41
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
6.1. Germinación y supervivencia de las plántulas.....	44
6.2. Desarrollo de las plántulas.....	47
6.3. Biomasa por especie y tipo de suelo.....	50
6.4. Cuantificación de prolina.....	52
7. BIBLIOGRAFÍA.....	57

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Plantas gipsófilas.

La vegetación gipsófila es característica de los suelos yesíferos. En estos suelos predominan iones de magnesio y calcio, estos sulfatos pueden estar enriquecidos con cloruros, si son de origen marino y sodio si son de origen continental, constituyen un material aglomerante de amplia y antigua utilización. Los principales afloramientos en la Comunidad Valenciana pertenecen bien a materiales del mioceno o bien a materiales del triásico.

El máximo desarrollo de los afloramientos se produce cuando va asociado a la facies Keuper (Meléndez, 2004), formación muy característica en la Comunidad, especialmente en los sectores central y meridional.

La vegetación ibérica típica de yesos (gipsícola) se compone de matorrales y tomillares dominados por una gran cantidad de especies leñosas, de portes medios o bajos, casi siempre endémicas de determinadas regiones peninsulares o de la Península en su conjunto. Entre las especies más extendidas están *Gypsophila struthium*, *Ononis tridentata*, *Lepidium subulatum*, *Jurinea pinnata*, *Launaea pumila*, o *Herniaria fruticosa*.

No hay que olvidar que la “vegetación gipsícola mediterránea” es un hábitat prioritario de la UE ampliamente representado en España (Laguna *et al.*, 2003, Bartolomé *et al.*, 2007) y casi exclusivo del mismo si exceptuamos algunas zonas de Italia en las que se presenta muy desdibujado (Troia 2002). Además, muchas de las especies que lo integran están amenazadas (Sainz Ollero *et al.*, 1996, Mota *et al.*, 2008) y protegidas por directivas, leyes internacionales, nacionales o autonómicas así como decretos. Se suma a todo ello que existe un conflicto entre la conservación y la explotación de yeso, pues no hay que olvidar que se trata de una roca industrial (Mota *et al.*, 2008) y que España es uno de los principales productores del mundo. Las actividades agrícolas y el desarrollo urbano también han afectado a los afloramientos de yeso.

En no pocos casos se ha menospreciado el valor de estos biotopos con la ubicación de vertederos de residuos sólidos (representan el tipo de sustrato más impermeable en gran parte del territorio español) o con la instalación de otro tipo de infraestructuras.

Además estos afloramientos de yeso o aljezares se encuentran distribuidos de forma disyunta y muestran una notable diversidad. Esta circunstancia supone una mayor dificultad a la hora de plantear su conservación que, ineludiblemente, requiere de una red de reservas (Cerrillo *et al.*, 2002). Puesto que la riqueza y rareza florísticas son argumentos que se han empleado en la selección de reservas es indudable el interés de establecer un listado de las plantas exclusivas o casi exclusivas del yeso.

La vegetación gipsófilas ibérica, es un tipo de hábitat presente en las regiones peninsulares con suelos ricos en yesos, fundamentalmente localizados en la mitad oriental de la Península, sobre todo en el Valle del Ebro, Meseta sur (la Mancha) y en los territorios cálidos de Levante, sureste peninsular y Andalucía oriental. Son formaciones ligadas a suelos con algún contenido en sulfatos, desde yesos más o menos puros hasta margas yesíferas y otros sustratos mixtos. Suelen actuar como matorrales de sustitución de formaciones forestales.

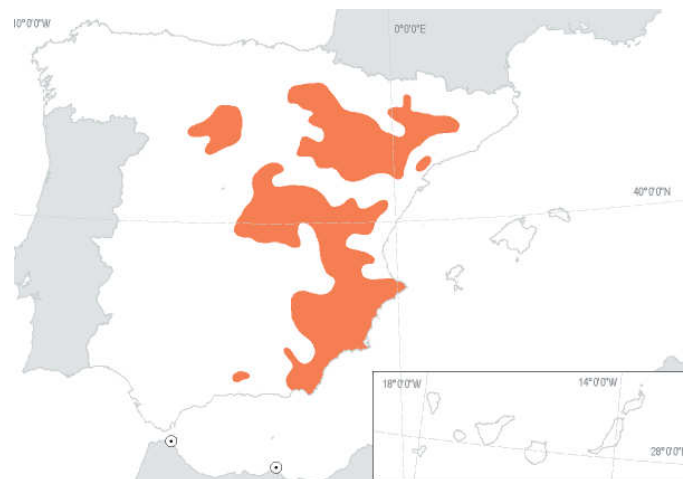
Suelos yesíferos.

Las características geológicas de los yesos ibéricos son variables, dependiendo de la época a la que se remonte su génesis. Los principales yacimientos se formaron en dos periodos geológicos distintos, unos durante el Triásico superior y otros, varios millones de años más tarde durante el Terciario. En los sulfatos Triásicos no se conserva el yeso original, sino fases diagenéticas de anhidrita y yeso secundario (Ortíz *et al.*, 1996).

Durante el Terciario, las corrientes fluviales recogieron sales y sulfato cálcico de los materiales del Triásico Superior, el Keuper (Meléndez, 2004). En el Terciario pueden separarse los yesos que se formaron durante el Neógeno de aquellos que se depositaron en el Paleógeno.

Los depósitos terciarios se formaron en cuencas sedimentarias, de extensión variable, rodeadas de montañas. Como ya se ha dicho, en las cuatro grandes cuencas españolas jalonadas por los relieves alpinos, las del Duero, Ebro, Tajo y Guadalquivir, se concentran buena parte de los afloramientos yesíferos (Meléndez, 2004), aunque también son abundantes en otras cuencas ibéricas menores (cuenca de Murcia, cuenca de Mula, cuenca de Sorbas, cuenca de Guadix-Baza).

A diferencia de las otras tres grandes cuencas, la del Guadalquivir se mantuvo comunicada con el océano Atlántico y el mar Mediterráneo hasta finales del Mioceno. El resto de las cuencas tuvo una historia parecida, de manera que su carácter endorreico dio lugar a ambientes palustres. La extensión de estas depresiones fluctuó en función del clima y de los periodos de aridez durante las fases evaporíticas en las que se acumularon los yesos (Meléndez, 2004).



*Figura 1. Muestra la distribución de los suelos yesíferos en la península.
(Red Natura 2000 (www.mma.es))*

1.2.Osmorregulación.

En condiciones naturales, las plantas están expuestas a condiciones ambientales cambiantes que determinan respuestas complejas que influyen en su crecimiento y desarrollo. Las condiciones de sequía y salinidad en los suelos son las mayores causas de estrés.

El reconocimiento de los mecanismos bioquímicos y fisiológicos involucrados en la osmorregulación ante estrés osmótico permite implementar nuevas estrategias para el mejoramiento de las condiciones de estrés hídrico y salino. El transporte de agua por acuaporinas, el cierre estomático, la síntesis de osmolitos compatibles, el transporte de iones a través de sistemas selectivos de sodio y potasio y los no selectivos localizados en las membranas biológicas y la extrusión y compartimentalización de sodio, son mecanismos reconocidos en las plantas para adaptarse y tolerar cambios en el potencial hídrico.

La osmorregulación es la forma activa de regular la presión osmótica del medio interno de la planta para mantener la homeostasis de los líquidos de su interior; esto evita que el medio interno llegue a estados demasiado diluidos o concentrados. La presión osmótica es la medida de la tendencia del agua para moverse de una solución a otra por medio de la ósmosis. Este proceso da a las plantas capacidad para tolerar condiciones de escasez de agua y salinidad elevada, con la expresión de mecanismos adaptativos que evitan disminución de la fotosíntesis, alteraciones en la traslocación y distribución de fotoasimilados y pérdidas en rendimiento, hechos significativos en el funcionamiento normal de la planta y en la productividad de los cultivos.

Para sobrevivir y desarrollarse de forma normal, las plantas perciben constantemente cambios en el ambiente circundante y responden a través de una variedad de mecanismos moleculares. Los procesos por los cuales las células vegetales son sensibles a modificaciones extracelulares son de importancia crucial para la supervivencia vegetal y, en consecuencia, para el mantenimiento de la vida animal.

Uno de los estreses abióticos más importantes para la productividad de los cultivos se relaciona con la deshidratación vegetal bajo niveles de alta salinidad, sequía y condiciones de baja temperatura.

Cada uno de estos factores genera estrés hiperosmótico, este está caracterizado por el incremento de concentración de solutos en la célula y el descenso de la presión de turgencia por pérdida de agua. La deshidratación de las células induce la biosíntesis, la descompartimentación y el transporte de la fitohormona ácido absícico (ABA), que a su vez induce el cierre de los estomas para reducir la transpiración (Barceló *et al.*, 2001; Taiz y Zeiger, 2006).

Cada vez que el contenido de agua cambia durante la hidratación o la deshidratación, o cuando el contenido de solutos se incrementa o disminuye, ocurren cambios de concentración de solutos en el citosol bajo el control regulatorio de la célula. La respuesta pasiva es definida como ajuste osmótico y la respuesta completa es denominada osmorregulación (García-Ortolà, 2003). Inicialmente se pensó que el ajuste osmótico ocurría tan sólo en plantas sometidas a altas salinidades, pero después se estudiaron casos en los que las plantas crecían en suelos secos, y se realizaron gran cantidad de trabajos para determinar el efecto del estrés hídrico sobre el crecimiento vegetal.

El ajuste osmótico proporciona un medio de mantenimiento del contenido de agua en la célula, importante para la actividad celular (Aharon *et al.*, 2003; Javot *et al.*, 2003; Bartels y Ramanjalu, 2005). Debido a que la pérdida de agua puede incrementar la concentración de solutos en la célula, las moléculas que regulan el metabolismo pueden ser afectadas. Así, algunos iones inorgánicos, tales como potasio, calcio, magnesio y cloro, no pueden ser metabolizados o incorporados dentro de la estructura celular y se acumulan en situaciones de deshidratación. Ya que estos iones juegan papeles de regulación de enzimas, la actividad enzimática puede verse afectada. Además de los efectos de la pérdida de agua sobre su concentración, las plantas expuestas a altas salinidades externas presentan un problema extra de altas concentraciones de NaCl, y muchas enzimas se verán inhibidas por altas concentraciones de sal, aun en plantas halófitas (Andreev, 2001; Canny, 2001; Steudle, 2000; Zyalalov, 2004).

1.2.1. Prolina.

La prolina es uno de los 20 aminoácidos constituyentes de las proteínas. Forma parte del grupo de aminoácidos con grupos no polares (hidrófobos), el precursor para su biosíntesis es el ácido glutámico. La prolina es, en sentido estricto, un iminoácido ya que su grupo amino es una amina secundaria en lugar de una amina primaria (figuras 2 y 3), a diferencia de los demás aminoácidos, la cadena lateral de la prolina está unida tanto al átomo de carbono adyacente al grupo carboxilo como al átomo de nitrógeno, esto da lugar a una molécula anular, que hace que tenga una conformación relativamente rígida:

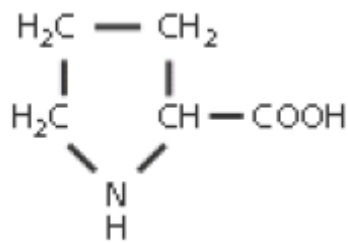


Figura 2: Fórmula química de Ácido pirrolidin-2-carboxílico (Prolina)

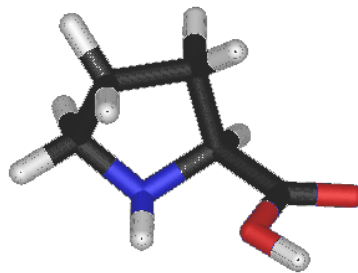


Figura 3: Vista en 3D de la molécula de Prolina.

La prolina hace disminuir el potencial osmótico y también protege estructuras macromoleculares contra la deshidratación ya que se une por el lugar amino a las proteínas y deja el lugar carboxílico para interactuar y rodearse de moléculas de agua por puentes de hidrógeno.

Se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas, cuando éstas crecen en condiciones óptimas.

En condiciones de estrés, el contenido de prolina aumenta para actuar como un agente osmótico, protegiendo a la planta de la deshidratación.

Muchas especies de plantas acumulan prolina libre en respuesta a la salinidad (Jiménez-Bremont *et al.*, 2006; Tajdoost *et al.*, 2007), sequía (Avendaño *et al.*, 2005) y frío (Konstantinova *et al.*, 2002).

Se ha sugerido que la prolina participa en múltiples roles en la tolerancia de las plantas al estrés; actuando como un mediador del ajuste osmótico (Delauney y Verma, 1993; Kavi Kishor *et al.*, 1995; Yoshiba *et al.*, 1997), estabilizador de proteínas y membranas, inductor de genes relacionados a estrés osmótico (Iyer y Caplan, 1998), fuente de carbono y nitrógeno fácilmente disponible en la rehidratación celular (Brugièrre *et al.*, 1999), fuente de equivalentes de reducción (del catabolismo de prolina) para sostener la fosforilación oxidativa y la generación de ATP durante la recuperación del estrés (Hare y Cress, 1997; Hare *et al.*, 1998). Además, ayuda al control de la acidosis del citosol y puede mantener la relación NADH/NAD⁺ a valores compatibles con el metabolismo; en la detoxificación del exceso de NH₄⁺ y ayuda a las células a superar la tensión oxidativa (cosechador de especies reactivas de oxígeno) (Ramanjulu y Sudhakar, 2000; Harsh, 2003).

En la osmorregulación por prolina, los niveles de prolina reflejan bien el grado de estrés: aumenta el estrés y aumenta la prolina. Así lo demuestran algunos estudios sobre el trigo (Nayyar, 2003), maíz (Ghoulam *et al.*, 2002; Nayyar, 2003), la caña de azúcar (García *et al.*, 2003) y el pimiento dulce (Chaman, 2007)

AREA DE ESTUDIO

2. ÁREA DE ESTUDIO

Para el estudio se han obtenido muestras de suelos y de dos especies del valle de Villena.

Debido a su gran diversidad fisiográfica y faunística, el Patrimonio natural de Villena es de gran importancia en el contexto de la provincia de Alicante. Sus parajes, caracterizados por un ecosistema rocoso y calcáreo, poseen un rico valor medioambiental que se manifiesta en un ecosistema con características meseteñas y mediterráneas.

En las localidades de las proximidades de Villena, se encuentra una formación roja arcillo-yesífera con carácter típico de la facies Keuper que además de yesos contiene gran cantidad de sales. La vegetación de este tipo de sustratos corresponde a la asociación *Gypsophilo-Ononidetum edentulae* del orden *Gypsophiletalia* y de la clase *Ononido-Rosmarinetea*. Esta comunidad conforma matorrales abiertos en los que predomina *Ononis tridentata* ssp. *edentulae*, aunque en determinadas ocasiones es *Lygeum spartum* el dominante. (Costa, 1986)

La Sierra de Salinas, una de las más extensas de la provincia, representa uno de los parajes con mayor valor medioambiental de la zona y hace de frontera natural con el norte de la región de Murcia y con diferentes localidades del Alto y Medio Vinalopó. Esta alineación montañosa abrupta y de naturaleza calcárea, alberga una diversidad de hábitats de interés, como una gran representación de vegetación boscosa, con carrascales y densos pinares. Este hábitat contribuye a la presencia de una rica fauna entre la que destaca la Gineta, el Gato montés y el Jabalí. Existe también una gran población de aves rapaces, como son el Búho real, Cárabo y el Águila real.

En otras sierras, de menor vegetación arbórea como son el Morrón y Peña Rubia, predomina el matorral dominado por el romero, el enebro, la sabina, el tomillo, la aliaga, etc., plantas que están ampliamente representadas en estas latitudes.

El propio municipio de Villena está asentado en una de sus partes sobre la llamada Sierra de la Villa, la cual confiere a la ciudad un pequeño pulmón natural formado por pino carrasco, romero, tomillo o aliaga, con los restos del Castillo de Salvatierra en la cima. Este pequeño paraje se ha convertido en una zona lúdica para los habitantes y visitantes de Villena, ya que en ella se pueden practicar deportes como senderismo, escalada o parapente.

Son importantes en el territorio, las asociaciones en las que están presentes especies del género *Gypsophila*, *Gypsophila struthium* y *Gypsophila tomentosa*. La primera, caracteriza *junto con Teucrium libanitis*, la asociación *Gypsophilo struthii-Teucrietum libanitidis* (Rivas Godoy et Rigual 1956), matorral de pequeña talla propio de suelos ricos en yesos. Dada la importancia de esta zona por su riqueza botánica, y con la finalidad de proteger a una parte de los hábitats yesíferos de Villena ha sido declarar la zona de “Los Cabecicos” como Microrreserva, incluida en la Red Natura 2000 (Laguna, 2003).

2.1. Localización.

Valle de Villena, se localiza al Sureste de la Península Ibérica, es una zona propensa a la formación de ambientes salinos y en la que existe más variabilidad de especies y comunidades vegetales halófilas.

Este valle es una formación salina interior influida por la escasez de precipitaciones y por las características litológicas, comprende parte de los municipios de Villena y Sax, con una superficie aproximada de 94 Km². Las coordenadas geográficas que limitan el Valle de Villena son:

38° 31' 18" y 38° 40' 04" de latitud norte
0° 50' 59" y 0° 57' 54" de longitud oeste

Está limitado occidentalmente por la alineación montañosa llamada el Castellar con la cota máxima de esta zona a los 592 m por el Cabezo Redondo.

El Valle de Villena se encuentra sobre un sistema de acuíferos de un área de 904 km² dividido en tres subsistemas (sistema Caudete-Villena -en oriental-; Jumilla-Yecla –en occidente-; y el Carche-Salinas -en Sur-).

Villena pertenece al subsistema Caudete-Villena, el cual tiene un área de 317 km² con suelos calizos (CaCO₃) y Dolomías (MgCO₃). Sin embargo, en nuestra zona de estudio no existen acuíferos porque el núcleo central del Valle de Villena está formado por una alineación de diapiros triásicos. El núcleo es producto de Diapirismo (Rodríguez Estrella, 1977), de lo que se puede explicar la existencia de salinas de evaporación en esta zona.



Figura 4. Localización del municipio de Villena (Alicante). (gva (visor Web))

2.2. Características generales

En Villena se encuentra entre otras la Sierra de Salinas, donde abunda la vegetación boscosa, bosque mediterráneo, conservando amplias zonas de carrascal y densos pinares, otras sierras, de menor vegetación arbórea son el Morrón y Peña Rubia, donde predomina el matorral dominado por el romero, el enebro, la sabina, el tomillo, la aliaga, etc., plantas que están ampliamente representadas en estas latitudes.

Dentro del término de Villena se encuentran también ambientes substeparios, zonas de vegetación muy baja y aclarada, acompañando normalmente a los cultivos de cereales, como sucede en el paraje de Los Alhorines.

La Sierra de Salinas es una destacada formación geo-morfológica que sirve de frontera natural entre el norte de la región de Murcia (Yecla) y distintas localidades del Alto y Medio Vinalopó. Pertenece al sistema prebético y es un anticlinal que continua al oeste por la Sierra del Carche-Serral. Las localidades más importantes que encontramos en sus alrededores son Yecla en la ladera Oeste, Villena en la ladera Norte y Salinas en la ladera sur.

El propio municipio de Villena está asentado en una de sus partes sobre la llamada Sierra de la Villa, la cual confiere a la ciudad un pequeño pulmón natural formado por pino carrasco, romero, tomillo o aliaga, con los restos del Castillo de Salvatierra en la cima. Este pequeño paraje se ha convertido en una zona lúdica para los habitantes y visitantes de Villena, ya que en ella se pueden practicar deportes como senderismo, escalada o parapente.

En las faldas de la Sierra de la Villa está el área conocida como Las Cruces, donde existía un convento de monjas destruido con la construcción de la autovía. Hoy perduran tres cruces como recuerdo. El paraje está acondicionado con bancos, mesas, agua, barbacoa y de forma temporal existe servicio de restauración en un pequeño bar. Desde aquí parte el sendero de pequeño recorrido PR-312 "Sierra de la Villa" de distinta dificultad al tener varias variantes.

2.3. Vegetación.

El territorio del Valle de Villena se incluye, casi en su totalidad, en el subsector Ayorano- Villenense. Este subsector comprende áreas interiores de las zonas de Ayora, Almansa, Tecla y Villena. Se caracteriza por las temperaturas contrastadas y una escasa precipitación.

En menor proporción está representado en el territorio el subsector Alicantino de la provincia Murciano-Almeriense.

Reino Holártico

Región Mediterránea

Provincia Catalana-Provenzal-Balear

Sector Setabense

Subsector Ayorano-Villenense

Provincia Murciano-Almeriense

Sector Alicante-Murciano

Subsector Alicante

La vegetación potencial del Valle de Villena corresponde a un coscojar denso (*Ramón lycioidis-Quercetum cocciferae* Br.-Bl. et O. Bolòs, 1954) que se desarrolla en zonas con termotipo mesomediterráneo y ombrotipo seco-semiárido. Este tipo de vegetación, pese a ser la vegetación potencial, está poco representada en el debido a distintos tipos de transformaciones. Son importantes en el territorio, las asociaciones en las que están presentes especies del género *Gypsophila*, *Gypsophila struthium* y *G. tomentosa*. La primera, caracteriza junto con *Teucrium libanitis*, la asociación *Gypsophilo struthii-Teucrietum libanitidis* (Rivas Godoy et Rigual 1956), matorral de pequeña talla propio de suelos ricos en yesos.

Gypsophila tomentosa es característica de la asociación *Limonio delicatuli-Gypsophiletum tomentosae* Peinado et Mart. Parras 1982, endémica del subsector Ayorano-Villenense y que se desarrolla en suelos subsalinos, en contacto con las comunidades hiperhalófilas caracterizadas por *Sarcocornia fruticosa* o *Arthrocnemum macrostachyum*.

2.4. Figuras de protección.

LIC

El municipio de Villena debido a su gran riqueza de biodiversidad esta presente en la Red Natura 2000 ya que en este término se incluyen tres LIC:

- LIC (ES5212007) SALERO Y CABECICOS DE VILLENA: Área mixta que comprende, por una parte, una laguna interior caracterizada por el carácter salino de sus aguas, carácter que se deriva de la presencia de afloramientos triásicos; por otra, estos mismos afloramientos configuran un relieve en lomas - cabecicos- que albergan una interesante vegetación gipsícola. Destacables así mismo los restos de las infraestructuras asociadas al aprovechamiento de la sal.

- LIC (ES 5213054) ELS ALFORINS: Se trata de un valle agrícola, considerado a pesar de ello de un gran interés, ya que a causa de su peculiar configuración – parcelas de pequeño tamaño en las que alternan cultivos de cereal, vid y frutales, separados por setos y márgenes naturales e incluso algunos originales arenales interiores colonizados por pinares de pino piñonero— la convierten en hábitat apropiado para un gran número de especies de fauna, sobre todo pequeñas rapaces.

Se incluye, así mismo, una pequeña zona de montaña –en la Serra de la Solana de Beneixama— que incorpora hábitats de cierto interés, aunque no son los hábitats presentes el factor de mayor relevancia en la zona, aún cuando se encuentren bien representados elementos como los matorrales arborescentes con *Juniperus*, los prados anuales de *Thero-Brachypodietea*, los prados calcáreos cársticos o las dunas con bosques de *Pinus pinea*. Si embargo, entre las especies prioritarias se encuentran rapaces como *Aquila chrysaetos*, *Bubo bubo*, *Circus pygargus*, *Falco columbarius*, *Falco naumanni* o *Falco preregrinus*, así como especies esteparias muy escasas en el territorio valenciano, como *Burhinus oedicephalus*, *Melanocorypha calandra*, *Otis tarda*, *Pterocles alchata* o *Tetrax tetrax*.

- LIC (ES 6200008) SIERRA DE SALINAS: Zona de montaña mediterránea con una gran diversidad de hábitats de interés. Alberga una excelente representación de vegetación gipsícola, así como de otros hábitats relacionados con roquedos y desprendimientos rocosos. De gran importancia para las aves rapaces, alberga además algunas cavidades de especial interés por sus poblaciones de quirópteros.

Entre los hábitats mejor representados, destacan por su relevancia los prados anuales, los matorrales arborescentes de *Juniperus*, la vegetación gipsófila, los roquedos silíceos, los carrascales, los brezales oromediterráneos con aliaga, etc., destacando así mismo las cuevas y las dunas con *Pinus pinea*.

Microrreservas de flora.

Villena contiene tres microrreservas de flora: desde 1994 la Microrreserva Cabecicos de Villena y la Microrreserva Cueva del Lagrimal y desde 2002 la Microrreserva Miramontes.

_ Microrreserva de la Sierra de Salinas: Tiene una superficie de 0.8478 ha. Y la composición del suelo se basa en calizas, arenas, margas y un alto contenido en sales. Las especies a conservar son las siguientes: *Centaurea antennata* y *Sarcocapnos saetabensis*.

_ Microrreserva de los Cabezos de Villena: Esta microrreserva tiene una superficie de 2,3933 ha. Y la composición del suelo se basa en arenas, calizas y yesos. Las especies a conservar son las siguientes: *Artemisia lucentica*, *Herniaria fruticosa*, *Gypsophila struthium* subsp. *struthium*, *Limonium supinum* y *Teucrium libanitis*.

_ Microrreserva de Miramontes: Los terrenos de esta microrreserva son de titularidad privada y tiene una superficie de 7,1 ha. Las especies a conservar son las siguientes: *Gypsophila struthium* subsp. *struthium*, *Limonium caesium*, *Limonium supinum*, *Teucrium gnaphalodes* y *Teucrium libanitis*.

Hábitats yesíferos.

Una forma de proteger a una parte de los hábitats yesíferos de Villena ha sido declarar la zona de “Los Cabecicos” como Microrreserva, incluida en la Red Natura 2000 (Laguna, 2003). Ya son 94 microrreservas que encontramos en la provincia de Alicante.

Para aclarar términos, Microrreserva puede definirse como “aquella parte de terreno de la Comunidad Valenciana que, cumpliendo las condiciones previstas en el artículo 3º del decreto 218/1994, sea declarada específicamente como tal mediante una orden de la Consellería del Medio Ambiente, a fin de garantizar un adecuado estudio y seguimiento científico a largo plazo de las especies y comunidades vegetales allí contenidas”.

La condición más importante a tener en cuenta a la hora de poder declarar una zona como Microrreserva es que las parcelas sean de terreno natural de menos de 20 ha de superficie, y que contengan una elevada concentración de plantas raras, endémicas, o amenazadas o de elevado interés científico (decreto 218/94).

En la Microrreserva de “Los Cabecicos” como ya se ha comentado en el apartado anterior, encontramos la unidad de vegetación prioritaria *Gypsophila struthii-Teucrietum libanitidis* catalogada con un código natura 2000 (1520*, hábitat prioritario).

Una vez que una zona se ha declarado como Microrreserva son necesarios unos objetivos para que la vegetación que aquí se contiene pueda ser conservada. Ciertas actuaciones que se van realizando en “Los Cabecicos” son:

- 1) Colocación de un cartel informativo con recomendaciones a la hora de visitar esa Microrreserva;
- 2) Recolección periódica de semillas de especies prioritarias y depósito en bancos de germoplasma;
- 3) Muestreo fitosociológico periódico de las principales unidades de vegetación existentes;
- 4) Reforzamiento poblacional de *Limonium supinum*, *L. caesium*, *Gypsophila struthium* subsp. *struthium*, *Teucrium gnaphalodes* y *T. libanitis*;
- 5) Reintroducción de *Gypsophila tomentosa*;
- 6) Eliminación progresiva de los pies introducidos de *Pinus halepensis*.

En toda la Microrreserva se prohíbe salirse de las sendas y caminos, además de la captura y recolección de invertebrados y hongos, a no ser con fines educativos, científicos o conservacionistas. Sin embargo, en esta Microrreserva no se prohíbe la actividad de pastoreo ovino sobre este terreno pero en el caso que ocasione daños significativos a las especies de mayor interés, podrían establecerse medidas preventivas para reducir o eliminar este impacto. (DOCV nº 4.390).

Hábitats prioritarios.

Es importante destacar la presencia de distintos hábitats prioritarios en el municipio de Villena como:

1. los prados anuales *de Thero-Brachypodietea* (***6220**),
2. los prados calcáreos cársticos (***6110**)
3. las dunas con bosques de *Pinus pinea* (***2270**)
4. la vegetación gipsófila (***1520**).

Vegetación de los suelos yesíferos de la Península Ibérica, extremadamente rica en elementos endémicos peninsulares o del Mediterráneo occidental.

Tipo de hábitat presente en las regiones peninsulares con suelos ricos en yesos, fundamentalmente localizados en la mitad oriental de la Península, sobre todo en el Valle del Ebro, Meseta sur (la Mancha) y en los territorios cálidos de Levante, sureste peninsular y Andalucía oriental.

Son formaciones ligadas a suelos con algún contenido en sulfatos, desde yesos más o menos puros hasta margas yesíferas y otros sustratos mixtos. Suelen actuar como matorrales de sustitución de formaciones forestales o de garrigas termomediterráneas y semiáridas en los territorios sublitorales, sobre todo en el sureste.

La vegetación ibérica típica de yesos (gipsícola) se compone de matorrales y tomillares dominados por una gran cantidad de especies leñosas, de portes medios o bajos, casi siempre endémicas de determinadas regiones peninsulares o de la Península en su conjunto.

Entre las especies más extendidas están *Gypsophila struthium*, *Ononis tridentata*, *Helianthemum squamatum*, *Lepidium subulatum*, *Jurinea pinnata*, *Launaea pumila*, *L. resedifolia* o *Herniaria fruticosa*.

Entre los endemismos fundamentalmente manchegos cabe mencionar *Teucrium pumilum* y *Centaurea hyssopifolia*.

En el valle del Ebro, *Gypsophila struthium* se diferencia en una subespecie propia (subsp. *hispanica*). Pero es en el sureste ibérico semiárido donde estas formaciones alcanzan mayor diversidad y riqueza endémica, con especies como *Thymus membranaceus*, *T. moroderi*, *Teucrium libanitis*, *T. balthazari*, *Santolina viscosa*, *Helichrysum decumbens* o *Teucrium turredanum*, *T. lepicephalum* y *Helianthemum alypoides*, incluidas estas últimas en el Anexo II de la Directiva Hábitat.

2.5. Climatología.

Se trata de una región con una notable sequedad estival de unos tres meses, propios del clima mediterráneo peninsular, y un fuerte recalentamiento y menor nubosidad durante el verano.

Es un clima de transición entre el sector Árido Meridional y el Sector de la Mancha suboriental caracterizado por la notable continentalidad de las temperaturas, aunque aún tiene pequeñas influencias del mediterráneo por no tener obstáculos intermedios.

En verano, las temperaturas son muy altas, los meses más calurosos en Villena corresponden a los meses de junio a septiembre, siendo también los más secos, lo que tiene como consecuencia un largo periodo de sequía. La

ERRScontinentalidad de Villena se explica por las temperaturas tan extremas que se pueden alcanzar a lo largo del año.

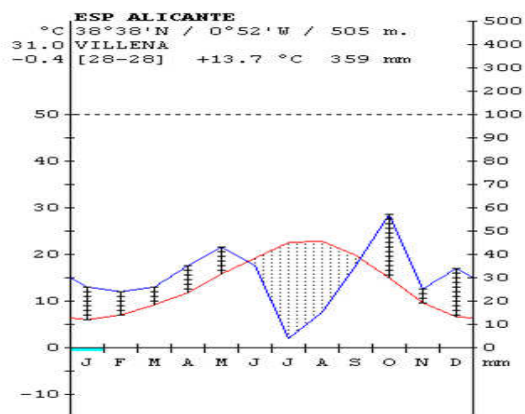
Las temperaturas frías que se alcanzan desde diciembre hasta febrero pueden ocasionar heladas invernales y también nieblas de irradiación en los valles de interior. Las nieblas de irradiación se originan por el enfriamiento del aire húmedo pegado al suelo durante las largas noches invernales en las que existe una estabilidad climática, con cielos despejados, una fuerte irradiación diurna y pérdida de calor nocturna provocando temperaturas máximas muy bajas, por falta de nubosidad.

Este fenómeno meteorológico contribuye de manera decisiva a la distribución irregular de la vegetación, manteniendo una correlación inversa de las especies y la altura. Existe un gran escalón térmico entre el Alto y Medio Vinalopó, siendo las temperaturas invernales del Alto mucho más frías. (Elias y Ruiz Beltran, 1977). La vegetación que existe en Villena tiene que estar muy bien adaptada a estos drásticos cambios de temperatura, además del cambiante régimen hídrico, con una precipitación anual inferior a los 400 mm.

En el Valle de Villena se reconoce un único termótipo, el Mesomediterráneo con carácter superior en el valle debido a la acumulación de masas de aire frío en el fondo del Valle durante el invierno y la primavera, provocando un fenómeno de inversión térmica, en cambio, en las montañas que rodean el valle nos encontramos con un Mesomediterráneo inferior.

Las montañas impiden que las nubes avancen hacia el valle, es una zona de “sombra de lluvias”, por lo que el agua se descarga en la periferia del valle, sin llegar a este. Esto influye en el ombrótipo de la zona que es semiárido en el valle y seco en las montañas. Las lluvias que ocurren durante todo el año no se distribuyen uniformemente en todas las estaciones, sino que la mayor cantidad de lluvias se dan en otoño y primavera, seguidas del invierno.

Datos climáticos de la estación meteorológica de Villena:



© 1996-2009 S.Rivas-Martínez, Centro de Investigaciones Fitosociológicas, Madrid.

Figura 5. Datos climatológicos, precipitaciones y temperaturas del municipio.

ESPECIES ESTUDIADAS

3. ESPECIES ESTUDIADAS.

3.1. Generalidades del género *Gypsophila*.

El número de vegetales vasculares que viven con exclusividad en los suelos yesíferos es muy elevado y de especial interés, de ahí su estudio, las plantas propias de los suelos de yeso, se conocen con el adjetivo de gypsícolas.

Vegetación gypsícola ibérica (*Gypsophiletalia*), es un tipo de hábitat presente en las regiones peninsulares con suelos ricos en yesos, fundamentalmente localizados en la mitad oriental de la Península, sobre todo en el Valle del Ebro, Meseta sur (la Mancha) y en los territorios cálidos de Levante, sureste peninsular y Andalucía oriental.

Son formaciones ligadas a suelos con algún contenido en sulfatos, desde yesos más o menos puros hasta margas yesíferas y otros sustratos mixtos. Suelen actuar como matorrales de sustitución de formaciones forestales.

En España podemos distinguir dos clases de gipsófitos: los genuinos, o gipsófitos exclusivos, y los facultativos. Los gipsófitos facultativos, a causa de su mayor amplitud geográfica y ecológica son los más abundantes en los suelos yesíferos de las comarcas septentrionales de la Península.

Desde un principio hay que separar dos grupos de comunidades gypsícolas:

a) las formadas casi exclusivamente por pequeños vegetales anuales, es decir, por los terófitos efímeros propios de las costras de yeso, que constituyen la alianza *Sedo-Ctenopsion gypsophilae* (*Trisetario-Ctenopsietum gypsophilae*) del centro de España,

b) los tomillares, o matorrales abiertos, formados sobre todo por numerosas plantas vivaces, en su mayoría leñosas, que son las que constituyen las comunidades encuadrables en el orden *Gypsophiletalia* que, a su vez, está diversificado en tres alianzas de corología y flora diversa.

Según un reciente estudio de aproximación a la Checklist de los gipsófitos ibéricos, se ha determinado de forma mucho más detallada las características y diferencias de estas dos especies.

El objetivo del trabajo mencionado fue establecer una checklist o lista de referencia de los gipsófitos ibéricos. Para ello se utilizó, como punto de partida, una amplia lista de taxones elaborada a partir de distintas referencias bibliográficas sobre este tipo de flora. Esta lista preliminar (tabla 1), complementada con información adicional, se sometió a una exhaustiva revisión siguiendo los criterios metodológicos expuestos en Mota *et al.* (2008)

5	Aquellos taxones estrictamente gipsófitos, es decir, especies que no viven fuera del yeso (salvo de manera ocasional).	Gipsófito estricto
4	Especies con clara preferencia por los yesos y que muy raramente se encuentran fuera de este sustrato.	Gipsófito preferente
3	Especies que viven preferentemente sobre el yeso, aunque pueden hacerlo también sobre otro tipo de sustratos si bien el espectro de suelos sobre los que pueden vivir es reducido. Son taxones que muestran predilección por el yeso o sustratos muy relacionados (v.gr. margas yesíferas, margas, ...).	Subgipsófito Gipsoclino
2	Especies que aunque puedan ser frecuentes y abundantes en los yesos, son capaces de vivir sin aparentes problemas sobre otros tipos de sustratos.	Gipsóvago Gipsóade
1	Especies que viven sobre otros sustratos de manera preferente o indiferente a la naturaleza del mismo ya que son capaces de vivir sobre cualquier tipo de suelo. Se incluyen también especies que rehuyen los suelos yesíferos y cuya presencia allí sólo puede calificarse de accidental.	Accidentales

Tabla 1. Escala empleada para valorar el grado de gipsofilia de los diferentes taxones.

(Aproximación a la checklist de los gipsófitos ibéricos; *Anales de Biología* 31: 71-80, 2009)

De acuerdo con la escala planteada (tabla 1), las especies con valores por encima de 3 (valor de la mediana) pueden ser consideradas como gipsófitas. Teniendo en cuenta que la valoración ha empleado una escala cuantitativa, pero discontinua, la mediana es más apropiada que la media para fijar un umbral a partir del cual una especie pueda considerarse una gipsófitas.

Este puede ser un buen criterio para calificar a una especie como gipsófitas, es decir, con valores superiores de la mediana por encima del valor general, en este caso 3.

Taxón	MEDIANA	MEDIA	NOMIN	MAX	MIN	WI	EM	RM
<i>Gypsophila tomentosa</i> L.	3	3,00	9	5	2	SÍ		
<i>Gypsophila struthium</i> L. subsp. <i>struthium</i>	5	4,64	11	5	2		SÍ	SÍ

Tabla 2. Checklist de los gipsófitos ibéricos. Las columnas con abreviaturas RM (Rivas Martínez et al., 2002b), EM (Merlo et al., 1998), WI (Willkomm 1852). (Aproximación a la checklist de los gipsófitos ibéricos; Anales de Biología 31: 71-80, 2009)

La lista inicial generada en el estudio incluyó 140 taxones, se los cuales se ha seleccionado las dos especies sometidas a estudio, (tabla 2) como se puede observar a parte de las diferencias morfológicas anteriormente descritas, también existen diferencias en su clasificación.

La primera especie, *Gypsophila tomentosa* está clasificada como un subgipsófito Gipsoclino, Es una especie que vive preferentemente sobre el yeso, aunque puede hacerlo también sobre otro tipo de sustratos si bien el espectro de suelos sobre los que pueden vivir es reducido. Por el contrario la segunda especie *Gypsophila struthium* presenta un valor mas alto, 5, correspondiente a la clasificación de gipsófito estricto, esta especie, que no viven fuera del yeso excepto de manera muy puntual.

3.1.1. Generalidades de cada especie.

***Gypsophila struthium* L. y *G. tomentosa* L.**

Las especies incluidas en este estudio pertenecen al género *Gypsophila*: *G. struthium* y *G. tomentosa*. La primera, caracteriza junto con *Teucrium libanitis*, la asociación *Gypsophilo struthii-Teucrietum libanitidis* (Rivas Godoy et Rigual 1956), matorral de pequeña talla propio de suelos ricos en yesos, por el contrario, la segunda especie, *Gypsophila tomentosa* es característica de la asociación *Limonio delicatuli-Gypsophiletum tomentosae* Peinado et Mart.

Parras 1982 endémica del subsector Ayorano-Villense y que se desarrolla en suelos subsalinos, en contacto con las comunidades hiperhalófilas caracterizadas por *Sarcocornia fruticosa* o *Arthrocnemum macrostachyum*.

Caracterización de las especies estudiadas

Las plantas del género *Gypsophila*, típicas de los suelos yesíferos, pertenecen a la familia Caryophyllaceae; son hierbas anuales, bienales o perennes, con hojas opuestas, inflorescencias cimosas o solitarias, fruto en cápsula, cuyo número es igual o doble que el de estilos. Esta familia está integrada por 80 géneros y se distribuyen principalmente por las regiones templadas del Hemisferio norte, haciéndose muy raras en el hemisferio sur.

El género *Gypsophila* incluye plantas herbáceas anuales o perennes, o subarbustos, normalmente monoicos. Las plantas pueden estar más o menos densamente cubiertas con pelos glandulares. El tallo representado en horquilla. Los nodos están hinchados, y a veces encerrados por las bases connadas de las hojas. Estos nodos hinchados son importantes para los movimientos geotrópicos. Las hojas son mayormente opuestas, sésiles o subsésiles y a veces pecioladas, la forma de las hojas es bastante diversa, encontrándose desde lineal a la forma de aguja hasta ser ampliamente ovadas. Las raíces pueden alcanzar más de un metro de longitud, las más grandes de algunas *Gypsophilas* pueden superar los 150 kg y alcanzar un diámetro de más de 1 metro. En las especies perennes de regiones secas, las raíces leñosas son la principal parte de la supervivencia de la planta en invierno.

Las características florales de este género son las siguientes, flores proterandras, actinomorfas, y generalmente bisexuales, contienen inflorescencias mayormente dicasiales, sépalos 4-5, imbricados, completamente libres o connados para la mayoría de su longitud. Pétalos 4-5, enteros, emarginados. Los estambres son del mismo tamaño o el doble de los pétalos, en uno o dos verticilos; filamentos libres o basalmente connados; anteras versátiles, ditecales, tetrasporangiadas, abiertas, con hendiduras longitudinales.

El ovario contiene 2-5 carpelos y estilos más o menos connados, nace sobre un ginóforo; los óvulos son normalmente numerosos, colocados sobre una columna placentar central; y caracterizados por ser bitegumentales. El nectar de la planta se encuentra en un disco, en la base de los filamentos y los pétalos, o en una capa dentro de la copa receptacular.

Las semillas son pequeñas o muy pequeñas (0.4-3 mm longitud), negras, marrones; reniformes. Mayoritariamente están lateralmente comprimidas. La testa se encuentra esculpida de forma muy diversa por más o menos células papiliformes.

El embrión maduro está normalmente curvado alrededor del perispermo, el cual tiene forma de cuerno. La morfología de las semillas, especialmente la forma de la testa, se encontró que tenía un gran valor, principalmente para separar los taxones al nivel de especies. Las semillas de las especies de *Gypsophila* son lanzadas desde las cápsulas xerocásticas por la acción de fuertes vientos o por el paso de los animales que rozan a las plantas y hacen que la semilla caiga.

Las dos especies son plantas perennes, y comparten ciertas características como el engrosamiento de los tallos en los nudos, cáliz con dimensiones semejantes, incluso los pétalos son iguales, enteros o ligeramente emarginados, con cápsula de 3-5 mm. Las semillas de ambas especies son negras o de color castaño, con forma de riñón.

A pesar de compartir estas características son fácilmente distinguibles una de otra. A primera vista se puede observar que *G. tomentosa* es de menor tamaño que *G. struthium*, con menos de 70 cm de altura frente a los más de 85 cm de la segunda. *G. tomentosa* es una planta densamente glandular-pubescente, leñosa en la base, mientras que *G. struthium* es una planta más robusta con hojas de dimensiones más reducidas que *G. tomentosa*, incluso la morfología de las hojas es diferente. *G. struthium* tiene hojas lineares, subtriquetas, carnosas y a menudo cilioladas en la base, y *G. tomentosa* tiene hojas ovadas

u oblongo-lanceoladas, con 3-7 nervios, planas, semiamplexicaules y las inferiores pueden estar atenuadas en la base.

Las flores de *G. tomentosa* se disponen en cimas paniculiformes con pétalos rosados, mientras que las de *G. struthium* están en cimas corimbiformes o capituliformes y pétalos blancos. También hay diferencias en las semillas, como que las semillas de *G. tomentosa* son más brillantes, lisas o con tubérculos rudimentarios, y las de *G. struthium* no brillan y tienen tubérculos prominentes.

Con respecto a su hábitat, *G. tomentosa* habita en los bordes de caminos, depresiones endorreicas y lugares con suelo generalmente salino. En la Península ibérica, se distribuye en zonas interiores de Castilla la Nueva y la Mancha, en el valle del Ebro, en la región levantina y Hoya de Baza. En cambio, *G. struthium* frecuenta laderas y cerros yesosos de zonas áridas más o menos continentales, en matorrales abiertos y terrenos baldíos.

3.1.2. Morfología.

Suelen ser plantas herbáceas anuales o perennes, o subarborescentes, y normalmente monoicas. Las plantas pueden estar más o menos densamente cubiertas con pelos glandulares. El tallo representado en horquilla. Los nodos están hinchados, y a veces encerrados por las bases connadas de las hojas. Estos nodos hinchados son importantes para los movimientos geotrópicos.

Las formas de vida de este género son terófitos anuales o bianuales, hemicriptófitos, o caméfitos.

Las hojas son mayormente opuestas, sésiles o subsésiles y a veces pecioladas, la forma de las hojas es bastante diversa, encontrándose desde lineal a la forma de aguja hasta ser ampliamente ovadas.

En las especies perennes de regiones secas, las raíces leñosas son la principal parte de la supervivencia de la planta en invierno.

3.1.3. Flores, frutos y semillas.

Las características florales de este género son las siguientes, flores proterandras, actinomorfas, y generalmente bisexuales, contienen inflorescencias mayormente dicasiales, sépalos 4-5, imbricados, completamente libres o connados para la mayoría de su longitud. Pétalos 4-5, enteros, emarginados. Los estambres son del mismo tamaño o el doble de los pétalos, en uno o dos verticilos; filamentos libres o basalmente connados; anteras versátiles, ditecales, tetrasporangiadas, abiertas, con hendiduras longitudinales.

El ovario contiene 2-5 carpelos y estilos más o menos connados, nace sobre un ginóforo; los óvulos son normalmente numerosos, colocados sobre una columna placentar central; y caracterizados por ser bitegumentales. El néctar de la planta se encuentra en un disco, en la base de los filamentos y los pétalos, o en una capa dentro de la copa receptacular.

Las semillas son pequeñas o muy pequeñas (0.4-3 mm longitud), negras, marrones; reniformes. Mayoritariamente están lateralmente comprimidas. La testa se encuentra esculpida de forma muy diversa por más o menos células papiliformes.

El embrión maduro está normalmente curvado alrededor del perispermo, el cual tiene forma de cuerno. La morfología de las semillas, especialmente la forma de la testa, se encontró que tenía un gran valor, principalmente para separar los taxones al nivel de especies.

3.1.4. Dispersión.

Las semillas de las especies de *Gypsophila* son lanzadas desde las cápsulas xerocásticas por la acción de fuertes vientos o por el paso de los animales que rozan a las plantas y hacen que la semilla caiga.

3.1.5. Distribución.

Se encuentra principalmente por las regiones templadas del Hemisferio norte, haciéndose muy raras en el hemisferio sur.

La vegetación gipsícola ibérica (*Gypsophiletalia*), es un tipo de hábitat presente en las regiones peninsulares con suelos ricos en yesos, fundamentalmente localizados en la mitad oriental de la Península, sobre todo en el Valle del Ebro, Meseta sur (la Mancha) y en los territorios cálidos de Levante, sureste peninsular y Andalucía oriental. Son formaciones ligadas a suelos con algún contenido en sulfatos, desde yesos más o menos puros hasta margas yesíferas y otros sustratos mixtos. Suelen actuar como matorrales de sustitución de formaciones forestales.

OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivos generales

Las plantas gipsófilas representan un grupo muy interesante, ya que este género incluye numerosos endemismos con distintas adaptaciones al estrés abiótico.

En los suelos yesíferos las plantas sufren un acentuado estrés debido a la toxicidad de algunos elementos presentes en estos suelos, así como especialmente al formarse costras de yesos que interfieren en el proceso de germinación y establecimiento de las plántulas.

Para este trabajo se han seleccionado dos especies del género *Gypsophila* muy emparentadas, pero de ecología distinta, una de ellas, *G. struthium* L. es típica de zonas con suelos yesíferos, mientras que la segunda *G. tomentosa* L. es una planta específica de zonas de saladar. Por este motivo nos proponemos estudiar las respuestas a nivel de germinación y plántula en las dos especies en condiciones “*in vitro*” que simulan la situación real.

4.2. Objetivos específicos

1. Se estudiara el éxito de la germinación de semillas de las dos especies sobre suelos de yesos y sobre un suelo control, con turba y se seguirá el desarrollo (tamaño y peso) y mortalidad de las plántulas a lo largo de dos meses después de su germinación. Con este objetivo pretendemos diferenciar el comportamiento de la germinación y los estadios de desarrollo en plantas jóvenes de dos especies muy distintas desde del punto de vista ecológico.

2. Se determinaran los niveles de prolina en todas las plantas. La prolina pertenece al grupo de sustancias con función de osmolito, cuyo papel fundamental se centra en la osmoregulación en condiciones de estrés abiótico.

Los osmolitos poseen múltiples roles en la tolerancia de las plantas ante situaciones de estrés, actuando como mediadores del ajuste osmótico, estabilizadores de proteínas y membranas, inductores de genes relacionados al estrés osmótico, fuente de carbono y nitrógeno fácilmente disponible en la rehidratación celular, y/o fuente de equivalentes de reducción. Los niveles de los osmolitos en plantas reflejan de forma muy clara los niveles de estrés, a mayor estrés osmótico, mayor cantidad de osmolitos.

MATERIAL Y MÉTODO

5. MATERIAL Y MÉTODO

5.1. Material

Las semillas de *Gypsophila tomentosa* L. y *Gypsophila struthium* L. subsp. *struthium* fueron recolectadas en la localidad de Villena, provincia de Alicante (España). La población de *G. tomentosa* pertenece al UTM 30SXH8080 (Las Salinas de la Redonda), mientras que *G. struthium* se sitúa en 30SXH8379 (Los Cabecicos)

5.2. Método

Para realizar la siembra de las semillas se utilizaron dos tipos distintos de suelos; en la bandeja 1 el sustrato utilizado fue turba, un sustrato muy empleado en jardinería mientras que en la bandeja 2 se empleó una base de yesos procedente de la zona de estudio.

Los suelos yesíferos tuvieron que ser tratados antes de llenar las macetas, para eliminar las piedras y otros restos orgánicos que puedan interferir en el estudio.

Se sembraron dos semillas de la especie por alvéolo, previamente a la siembra, las semillas pasaron por un tratamiento de limpieza ya que estas se recogieron directamente de la zona de estudio.

Siembra:

Bandeja 1:

60 alvéolos de tierra: - 60 semillas *G. struthium*
- 60 semillas *G. tomentosa*

Bandeja 2:

60 alvéolos de yesos: - 60 semillas *G. struthium*
- 60 semillas *G. tomentosa*

Con un total de 120 semillas de cada una de las especies en cada tipo de sustrato, por tanto se emplearon para la siembra 240 semillas.

Una vez se realizó la siembra las bandejas se depositaron en la cámara de germinación y se regaron dos veces en semana con 500 ml de agua destilada cada una de ellas.

El riego se realizaba directamente en las bandejas para que el agua ascendiera por capilaridad y de esta forma evitar un posible daño en las plántulas.

Semanalmente se realizaba un control de crecimiento, contabilizando las especies que aparecían nuevas, se contaba el número de hojas para las plantas que alcanzaban fases adultas y la mortalidad que algunas de ellas pudieran sufrir, este control se plasmó en unas tablas presentes en los anexos en las cuales se indica la fase de crecimiento según una serie de definiciones que se exponen en el siguiente apartado.

5.3. Medidas de supervivencia y desarrollo.

El control del éxito de germinación o supervivencia de las plántulas germinadas se realizó contando aquellas plantas que una vez germinadas alcanzaban la primera fase de crecimiento, en la cual aparecen las hojas verdaderas.

Se contaron el número de individuos al inicio y final de los tratamientos. De cada especie se ha calculado el porcentaje de mortalidad o supervivencia de las plántulas; de esta forma se ha obtenido una idea general del éxito de la germinación para cada especie y tipo de suelo.

El estudio de desarrollo de las plántulas se realizó teniendo en cuenta los siguientes estadios de desarrollo:

- F1 ____ Fase cotiledonar
- F2 ____ Primeras hojas verdaderas
- F3 ____ Hojas verdaderas (3-6 hojas)
- F4 ____ Hojas verdaderas (7-10 hojas)
- F5 ____ Hojas verdaderas (más 10 hojas)
- † ____ Muerte de la planta

El seguimiento de la germinación se realizó durante un periodo de dos meses tras los cuales las plantas de mayor tamaño se recogieron para posteriormente cuantificar su contenido de prolina.

Se contaron el número de individuos que alcanzaron cada fase de crecimiento de esta forma se ha obtenido una idea general del éxito de crecimiento para cada especie y tipo de suelo.

De cada tratamiento se ha calculado la media y la desviación estándar.

5.4. Cuantificación de prolina

La prolina fue medida de acuerdo con el método de Bates (1973) modificado. Este método sirve para detectar prolina en el rango de 0,1 a 36,0 mmoles/g de peso fresco de hoja.

Reactivos:

Ninhidrina (Sigma, CAS 485-47-2), ácido acético glacial (Panreac, CAS 64-19-7), ácido 5- sulfosalicílico (Sigma, CAS 5965-83-3), L-prolina (Sigma, CAS 147-85-3), ácido ortofosfórico 85 % (Panreac, CAS 66-64-38-2), tolueno (CAS Panreac, 108-88-3). Ácido-ninhidrina: se prepara calentando 1,25 g ninhidrina en 30 ml ácido acético glacial y posteriormente se le añade 20 ml de ácido fosfórico 6M, con agitación hasta su disolución.

La disolución se guarda a 4°C hasta su uso; sólo se mantiene estable 24 horas.

Procedimiento:

1. Triturar 0,1 gramos de planta (hojas) con nitrógeno líquido utilizando un mortero hasta obtener un polvo fino. Extracción con 5 ml de ácido sulfosalicílico al 3%.

2. Filtrar el homogeneizado con papel de filtro Whatman nº 2.

3. Preparar las siguientes diluciones para cada muestra

- Control y 75 mM:
 - i. 1 ml muestra
 - ii. 1:2 (700 ml muestra + 700 ml ácido sulfosalicílico)

- iii. 1:6 (500 ml muestra + 2,5 ml ácido sulfosalicílico)
- iv. 1:10 (500 ml muestra + 4,5 ml ácido sulfosalicílico)

- 150 y 300 mM:

- i. 1:2 (700 ml muestra + 700 ml ácido sulfosalicílico)
- ii. 1:6 (500 ml muestra + 2,5 ml ácido sulfosalicílico)
- iii. 1:10 (500 ml muestra + 4,5 ml ácido sulfosalicílico)
- iv. 1:20 (50 ml muestra + 950 ml ácido sulfosalicílico)

4. Tomar 1 ml de las muestras indicadas en el apartado anterior en un tubo de 10 ml, añadir 1 ml de mezcla de ninhidrina- ácido fosfórico y 1 ml de ácido acético glacial.

5. Tapar los tubos con papel de aluminio y calentar en baño (100°C, 1 hora).

6. Parar la reacción introduciendo las muestras en un baño de hielo. Atemperar las muestras.

7. Añadir a la mezcla 2 ml de tolueno y agitar en vortex durante 20 segundos.

8. Aspirar la fase que tiene el tolueno (superior) para medir la absorbancia a 520 nm usando el tolueno para realizar el autocero.

La concentración de prolina se determinada mediante curva estándar y se calcula en base al peso fresco, de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\frac{[(\text{mg prolina/ml} \times \text{ml tolueno}) / 115.5 \text{ mg/mmol}]}{[(\text{g muestra fresca})/5]} = \text{mmoles prolina/g de peso fresco de material.}$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación analizaremos con detalle los resultados obtenidos en los ensayos realizados en las dos especies, con el fin de conocer como los distintos tipos de sustrato en los que las plantas se desarrollan pueden afectar a todas o algunas de sus fases de crecimiento, a su biomasa o a la cantidad de prolina que pueda generar cada especie.

Los resultados se desglosan a continuación en distintas variables de estudio como el grado de germinación alcanzado, supervivencia o mortalidad de las plántulas y cantidad de biomasa y prolina recogida al final del estudio.

6.1. Germinación y supervivencia de las plántulas.

En primer lugar comparamos el porcentaje de germinación de las dos especies estudiadas en los distintos tipos de suelos, los resultados de la germinación se representan en la siguiente tabla (Tabla 3).

	Yesos		Suelo	
	<i>G. struthium</i>	<i>G. tomentosa</i>	<i>G. struthium</i>	<i>G. tomentosa</i>
Germinadas (%)	36,67	15	25	13,33
Supervivencia (%)	45,45	55,56	86,67	75

Tabla 3. Porcentaje de germinación y supervivencia de las especies.

Tras dos meses de estudio las especies muestran un mayor porcentaje de germinación en el suelo de yesos, no obstante la especie que tiene mayor éxito de germinación en este tipo de suelos es la *G. struthium*, ya que esta especie es típica en los suelos yesíferos, ocurre lo contrario si se observa la supervivencia de las plántulas germinadas en yesos, la mayor resistencia la presenta *G. tomentosa*, especie característica de saladar, aunque las diferencias no son muy reveladoras.

Ahora compararemos los resultados obtenidos en el sustrato de tierra; ambas especies muestran un porcentaje de germinación menos que en yesos, y sigue teniendo mayor éxito *G. struthium* aunque en menos grado que en los yesos, la diferencia mas clara se encuentra en el porcentaje de supervivencia, las dos especies muestran mucha más resistencia en este tipo de suelos, superando el 75%, en este caso *G. struthium* es la especie mejor adaptada, mayor germinación y mayor supervivencia que *G. tomentosa*.

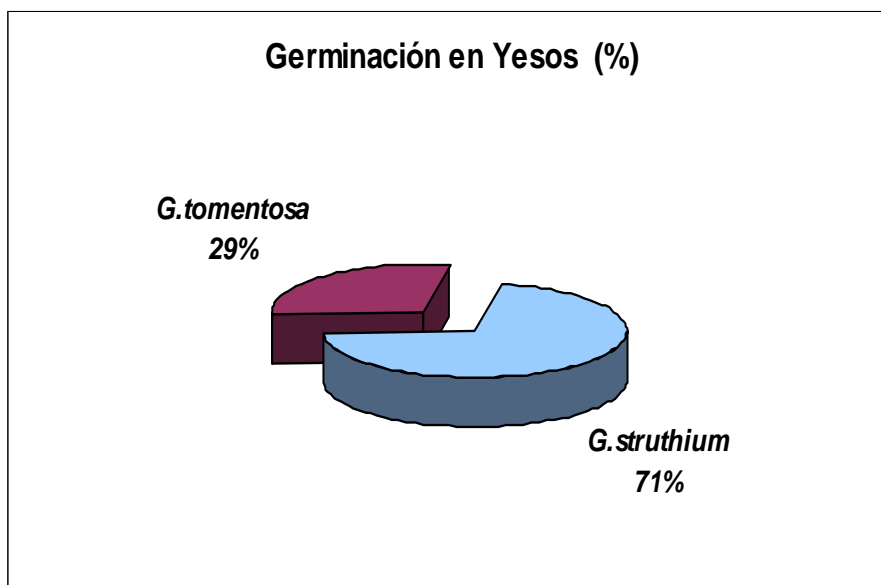


Figura 6. Porcentaje de germinación en yesos para las especies estudiadas.

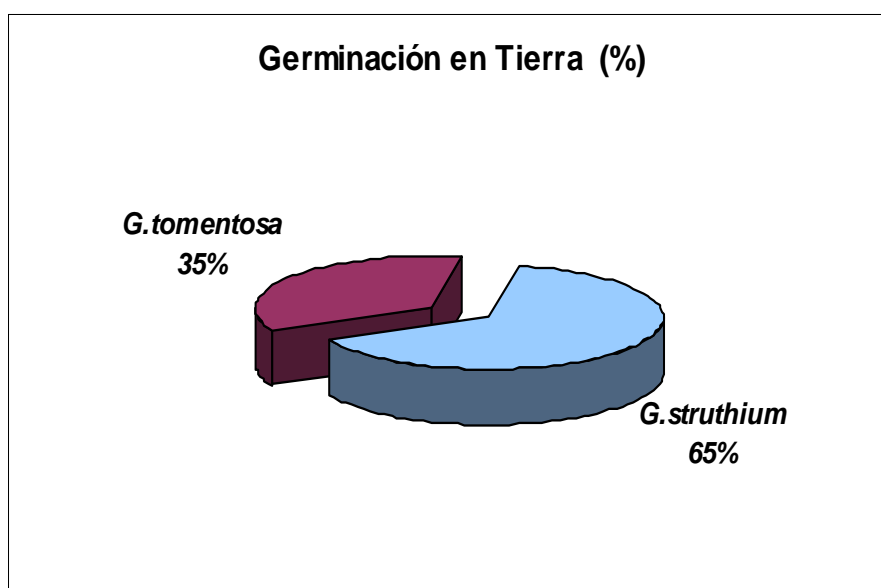


Figura 7. Porcentaje de germinación en tierra para las especies estudiadas.

En los cuadros anteriores (figura 6 y figura 7) se demuestra de forma más clara como *G. struthium* tiene mayor proporción de germinación respecto al total, en los dos tipos de suelos, podríamos por tanto afirmar que está mejor adaptada a distintas condiciones que *G. tomentosa*.

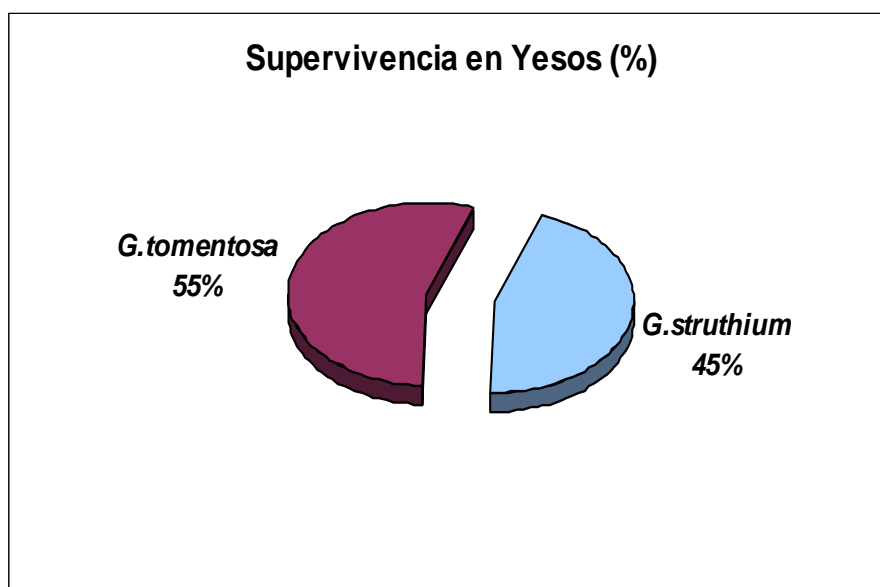


Figura 8. Supervivencia de las plántulas en yeso.

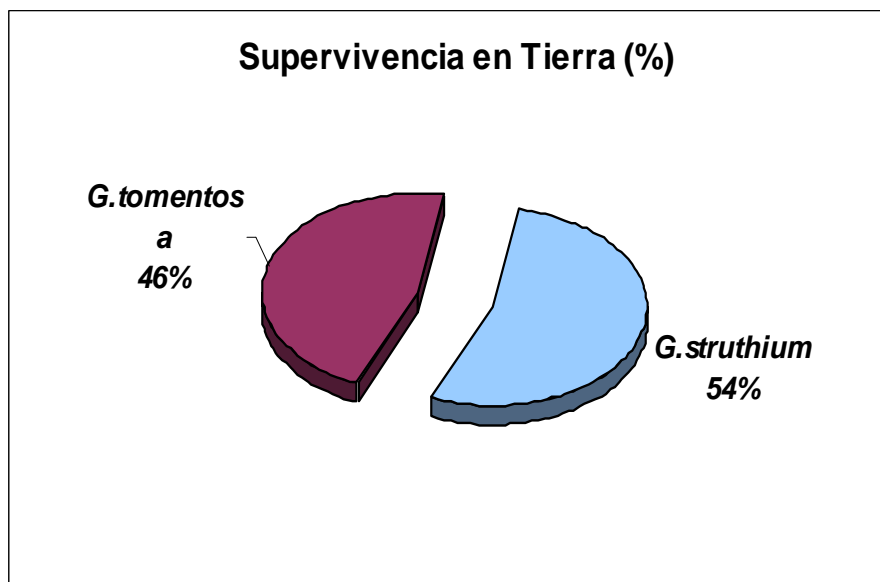


Figura 9. Supervivencia de las plántulas en tierra.

Con respecto a la supervivencia (Figuras 8 y 9) en la siembra realizada en yesos no existen contrastes significativos, por consiguiente la diferencia más evidente es que *G. struthium* tiene mayor resistencia en el sustrato de tierra, contrario a lo que cabría esperar, pues es una especie típica gipsícola, y *G. tomentosa* aunque posee menor grado de germinación, sus plántulas tienen mayor resistencia en los suelos de yesos que en tierra, aunque este sustrato no es su óptimo.

6.2. Desarrollo de las plántulas

La evolución de las plántulas de las dos especies se ha clasificado en distintos grados, desde la fase 1 hasta la fase 5, en función del número de hojas verdaderas presentes en las plántulas.

A continuación se representa el grado de germinación por especie, diferenciando el sustrato donde se han desarrollado (ver figuras 10 y 11).

En primer lugar se comentarán los resultados de germinación alcanzados para *G. struthium* en los dos tipos de tratamiento sometido.

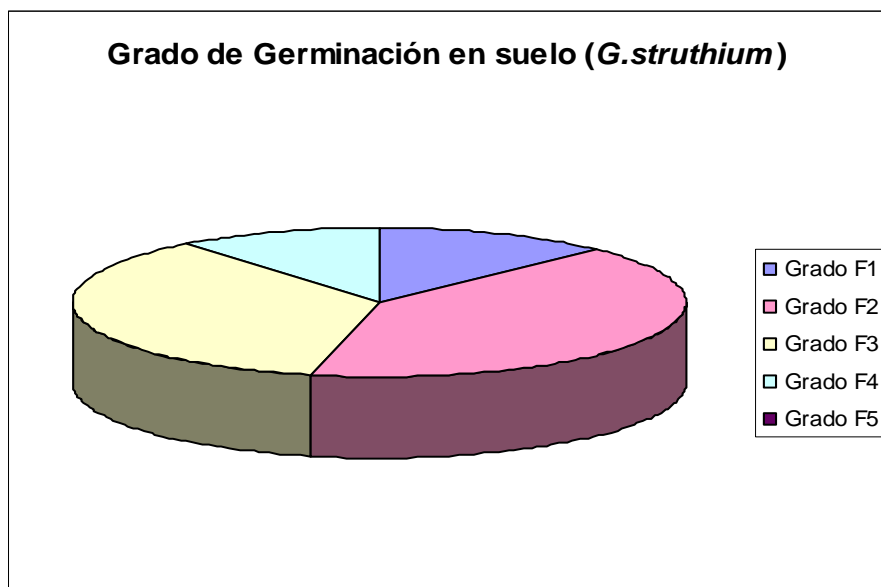


Figura 10. Grado de germinación alcanzado para *G. struthium* en suelo.

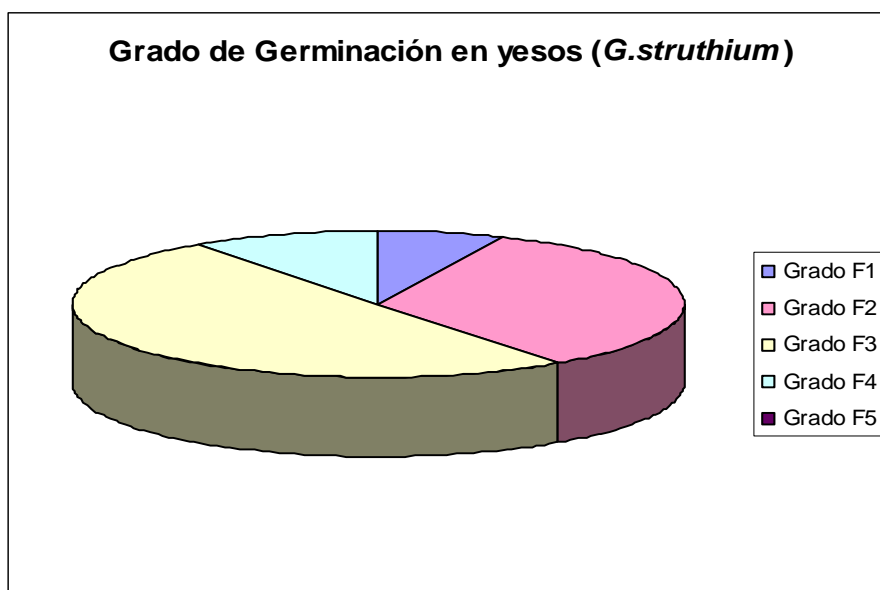


Figura 11. Grado de crecimiento alcanzada para la especie *G. struthium* en yeso

La primera especie estudiada, *G. struthium*, muestra un crecimiento lento, pues en ambas gráficas (figura 10 y 11) se presentan las cuatro primeras fases de germinación aunque sin alcanzar la fase de máximo desarrollo (fase 5).

Para ambos tipos de suelo el desarrollo es similar hallándose las diferencias más significativas en las fases 2 y 3, que coinciden con los estadios de mayor representación, donde se presentan las primeras hojas verdaderas, hasta un máximo de 6 hojas por plántula. El mayor desarrollo alcanzado por la *G. struthium*, es la fase 4, aunque en una porción muy pequeña en los dos tipos de suelo.

Si se realiza un estudio mas detallado en función del sustrato, el crecimiento en los yesos (figura 11) es algo más rápido que en tierra, la fase que mayor proporción presenta el la fase o grado 3, este hecho coincide con las condición de la especie, especie gipsófilas.

A continuación se exponen los resultados obtenidos en la segunda especie, *G. tomentosa*, diferenciando en cada figura el tipo de sustrato en el cual se ha desarrollado (véanse figuras 12 y 13).

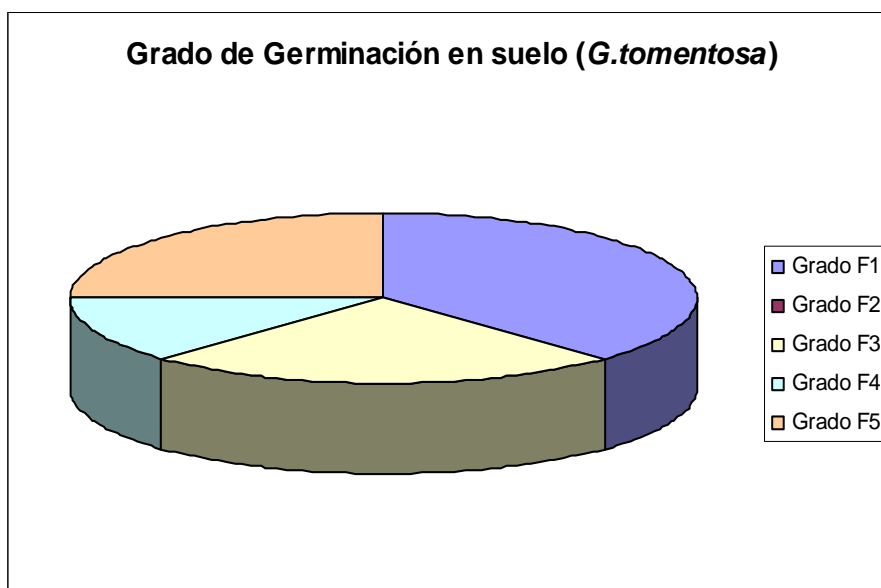


Figura 12. Grado de germinación alcanzado para *G. tomentosa* en suelo.

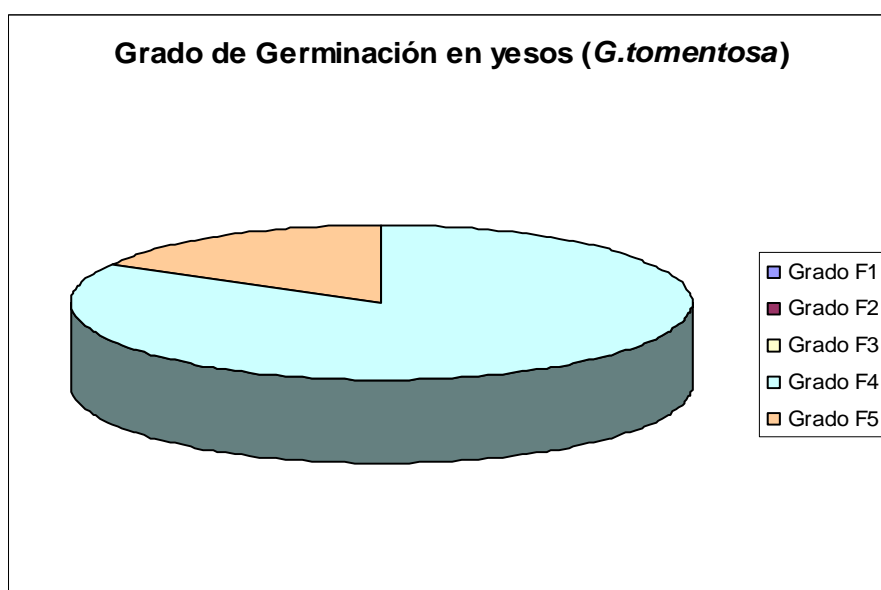


Figura 13. Grado de germinación alcanzado para *G. tomentosa* en yeso.

La segunda especie que estudiamos a continuación, *G. tomentosa*, es una especie típica de saladar por lo que se esperan diferencias importantes con respecto a la especie anterior *G. struthium*.

En términos generales, se encuentran diferencias muy importantes en el crecimiento de la misma especie dependiendo del suelo donde se ha desarrollado; en el sustrato de jardín (tierra) (figura 12), el crecimiento es más lento comparado con los yesos (figura 13), ya que se localiza un buen porcentaje de plántulas en la fase 1, no obstante las que han conseguido superar esta primera fase cotidelonar, crecen rápidamente, pues las fases predominantes son el grado 3 y 5, fases con una importante carga de desarrollo vegetal.

Esta misma especie en el sustrato yesífero (figura 13) crece de forma muy rápida, superando el desarrollo de la especie típica en este tipo de suelos, *G. struthium*; *G. tomentosa* localiza todas las plántulas germinadas, en las dos últimas fases de crecimiento estudiado, fase 4 y fase 5.

Este hecho puede considerarse una contradicción, ya que esta especie se presenta como un individuo mejor adaptado a los suelos de yesos que *G. struthium*. Para completar estos resultados se procederá a estudiar posteriormente la cantidad de prolina encontrada para ambas especies en función del suelo.

6.3. Biomasa por especie y tipo de suelo.

Siguiendo con el análisis de los resultados, se presenta a continuación en la tabla 4 los datos de biomasa, medidos en gramos, recogidos tras el estudio de germinación, para que los datos sean más representativos se ha realizado la media de todas las réplicas y la desviación estándar de las mismas.

		<i>G. struthium</i>	<i>G. tomentosa</i>
yesos	Promedio	0,56	0,28
	D. Estándar	0,19	0,22
tierra	Promedio	0,11	0,19
	D. Estándar	0,08	0,17

Tabla 4. Cantidad de biomasa recogida tras el estudio.

Los datos representados en el siguiente cuadro (figura 14), como se ha comentado anteriormente, son el resultado del promedio de cinco réplicas, realizadas para cada especie y tipo de suelo, los datos medios están acompañados por la desviación estándar, para comprobar el error al que están sometidos.

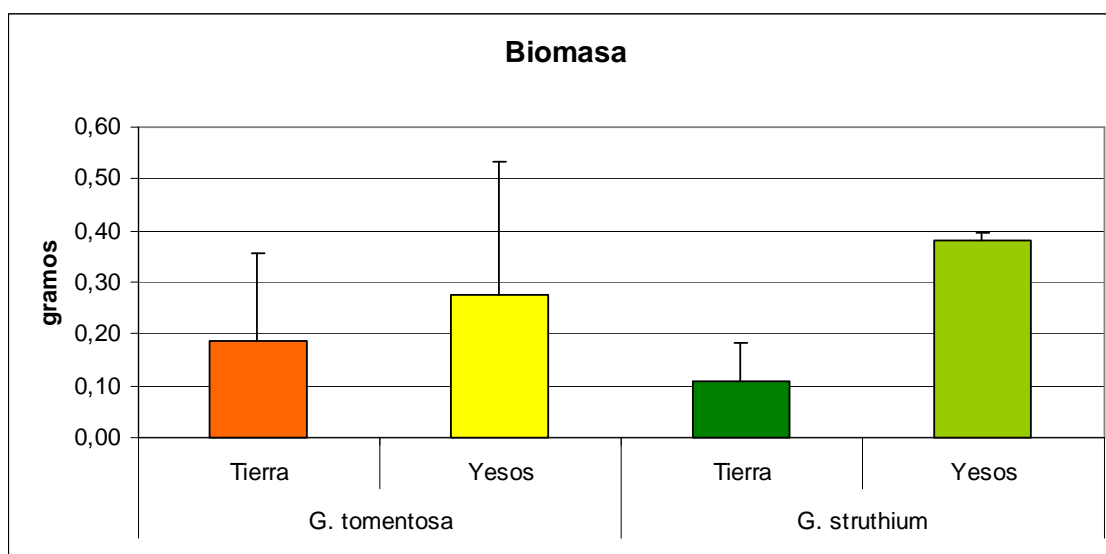


Figura 14. Comparación de biomasa de las especies obtenida al final del estudio en función del sustrato.

La figura 14 muestra la comparación de la biomasa recogida, tras dos meses de germinación, de las plántulas de ambas especies y en las dos muestras de suelo. Los colores verdes muestran la biomasa de la especie *G. struthium*; el color verde oscuro para la muestra de yesos, y el color verde claro para la

muestra de tierra, los colores anaranjados representan las segunda especie, *G. tomentosa*, el color naranja para el sustrato yesíferos y amarillo para la tierra.

En términos generales la biomasa más abundante se encuentra recogida en la muestra de yesos (verde oscuro y naranja) para las dos especies, siendo en *G. struthium* donde se ha recogido mayor cantidad de biomasa, por tanto su crecimiento se ha realizado de forma más rápida que la segunda variedad, este dato es natural ya que se trata de una especie gipsícola.

En la muestra de tierra el crecimiento ha sido más lento para ambas plantas, ya que el peso de la biomasa es más escaso, siendo en este caso la especie más cuantiosa, a lo que peso se refiere, *G. tomentosa*.

6.4. Cuantificación de prolina

En la Tabla 5 se muestran en datos numéricos las cantidades de prolina obtenida en las dos especies sometidas a estudio y en los distintos tratamientos, como en los datos de biomasa, los valores que aparecen en la tabla son el resultado del promedio de las réplicas y la desviación estándar.

		<i>G. struthium</i>	<i>G. tomentosa</i>
Yesos	Promedio	0,085	0,339
	D. Estándar	0,013	0,020
Suelo	Promedio	0,109	0,313
	D. Estándar	0,068	0,111

Tabla 5. Cantidad de prolina determina para las dos especies

Las plantas en condiciones de estrés como ya se ha comentado anteriormente, producen una serie de cambios para poder mantener su crecimiento, entre estos cambios se encuentra la acumulación de osmolitos compatibles, que en este caso es la prolina.

En la osmorregulación por prolina, los niveles de prolina reflejan bien el grado de estrés: aumenta el estrés y aumenta la prolina.

Siguiendo los anteriores conceptos, podemos afirmar que en rasgos generales, sin diferenciar el tipo de sustrato utilizado, que la especie que mayor estrés muestra es *G. tomentosa*, ya que presenta niveles de prolina mucho más altos que *G. struthium*.

En el próximo gráfico (Figura 15) estudiamos la comparación de cada especie y en cada tipo de tratamiento, el motivo es que aunque las especies están muy emparentadas presentan ecologías distintas y por ello diferencias significativas.

Gypsophila tomentosa está clasificada como un Subgipsófito Gipsoclino, es una especie que vive preferentemente sobre el yeso, aunque puede hacerlo también sobre otro tipo de sustratos si bien el espectro de suelos sobre los que pueden vivir es reducido.

Por el contrario la segunda especie *Gypsophila struthium* es un Gipsófito estricto, esta especie, que no viven fuera del yeso excepto de manera muy puntual.

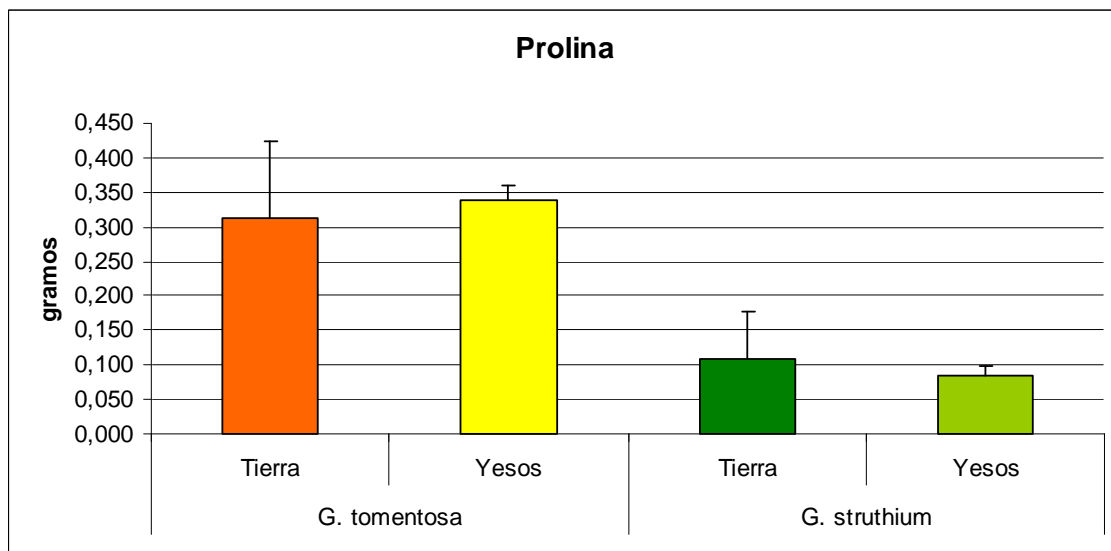


Figura 15. Comparación de Prolina obtenida para cada especie al final del estudio en función del sustrato.

En esta figura (figura 15) aparece en tonos verdes la primera de las especies, *G. struthium*, el color oscuro corresponde al sustrato de yesos, mientras que el color claro identifica la tierra; esta especie muestra una buena adaptación para cualquiera de los tratamientos, puesto que los niveles de prolina alcanzados no son altos, si se comparan los dos tratamientos, es mejor para la planta un desarrollo en suelos de yesos ya que esta clasificada como un Gipsófito estricto.

En segundo lugar, *G. tomentosa*, muestra unos valores muy altos del osmolito estudiado, esto se debe a que esta sometida a un estrés provocado por los factores ambientales adversos en los cuales debe desarrollarse, esta especie se desenvuelve sin problemas en lugares muy específicos y reducidos, como los saladares del interior.

CONCLUSIONES y DISCUSIÓN:

Las dos especies que se han sometido al estudio presentan características distintas como se comentó anteriormente en la Checklist de los gipsófitos ibéricos, *Gypsophila tomentosa* está clasificada como un subgipsófito Gipsoclino, especie que vive preferentemente sobre el yeso, aunque puede hacerlo también sobre otro tipo de sustratos y *Gypsophila struthium* es un de gipsófito estricto, no viven fuera del yeso excepto de manera muy puntual, por estos motivos han mostrado distinto comportamiento a lo largo del estudio.

Al comienzo del estudio en la etapa germinación y supervivencia de las plántulas ambas especies han germinado mucho mejor en el sustrato correspondiente a los yesos, aunque una vez germinadas el éxito en la supervivencia para las dos especies ha sido mayor en tierra, este hecho puede deberse a la formación de costras en el yeso, lo que pudiera imposibilitar un adecuado desarrollo ya que en las primeras fases de germinación la plántula es más débil.

Una vez las semillas germinaron, estudiamos las fases de crecimiento, las cuales se dividieron en estadios, según el número de hojas verdaderas que desarrollaba la planta. En esta etapa no se ha encontrado un contraste en crecimiento para la especie *Gypsophila struthium*, ya que el crecimiento ha sido lento para los dos tipos de sustrato, aunque como regla general es difícil su crecimiento en tierra. Sin embargo la segunda especie *Gypsophila tomentosa* ha presentado mayor éxito en las fases de crecimiento en yesos.

Si comparamos ahora este crecimiento con la cantidad de biomasa recogida al final de estudio, podremos comprobar que para las dos especies se ha recogido mayor cantidad de material en el suelo de yesos comparado con la acumulada en tierra, aunque la mayor cantidad la ha proporcionado *Gypsophila struthium*.

Por tanto concluimos que aunque *G. struthium* ha presentado un crecimiento mas lento, tiene mayor éxito de desarrollo en yesos que *G. tomentosa* y por tanto esta mejor adaptada a vivir y desarrollarse en estos ambientes.

Como último lugar se estudió la cantidad de prolina acumulada por cada especie sometida a estudio, como ya se ha comentado la prolina es un indicador de estrés, por tanto si una planta presenta unos niveles altos de Prolina presentará a su vez altos niveles de estrés, lo que repercute en su adecuado desarrollo.

En el análisis realizado al final de estudio determino las cantidades de prolina presentes en cada especie y tratamiento; independientemente del tipo de suelo en el cual se desarrolló el estudio, la especie que presenta mayor cantidad de este osmolito es *G. tomentosa*, por ello la especie sometida a mayor estrés, estos niveles son mayores en yesos que en tierra.

En contraposición *G. struthium* (gipsófito estricto), contiene niveles mucho más bajos prolina, lo que indica que no esta sometida a estrés y que esta creciendo en un entorno adecuado.

El estudio de la respuesta de las plantas a los factores ambientales adversos y los mecanismos adaptativos que éstas ponen en juego es extremadamente complejo y requiere un análisis pluridisciplinar.

Ello es así por el carácter polifacético del estrés abiótico que a su vez desencadena una respuesta multifactorial en las plantas. Por ejemplo, una salinidad excesiva del suelo (fenómeno frecuentemente asociado a la agricultura de regadío en clima semiárido) provoca toxicidad iónica, déficit hídrico, deficiencias nutricionales y estrés oxidativo.

Las plantas en condiciones de estrés producen una serie de cambios para poder mantener su crecimiento, entre ellos se encuentra la acumulación de osmolitos compatibles. Aparentemente dichos osmolitos no interfieren con las reacciones bioquímicas normales y actúan como osmoprotectores durante el estrés osmótico (Greenway y Munns, 1980).

Muchos de los osmolitos acumulados por las plantas son compuestos nitrogenados (prolina, betaínas, poliaminas, etc.).

Es sabido que la prolina juega un papel importante como osmoprotector en plantas expuestas a estrés salino (Arshi *et al.*, 2005).

La prolina hace disminuir el estrés osmótico y también protege estructuras macromoleculares contra la deshidratación. En la osmorregulación por prolina, los niveles de prolina reflejan bien el grado de estrés: aumenta el estrés y aumenta la prolina.

Distintas especies pueden simultáneamente utilizar diferentes solutos para la osmoregulación y protección de las estructuras celulares; la importancia relativa y la cinética de acumulación de cada uno de estos solutos puede, al menos en parte, estar relacionada con las características ambientales del hábitat ocupado (Ben Hassine *et al.*, 2008).

Sería interesante estudiar el contenido de diferentes solutos producidos bajo estrés salino en diferentes hábitats, como pueden ser las zonas costeras o zonas del interior.

BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

- AGUILELLA, A. Y PUCHE, F. (2004). Diccionari de botànica. PUV, Valencia.
- AHARON, R., SHAHAK, Y., WININGER, S., BENDOV, R., KAPULNIK, Y. & GALILI, G. (2003). Overexpression of a Plasma Membrane Aquaporin in Transgenic Tobacco Improves Plant Vigor under Favorable Growth Conditions but Not under Drought or Salt Stress. *The Plant Cell*, Vol. 15, 1–9
- ANDREEV, I. (2001). Functions of the vacuole in higher plants cells. *Russian J. Plant Physiol.* 48 (5), 777-787.
- ARSHI, A., ABDIN, MZ., IQBAL, M. (2005). Ameliorative effects of CaCl₂ on growth, ionic relations and proline content of Senna under salinity stress. *Plant Nutr* 28: 101-125
- Arthrocnemetea Br.-Bl. y Tüxen 1943 en la Península Ibérica. *Doc. Phytosociol. N. S.* 8: 15 – 27.
- BARCELÓ, N., NICOLÁS, R., SABATER, B. Y SÁNCHEZ, R. (2001). Fisiología vegetal. Ed. Ediciones Pirámide, Madrid.
- BARTELS, D Y S. RAMANJULU. (2005). Drought and salt tolerance in plants. *Plant Sciences* 24, 23-58.
- BARTOLOMÉ C, ÁLVAREZ J, VAQUERO J, COSTA M, CASERMEIRO MA, GIRALDO J & ZAMORA J. 2005. Los tipos de hábitat de interés comunitario de España: guía básica. Dirección General para la Biodiversidad, Ministerio de Medio Ambiente.
- BATES, L.S.(1973). Rapid determination of free proline for water- stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- BEN HASSINE, A., GHANEM, ME., BOUZID, S., LUTTS, S. (2008). An inland and a coastal population of the Mediterranean xero-halophyte species *Atriplex halimus* L. differ in their ability to accumulate proline and glycinebetaine in response to salinity and water stress. *J Exp Bot* 59(6):1315-26.
- BRAUN-BLANQUET, J. (1979). Fitosociología. Bases para el estudio de las comunidades vegetales. Ediciones Blume, Madrid. 820 pp.

- BRUGIÈRE N., F., DUBOIS, A.M., LIMAMI, M., LELANDAIS, Y., ROUX, R.S., SANGWAN, B., HIREL. (1999). Glutamine synthetase in the phloem plays a major role in controlling proline production. *Plant Cell* 11: 1995–2011.
- CANNY, M. (2001). Contributions to the debate on water transport. *Am. J. Bot.* 88, 43-46.
- CERRILLO MI, DANA E, CASTRO H, RODRÍGUEZ-TAMAYO ML & MOta JF. (2002). Selección de áreas prioritarias para la conservación de flora gipsícola en el sureste de la Península Ibérica. *Revista Chilena de Historia Natural* 75: 395-408.
- CHAMAN, M. E. (2007). Variaciones en el contenido relativo de agua y la concentración de prolina en *Capsicum annuum* L. inducido por NaCl.
- COSTA, M. & BOIRA, M. (1981). Los ecosistemas costeros levantinos. Los saladares. *Anales Jard. Bot. Madrid* 38.
- COSTA, M., PERÍS J.B.& FIGUEROLA, R. (1986). La vegetación de la Devesa de La albufera de Valencia. Monografías 1. Ayuntamiento de Valencia, 87pp
- DELAUNEY A.J., D.P.S., VERMA (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant Journal*- Escribá, M.C., Laguna, E. y Marzo, T.(2006). Germinación de 5 endemismos Gypsícolas de la provincia de Alicante. *Anales de Biología*.
- FAO; UNESCO. (1988). "Soil map of the world. Revised Legend." FAO. 119 pp. Roma.
- FAO-UNESCO (1974). *Soil Map of the World*. FAO, Roma.
- GARCÍA, M Y E. MEDINA. 2003. Crecimiento y acumulación de prolina en dos genotipos de caña de azúcar sometidos a salinización con cloruro de sodio. *Agronomía Colombiana* 20, 168-179.
- GHOULAM, C., FOURSRY, A., FARES, K. (2002) Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Env. Exp. Bot.* 47: 39-50.
- GREENWAY, H. & MUNNS, R. (1980). Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annu Rev Plant Physiol* 31: 149-190.

- HARE P.D., W.A. CRESS, L. VAN ATADEN. (1998). Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell Envir.* 21: 535-553.
- Harsh, N. 2003. Accumulation of osmolytes and osmotic adjustment in water-stressed wheat. *Environmental and Experimental Botany* 50: 253-264.
- HARE P.D., W.A. CRESS. (1997). Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation* 21: 79-102.
- HARSH, N. (2003). Accumulation of osmolytes and osmotic adjustment in water-stressed wheat (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*) as affected by calcium and its antagonists. *Environmental and Experimental Botany* 50: 253-264.
- IYER, S., A. CAPLAN. (1998). Products of proline catabolism can induce osmotically regulated genes. *Plant Physiology* 116: 203-211.
- JAVOT, H., V. LAUVERGEAT, V. SANTONI, F. MARTIN, J. GÜÇLÜ, J. VINH, J HEYES, K. FRANCK, A. SCHÄFFNER Y D. BOUCHEZ. (2003). Role of a single aquaporin isoform in root water uptake. *Plant Cell* 15, 509-522.
- JIMÉNEZ-BREMONT, J. F. A. BECERRA-FLORA, E. HERNÁNDEZ-LUCERO, M. RODRÍGUEZ-KESSLER, J. A. ACOSTA-GALLEGOS AND J. G. RAMÍREZ PIMENTEL. (2006). Proline accumulation in two bean cultivars under salt stress and the effect of polyamines and ornithine. *Biologia Plantarum* 50: 763-766.
- KAVI KISHOR, PB., SANGAM, S., AMRUTHA, RN., SRI LAXMI, P., NAIDU, KR., RAO, KRSS., SREENATH, RAO., REDDY, KJ., THERIAPPAN, P., SCREENIVASULU, N. (2005). Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science* 88 (3): 424-438.
- KONSTANTINOVA, T., D. PARVANOVA, A. ATANASSOV, D. DJILIANOV. (2002). Freezing tolerant tobacco, transformed to accumulate osmoprotectants. *Plant Science*. 163: 157-164
- LAGUNA E, DELTORO V, FOS S, PÉREZ ROVIRA P, BALLESTER G, OLIVARES A, SERRA L & PÉREZ BOTELLA J. (2003). Hábítats prioritarios de la Comunidad Valenciana. València: Generalitat Valenciana, Conselleria de Territori i Habitatge.

- LAGUNA, E. Y CRESPO, M. C. (1998). Flora endémica rara o amenazada de la comunidad Valenciana. Conselleria del Medio Ambiente, Valencia.
- MELÉNDEZ I. (2004). Geología de España. Madrid: Editorial Rueda.
- MERLO, M.E., MOTA, J. F., CABELLO, J. Y ALEMÁN, M. M. (1998). La gipsofilia en plantas: Un apasionante edafismo. *Investigación y Gestión* 3: 103-112.
- MEYER, S. (1986). The ecology of gypsophile endemism in the Eastern Mojave Desert. *Ecology*, 67, 1303-1313.
- MOTA JF, MEDINA-CAZORLA JM, BRUNO F, PÉREZ-GARCÍA FJ, PÉREZ-LATORRE A, SÁNCHEZ-GÓMEZ P, TORRES JA, BENAVENTE A, BLANCA G, GIL DE CARRASCO C, LORITE J & MERLO ME. (2008). Dolomite flora of the Baetic Ranges glades (South Spain). *Flora* 203: 359-375.
- ORTÍ F, GARCÍA-VEIGAS J, ROSELL L, JURADO MJ, UTRILLA R. (1996). Formaciones salinas de las cuencas triásicas en la Península Ibérica: caracterización petrológica y geoquímica. *Cuadernos de Geología Ibérica* 20: 13-35.
- ORTOLÀ, A. (2003). Ecofisiología vegetal. Introducción a la fisiología de l'estrès. Ed. UPV, Valencia. Osmoregulation in plants: implications for agriculture. *Am. Zool* 41, 758-769.
- PEINADO LORCA, M. Y MARTINEZ PARRAS J.M. (1982) Sobre la posición fitosociológica de *Gypsophila tomentosa* L. *Lazaroa* 4: 129-140.
- PIZARRO DOMÍNGUEZ, J. (1991). Flora endémica de la Comunidad Valenciana. IVEI. Det. Biol. Veg. II. Fac. Farmacia. Univ. Complutense, Madrid.
- RAMANJULU S., C. SUDHARKAR. (2000). Proline metabolism during dehydration in two mulberry genotypes with contrasting drought tolerance. *Journal of Plant Physiology* 157: 81-85.
- RIVAS GODAY S. (1942). Observaciones edafo-ecológicas en la flora de la provincia de Madrid. *Anales del Instituto Español de Edafología y Fisiología Vegetal* 1: 273-294.
- RIVAS-MARTÍNEZ, S Y COSTA, M. Comunidades gipsícolas del centro de España. *Anales Inst. Bot. A. J. Cavanilles*, 27: 193-224.

- RODRÍGUEZ-PÉREZ, L. (2006). Implicaciones fisiológicas de la osmorregulación en plantas. *Agronomía Colombiana* 24(1): 28-37.
- SAINZ OLLERO H, FRANCO MÚGICA F & ARIAS TORÇAL J. (1996). Estrategias para la conservación de la flora amenazada de Aragón. Consejo de Protección de la Naturaleza de Aragón. Serie: Conservación. Diputación General de Aragón.
- SHINOZAKI. (1997). Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. *Plant Cell and Physiology*.
- TAIZ, L. Y ZEIGUER, E. (2006). Fisiología vegetal (volumen I y II). Ed. Publicacions de la Universitat Jaume I, Castellón
- TAJDOOST, S., T. FARBOODNIA, R. HEIDARI. (2007). Salt pretreatment enhance salt tolerance in *Zea mays* L. seedlings. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 10 (12): 2086-2090.
- TROÌA A. (2002). La flora gipsicola. Aspetti biologici ed ecologici delle piante che vivono sul gesso. Palermo: Assessorato Territorio e Ambiente Regione Siciliana & Club Alpino Italiano
- WILLKOMM M. (1852). Die strand-und steppengebiete der iberischen halbinsel und deren vegetation. Leipzig
- YOSHIBA Y, T., KIYOSUE, K., NAKASHIMA, K., YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K., ZHU, J.K. (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec.*
- ZYALALOV, A. (2004). Water flows in higher plants: physiology, evolution, and system analysis. *Russian J. Plant Physiol.* 51(4), 547-555. Cushman, J.C. 2001.

