

UNIVERSIDAD POLITECNICA DE VALENCIA

ESCUELA POLITECNICA SUPERIOR DE GANDIA

Ingeniería Técnica Forestal

---



UNIVERSIDAD  
POLITECNICA  
DE VALENCIA



ESCUELA POLITECNICA  
SUPERIOR DE GANDIA

**“Estudio sobre la variabilidad de niveles de prolina en plantas situadas en los saladares del Paraje Natural Municipal Clot de Galvany, en las Partidas rurales de El Altet y los Balsares, en el término municipal de Elche de la comarca del Bajo Vinalopo de la Provincia de Alicante”**

**TRABAJO FINAL DE CARRERA**

Autor/es:

**Eduardo López Pérez**

Director/es:

**Monica Teresa Boscaiu Neagu**

**Oscar Vicente Meana**

**GANDIA, 2011**

# Índice

<b>1. Resumen</b> .....	5
<b>2. Introducción</b> .....	8
<b>3. Descripción de la zona de estudio</b> .....	10
3.1 Ecosistema.....	11
3.2 Instrumentos de conservación y protección.....	11
3.3 Ecología .....	11
3.4 Biogeografía .....	12
3.5 Bioclimatología.....	13
3.6 Plano de localización .....	15
<b>4. Objetivos del proyecto</b> .....	16
<b>5. Revisión de literatura</b> .....	18
5.1 Introducción .....	19
5.2 Ambientes estresantes.....	20
5.3 Respuesta celular .....	20
5.4 Relaciones hídricas .....	20
5.5 Estrés hídrico .....	21
5.6 Osmorregulación. Relaciones metabólicas .....	22
5.7 Conceptos sobre salinidad .....	23
5.8 Los aminoácidos .....	29
<b>6. Flora</b> .....	31
6.1 <i>Juncus maritimus</i> .....	32
6.2 <i>Juncus acutus</i> .....	34
6.3 <i>Sarcocornia fruticosa</i> .....	36
6.4 <i>Limonium sp.pl.</i> .....	38

6.5 <i>Arthrocnemum macrostachyum</i> .....	40
6.6 <i>Inula crithmoides</i> .....	42
<b>7. Climatología</b> .....	<b>44</b>
<b>8. Métodos y plan de trabajo</b> .....	<b>48</b>
8.1 Introducción .....	49
8.2 Trabajo de campo.....	50
8.3 Trabajo de laboratorio .....	53
8.4 Cálculos .....	56
<b>9. Tablas</b> .....	<b>58</b>
9.1 Datos verano .....	59
9.2 Cálculos verano .....	62
9.3 Prolina verano .....	66
9.4 Datos otoño.....	68
9.5 Cálculos otoño.....	71
9.6 Prolina verano-otoño .....	75
<b>10. Resultados y discusión</b> .....	<b>81</b>
<b>11. Conclusiones</b> .....	<b>85</b>
<b>12. Bibliografía</b> .....	<b>87</b>

## 1. Resumen

El siguiente trabajo es parte integrante de un proyecto de investigación llevado a cabo en los Institutos de biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP) y el Instituto Agroforestal Mediterráneo (IAM) de la Universidad Politécnica de Valencia, el cual se estudia la importancia de los mecanismos de respuesta de las plantas frente al estrés abiótico (como la elevada salinidad, la aridez, la diferencia de temperatura en verano e invierno, etc.), que experimentan ciertas especies por encontrarse en hábitats específicos.

En los últimos años los cambios globales atmosféricos así como el efecto antrópico incontrolable, ha provocado un incremento sustancial en la desertificación de la tierra, razón por la cual se hace indispensable profundizar en los posibles mecanismos adaptativos de los cultivos de interés económico, a las condiciones estresantes del hábitat con características salinas.

Este tipo de estudio, es de gran interés para conseguir en un futuro próximo, un aumento en el rendimiento de las cosechas en lugares con condiciones abióticas desfavorables para las plantas, haciendo posible problemas tan importantes como la reducción del hambre, el aumento de economía en países con pocos recursos, así como evitar pérdidas de biodiversidad a través de estrategias de conservación y/o restauración de estos ecosistemas.

La novedad de este estudio es la utilización de plantas silvestres tolerantes a estrés en sus ambientes naturales, así como el carácter multidisciplinar del proyecto para poder contribuir al avance del conocimiento sobre los mecanismos de respuesta al estrés.

Se propone que los mecanismos de respuesta de las plantas a condiciones de estrés en la naturaleza son más eficaces que de las plantas sin estas condiciones adversas.

El estudio pretende abordar los mecanismos de tolerancia a estrés abiótico en seis especies en particular, elegidas a criterio justificado de un tipo de hábitat natural sometido a unas condiciones de estrés ambiental en concreto, como es el caso del saladar del Clot de Galvany (Elche).

Se determinarán los niveles de marcadores bioquímicos como la prolina, que se acumula en plantas como respuesta al estrés abiótico.

Todos los resultados obtenidos se correlacionarán con datos climatológicos y los derivados de análisis edafológicos, realizados en muestras tomadas simultáneamente con las del material vegetal.

El presente trabajo tiene como objetivo principal conocer la variabilidad de prolina en las distintas especies elegidas, teniendo en cuenta la relación ambiental y edáfica existente en la campaña 2010, en las cuatro parcelas experimentales dispersas por las partidas rurales de El Altet y los Basares, en el termino municipal de Elche, la recogida de muestras será una en Verano y otra en Otoño.

El porque de cuantificar la variabilidad de la prolina, es debido a la importancia de este aminoácido y a su metabolismo en los procesos de resistencia al estrés abiótico.

La cuantificación de la prolina se realizará en las mismas especies existentes en las parcelas de estudio en dos estaciones distintas para obtener resultados que se puedan correlacionar con la influencia de la temperatura, radiación solar y precipitación sobre este proceso metabólico.

## **2. Introducción**

Mi estudio final de carrera, se centra en una zona de la Comunidad Valenciana, en concreto en el término municipal de Elche.

El estudio se basa en el comportamiento de las comunidades vegetales en la zona del saladar del Parque Natural Municipal Clot de Galvany (Elche), en donde se desarrolla un hábitat natural sometido a un estrés ambiental, con las características edáficas del lugar.

Se pretende obtener datos de interés a nivel botánico e ecológico, con posibles aplicaciones a nivel agrícola y forestal, con el estudio de los mecanismos de tolerancia a estrés abiótico de las especies seleccionadas para el estudio, mediante la determinación de los niveles de varios marcadores bioquímicos y enzimáticos, característicos de distintos mecanismos de respuesta a estrés en plantas.

Con este estudio, cuya idea es obtener unos datos cuantificativos de la prolina, los cuales nos darán una visión de la importancia de su síntesis en diferentes estaciones e especies, en medios ambientes poco aptos para la mayoría de plantas, será una documentación adicional para facilitar el propósito de la Legislación de la Unión Europea para la protección y conservación de hábitats de especial interés (Hábitats naturales (Natura 2000)).

### **3. Descripción de la zona de estudio**

### **3.1 Ecosistema**

El ecosistema de estudio es un saladar, el cual posee un nivel freático próximo a la superficie, por lo que se justifica el alto contenido de sales (cloruros), con tierras pantanosas en invierno y secas en verano por lo general, ya que depende en su mayor caso por las precipitaciones locales y el ascenso del nivel del mar (muy próximo a la zona). El tipo de vegetación de esta zona es edafófila, es decir, que depende fundamentalmente de las propiedades físico-químicas del suelo.

Las plantas halófilas, es decir, organismos que viven en lugares con altas concentraciones de sal, dependiendo de la especie, presentan distintos niveles de tolerancia a la sal (NaCl), por ello la elección de varias especies distintas en nuestras parcelas para el estudio.

### **3.2 Instrumentos de conservación y protección**

Actualmente el habitat estudiado se encuentra bajo la protección de los LICs (Lugares de Interés Comunitario) para la integración en la Red Natura 2000 como ZECs (Zonas de Especial Conservación) o ZEPAs (Zonas de Especial Protección para las Aves), ya que se sitúa en la laguna costera de la Comunidad Valenciana y como tal, toda la costa se beneficia de esta protección.

### **3.3 Ecología**

Las plantas están sometidas frecuentemente a situaciones desfavorables para su desarrollo y ciclo vital óptimo ocasionadas por alteraciones en el medio ambiente.

El estrés abiótico (alteraciones no causadas por la acción de los seres vivos) es una condición externa que provoca una alteración de la fotosíntesis reduciendo el crecimiento, supervivencia y/o fecundidad de la planta, así como la limitación de la producción del cultivo. Los parámetros medioambientales más influyentes son la sequía, la salinidad del suelo, la temperatura extrema (bajas o altas), la escasez de luz o exceso de radiación, las inundaciones, los suelos ácidos, alcalinos o pobres en nutrientes...Estos fenómenos en condiciones extremas producen estrés fisiológico.

Los recursos del suelo requeridos para el crecimiento de las plantas se distribuyen de forma heterogénea con una gran variabilidad temporal y espacial (Jackson and Caldwell, 1993; Kleb and Wilson, 1997).

En ambientes naturales, los factores medioambientales como luz, agua y nutrientes interactúan simultáneamente con la macro y microfauna afectando al desarrollo de la planta.

Las propiedades físicas y químicas del suelo están determinadas en gran medida por la numerosa y compleja comunidad de organismos que lo habitan, dado que esta actividad microbiológica y el desarrollo del suelo influyen directamente en la estabilidad y fertilidad del ecosistema.

La calidad del suelo y su degradación dependen de una serie de propiedades físicas, químicas, biológicas, microbiológicas y bioquímicas. Estas últimas son importantes ya que constituyen indicadores rápidos y sensibles de los cambios que se producen en dichos suelos.

### **3.4 Biogeografía**

La tipología de la zona de estudio atendiendo la clasificación de Rivas-Martínez (2007), siendo la unidad corológica que corresponde a la comarca es la siguiente:

Reino Holártico  
    Región Mediterránea  
        Subregión Mediterránea occidental  
            Superprovincia Mediterráneo-Almeriense  
                Sector Murciano-Almeriense  
                    Sector Alicantino

El clima es típicamente mediterráneo, con veranos largos y secos, otoños lluviosos y primaveras por lo general lluviosas.

### 3.5 Bioclimatología

El piso bioclimático de la zona, corresponde al Termomediterraneo con unas temperaturas de 17-19º, y una mínimas de 4-10º, contrarrestándolas con unas máximas de 14-18º como media. Existe un It (índice de termicidad) de 350-470.

#### Situación de la zona

##### Localización y Descripción de la zona de estudio (Clot de Galvany):

**País:** España, Comunidad Valenciana

**Administración:** Generalitat valenciana

**Grado de Protección:** Paraje Natural Municipal (creado el 21 de enero del 2005).

**Localidad:** Elche.

##### **Descripción:**

El Paraje Natural Municipal Clot de Galvany, con una superficie de 366,31 ha, se localiza en las Partidas rurales de El Altet y Los Balsares, en el término municipal de Elche en la provincia de Alicante.

Este Paraje es un enclave de gran valor ambiental. En él se pueden distinguir diferentes ecosistemas, que contienen una flora y fauna de gran relevancia a escala autonómica e incluso estatal. Así podemos destacar la presencia de especies de avifauna como la ceceta pardilla, la garcilla cancrejera, la malvasía cabeciblanca y el porrón pardo.

Entre los anfibios destacan el sapo corredor y la rana común, así como una gran variedad de reptiles.

Este paraje destaca por la presencia de diversas comunidades florísticas dunares, saladares y comunidades palustres, destacando endemismos como los *Limonium furfuraceum*, *L. parvibracteatum* y *L. santapolense*.

Alberga asimismo la mejor formación dunar de la provincia de Alicante y una de las mejores de la Comunidad Valenciana, con un sistema de dunas móviles, semifijas y fijas, que en tiempos pretéritos y desde la década de los sesenta fueron destruidas por la intensa actividad urbanística desarrollada en el contexto del fuerte crecimiento de la demanda residencial vinculada a la intensa actividad turística de las zonas litorales ilicitanas.

Fue declarado Paraje Natural Municipal por Acuerdo del Consell de la Generalidad Valenciana de fecha 21 de enero de 2005. Así mismo se halla incluido en

el Catálogo de Zonas Húmedas, aprobado mediante Acuerdo de 10 de septiembre de 2002, del Consejo de la Generalidad.

La presión urbanística que actualmente este paraje natural soporta, es de una presión urbanística muy alta, por el norte se topa con la construcción de 3200 viviendas en los Arenales de Sol que han ocupado la sierra que separaba este paraje con lo que era el mar y por el sur con la construcción de innumerables bungalows y apartamentos en el Gran Alacant.

### 3.6 Plano de localización

#### CLOT DE GALVANY-ALICANTE (ELCHE)

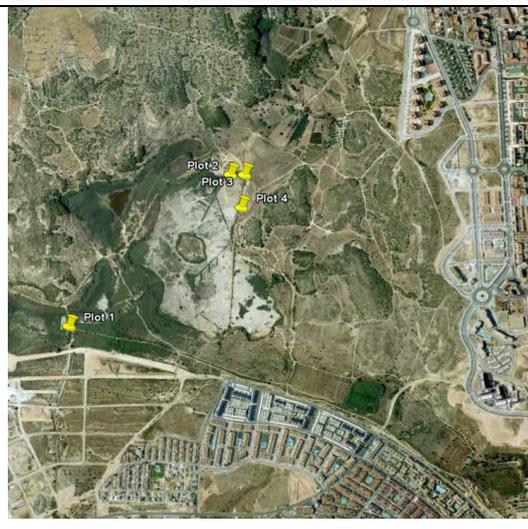
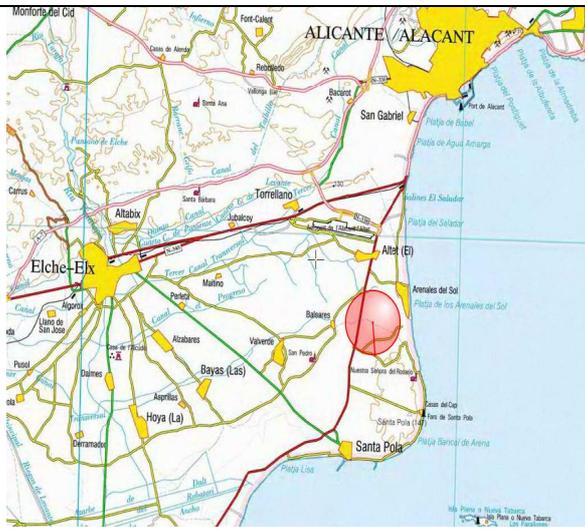
Projected Coordinate System:..UTM Zone 30, Northern Hemisphere  
 Geographic Coordinate System:European Datum 1950.  
 Datum:.....D-ED50.  
 Prime Meridian:..... Greenwich.  
 Angular Unit:..... Degree.

**Parcela 1:** X-715442,65/ Y-4236070,85

**Parcela 2:** X-716057,34/ Y-4236674,15

**Parcela 3:** X-716094,56/ Y-4236724,24

**Parcela 4:** X-716083,59/ Y-4236577,32



#### **4. Objetivos del proyecto**

El estudio a la respuesta de las plantas al estrés abiótico, es de interés académico y práctica a nivel forestal e agrícola.

Por lo general todas las plantas utilizan los mismos mecanismos de respuesta frente a condiciones ambientales adversas (regulación del balance osmótico, síntesis de metabolitos y proteínas protectoras, activación de sistemas antioxidantes, etc.).

Cabe destacar que estos mecanismos son más eficaces en especies tolerantes a distintos tipos de estrés abiótico, ya sea por que su hábitat habitual sean zonas límites para otras especies o sea por una muy buena adaptación al lugar, como pueden ser las plantas halófilas, gipsófilas, xerófilas, por mencionar las más predominantes en estos lugares.

El estudio se centra en cuantificar los niveles de prolina que sintetizan las plantas en la zona de estudio, como sistema de respuesta a las condiciones de estrés que experimentan a consecuencia de las claras diferencias que existen en las dos épocas propuestas (Verano- Otoño), y que están condicionadas por las propiedades edafológicas y climáticas.

El estudio de los mecanismos de tolerancia en especies de hábitats sometidos a condiciones específicas de estrés, y su correlación con datos climatológicos y edafológicos, puede contribuir al avance del conocimiento en este campo, proporcionando información de interés, complementaria a la obtenida en sistemas modelo y con otros abordajes experimentales.

Esta asociación entre los requisitos edáficos de especies de interés y sus mecanismos de adaptación al estrés en sus hábitats naturales, junto con estudios detallados de la estructura y comportamiento de las comunidades vegetales en cada una de las zonas seleccionadas, permitirá obtener datos adicionales con implicaciones para el mantenimiento de la biodiversidad vegetal, ayudando a establecer estrategias de conservación y de restauración de estos ecosistemas, sumamente amenazados o, en muchos casos, ya degradados.

## **5. Revisión de literatura**

## 5.1 Introducción

Las plantas están sujetas constantemente a condiciones adversas tales como: sequía, inundación, temperaturas extremas, sales excesivas, metales pesados, irradiación de alta intensidad e infecciones por agentes patógenos. Dada su inmovilidad, deben ajustarse en forma necesaria, tanto estructural como metabólicamente, para poder responder a las condiciones de estrés y cambios estacionales, por lo que utiliza mecanismos de ajuste.

La primera reacción de las plantas, es la inhibición del crecimiento vegetativo y del desarrollo reproductivo, ya que desvían todos sus recursos (energía, precursores metabólicos, etc.) para sobrevivir a las condiciones adversas (Serrano and Gaxiola 1994; Zhu, 2001).

Sin embargo, existen plantas adaptadas de forma natural a condiciones de estrés, como las presentes en los ecosistemas objeto de este estudio: halófitas (tolerantes a sal) siendo este hábitat pobre en nutrientes.

Lo cierto es que se sabe muy poco sobre las bases moleculares de los mecanismos de tolerancia a estrés en estas plantas silvestres, ya que la mayoría de los estudios sobre las respuestas a estrés en plantas se han llevado a cabo en especies modelo no tolerantes, como la *Arabidopsis thaliana*, o especies cultivadas (Sanders, 2000; Zhu, 2000, 2001), que a priori no parecen ser las más apropiadas para este tipo de investigaciones.

Las plantas en su conjunto utilizan los mismos mecanismos básicos de respuesta a los cambios abióticos. Estos mecanismos generalmente son:

- Control de la homeostasis iónica y del balance osmótico celular (transporte de agua a la célula).
- Síntesis de moléculas protectoras: osmolitos compatibles (azúcares, polialcoholes, aminoácidos o derivados) y proteínas específicas.
- Activación de sistemas antioxidantes, químicos o enzimáticos. (Zhu, 2001; Munns, 2002; Wang et al. 2003, Vinocur and Altman, 2005; Umezawa et al. 2006).

De todos modos, la tolerancia a la sequía, a la sal, a la temperatura elevada, etc., no son comparables con las plantas silvestres y adaptadas a unas condiciones poco favorables. Los mecanismos de tolerancia en las plantas silvestres son mucho más eficaces ya que pueden contrarrestar el estrés hídrico, térmico y salino; desde adaptaciones estructurales, fisiológicas, hasta bioquímicas y moleculares.

## **5.2 Ambientes estresantes**

Los estreses medioambientales se pueden clasificar en tres:

- Estrés físico, donde se encuentra el déficit hídrico, la salinidad, el frío, el calor, la irradiación luminosa, la anaerobiosis, el estrés mecánico.
- Estrés químico, producido por los metales pesados, la salinidad, los contaminantes atmosféricos, los herbicidas, así como la carencia de determinados elementos químicos.

Estos dos factores son los que engloban los estreses abióticos.

- Por último esta el estrés biológico o biótico, causado por la acción de seres vivos.

## **5.3 Respuesta celular**

La secuencia celular a la respuesta al estrés de la planta se divide en tres etapas, las cuales son:

- En primer lugar la percepción por la planta del estímulo estresante.
- En segundo lugar el procesamiento de la señal de estrés percibida, cuyos factores que constituyen las rutas de transmisión intracelular de la señal de estrés incluye las fitohormonas, los cambios en el nivel de (Ca) intracelular y la actividad de las proteínas.
- Y por último la regulación de la expresión génica, implicando tanto la activación como la represión de la transición.

## **5.4 Relaciones hídricas**

El potencial hídrico es afectado por los factores abióticos como el agua del suelo, el clima, el índice de estrés y el estado de desarrollo del cultivo.

Azcón-Bieto y Talón (1993) expresan que el estado hídrico se puede describir cuantitativa y adecuadamente mediante el potencial hídrico, el cual controla el movimiento del agua en el sistema suelo-planta-atmósfera, así como a nivel de células, tejidos y órganos. Un ejemplo de acoplamiento entre relaciones hídricas y procesos metabólicos son las adaptaciones a los déficits hídricos, salinidad y temperaturas bajas.

Se considera que hormonas tales como el ABA desempeñan un papel importante en estos aspectos, pero no se conocen bien los mecanismos precisos de su acción.

Existen pruebas de que una señal hidráulica, tal como la turgencia, se puede transformar directamente en cambios en el transporte activo a través de las membranas celulares, mediante un sensor situado a nivel de membrana.

Las raíces responden a la sequía edáfica produciendo una alta concentración de ácido abscísico (ABA), el cual se transporta al vástago ocasionando el cierre estomático (Davies y Zhang, 1987; Zhang y Davies, 1990).

Algunas especies, incluyendo las adaptadas a hábitats áridos acumulan sustancias durante un periodo de déficit hídrico, las cuales son constituyentes normales de las células, particularmente aminoácidos libres como Prolina (Barnett y Naylor, 1966; Waldren y Teare, 1974; Aspinall y Paleg, 1981), Betaína (Wyn Jones y Storey, 1981) y toda una serie de metabolitos secundarios de los cuales ABA es uno de los más importantes (Walton, *et al.* 1976; Trejo y Davies, 1991).

La comunicación entre la raíz y el vástago puede ser un componente importante de los mecanismos de respuesta de las plantas que crecen bajo condiciones de sequía. Lo anterior pone de manifiesto la importancia que tiene determinar los mecanismos de regulación fisiológica que presentan las plantas como respuesta a las condiciones de humedad en el suelo; principalmente todos aquellos relacionados con la regulación de intercambio gaseoso.

### **5.5 Estrés hídrico**

Es considerado como condición adversa a la vida, produciendo cambios reversibles a la planta si estos no son de larga duración.

Se produce en la planta cuando la absorción de agua del sistema radicular es insuficiente para satisfacer la demanda evaporativa atmosférica. Esto afecta a procesos fisiológicos y reproductivos, consiguientemente a la disminución de la producción (Lin y Kao, 1995; Acevedo et al., 1998).

El primer efecto es la pérdida de turgencia, la que afecta la elongación del tallo, la expansión foliar, la apertura estomática y finalmente una reducción en la tasa de crecimiento (Hale et al., 1987).

Este déficit de suministro de agua a nivel molecular, produce cambios fisiológicos muy importantes, en respuesta:

- Se inhibe la expansión celular, generalmente seguida por una reducción de la síntesis de pared celular.
- Se inhibe la división celular.
- Se produce un incremento en los niveles de ácido abscísico.
- Surgen cambios en la osmolaridad celular.
- Los estomas comienzan a cerrarse, provocando una reducción de la transpiración y de la fotosíntesis.
- La síntesis proteica es sensible, (disociación de ribosomas).
- La actividad enzimática sufre cambios.
- Se produce la biosíntesis de metabolitos secundarios.
- Surgen cambios en el desarrollo y/o reproducción de las plantas.
- Se activa simultáneamente la síntesis de proteínas específicas denominadas de estrés.

Además, se incrementa el contenido de prolina libre que actúa como osmolito en el ajuste osmótico, como respuesta fisiológica de la planta como uno de los primeros mecanismos al estrés hídrico generado por un ambiente árido.

Una respuesta de las plantas al bajo potencial hídrico del suelo, ocasionado por el incremento de sales, es la acumulación de solutos osmóticamente compatibles. Dentro de éstos, prolina es un componente importante.

La concentración de prolina y el contenido relativo de agua (CRA), se ha tenido en cuenta su relación a la hora de sacar las conclusiones, ya que cuando el (CRA) disminuye aumenta la concentración de NaCl.

## **5.6 Osmorregulación. Relaciones metabólicas**

Un aspecto de gran relevancia en la respuesta de los cultivos a las sales es el ajuste osmótico, es decir, el incremento neto en la cantidad de solutos osmóticamente activos en los tejidos.

El ajuste osmótico se alcanza mediante la acumulación de iones inorgánicos, o a través de la síntesis de solutos orgánicos, entre los cuales la prolina es uno de los osmolitos más ampliamente distribuidos en plantas superiores.

Los iones inorgánicos son determinantes en el ajuste osmótico y se acumulan preferentemente en vacuolas.

Muchas plantas que toleran los diversos tipos de estrés hídrico lo hacen sintetizando en el citoplasma, compuestos que pueden existir en concentraciones elevadas sin desnaturalizar las enzimas que son esenciales para los procesos metabólicos propios de la vida. A estos compuestos se les denomina solutos compatibles, y son de naturaleza muy variable, como la prolina, glicina, betaina, sacarosa, manitol. Estos compuestos pueden existir en el citoplasma a concentraciones relativamente elevadas, sin dañar las enzimas que ahí se encuentran.

Familias de plantas específicas tienden a usar uno o dos de estos compuestos en preferencia a otros; la cantidad de (C) usado para la síntesis de estos solutos orgánicos puede ser grande (aprox. 10% del peso de la planta), y aunque en vegetación natural este hecho no afecta, en cultivos agrícolas puede reducir las producciones.

La acumulación de carbohidratos en los tejidos de plantas estresadas, es un reflejo de cómo los solutos compatibles son necesarios para la osmorregulación.

Iyer y Kaplan (1998) plantean que muchas plantas acumulan altos niveles de prolina libre en respuesta al estrés osmótico; este aminoácido es ampliamente relacionado a las funciones como un protector o estabilizador de enzimas o estructuras de membranas que son sensibles a la deshidratación o al inducido iónicamente.

#### Estudios de prolina en otras especies:

- Camara et al. (2000) estudiaron el efecto del estrés salino y la prolina exógena en callos de dos genotipos de maíz. La adición de prolina mejoró el crecimiento de los callos en ambos genotipos en el tratamiento control y redujo los efectos negativos en los altos niveles salinos. La diferencia en la tasa de crecimiento entre ambos genotipos fue debido, probablemente en parte, a la alta acumulación de prolina y el mantenimiento del metabolismo de poliamina en dichos callos.

### **5.7 Conceptos sobre salinidad**

El aumento de sales en los suelos es una de las más serias amenazas medioambientales para la supervivencia de las plantas. También, constituye uno de los mayores problemas para el crecimiento y desarrollo de las plantas cultivadas; repercutiendo en la producción exitosa de las cosechas (Munns et al., 2002).

Un gran porcentaje de suelos dedicados a la agricultura en el mundo, son naturalmente salinos (21 %) o pueden ser salinizados (19.5 %) por prácticas inadecuadas de irrigación (Chinnusamy & Zhu, 2003, FAO, 2005).

En este sentido, el efecto del estrés ocasionado por sales en plantas, viene siendo estudiado extensivamente.

El exceso de sales puede ejercer un efecto osmótico, toxicidad iónica, así como disturbios en la toma y translocación de iones necesarios para la nutrición de las plantas (Misra & Dwivedi, 2004), lo cual, puede afectar adversamente el crecimiento de las plantas. En muchas plantas cultivadas, se ha observado que los primeros estadios de su vida son más sensitivos a los estreses medioambientales, entre ellos, la salinidad (Sivritepe et al., 2003).

El NaCl es una sal que se encuentra frecuentemente en terrenos de cultivo, por eso, muchos estudios han sido orientados al entendimiento de los mecanismos involucrados en sus sistemas de transporte y mecanismos regulatorios que median la homeostasis de Na<sup>+</sup> en las plantas (Zhu, 2002, Rus et al., 2004).

El desequilibrio de Na<sup>+</sup> es una consecuencia primaria de la alta concentración de NaCl y afecta la división, crecimiento y supervivencia celular (Zhu, 2003).

El exceso de iones Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> puede conducir a cambios en la estructura de las proteínas, mientras que el efecto osmótico llevar a la pérdida de turgencia celular (Chinnusamy & Zhu, 2003).

Si bien los mecanismos involucrados en el estrés salino no son entendidos completamente, debido a la participación de muchos genes en la resistencia a este estrés (Parida & Das, 2005; Ning Liu et al., 2007); las plantas han involucrado procesos para operar adicionalmente y asegurar su supervivencia. Entre ellos, la exclusión de iones Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> del citoplasma y su compartimentalización en la vacuola. (Munns, 2002).

Al aumentar estos iones en la vacuola, para soportar el efecto osmótico, un gran número de plantas han involucrado en su metabolismo la capacidad para sintetizar y acumular solutos compatibles u osmoprotectores en el citoplasma (Hasegawa et al., 2000; Chinnusamy & Zhu, 2003; Attipalli et al., 2004; Azevedo, et al., 2004; Parida & Das, 2005).

Estos solutos son acumulados a niveles osmoticamente significativos sin alterar el metabolismo de la planta, con la función de mantener la turgencia de los tejidos para así mantener la función celular (Ramanjulu & Sudhakar, 2000).

Compuestos de diversa naturaleza química se encuentran agrupados dentro de los solutos compatibles: aminoácidos (prolina), compuesto cuaternarios de nitrógeno (glicina betaina), polioles (manitol), azúcares (trehalosa, sacarosa, fructanos) (Nuccio et al., 1999).

La prolina es un aminoácido que se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas, cuando éstas crecen en condiciones óptimas. En condiciones de estrés, se ha encontrado que 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), sequia (Avenidaño 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 & Verma 1993; Kavi Kishor et al. 1995; Yoshiba et al. 1997).
- Estabilizador de proteínas y membranas.
- Inductor de genes relacionados a estrés osmótico (Iyer & Caplan 1998).
- Fuente de carbono y nitrógeno fácilmente disponible en la rehidratación celular (Brugière et al. 1999).
- Fuente de equivalentes de reducción (del catabolismo de prolina) para sostenerla fosforilación oxidativa.
- Generación de ATP durante la recuperación del estrés (Hare & Cress 1997; Hare et al., 1998).
- Ayuda al control de la acidosis del citosol y puede mantener la relación NADH/NAD<sup>+</sup> a valores compatibles con el metabolismo (Hare & Cress 1997).
- Ayuda en la detoxificación del exceso de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.
- Ayuda a las células a superar la tensión oxidativa (cosechador de especies reactivas de oxígeno). (Ramanjulu & Sudhakar, 2000; Harsh, 2003).

La salinidad del suelo es una medida de la cantidad total de las sales solubles en el suelo. Como los niveles de salinidad incrementan, las plantas extraen menos fácilmente el agua del suelo, agravando las condiciones de estrés hídrico.

La alta salinidad del suelo, puede también causar desbalances de nutrientes, resultando en la acumulación de elementos tóxicos en las plantas y reduce la infiltración de agua si el nivel de un elemento salino (Na) es alto.

Las plantas afectadas por sales son achaparradas con hojas verdes opacas, las cuales, en algunos casos, son delgadas y más suculentas que lo normal.

La tolerancia a la salinidad está influenciada por varios factores (planta, suelo, ambiente) así como sus interrelaciones. Generalmente, las frutas, vegetales y ornamentales son más sensibles a las sales que las cosechas de campo y forrajeras.

Ciertas variedades y cultivares, pueden tolerar altos niveles de sales que otras. Aunque la mayoría de las plantas son más sensibles a la alta salinidad durante los estadios de plántulas, inmediatamente después del trasplante y cuando son sujetos a otros estreses (por ej. enfermedades, insectos, nutrientes).

El clima y el riego también influyen en la tolerancia a la salinidad. En consecuencia, los problemas salinos son más severos bajo calor, condiciones de sequía, que bajo frío y humedad.

La salinidad del suelo es determinada por medida de la conductividad eléctrica de la solución extraída a partir de una pasta de suelo saturada de agua. La salinidad es abreviada como Ece (conductividad eléctrica del extracto) con unidades de decisiemens por metro (dS/m) o milimhos por centímetro (mmhos/cm).

Bajo condiciones salinas, muchas plantas son capaces de compensarse parcialmente por bajo potencial osmótico del agua del suelo por incrementos del contenido de solutos internos. Esto se logra por absorción iónica a partir de la solución del suelo y por síntesis de osmolitos orgánicos. Ambas reacciones reducen el impacto del potencial osmótico. Sin embargo, la síntesis de osmolitos orgánicos requiere el gasto de energía metabólica. En consecuencia, el crecimiento de la planta es frecuentemente reducido bajo condiciones salinas. La reducción del crecimiento de las plantas en algunas ocasiones se debe, adicionalmente, al cierre estomático.

Otros impactos de las sales en el suelo incluye la toxicidad directa del Na y Cl y las deficiencias de nutrientes inducida.

Todas las plantas no responden a la salinidad de la misma manera; algunos cultivos pueden producir rendimientos aceptables a mayores niveles de salinidad en el suelo que otros. Esto es debido a que algunos cultivos son más capaces para lograr el

ajuste osmótico necesario, con lo que se capacita para extraer más agua desde el suelo salino, o ellos pueden ser más tolerantes a algunos de los efectos tóxicos de salinidad.

La tolerancia de una planta a la sal puede ser definida como la capacidad de sobrepasar los efectos de un exceso en su medio radicular de crecimiento. La tolerancia se mantiene en aquellas plantas cuyo protoplasma funciona normalmente y sobrepasa un contenido alto de sales, sin daño aparente.

Las plantas halófitas han desarrollado en su anatomía una vesícula salina que almacena excesos de NaCl y tienen unos mecanismos en las células de las raíces y hojas por estar lozanos en la presencia de agua de mar. Las células que hacen la capa exterior o epidermis de cada raicita son casi impenetrables a la sal (NaCl). En adición, la capa interior o endodermis tiene una capa cerosa entre cada célula que fuerza el agua a pasar a través de las células que filtran más sal.

Problemas causados por la salinidad:

- Osmóticos: dificultad de absorción de agua por las plantas.
- Toxicidad: Efectos sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas.
- Dispersión: afecta la estructura del suelo y la infiltración de agua.

La tolerancia varía durante las diferentes fases del crecimiento y desarrollo.

Azcón-Bieto y Talón (1993) plantean que existen situaciones en las que la concentración de sales en el suelo llega a ser tan elevada que se impide o disminuye la absorción de agua, provocando una condición denominada sequía osmótica. Este efecto de los solutos disueltos es similar al de un déficit hídrico edáfico. Algunas plantas que se desarrollan en suelos salinos se pueden ajustar osmóticamente y, de esa manera, impiden la pérdida de turgencia.

A esta sequía osmótica hay que añadir el efecto de iones específicos, cuando se acumulan en las células concentraciones lesivas de Na(+), Cl(-) o SO<sub>4</sub>(2-). Una relación anormalmente elevada de Na(+) a K(+), y altas concentraciones de sales totales, inactivan las enzimas e inhiben la síntesis de proteínas.

Las plantas evitan la lesión por sales mediante exclusión de iones, en las hojas o mediante su compartimentación en las vacuolas. En el caso de plantas sensibles, la resistencia a niveles moderados de salinidad en el suelo depende de la capacidad de las raíces para impedir la absorción de iones potencialmente dañinos. Algunas halófitas pertenecientes a los géneros Tamarix y Atriplex, no excluyen los iones a través de la raíz, sino que, por el contrario, poseen glándulas salinas en las superficies de las hojas. Los iones son transportados a estas glándulas, en las que las sales cristalizan y dejan de ser lesivas.

Muchas halófitas absorben iones y los acumulan en las hojas. No obstante, estos iones son secuestrados en las vacuolas de las células foliares, contribuyendo al  $\Psi_s$  celular, sin lesionar las enzimas cloroplásticas y citosólicas sensibles a la salinidad. En estas hojas, se mantiene el equilibrio hídrico entre el citoplasma y la vacuola acumulando en el citoplasma compuestos orgánicos tales como prolina o sacarosa.

Debido a que el volumen del citoplasma en una célula adulta es pequeño comparado con el volumen de la vacuola, la cantidad de (C) necesaria para la síntesis de compuestos orgánicos es mucho menor en estas plantas que en las que excluyen sales.

La exposición a NaCl o ABA induce la síntesis de proteínas. Especialmente importante parece ser una proteína de bajo PM denominada Osmotina, asociada a un aumento en la tolerancia al NaCl.

El estrés salino tiene dos componentes que afectan negativamente el crecimiento vegetal: el componente osmótico y el componente iónico.

La elevada concentración salina provoca un descenso del  $\Psi_{\text{suelo}}$  (es decir, se hace más negativo aunque aumenta en valor absoluto), lo cual induce estrés hídrico en las plantas. Esto es lo que se conoce como componente osmótico de la salinidad. En cuanto al componente iónico, determinados iones son tóxicos para las glicofitas (la inmensa mayoría de las plantas cultivadas); entre los iones tóxicos más abundantes se encuentran el  $\text{Cl}(-)$  y  $\text{Na}(+)$ , aunque otros iones también pueden ocasionar problemas como el  $\text{NO}_3(-)$ ,  $\text{SO}_4(2-)$  y  $\text{NH}_4(+)$ .

Los mecanismos desarrollados por las plantas tolerantes a la sal se basan en la exclusión del  $\text{Cl}(-)$  y el  $\text{Na}(+)$  del citoplasma, mediante su almacenamiento en las vacuolas o mediante la inhibición de su entrada o la estimulación de su salida de la célula.

La succulencia de las halofitas es diferente a la de xerofitas, pues los órganos succulentos de xerofitas provienen generalmente del tallo y no suelen tener capacidad fotosintética, mientras que la succulencia de halofitas suele darse en las hojas, las cuales siguen teniendo capacidad fotosintética. Las restantes adaptaciones a la salinidad pueden englobarse dentro de las respuestas generales de los estreses medioambientales.

Salisbury y Ross (1994) plantean que normalmente, la sal penetra a la planta, pero en todo caso, como las hojas se hinchan absorbiendo agua las concentraciones no aumentan mucho. Esto da lugar al desarrollo de la succulencia (una proporción elevada de volumen/superficie), característica morfológica común a las halófitas.

Otro mecanismo que disuelve la sal es el crecimiento rápido. En estos casos, y cuando la sal se elimina por las raíces como en el caso de los mangles, en los tejidos aumentan los compuestos orgánicos que no tienen los efectos tóxicos de la sal, manteniendo un balance osmótico con la solución salina.

La Prolina representa un ejemplo común de esto, pero también se presentan otros aminoácidos y otros compuestos como el Galactosil glicerol y los Ácidos orgánicos. En ocasiones el exceso de sal se exuda en la superficie de las hojas, lo cual ayuda a mantener una concentración de sal constante en el tejido.

## **5.8 Los aminoácidos**

Los aminoácidos, péptidos y proteínas son componentes importante, proporcionando los elementos necesarios para la síntesis proteica.

Los aminoácidos son ácidos carboxílicos que contienen un grupo amino, de los cuales existen unos cien en la naturaleza.

En el hidrolizado total de las proteínas existen veinte aminoácidos que tienen, con algunas excepciones, la fórmula general (R-CH-COOH NH<sub>2</sub>).

En el caso más sencillo, el radical R es un átomo de Hidrógeno (ácido aminoacético o glicina), en los demás aminoácidos R es un resto alifático, aromático o heterocíclico, que puede ser portador de otros grupos funcionales.

Los aminoácidos constituyentes de las proteínas son, aproximadamente, veinte: Alanina, Arginina, Asparagina, Ácido aspártico, Cisteína, Ácido glutámico, Glutamina, Glicina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Fenilalanina, Prolina, Serina, Treonina, Triptófano, Tirosina y Valina.

Todos ellos son aminoácidos excepto dos, que son prolina y la Hidroxiprolina, que también pueden considerarse como aminoácidos por su similitud estructural. Se les llama aminoácidos porque el grupo amino está unido al carbono de la cadena que es, por convenio, el átomo de carbono adyacente al grupo carboxilo.

Existen varios reactivos que reaccionan con los aminoácidos dando compuestos coloreados o fluorescentes y que, por tanto, pueden utilizarse para análisis cualitativos o cuantitativos. Esto es lo que se denomina derivatización de los aminoácidos. Los métodos fluorimétricos tienen muchas ventajas respecto a la espectrofotometría para el análisis de aminoácidos.

El aminoácido de estudio es la prolina, cuyo contenido en los vegetales está correlacionado inversamente con los ambientes más favorables de humedad, temperatura y salinidad. Las especies de estudio se le consideran como tolerante al estrés de estos factores y de amplio rango de adaptación.

Se supone que debe tener amplia variabilidad del contenido de prolina. Esta cuestión es la que se presenta en este trabajo con variedades y ambientes diferenciales elegidas para el experimento.

La prolina y su metabolismo en los procesos de resistencia al estrés abiótico son sin duda de vital importancia, influenciada por la temperatura y la radiación solar del lugar.

## 6. Flora

## 6.1 *Juncus maritimus*



### Clasificación científica:

**Reino:**.....Plnatae  
**División:**..Magnoliophyta  
**Clase:**.....Liliopsida  
**Orden:**....Juncales  
**Familia:**...Juncaceae  
**Genero:**...*Juncus*  
**Especie:**...*Juncus maritimus*

**Nombre Común:** Junco maritimo

**Distribución por provincias:** Alicante, Valencia, Cataluña, Islas Baleares.

**Distribución general:** Pluriregional

**Época de floración:** Junio-Setiembre.

**Formas vitales:** Geófito.

**Hábitat:** Zonas húmedas, pantanosas y marismas.

**Categoría IUCN:** Poco preocupante

### Descripción:

Este junco vive en suelos salobres y húmedos, a veces inundados. Es rizomatoso por lo que puede formar céspedes bastante extensos, aunque también lo podemos encontrar aislado.

Se puede confundir con *Juncus acutus*, porque las hojas son largas y están endurecidas, por lo que pueden pinchar; pero se diferencia por su estructura

rizomatosa y porque la inflorescencia es muy laxa, en lugar de ser densamente compacta como en la otra especie.

#### **Descripción:**

Planta perenne de color verdoso, de 50 – 100 cm.

Tiene un rizoma horizontal de 2 – 8 mm de grosor, lo que la hace laxamente cespitosa.

El tallo, de 1,5 – 2 mm de diámetro, es liso o estríado una vez seco, provisto de 2 – 5 vainas pardas, áfilas, terminadas en un mucrón. Tiene 2 – 4 hojas punzantes cilíndricas.

Las flores aparecen reunidas en una inflorescencia de 2 – 25 mm de longitud, laxa aunque puede aparecer contraída. Florece de junio a octubre.

La primera bráctea, la inferior, semeja una continuación del tallo, tan larga como una como la inflorescencia y es punzante, siendo la segunda bráctea mas corta.

Las flores tienen una tonalidad pajiza y son solitarias o en pequeños grupos fascículos de 2 – 3 flores, pudiendo llegar a 7.

Los segmentos del perianto son desiguales, los externos ovados, agudos, cortamente mucronados, mientras que los internos son mas cortos, estrechamente elípticos, y sin aurículas.

Hay 6 estambres, que miden dos tercios del periantio, con anteras el doble de longitud que los filamentos.

El fruto es una cápsula trilocular de forma trígona – ovoide, obtusa, mucronada, tan larga o algo más que las piezas del periantio.

#### **Difusión y hábitat:**

Aparece en praderas juncuales halófilas desarrollado sobre suelos permanentemente húmedos.

Vive en comunidades de la clase Salicornietea fruticosae en la que neófitos, hemicriptófitos y caméfitos halófilos dominan en suelos salobres en mayor menor grado y que son de humedad variable.

#### **Ecológicos:**

No soporta la sombra

Requiere calor, no soporta heladas tardías ni temperaturas extremas

Piso colino principalmente, suboceánico

Suelos húmedos, ricos en bases y poco pobre o ligeramente rico en suelos fertilizados.

#### **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 saladas interiores.

## 6.2 *Juncus acutus*



### Clasificación científica:

Reino:.....Plantae

División:..Magnoliophyta

Clase:.....Liliopsida

Orden:.....Poales

Familia:....Juncaceae

Género:...Juncos

Especie:...*Juncus acutus*

**Nombre común:** Junco redondo.

**Distribución por provincias:** Alicante Valencia, Cataluña, Islas Baleares

**Distribución general:** Pluriregional

**Época de floración:** Mayo - Julio.

**Formas vitales:** Caméfito.

**Hábitat:** Zonas húmedas y pantanosas.

**Categoría IUCN:** Poco preocupante

### Descripción:

Mata grande densas con las hojas y tallos punzantes. Lo diferenciamos de *Juncus maritimus* por su inflorescencia compacta con frutos capsulares claramente más grandes que los sépalos (alerta con la subsp. *tommasinii* que tiene las cápsulas pequeñas).

Es rizomatoso y normalmente forma céspedes, siendo su inflorescencia laxa.

Especie perenne y de un grueso y corto rizoma, que posee tallos de hasta 2 m de longitud. Éstos están rodeados en su parte inferior por varias vainas, donde tienen de 2 a 5 hojas basales.

Es una planta cespitosa perenne de color verde oscuro que forma matas de 1,5-2 m. Alcanzando una altura entre los 75 y los 200 centímetros.

Las láminas y los culmos son cilíndricas y pungentes, característica que le da nombre a la especie.

La inflorescencia es compuesta de flores hermafroditas diminutas de color pardo rojizo. Brácteas muy pinchudas entre los meses de abril y agosto en el hemisferio norte.

Fruto cápsula de unos 4-5,5 mm de tamaño y de forma ovoide color bruno rosado. Sus semillas son muy pequeñas, de 1,2-1,7 mm. Los frutos maduros permanecen largo tiempo en la planta.

El periodo de floración va de abril a julio.

#### **Difusión y hábitat:**

Es una planta cosmopolita, ya que se encuentra difundida en toda el área Mediterránea y Canarias encontrándose hasta en Sudáfrica, California y América del Sur.

Su hábitat ideal es zona húmeda de alta tasa de salinidad, suelos con capa freática superficial, arenales costeros, bordes de laguna, humedales, arroyos y terrenos encharcados.

#### **Ecología:**

Crece en los pisos termomediterráneo, mesomediterráneo y supramediterráneo. Se desarrolla en suelos hidromorfos, en marjales salinos o más o menos salobres, tanto de la costa como del interior.

#### **Distribución:**

Aparece en la Región Mediterránea y en las Canarias. En la Península Ibérica, se extiende por casi todo el territorio, siendo más frecuente en la zona litoral, tanto levantina como en las costas del norte, estando presente también en Baleares. En Portugal aparece en la zona del Algarve. En la Región de Murcia aparece extendida por todo el territorio, creciendo en juncales tanto de aguas dulces como en aguas salobres.

### 6.3 *Sarcocornia fruticosa*



#### Clasificación científica:

Reino:.....Plantae

División:..Magnoliophyta

Clase:.....Magnoliopsida

Orden:....Caryophyllales

Familia:...Amaranthaceae

Género:...Sarcocornia

Especie:...*Sarcocornia fruticosa*

**Nombre común:** Sosa alacranera.

**Distribución por provincias:** Islas Baleares.

**Distribución general:** Pluriregional.

**Época de floración:** Floración en verano.

**Formas vitales:** Nanofanerófito.

**Hábitat:** Saladares abundantes en agua. Costa rocosa.

**Categoría IUCN:** Poco preocupante.

#### Descripción:

Arbustillo perennifolio, hermafrodita de hasta 1,5 m, siempre erguido, muy ramoso. Ramillas opuestas; las fértiles herbáceas, también opuestas, articuladas, cilíndricas, con todos los artejos cilíndricos, verdes y glabras, en apariencia desprovistas de hojas.

Se caracteriza porque los tallos jóvenes son carnosos y están articulados en nudos y entrenudos, estos tallos son verdes o adquieren coloraciones rojizas.

Las hojas están reunidas en pequeñas escamas poco visibles, soldadas entre sí sobre el ápice de los artejos o segmentos, formando una especie de delgado anillo hialino.

La inflorescencia es una espiga cilíndrica y articulada. Las flores se agrupan de tres en tres a cada lado de los nudos de las ramas fértiles, que son las más superiores y por tanto sobresalen por encima del perfil general de la planta. Estas flores son muy pequeñas y poco aparentes, de hecho ocupan, cada una de ellas, una cavidad de los tallos.

El fruto es un aquenio incluido dentro del periantio. Semilla parda o pardo-grisácea.

Esta especie se confunde con *Arthrocnemum macrostachyum*, que tiene una morfología extremadamente parecida y que vive en los mismos ambientes; esta especie desarrolla las ramas fértiles sin que sobresalgan del perfil general de la planta. *Sarcocornia perennis* también puede provocar confusiones, esta especie se diferencia por desarrollar ramas postradas que enraízan en el suelo, mientras que *Arthrocnemum fruticosum* no enraíza en las ramas que tocan el suelo. Florece a finales de primavera hasta el otoño.

#### **Difusión y Hábitat:**

Terrenos salados abundantes en humedad, de suelos salinos, tanto en las marismas como en la costa rocosa.

Vive en suelos húmedos salobres en el supraestero de la marisma externa halófila, que no son inundados más que por las pleamares. Pertenece principalmente a comunidades de la clase *Salicornietea fruticosae* en la que neófitos, hemicriptófitos y caméfito halófilos dominan en suelos salobres en mayor o menor grado y que son de humedad variable.

#### **Ecología:**

Crece a plena luz aunque soporta sombra y requiere calor.

El piso es colino principalmente.

Es una especie continental, soportando variaciones de temperatura.

Requiere suelos húmedos débilmente ácidos y ricos en nutrientes.

#### **Distribución:**

Amplia distribución mundial: Eurasia, norte de África, Polinesia, América central y Suramérica.

## 6.4 *Limonium sp.pl.*



### Clasificación científica:

**Reino:**.....Plantae  
**División:**..Magnoliophyta  
**Clase:**.....Magnoliopsida  
**Orden:**.....Caryophyllales  
**Familia:**....Plumbaginaceae  
**Género:**...Limonium  
**Especie:**...*Limonium sp.*

**Nombre común:** Limonio. Siempreviva.

**Distribución por provincias:** Islas Baleares. Valencia.

**Distribución general:** Mediterránea-occidental.

**Época de floración:** Agosto - Octubre.

**Formas vitales:** Caméfito.

**Hábitat:** Saladares y litorales rocosos.

**Categoría IUCN:** Vulnerable

### Descripción:

Género formado por más de 400 especies, más de 100 en España, con un centro de diversificación en el oeste del Mediterráneo. Habitan en zonas salobres costeras, acantilados marítimos, orillas de lagunas saladas y zonas margosas del interior muy áridas.

Se trata de un género de gran complejidad taxonómica y que plantea grandes problemas de identificación, debido al elevado grado de especiación que presenta. A veces una comarca, una laguna o una playa determinada presenta su propia especie.

La hibridación que en ocasiones se produce entre los propios híbridos y sus progenitores es frecuente.

Las hojas se distribuyen formando una roseta basal, aunque también de forma helicoidal. La mayoría carecen de melosidad.

La inflorescencia, presenta ramas floríferas o estériles. La cantidad, longitud y disposición de estas últimas, en caso de que las haya, tiene gran interés taxonómico.

Las flores de color violáceas y en menores medidas blancas o rosáceas, las cuales están reunidas en espiguillas formadas por la reunión de dos o más flores. Estas espiguillas están rodeadas de tres brácteas: externa, media e interna. La externa es ancha y triangular con un margen escarioso más o menos ancho. La bráctea interna es mayor y también posee un margen escarioso.

Las espiguillas están reunidas en ramillas o espigas de modo más o menos denso, dando lugar a agrupaciones muy densas o más laxas.

#### **Difusión y hábitat:**

Se distribuye por la zona occidental de la Región Mediterránea. En la Península Ibérica aparece principalmente en la Comunidad Valenciana, Región de Murcia y Almería. También la encontramos en las Islas Baleares.

#### **Ecología:**

Aparece en los pisos termomediterráneo y mesomediterráneo, con un ombroclima semiárido. Suelen encontrarse en hábitats hostiles que otras plantas no pueden soportar como acantilados marítimos, suelos ricos en yeso, lagunas saladas, saladares y en general en suelos fuertemente salinos.

#### **Distribución:**

La mayoría tiene una distribución geográfica reducida, son pocas las de amplia distribución continental. A veces sólo una comarca o un término municipal.

## 6.5 *Arthrocnemum macrostachyum*



### Clasificación científica:

Reino:..... Plantae

División:..Magnoliophyta

Clase:..... Magnoliopsida

Orden:.....Caryophyllales

Familia:....Amaranthaceae

Género:....Arthrocnemum

Especie:....*Arthrocnemum macrostachyum*

**Nombre común:** Alacranera. Almajo. Garbancillo. Sapina. Solicuernos.

**Distribución por provincias:** Alicante, Valencia, Cataluña, Islas Baleares.

**Distribución general:** Mediterránea.

**Época de floración:** Abril - Octubre.

**Formas vitales:** Nanofanerófito.

**Hábitat:** Suelos salinos arcillosos y húmedos. Costas rocosas.

**Categoría IUCN:** Poco preocupante.

### Descripción:

Arbustillo perennifolio, hermafrodita, generalmente erguido, de hasta 1,5 m de altura, muy ramoso. Vive en suelos arcillosos y salinos, puede resistir inundaciones esporádicas.

Hojas opuestas, sésiles y reducidas a pequeñas escamas, formando un anillo hialino que rodea el artejo o segmento en el ápice.

Las ramillas fértiles, herbáceas, nacen opuestas y son articuladas, cilíndricas, verdes y glabras, aparentemente sin hojas. Primer artejo de las ramillas más o menos aplanado y anguloso, los siguientes más o menos cilíndricos. Tiene los tallos carnosos y articulados.

La inflorescencia es una espiga cilíndrica y articulada. Las flores aparecen en cimas trifloras situadas en la base de los artejos o segmentos. La flor central siempre es ligeramente mayor que las laterales; periantio de una sola pieza (en realidad, 4 tépalos soldados de sección circular); anteras amarillas. Al desprenderse las flores dejan una cavidad única, no tabicada por paredes membranosas.

El fruto es un aquenio con una semilla negra verrugosa. Florece desde la primavera hasta el otoño. Fructifica desde la primavera hasta el otoño.

Se puede confundir muy fácilmente con *Sarcocornia fruticosa* con la que convive en muchas zonas húmedas, se reconoce porque hace las inflorescencias sobre las ramas de dos años, quedando escondidas dentro de la mata, al contrario *Arthrocnemum macrostachyum* hace las inflorescencias sobre ramas jóvenes y quedan expuestas en la parte superior de la mata.

#### **Difusión y hábitat:**

Terrenos salados, con abundante humedad, salinas costeras y lechos limosos de río y torrentes del interior.

#### **Ecología:**

Saladares

#### **Distribución:**

Región mediterránea y zonas limítrofes. En el norte de África resulta común, siendo especie dominante en grandes humedales salados, desde el Mediterráneo al Sahara y desde el Atlántico hasta Asia Menor.

## 6.6 *Inula crithmoides*



### Clasificación científica:

**Reino:**.....Plantae

**División:**...Magnoliophyta

**Clase:**.....Magnoliopsida

**Orden:**.....Asterales

**Familia:**....Asteraceae

**Género:**... *Inula*

**Especie:**....*I. crithmoides*

**Nombre común:** Salsona.

**Distribución por provincias:** Comunidad Valenciana, Cataluña, Islas Baleares.

**Distribución general:** Pluriregional.

**Época de floración:** Agosto - Octubre.

**Formas vitales:** Caméfito.

**Hábitat:** Zonas litorales de suelos salinos.

**Categoría IUCN:** Poco preocupante.

### Descripción:

Caméfito de hasta 100 cm de altura, glabro, raramente glanduloso.

Mata leñosa, con hojas simples y alternas, lineares, carnosas, de margen entero.

Inflorescencias en capítulos solitarios o formando corimbos o panículas, hemisféricos. Brácteas dispuestas en varias filas, imbricadas, formando un involucre,

lineares. Receptáculo aplanado sin escamas. Las flores son amarillas, las externas con una lígula corta pero que sobrepasa el involucre, femeninas; las internas son tubulares, hermafroditas.

El fruto es un aquenio de 2 – 3 mm, anguloso no contraído bruscamente en el ápice y con un vilano formado por los pelos libres y simples en la base.

Arbusto hasta 1 m de altura, con tallo leñoso y un poco tortuoso en la base, luego muy erguidos y cada vez menos leñosos para hacerse herbáceos, propio de las marismas y costas rocosas.

Se caracteriza por tener hojas carnosas, de contorno lineal, a menudo con el ápice con dos o tres dientes. Forma capítulos amarillos durante el verano y otoño, cuando está en flor es inconfundible. Sin estar en flor también es fácil de identificar por la forma de las hojas, no hay ningún otro arbusto parecido en las zonas húmedas.

#### **Difusión y hábitat:**

Vive en suelos salitrosos de la costa y el interior. Es abundante en acantilados, limos salobres de marismas y cubetas endorreicas, desde el nivel del mar hasta los 450 m. Aparece en suelos salobres en mayor o menor grado y que son de humedad variable.

#### **Ecología:**

No soporta la sombra y requiere calor, por lo que el piso es colino principalmente no soportando heladas tardías ni temperaturas extremas. El suelo ha de estar encharcado débilmente ácido y ricos en nitrógeno.

#### **Distribución:**

Muy repartida por el área mediterránea, norte de África y el Sahara septentrional.

## 7. Climatología

Datos obtenidos del Centro de Investigaciones Fitosociológicas, cuyo presidente es Salvador Rivas-Martínez (Catedrático de la Universidad Complutense de Madrid).

**Tabla climatica:**

ESP ALICANTE ( ELCHE )								Altitude: 86 m.
(C°/mm)		Ti	Mi	mi	M'i	m'i	Pi	PEi
Jan	11.2	15.5	7.0	21.3	2.6	21.0	21.5	
Feb	12.0	16.9	7.1	23.2	2.0	25.0	24.3	
Mar	14.7	19.9	9.6	26.6	4.4	14.0	44.2	
Apr	16.4	21.6	11.2	28.0	6.9	30.0	58.3	
May	19.9	25.3	14.4	31.4	9.9	24.0	95.0	
Jun	22.9	28.4	17.4	33.5	12.9	21.0	125.8	
Jul	25.8	31.1	20.4	36.9	16.5	3.0	159.8	
Aug	26.6	32.1	21.1	36.3	17.3	6.0	159.5	
Sep	23.8	28.7	18.9	33.8	14.6	27.0	113.7	
Oct	19.5	24.0	15.0	29.5	10.4	57.0	71.3	
Nov	15.0	19.2	10.7	24.2	6.0	26.0	37.5	
Dec	12.0	16.1	8.0	21.4	3.4	32.0	24.0	
Year	18.3	23.2	13.4	28.8	8.9	286.0	934.7	

**Legenda:**

T<sup>a</sup>: Temperatura media.

Mi: Media de las máximas.

Mi: Media de las mínimas.

M'i: Media de las máximas absolutas.

m': Media de las mínimas absolutas.

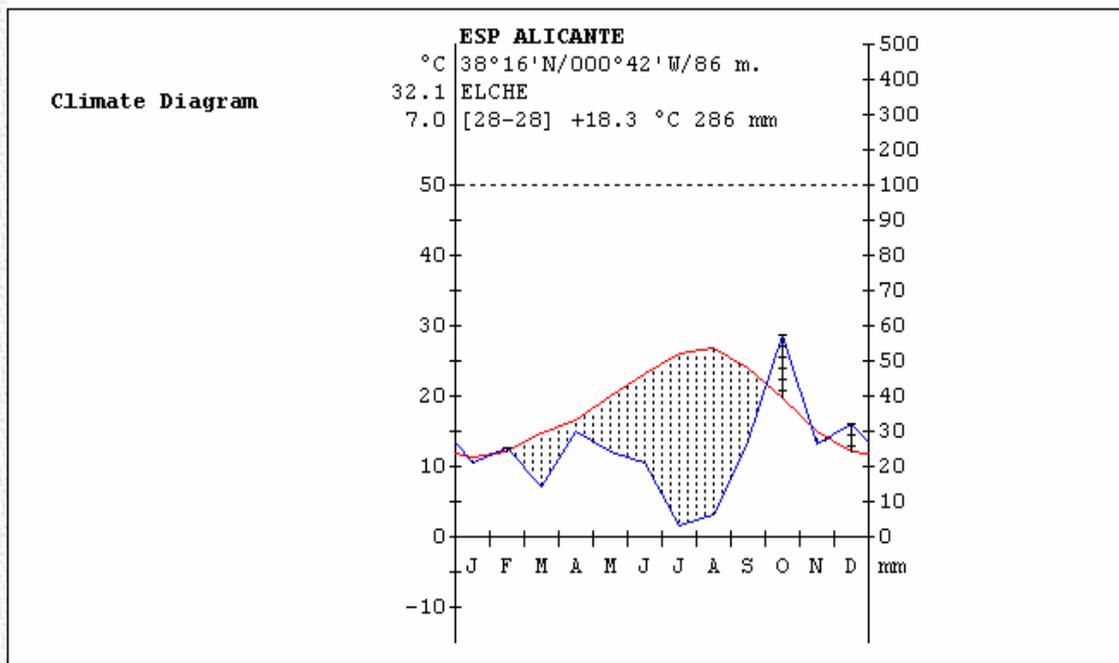
Pi: Precipitaciones medias

**Tabla de datos hidricos:**

WATER INDEX CARD ESP ALICANTE ( ELCHE )										
Altitude: 86 m.					Latitude: 38°16'N					
(C°/mm)	T	PE	P	VR	R	RE	DF	SP	DR	HC
Jan	11.2	21	21	0	8	21	0	0	0	-0.0
Feb	12.0	24	25	1	8	24	0	0	0	0.0
Mar	14.7	44	14	-8	0	22	22	0	0	-0.7
Apr	16.4	58	30	0	0	30	28	0	0	-0.5
May	19.9	95	24	0	0	24	71	0	0	-0.7
Jun	22.9	126	21	0	0	21	105	0	0	-0.8
Jul	25.8	160	3	0	0	3	157	0	0	-1.0
Aug	26.6	159	6	0	0	6	153	0	0	-1.0
Sep	23.8	114	27	0	0	27	87	0	0	-0.8
Oct	19.5	71	57	0	0	57	14	0	0	-0.2
Nov	15.0	37	26	0	0	26	11	0	0	-0.3
Dec	12.0	24	32	8	8	24	0	0	0	0.3
Year	18.3	935	286	*	*	286	649	0	0	0.0

*T = Average temperature*      *VR = Variation of the reserve*      *DF = Deficit*      *HC = Humidity coefficient*  
*PE = Potential evapotranspiration*      *R = Reserve*      *SP = Superavit*  
*P = Precipitation*      *RE = Real evapotranspiration*      *DR = Drainage*

**Diagrama bioclimatico:**



**Legenda:**

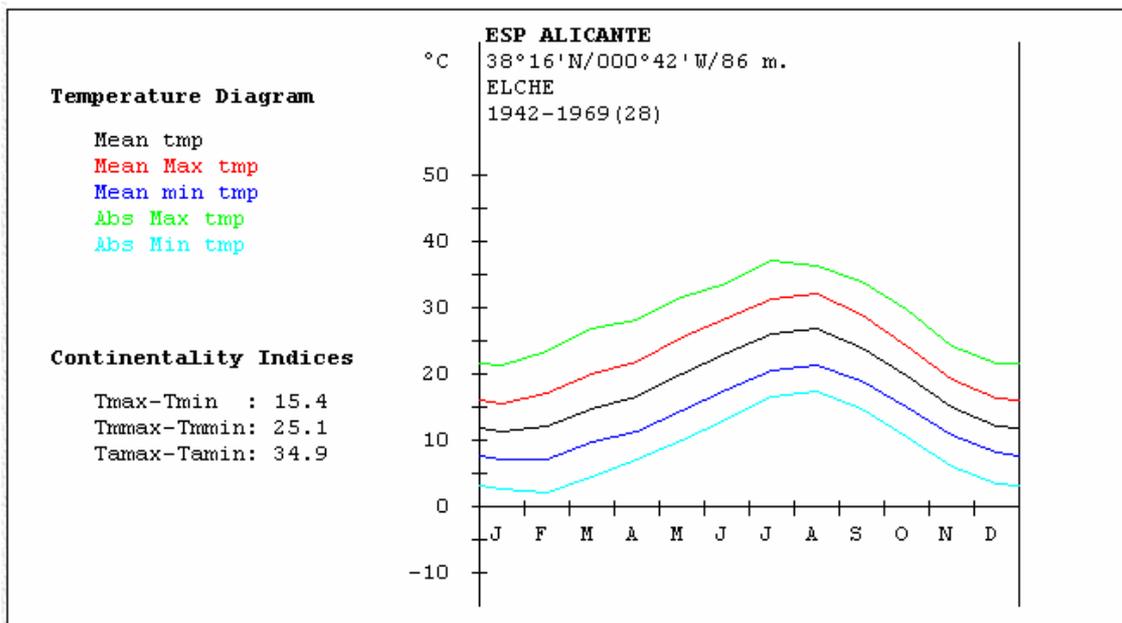
Línea roja: Curva de la Tª. Media mensual.

Línea azul: Curva de la Precipitación. Media mensual.

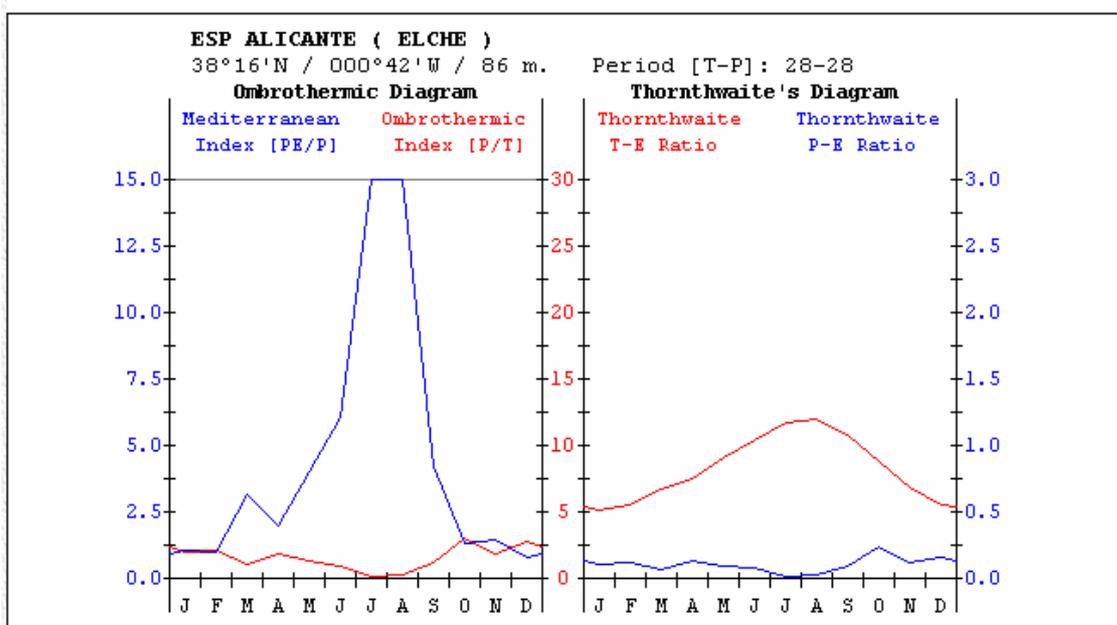
Puntitos: Periodo seco.

Líneas entrecortadas: Periodo húmedo.

**Diagrama de temperaturas:**



## Diagrama ombrotermico:



Evapotranspiración de referencia y Precipitación mensual (Fuente: SERVICIO DE TECNOLOGIA DEL RIEGO).

2010

(mm)	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Agos	Sept	Oct	Nov	Dic
ETo	----	44	65	97	133	145	161	171	130	86	55	33
P	----	20	32	20	36	25	3	16	19	20	40	20

### Leyenda:

**ETo:** Evapotranspiración

**P:** Precipitación

### Comparativa:

Evapotranspiración cuatrimestral:				
Mar	Abri	May	Jun	Suma
65mm	97mm	133mm	145mm	440mm
Jul	Agos	Sept	Oct	Suma
161mm	171mm	130mm	86mm	548mm
Precipitación cuatrimestral:				
Mar	Abri	May	Jun	Suma
32	20	36	25	113
Jul	Agos	Sept	Oct	Suma
3	16	19	20	58

### Tablas climáticas:

Estación	Alt	Nªaños	T	M	m	lt	D1h	P	Pv	Im3	Horiz
Elche	86	24	18.3	15.5	7	408	333	286	30	8.3	Termomedit

(Fuente: Rivas-Martínez).

## **8. Métodos y plan de trabajo**

## 8.1 Introducción

La delimitación de las parcelas experimentales y de los puntos de control y áreas de muestreo se han decidido teniendo en cuenta, entre otros factores, la vegetación existente y la presencia de suficientes individuos de las especies de interés seleccionadas para los análisis bioquímicos y enzimáticos.

El proyecto se desarrollará en una zona sometida a estrés salino y por esto se han elegido las parcelas en función de un gradiente en salinidad.

En cuanto a la toma de muestras, el número de especies que seleccionaremos para realizar la determinación de distintos marcadores bioquímicos y enzimáticos será limitado, dado el gran número de ensayos a realizar, con un número elevado de muestras.

La selección de las especies ha sido que por cada parcela de estudio, se elijan no más de 6 táxones. En lo posible se incluirán taxones representados en las cuatro parcelas.

Los taxones elegidos serán: *Juncus maritimus*, *Juncus acutus*, *Limonium* sp. pl. , *Sarcocornia fruticosa*, *Arthrocnemum macrostachyum*, e *Inula crithmoides.*, teniendo en cuenta la presencia de suficientes ejemplares en las parcelas de muestreo.

La identificación de las especies vegetales en campo se realiza siguiendo la clave de especies de Mateo & Crespo (2001) "Manual para la identificación de la flora valenciana." (2ª edición).

De cada uno de dichos táxones se tomarán muestras, en cada área, de tres a cinco individuos para realizar un mínimo tratamiento estadístico de los datos de los ensayos bioquímicos (determinación de distintos metabolitos).

En las muestras de material vegetal recolectadas, se realizarán medidas de la Prolina, determinándose por el método clásico de Bates et al. (1973).

En cada parcela de muestreo se tomarán tres muestras compuestas de suelo de unos 15 cm superficiales. Los muestreos se realizarán en verano y otoño del 2010 del año del proyecto y serán analizadas por los edafólogos implicados en el proyecto de investigación

## **8.2 Trabajo de campo**

### **Toma de muestras:**

El equipo de investigación realiza el diseño de la toma de muestras a partir de datos bioquímicos, edafológicos y botánicos, en relación con los objetivos principales del estudio.

Se toma las muestras con un mínimo de materia pero representativa para el análisis en el laboratorio.

Se seguirá los procedimientos de recogida de muestras anteriores a este estudio para permitir correlaciones.

Teniendo en cuenta los objetivos del estudio, la toma de muestras se realiza de forma selectiva o dirigida, basada en criterios no probabilísticos. Por tanto, la elección de los individuos y la recolección de muestras se ejecutan basándose en un juicio previo.

La variabilidad temporal de los datos será a consecuencia de realizar los muestreos en dos estaciones diferentes, una en verano y la otra en otoño. La posibilidad de realizar un muestreo en invierno se descarta debido a la falta o baja existencia de material. Así pues, obtenemos un seguimiento anual de la cuantificación de prolina en diferentes especies vegetales.

La zonificación viene dada por la elección de una zona salina, con cuatro parcelas de estudio separadas y las cuales son representativas de la zona.

En cada una de las cuatro parcelas se realiza el mismo procedimiento. Una vez establecidas las coordenadas UTM de cada parcela, se marca mediante una estaca de referencia para posteriores muestreos. Dicha estaca señala la coordenada de origen (0,0) a partir de la cual, y mediante el uso de jalones y cinta métrica, se crea una parcela de dimensiones 10x10 con las direcciones X e Y establecidas y registradas. Esta cuadrícula tiene como objetivo, la obtención de datos edafológicos mediante sondas y la ubicación del material vegetal para posteriores recogidas. Dicho trabajo ya fue realizado por el equipo del proyecto global, por lo que las muestras recogidas y estudiadas en este proyecto es la continuación del global.

La parcela 1 es la mas alejada de las otras sitúa en el borde de un viejo río, el cual suele ir vacío, y es, por tanto, la de menor contenido en sales. La parcela 2 y 3 se

hallan muy próximas y son las que se encuentran en una pequeña precipitación del terreno, y la parcela 4 se encuentra de forma intermedia entre las restantes parcelas.

Los diferentes contenidos en sales se realizan a través de los datos obtenidos con un conductímetro de campo. Como resultado, diferenciamos la parcela 1 con salinidad baja, la parcela 2 con salinidad media y las parcela 3 y 4 con salinidad alta.

#### Recogida de material vegetal:

Se procede a la recogida del material vegetal previamente identificado como especies de interés para el estudio. En los casos en que la existencia de individuos y el volumen de su masa lo permitan, se recogen muestras de entre 5 y 50 gramos de cinco individuos de la misma especie, eligiendo siempre los tallos y las hojas verdes que presenten un estado óptimo. Cuando el volumen de la planta no permite recoger un mínimo de 5 gramos sin producir daños importantes, se recogerá varios individuos de una misma especie y se mezclarán.

Es de vital importancia recolectar en cantidades suficientes para el análisis, pero siempre sin producir daños irreversibles en los individuos, ya que estos deben llegar a la siguiente toma de muestras con un nivel de estrés natural, no inducido por el muestreo y por la propia conservación de la zona para el disfrute y posibles estudios posteriores. Una vez recolectado el material, se señala cada individuo con un alambre de color y se registra su ubicación en la parcela para facilitar posteriores muestreos.

El transporte de las muestras del campo al laboratorio de análisis, se realiza de forma inmediata tras el muestreo, y mediante neveras que garanticen su estabilidad en condiciones de altas temperaturas.

#### Pre tratamiento del material vegetal:

El pre tratamiento del material vegetal en el laboratorio, se realiza de forma continua a la toma de muestras con el fin de evitar posibles alteraciones.

Primero se realiza una selección de tallos y hojas verdes, desechando todo material seco.

La selección se pesa en una balanza de precisión recogiendo los pesos, los cuales serán divididos en dos paquetes. Uno de ellos será el “material fresco”, y el otro, tras pasar por la estufa, constituirá el “material seco”.

Se toma registro de los pesos: peso total, peso del material con destino a la estufa y peso del material fresco.

A continuación, se almacenan los paquetes de “material fresco” en un congelador a -80°C para su conservación hasta el análisis del marcador bioquímicos (Prolina).

Los paquetes de “material destino estufa” se depositan en una estufa de 65°C durante un mínimo de 72 horas, hasta observar que su peso es constante. Tras ello, se pesan de nuevo dejando constancia en el registro de su nuevo peso (peso seco) y se almacenan a temperatura ambiente.

Con los datos obtenidos de peso del material con destino a la estufa y peso seco, de cada muestra, se calcula el porcentaje de materia seca de cada muestra mediante la formula:

$$\% \text{ materia seca} = \left( \frac{\text{peso seco}}{\text{peso destino estufa}} \right) \times 100$$

Los resultados servirán para la comparación de los niveles de prolina entre especies de diferentes contenidos hídricos.

### 8.3 Trabajo de laboratorio

#### Cuantificación de Prolina:

La cuantificación de prolina se ha realizado en las muestras en estado fresco, siguiendo la metodología descrita por Bates et. al (1973) modificada.

##### ○ **Material:**

Micropipetas de 10 ml, 5ml, 1000µl, 200 µl y 20 µl.

Baño.

Centrífuga

Espectofotometro.

Tubos de ensayo de 10 ml.

Tubos Eppendorf de 2ml.

Morteros

Embudos de cristal

Lana de vidrio.

Balanza de precisión.

Vortex.

Nitrógeno líquido.

Hielo

##### ○ **Reactivos de derivación:**

Ácido 5-sulfosalicílico (Sigma, CAS 5965-83-3)

L-prolina (Sigma, CAS 147-85-3)

Ácido orto-fosfórico 85% (Panreac, CAS 66-64-38-2)

Tolueno (CAS Panreac, 108-88-3)

Ácido acético glacial (Panreac, CAS 64-19-7)

Ninhidrina (Sigma, CAS 485-47-2)

##### ○ **Preparación de los reactivos**

- El Tolueno y el Ácido acético glacial (AAG), con compuestos ya preparados.

- Ácido ortofosforico 6M: Se echa 24 ml de Ac. Ortof. 15M (85%) con 36 ml de agua destilada para conseguir 60 ml de Ac.ortof 6M.

- Prolina 2mM: Se pesa 0,575 gr de L-prolina 1M y se mezcla con 50 ml de agua destilada para coseguir 100mM. De estos 100mM de prolina se coge un 1ml y se mezcla con 9 ml de agua destilada para conseguir 10 ml de prolina

10mM. De estos 10mM de prolina se coge 2ml y se mezcla con 8 ml de agua destilada para conseguir 10ml de prolina 2mM, que es la disolución deseada para realizar el método.

- Ácido sulfosalicílico 3%: Se mezcla 3gr de Ácido 5-sulfosalicílico y se enrasa a 100ml con agua destilada.
- **Compuesto:** Se diluye la Ninhidrina en Ácido acético glacial calentando en el baño a 60°C y agitando en el vortex hasta su completa disolución. Posteriormente se le añade ácido ortofosforico 6M. Se guarda en nevera a 4°C hasta su uso. Se mantiene estable durante 24 horas, por lo que se ha de preparar cada día que se vaya a realizar el método.

○ **Procedimiento experimental:**

- Primero se prepara el acido-ninhidrina.
- En segundo lugar se rellena los 7 tubos de ensayo de 10 ml, para realizar la curva patrón, los cuales contendrán las cantidades reflejadas en la siguiente tabla, una vez que ya contienen la prolina 2mM y el Ac.sulfosalicilico se les añade 1ml de Ac. Ninhidrina y 1ml de Ac. Acetico glacial. Se tapan, se agitan en el vortex y se reservan.
- Curva estándar de prolina en 7 tubos de ensayo de 10 ml se vierten:

Nº tubo	Prol.2mM (ml)	Ac.sulfosalicilico (ml)
1	0	1000
2	5	995
3	12,5	987.5
4	25	975
5	37,5	962.5
6	50	950
7	75	925

- En tercer lugar se procede a la extracción de la prolina en las especies a estudiar, de modo que lo primero que se hace es pesar 0,25g

aproximadamente de tejido foliar en la balanza analítica, recogiendo el peso para cálculos posteriores.

- La muestra se tritura en un mortero y con la ayuda de nitrógeno líquido se consigue una pulverización del material. A este se le introduce 2ml de ac. sulfosalicílico 3% alternos para conseguir una buena homogenización del material. Seguidamente se vierte el contenido del mortero en un eppendorf de 2ml y cuando se tiene todas las muestras se introducen en la centrifugadora a 133,5 rpm a 25 °C durante 15 minutos.
- Transcurrido el tiempo se filtra el material por un embudo con lana de vidrio a un tubo de plástico, asegurándose de obtener 1 ml de extracto. A este tubo se le ha añadir 1ml de ninhidrina y otro de ac. acético glacial, y una vez preparada la mezcla se agita y se introduce con una gradilla todas las muestras al baño durante 1 hora a 100 °C.
- Trascurrido el tiempo se detiene la reacción depositando los tubos en hielo durante 10 minutos.
- Verter a cada tubo 2 ml de tolueno y agitar en vortex durante 20 segundos, una vez parada la reacción.
- El derivado de la ninhidrina se extrae con tolueno aspirandose 1 ml de la fase superior, y se analiza por absorbancia en el espectofotometro a 520 nm. Usar para el calibrado el cero de prolina (tubo numero 1).

## 8.4 Cálculos

En el anexo I del apartado (Tablas), la última columna es el porcentaje de materia seca que interesa saber para la realización de los datos para el cálculo de la cantidad de prolina.

En el anexo II, a través de la aplicación de Excel y con los datos obtenidos de las muestras en el espectrofotómetro se calcula la ecuación de la recta de regresión, con su representación gráfica.

Con la ecuación obtenida se separa (X) que es la que representa la concentración de prolina, y sustituyendo (Y) con los valores obtenidos en la absorbancia en el espectrofotómetro se consigue la cantidad de prolina de la muestra.

El siguiente paso y cuya cuarta columna representa en la cuadrícula del anexo II, es obtener la cantidad de prolina en micromoles de la muestra de estudio. Dado que hemos extraído la prolina de la muestra en 2 ml de ASS y cogido 1 ml, se ha multiplicado por los dos  $\mu\text{moles/ml}$ .

Al extraer 1 ml de los 2ml donde se recoge la prolina, la cual se encuentra en el tolueno, también se ha de multiplicar por 2, por lo que se ha multiplicado por 4 los  $\mu\text{moles/ml}$  de prolina obtenidos de la curva patrón para obtener los  $\mu\text{moles}$  de prolina que hay en la muestra.

Sin embargo, al utilizar las medidas de  $\mu\text{moles/ml}$  de prolina 10mM, en vez de los  $\mu\text{moles/ml}$  de prolina 2 mM utilizadas en el ensayo, simplificamos los cálculos multiplicando directamente por 2 en vez de multiplicar por 4 y dividir por dos, cuya ecuación queda de esta forma:

$$\mu\text{moles prolina muestra} = \frac{\mu\text{moles}}{\text{ml}} \text{ de prolina muestra} \times 2$$

Dividiendo los  $\mu\text{moles}$  por los gramos de la muestra, se obtiene los  $\mu\text{moles/gr}$  que hay en la especie en peso fresco, con la siguiente fórmula:

$$\mu\text{moles/gr peso fresco} = \frac{\mu\text{moles prolina muestra}}{\text{gramos de la muestra}}$$

Y sabiendo el porcentaje de materia seca y que toda la prolina presente está en el peso seco, los  $\mu\text{moles/gr}$  se dividen por el porcentaje de materia seca y se multiplican por dicho porcentaje, obteniéndose los  $\mu\text{moles/gr}$  de prolina en peso seco presentes en la especie.

El siguiente cálculo es dividir la prolina (micromoles) por el peso de la muestra para obtener la cantidad de prolina de peso fresco por gramo.

Después se divide la cantidad de prolina de peso fresco por gramo por el porcentaje de peso seco partido peso fresco, dato obtenido por los cálculos en el anexo I.

Por último se saca la media de la prolina de peso seco por gramo de la especie en estudio. Con este dato se confecciona las tablas que representarán las diferentes cantidades de prolina existentes en las especies de estudio para sacar unas conclusiones.

## **9. Tablas**

## 9.1 Datos verano

17/07/2010

Lugar Almacen	Zona	Especie	P. total	P.f.a secar	P.s+papel	P.s+papel.estufa	%P.s/P.f
Torre 14-Caja 7	A Z1	Jm1	21,280	10,280	13,077	7,070	54,064
Torre 14-Caja 7	A Z1	Jm2	23,050	13,580	16,582	8,690	52,406
Torre 14-Caja 7	A Z1	Jm3	18,810	10,790	13,217	7,080	53,567
Torre 14-Caja 7	A Z1	Jm4	21,730	10,980	10,047	7,870	78,332
Torre 14-Caja 7	A Z1	Jm5	35,040	14,730	17,262	8,860	51,327
Torre 14-Caja 7	A Z1	Ja1	36,680	18,555	21,750	11,350	52,184
Torre 14-Caja 7	A Z1	Ja2	49,480	27,345	30,630	14,240	46,490
Torre 14-Caja 7	A Z1	Ja3	44,370	24,518	29,140	14,490	49,725
Torre 14-Caja 7	A Z1	Ja4	62,390	33,719	37,190	17,640	47,432
Torre 14-Caja 7	A Z1	Ja5	45,410	23,605	28,170	14,330	50,870
Torre 14-Caja 8	A Z1	Lml1	31,420	15,410	19,300	7,740	40,104
Torre 14-Caja 8	A Z1	Lml2	38,720	16,480	19,700	7,560	38,376
Torre 14-Caja 8	A Z1	Lml3	19,600	7,690	11,660	6,040	51,801
Torre 14-Caja 8	A Z1	LmlI1	22,850	11,070	13,300	4,540	34,135
Torre 14-Caja 8	A Z1	LmlI2	25,850	11,190	14,790	6,560	44,354
Torre 14-Caja 8	A Z1	LmlI3	26,310	14,080	17,550	7,500	42,735
Torre 14-Caja 8	A Z1	LmlI4	41,700	17,700	21,350	8,320	38,970
Torre 14-Caja 8	A Z1	LmlI5	43,820	18,410	21,570	8,460	39,221
Torre 14-Caja 8	A Z1	LmlI6	27,200	14,460	18,430	7,930	43,028
Torre 14-Caja 8	A Z1	LmlI7	32,470	12,730	15,400	5,650	36,688
Torre 17-Caja 1	A Z1	Sf1	31,690	15,320	15,800	8,230	52,089
Torre 17-Caja 1	A Z1	Sf2	35,110	16,100	16,720	6,320	37,799
Torre 17-Caja 1	A Z1	Sf3	34,115	17,750	17,380	6,550	37,687
Torre 17-Caja 1	A Z1	Sf4	43,230	22,020	18,020	7,610	42,231
Torre 17-Caja 1	A Z1	Sf5	41,630	20,510	21,111	5,920	28,042
Torre 17-Caja 3	A Z2	Sf1	59,200	27,770	30,030	6,340	21,112
Torre 17-Caja 3	A Z2	Sf2	60,080	33,570	35,890	6,870	19,142
Torre 17-Caja 3	A Z2	Sf3	60,420	27,520	29,520	6,470	21,917
Torre 17-Caja 3	A Z2	Sf4	59,750	27,270	29,480	6,400	21,710
Torre 17-Caja 3	A Z2	Sf5	60,620	27,020	29,240	5,900	20,178
Torre 17-Caja 3	A Z2	Am1	59,110	29,340	31,120	7,280	23,393
Torre 17-Caja 3	A Z2	Am2	63,850	32,280	34,280	7,500	21,879
Torre 17-Caja 3	A Z2	Am3	55,300	25,450	27,280	6,530	23,937
Torre 17-Caja 3	A Z2	Am4	53,220	23,320	25,290	5,950	23,527
Torre 17-Caja 3	A Z2	Am5	70,200	32,930	35,040	8,360	23,858
Torre 17-Caja 4	A Z2	Jm1	24,930	12,650	14,620	7,970	54,514
Torre 17-Caja 4	A Z2	Jm2	27,360	12,080	14,120	7,120	50,425

Torre 17-Caja 4	A Z2	Jm3	28,370	18,070	20,320	10,220	50,295
Torre 17-Caja 4	A Z2	Jm4	25,440	12,980	15,190	7,690	50,625
Torre 17-Caja 4	A Z2	Jm5	24,150	13,200	15,610	8,000	51,249
Torre 17-Caja 6	A Z2	Ic	65,230	30,980	33,560	6,090	18,147
Torre 17-Caja 5	A Z3	Jm1	24,930	12,650	14,620	7,970	54,514
Torre 17-Caja 5	A Z3	Jm2	27,360	12,080	14,120	7,120	50,425
Torre 17-Caja 5	A Z3	Jm3	28,370	18,070	20,320	10,220	50,295
Torre 17-Caja 5	A Z3	Jm4	25,440	12,980	15,190	7,690	50,625
Torre 17-Caja 5	A Z3	Jm5	24,150	13,200	15,610	8,000	51,249
Torre 17-Caja 5	A Z3	Am1	80,910	36,900	39,360	8,360	21,240
Torre 17-Caja 5	A Z3	Am2	58,140	24,360	26,900	6,130	22,788
Torre 17-Caja 5	A Z3	Am3	65,790	32,100	34,560	7,400	21,412
Torre 17-Caja 5	A Z3	Am4	66,280	33,280	35,790	8,190	22,883
Torre 17-Caja 5	A Z3	Am5	114,930	54,410	57,050	11,680	20,473
Torre 17-Caja 5	A Z3	Sf1	68,810	33,340	36,080	7,580	21,009
Torre 17-Caja 5	A Z3	Sf2	66,930	33,610	36,410	7,350	20,187
Torre 17-Caja 5	A Z3	Sf3	77,060	34,860	37,500	6,930	18,480
Torre 17-Caja 5	A Z3	Sf4	61,200	25,770	28,720	6,280	21,866
Torre 17-Caja 5	A Z3	Sf5	66,520	28,140	31,060	7,550	24,308
Torre 17-Caja 5	A Z3	Lm1	12,630	5,050	6,880	3,160	45,930
Torre 17-Caja 5	A Z3	Lm2	18,280	7,760	9,430	3,630	38,494
Torre 17-Caja 5	A Z3	Lm3	9,600	4,490	6,250	3,290	52,640
Torre 17-Caja 5	A Z3	Lm4	16,010	8,300	10,940	4,700	42,962
Torre 17-Caja 5	A Z3	Lm5	15,760	8,780	11,530	4,710	40,850
Torre 17-Caja 6	A Z3	Ic	56,010	21,360	24,080	5,600	23,256
Torre 17-Caja 1	A Z4	Ja1	37,380	19,720	23,210	12,800	55,149
Torre 17-Caja 1	A Z4	Ja2	38,920	20,410	24,450	13,220	54,070
Torre 17-Caja 1	A Z4	Ja3	52,230	24,450	28,360	15,050	53,068
Torre 17-Caja 1	A Z4	Ja4	58,050	31,460	35,450	19,450	54,866
Torre 17-Caja 1	A Z4	Ja5	54,090	29,520	32,690	17,100	52,310
Torre 17-Caja 1	A Z4	Lm1	14,540	7,050	9,500	5,010	52,737
Torre 17-Caja 1	A Z4	Lm2	13,450	7,910	11,590	6,100	52,632
Torre 17-Caja 1	A Z4	Lm3	19,090	8,030	11,200	5,740	51,250
Torre 17-Caja 1	A Z4	Lm4	17,150	7,680	11,150	5,960	53,453
Torre 17-Caja 1	A Z4	Lm5	19,790	9,460	10,500	5,560	52,952
Torre 17-Caja 2	A Z4	Sf1	48,230	19,350	21,530	5,540	25,732
Torre 17-Caja 2	A Z4	Sf2	30,550	13,570	15,930	5,620	35,279
Torre 17-Caja 2	A Z4	Sf3	42,300	19,980	22,290	6,110	27,411
Torre 17-Caja 2	A Z4	Sf4	35,520	15,430	17,630	7,660	43,449

Torre 17-Caja 2	A Z4	Sf5	30,320	12,730	14,970	4,980	33,267
Torre 17-Caja 2	A Z4	Am1	55,090	24,340	27,040	7,410	27,404
Torre 17-Caja 2	A Z4	Am2	69,590	28,760	31,170	8,340	26,756
Torre 17-Caja 2	A Z4	Am3	59,980	31,290	32,400	8,800	27,160
Torre 17-Caja 2	A Z4	Am4	60,740	26,310	28,660	7,850	27,390

**Tabla 1. Pesos recogidos de las muestras de estudio en el periodo de verano con los porcentajes de Ps/ Pf para el calculo de la concentración de prolina.**

**Leyendas:**

**Lugar:** Representa el lugar de almacenamiento del material vegetal en el congelador.

**Zona:** Zona de estudio de donde ha sido extraído el material.

**Especie:** Abreviatura del nombre de la especie.

**P. total:** Peso total de la muestra.

**P.f. a secar:** Peso fresco a secar de la muestra en la estufa.

**P.s+papel:** Peso fresco a secar de la muestra en la estufa con el papel como recipiente.

**P.s+papel estufa:** peso seco como resultado de la seca.

**%P.s/P.f:** ((P.s+papel estufa) dividido por (P.s+papel)) por 100.

**T:** Torre; **C:** Caja; **Z:** Zona; **A:** Alicante; **P:** Peso

**Ja:** Juncus acutus; **Lm:** Limoniuml; **Sf:** Sarcocornia fructicosa; **Am:** Arthrocremum macros; **Ic:** Inula crithmoides; **Jm:** Juncus maritimus.

## 9.2 Cálculos verano

### Alicante-Verano

#### Ecuación 1:

Nº.tubos	Prolina (µmoles/ml)	Abs (520nm)
1	0,000	0,000
2	0,010	0,062
3	0,025	0,140
4	0,050	0,280
5	0,075	0,440
6	0,100	0,630
7	0,150	0,960

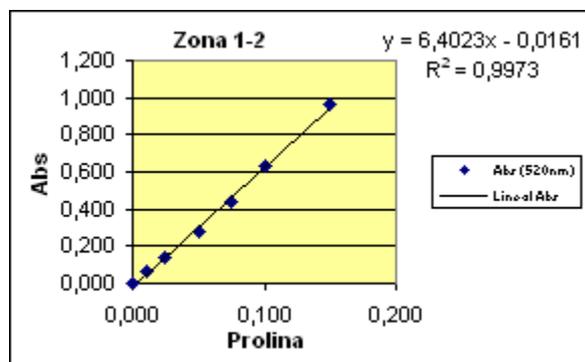


Fig 1. Ecuación de la recta de regresión de la zonas 1 y parte de la 2ª zona en el periodo de verano.

Zona1									
M	Abs	Prol	Prol. esp	P. m	ProlPf/gr	%P.s/P.f	Prol Ps/gr	M	D
Jm1	0,500	0,0806	0,1612	0,2550	0,6322	54,0644	1,1694	1,0359	0,3748
Jm2	0,250	0,0416	0,0831	0,2540	0,3273	52,4062	0,6245		
Jm3	0,550	0,0884	0,1768	0,2580	0,6854	53,5674	1,2796		
Jm4	0,900	0,1431	0,2862	0,2520	1,1356	78,3318	1,4498		
Jm5	0,260	0,0431	0,0863	0,2560	0,3369	51,3266	0,6564		
Ja1	0,360	0,0587	0,1175	0,2530	0,4644	52,1839	0,8899	1,1044	0,4135
Ja2	0,680	0,1087	0,2175	0,2590	0,8396	46,4904	1,8059		
Ja3	0,410	0,0666	0,1331	0,2580	0,5159	49,7255	1,0375		
Ja4	0,390	0,0634	0,1269	0,2530	0,5014	47,4321	1,0571		
Ja5	0,290	0,0478	0,0956	0,2570	0,3721	50,8697	0,7314		
LimI 1	0,490	0,0790	0,1581	0,2510	0,6299	40,1036	1,5706	0,8212	0,3928
LimI 2	0,110	0,0197	0,0394	0,2560	0,1539	38,3756	0,4010		
LimI 3	0,260	0,0431	0,0863	0,2560	0,3369	51,8010	0,6504		
LimII 1	0,320	0,0525	0,1050	0,2540	0,4134	34,1353	1,2109		
LimIII 1	0,400	0,0650	0,1300	0,2550	0,5097	44,3543	1,1493		
LimIII 2	0,130	0,0228	0,0456	0,2500	0,1826	42,7350	0,4272		
LimIII 3	0,150	0,0259	0,0519	0,2500	0,2076	38,9696	0,5326		
LimIII 4	0,170	0,0291	0,0581	0,2500	0,2325	39,2211	0,5929		
LimIII 5	0,210	0,0353	0,0706	0,2520	0,2803	43,0277	0,6514		
LimIV	0,290	0,0478	0,0956	0,2540	0,3765	36,6883	1,0261		
Sf1	0,180	0,0306	0,0613	0,2530	0,2421	52,0886	0,4648	0,6205	0,2312
Sf2	0,200	0,0338	0,0675	0,2570	0,2627	37,7990	0,6949		
Sf3	0,110	0,0197	0,0394	0,2530	0,1557	37,6870	0,4131		

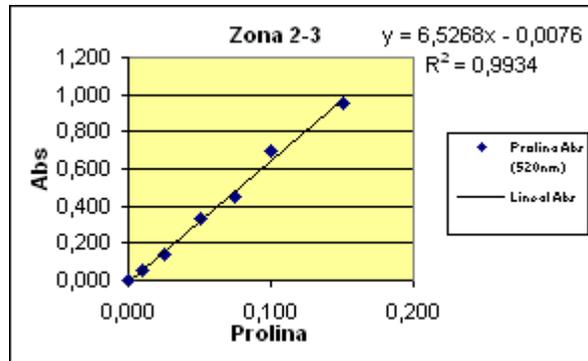
Sf4	0,170	0,0291	0,0581	0,2540	0,2289	42,2309	0,5420
Sf5	0,210	0,0353	0,0706	0,2550	0,2770	28,0423	0,9877

Zona2

M	Abs	Prol	Prol. esp	P. m	ProlPf/gr	%P.s/P.f	Prol Ps/gr	M	D
Jm1	0,620	0,0994	0,1987	0,2530	0,7854	54,5144	1,4407	1,3511	0,4642
Jm2	0,830	0,1322	0,2643	0,2520	1,0489	50,4249	2,0800		
Jm3	0,460	0,0744	0,1487	0,2510	0,5925	50,2953	1,1781		
Jm4	0,320	0,0525	0,1050	0,2520	0,4166	50,6254	0,8230		
Jm5	0,500	0,0806	0,1612	0,2550	0,6322	51,2492	1,2337		

**Ecuación 2:**

Nº.tubos	Prolina	
	(µmoles/ml)	Abs (520nm)
1	0,000	0,000
2	0,010	0,053
3	0,025	0,140
4	0,050	0,330
5	0,075	0,450
6	0,100	0,700
7	0,150	0,950



**Fig 2.** Ecuación de la recta de regresión de parte de la zonas 2 y parte de la 3ª zona en del periodo de verano.

Zona2

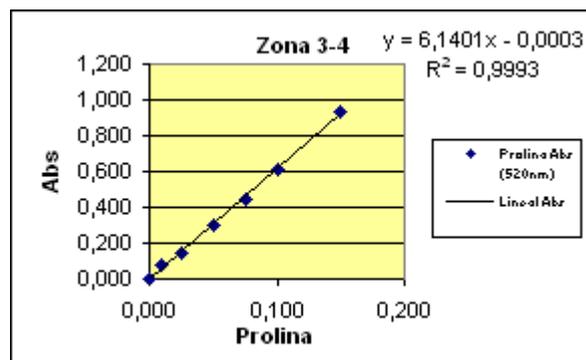
M	Abs	Prol	Prol. esp	P. m	ProlPf/gr	%P.s/P.f	Prol Ps/gr	Prol	
								M	D
Sf1	0,083	0,0139	0,0278	0,2540	0,1093	21,1122	0,5177	0,6936	0,1620
Sf2	0,120	0,0196	0,0391	0,2540	0,1539	19,1418	0,8042		
Sf3	0,140	0,0226	0,0452	0,2257	0,2004	21,9173	0,9143		
Sf4	0,100	0,0165	0,0330	0,2560	0,1288	21,7096	0,5933		
Sf5	0,100	0,0165	0,0330	0,2560	0,1288	20,1778	0,6383		
Am1	0,070	0,0119	0,0238	0,2560	0,0929	23,3933	0,3971	0,3717	0,0663
Am2	0,053	0,0093	0,0186	0,2530	0,0734	21,8786	0,3355		
Am3	0,053	0,0093	0,0186	0,2530	0,0734	23,9370	0,3066		
Am4	0,085	0,0142	0,0284	0,2540	0,1117	23,5271	0,4748		
Am5	0,060	0,0104	0,0207	0,2520	0,0822	23,8584	0,3445		

Zona3

M	Abs	Prol	Prol. esp	P. m	ProlPf/gr	%P.s/P.f	Prol Ps/gr	M	D
Sf1	0,070	0,0119	0,0238	0,2540	0,0936	21,0089	0,4456	0,3650	0,0569
Sf2	0,042	0,0076	0,0152	0,2500	0,0608	20,1868	0,3012		
Sf3	0,050	0,0088	0,0177	0,2530	0,0698	18,4800	0,3775		
Sf4	0,050	0,0088	0,0177	0,2520	0,0700	21,8663	0,3203		
Sf5	0,070	0,0119	0,0238	0,2570	0,0925	24,3078	0,3806		
Am1	0,060	0,0104	0,0207	0,2590	0,0800	21,2398	0,3766	0,3632	0,0954
Am2	0,047	0,0084	0,0167	0,2560	0,0654	22,7881	0,2868		
Am3	0,066	0,0113	0,0226	0,2540	0,0888	21,4120	0,4147		
Am4	0,041	0,0074	0,0149	0,2590	0,0575	22,8835	0,2513		
Am5	0,074	0,0125	0,0250	0,2510	0,0996	20,4733	0,4866		

**Ecuación 3:**

Nº.tubos	Prolina (µmoles/ml)	Abs (520nm)
1	0,000	0,000
2	0,010	0,075
3	0,025	0,150
4	0,050	0,300
5	0,075	0,450
6	0,100	0,610
7	0,150	0,930



**Fig 3.** Ecuación de la recta de regresión de parte de la zona 3 y de la 4ª zona en el periodo de verano.

Zona3

M	Abs	Prol	Prol. esp	P. m	ProlPf/gr	%P.s/P.f	Prol Ps/gr	M	D
Jm1	0,310	0,0505	0,1011	0,2510	0,4027	54,5144	0,7387	1,3448	0,8584
Jm2	0,790	0,1287	0,2574	0,2560	1,0056	50,4249	1,9942		
Jm3	0,980	0,1597	0,3193	0,2510	1,2722	50,2953	2,5294		
Jm4	0,300	0,0489	0,0978	0,2570	0,3806	50,6254	0,7518		
Jm5	0,280	0,0457	0,0913	0,2510	0,3638	51,2492	0,7098		
Lim1	0,460	0,0750	0,1499	0,2500	0,5997	45,9302	1,3057	1,0583	0,4201
Lim2	0,500	0,0815	0,1630	0,2550	0,6391	38,4942	1,6602		
Lim3	0,250	0,0408	0,0815	0,2550	0,3197	52,6400	0,6074		
Lim4	0,290	0,0473	0,0946	0,2550	0,3708	42,9616	0,8631		
Lim5	0,270	0,0440	0,0880	0,2520	0,3494	40,8500	0,8553		

In1	0,280	0,0457	0,0913	0,2530	0,3609	23,2558	1,5518	2,2303	1,1385
In2	0,290	0,0473	0,0946	0,2550	0,3708	23,2558	1,5945		
In3	0,640	0,1043	0,2086	0,2530	0,8244	23,2558	3,5448		
Zona4									

M	Abs	Prol	Prol. esp	P. m	ProlPf/gr	%P.s/P.f	Prol Ps/gr	M	D
Ja1	0,610	0,0994	0,1988	0,2570	0,7735	55,1486	1,4026	1,1098	0,3216
Ja2	0,280	0,0457	0,0913	0,2500	0,3652	54,0695	0,6754		
Ja3	0,350	0,0571	0,1141	0,2500	0,4564	53,0677	0,8601		
Ja4	0,560	0,0913	0,1825	0,2520	0,7242	54,8660	1,3200		
Ja5	0,520	0,0847	0,1695	0,2510	0,6752	52,3096	1,2908		

Lim1	0,280	0,0457	0,0913	0,2510	0,3638	52,7368	0,6897	0,7009	0,2818
Lim2	0,190	0,0310	0,0620	0,2550	0,2431	52,6316	0,4619		
Lim3	0,180	0,0294	0,0587	0,2530	0,2321	51,2500	0,4529		
Lim4	0,310	0,0505	0,1011	0,2500	0,4043	53,4530	0,7564		
Lim5	0,470	0,0766	0,1532	0,2530	0,6055	52,9500	1,1435		

Sf1	0,078	0,0128	0,0255	0,2580	0,0989	25,7315	0,3842	0,4305	0,1061
Sf2	0,110	0,0180	0,0359	0,2540	0,1414	35,2793	0,4009		
Sf3	0,130	0,0212	0,0424	0,2540	0,1671	27,4114	0,6096		
Sf4	0,110	0,0180	0,0359	0,2500	0,1437	43,4487	0,3308		
Sf5	0,110	0,0180	0,0359	0,2530	0,1420	33,2665	0,4269		

Am1	0,100	0,0163	0,0327	0,2510	0,1302	27,4038	0,4750	0,4888	0,1210
Am2	0,090	0,0147	0,0294	0,2550	0,1153	26,7565	0,4311		
Am3	0,081	0,0132	0,0265	0,2520	0,1051	27,1605	0,3869		
Am4	0,140	0,0228	0,0457	0,2520	0,1813	27,3901	0,6621		

**Tabla 2:** Cálculos para la obtención del contenido medio de prolina de las especies en las diferentes zonas de estudio en el periodo de verano.

**Leyenda:**

**m:** muestra.

**Abs:** Absorbancia.

**Prol:** Prolina (micromol/ml).

**Prol. esp:** Prolina (micromol/ml) en la especie.

**P.m:** Peso muestra.

**Prol Pf/gr:** Prolina en la muestra seca por gramo.

**% Ps/ Pf:** Porcentaje de peso seco de lamuestra por el peso fresco.

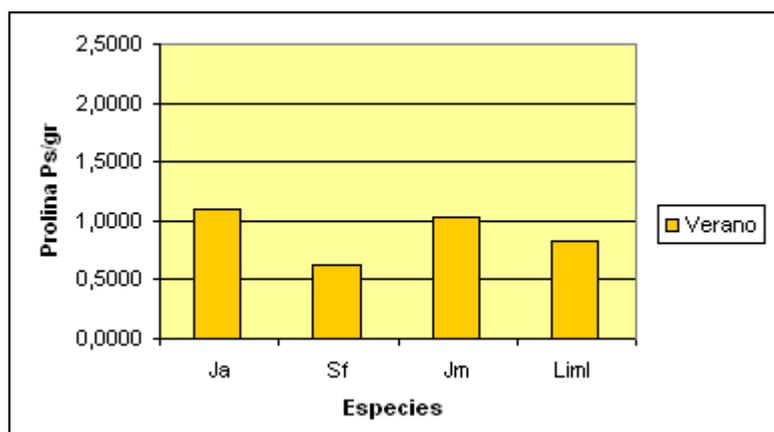
**M:** Media del contenido de la concentración de prolina.

**D:** Desviación de la media.

### 9.3 Prolina verano

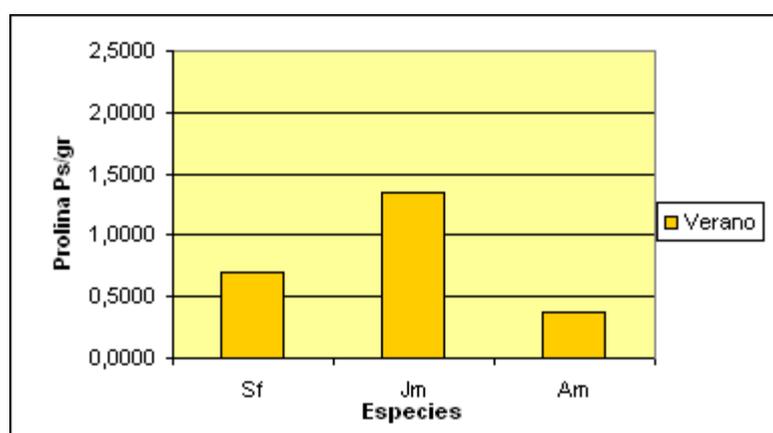
#### Alicante Verano 15/07/2010

ZONA 1	Muestra	Verano
	Ja	1,1044
	Sf	0,6205
	Jm	1,0359
	Liml	0,8212



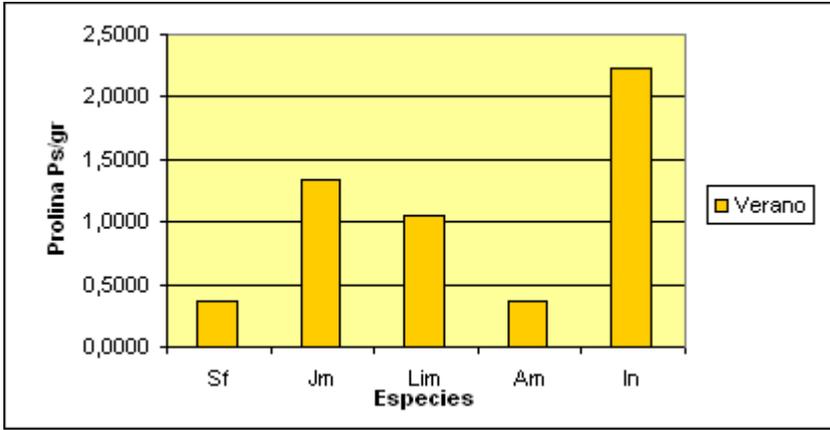
**Fig 4.** Valor medio del contenido de prolina en las especies muestreadas de la zona 1 en el periodo de verano.

ZONA 2	Muestra	Verano
	Sf	0,6936
	Jm	1,3511
	Am	0,3717



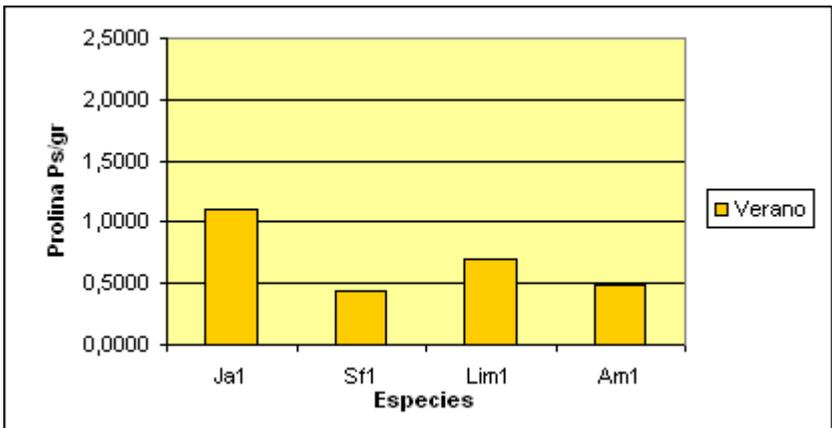
**Fig 5.** Valor medio del contenido de prolina en las especies muestreadas de la zona 2 en el periodo de verano.

ZONA 3	Muestra	Verano
	Sf	0,3650
	Jm	1,3448
	Lim	1,0583
	Am	0,3632
	In	2,2303



**Fig 6.** Valor medio del contenido de prolina en las especies muestreadas de la zona 3 en el periodo de verano.

ZONA 4	Muestra	Verano
	Ja1	1,1098
	Sf1	0,4305
	Lim1	0,7009
	Am1	0,4888



**Fig 7.** Valor medio del contenido de prolina en las especies muestreadas de la zona 4 en el periodo de verano.

## 9.4 Datos otoño

Lugar Almacén	Zona	Especie	P. total	P.f.a			%P.s/P.f
				secar	P.s+papel	P.s+papel.estufa	
Torre 12-Caja3	A Z1	Ja1	67,340	33,420	35,670	14,870	41,688
Torre 12-Caja3	A Z1	Ja2	45,900	23,350	25,360	10,720	42,271
Torre 12-Caja3	A Z1	Ja3	40,320	21,350	23,310	10,320	44,273
Torre 12-Caja3	A Z1	Ja4	32,330	17,720	19,730	8,400	42,575
Torre 12-Caja3	A Z1	Ja5	40,180	20,600	22,810	9,920	43,490
Torre 12-Caja3	A Z1	Sf1	25,450	12,600	14,640	3,810	26,025
Torre 12-Caja3	A Z1	Sf2	60,000	30,100	32,210	6,220	19,311
Torre 12-Caja3	A Z1	Sf3	24,830	12,350	14,340	3,640	25,384
Torre 12-Caja3	A Z1	Sf5	48,720	25,730	27,800	4,780	17,194
Torre 12-Caja4	A Z1	Jm1	35,720	17,900	19,900	9,180	46,131
Torre 12-Caja4	A Z1	Jm2	28,570	15,400	17,600	8,390	47,670
Torre 12-Caja4	A Z1	Jm3	18,980	10,500	12,770	6,520	51,057
Torre 12-Caja4	A Z1	Jm4	31,550	16,360	18,560	8,800	47,414
Torre 12-Caja4	A Z1	Jm5	36,070	18,870	21,080	9,640	45,731
Torre 12-Caja4	A Z1	Lim 1	16,850	9,400	11,620	4,300	37,005
Torre 12-Caja4	A Z1	Lim 2	12,600	8,500	10,400	3,800	36,538
Torre 12-Caja4	A Z2	Am1	37,600	22,600	24,690	7,330	29,688
Torre 12-Caja4	A Z2	Am2	42,670	19,250	21,080	6,080	28,843
Torre 12-Caja4	A Z2	Am3	28,990	15,030	16,890	5,160	30,551
Torre 12-Caja4	A Z2	Am4	29,510	15,950	17,840	5,380	30,157
Torre 12-Caja4	A Z2	Am5	21,310	9,970	11,770	4,040	34,325
Torre 12-Caja4	A Z2	Am6	32,210	16,000	18,000	5,600	31,111
Torre 12-Caja6	A Z2	Sf1	30,050	16,130	17,830	4,150	23,275
Torre 12-Caja6	A Z2	Sf2	51,550	25,900	27,640	5,630	20,369
Torre 12-Caja6	A Z2	Sf3	36,270	16,860	18,670	4,590	24,585
Torre 12-Caja6	A Z2	Sf4	26,720	14,300	15,900	3,980	25,031
Torre 12-Caja6	A Z2	Sf5	23,370	11,700	13,620	3,840	28,194
Torre 12-Caja5	A Z2	Jm1	16,380	9,700	11,330	5,600	49,426
Torre 12-Caja5	A Z2	Jm2+3a	19,650	9,960	11,650	5,650	48,498
Torre 12-Caja5	A Z2	Jm2+3b	19,650	9,960	11,650	5,650	48,498
Torre 12-Caja5	A Z2	Jm4	16,650	8,650	10,620	5,340	50,282
Torre 12-Caja5	A Z2	Jm5	15,300	8,810	11,040	5,690	51,540
Torre 12-Caja5	A Z3	Am1	57,040	27,180	29,220	7,210	24,675
Torre 12-Caja5	A Z3	Am2	53,530	24,300	27,460	6,950	25,310
Torre 12-Caja5	A Z3	Am3	66,410	33,770	35,780	8,900	24,874
Torre 12-Caja5	A Z3	Am4	63,040	31,890	33,900	8,080	23,835
Torre 12-Caja5	A Z3	Am5	65,360	33,250	35,270	8,690	24,639

Torre 12-Caja5	A Z3	Sf1	56,380	27,150	29,360	7,330	24,966
Torre 12-Caja5	A Z3	Sf2	78,950	34,740	36,930	7,600	20,579
Torre 12-Caja5	A Z3	Sf3	60,620	30,500	32,610	7,040	21,588
Torre 12-Caja5	A Z3	Sf4	57,770	27,400	29,590	6,230	21,054
Torre 12-Caja5	A Z3	Sf5	73,130	35,250	37,310	7,230	19,378
Torre 12-Caja6	A Z3	Jm1	36,190	21,500	23,540	10,330	43,883
Torre 12-Caja6	A Z3	Jm2	18,820	9,520	11,580	5,760	49,741
Torre 12-Caja6	A Z3	Jm3	13,700	9,080	11,090	5,590	50,406
Torre 12-Caja6	A Z3	Jm4	15,270	9,280	11,350	5,690	50,132
Torre 12-Caja6	A Z3	Jm5	13,500	7,260	9,340	4,800	51,392
Torre 12-Caja6	A Z3	lc1	19,260	11,320	13,310	3,160	23,742
Torre 12-Caja6	A Z3	lc2	34,180	16,300	18,530	4,030	21,749
Torre 12-Caja6	A Z3	Lim	73,480	33,000	35,160	9,640	27,418
Torre 12-Caja8	A Z4	Sf1	28,200	13,860	15,770	4,530	28,725
Torre 12-Caja8	A Z4	Sf2	28,400	13,660	15,660	4,010	25,607
Torre 12-Caja8	A Z4	Sf3+6a	36,930	18,800	20,640	5,070	24,564
Torre 12-Caja8	A Z4	Sf3+6b	36,930	18,800	20,640	5,070	24,564
Torre 12-Caja8	A Z4	Sf4	27,070	15,160	17,130	5,010	29,247
Torre 12-Caja8	A Z4	Sf5	37,060	18,320	20,040	4,620	23,054
Torre 12-Caja8	A Z4	Am1+3a	27,490	14,000	16,890	4,580	27,117
Torre 12-Caja8	A Z4	Am1+3b	27,490	14,000	16,890	4,580	27,117
Torre 12-Caja8	A Z4	Am2	24,520	12,330	14,370	4,880	33,960
Torre 12-Caja8	A Z4	Am4	34,570	17,770	20,000	5,140	25,700
Torre 12-Caja8	A Z4	Ja1	28,030	14,500	16,480	8,260	50,121
Torre 12-Caja8	A Z4	Ja2	20,300	10,560	12,860	6,910	53,733
Torre 12-Caja8	A Z4	Ja3+4a	28,000	14,470	16,860	8,980	53,262
Torre 12-Caja8	A Z4	Ja3+4b	28,000	14,470	16,860	8,980	53,262
Torre 12-Caja8	A Z4	Ja5	34,930	17,300	19,100	9,540	49,948
Torre 12-Caja8	A Z4	Ja6	20,230	10,450	12,750	6,800	53,333
Torre 12-Caja8	A Z4	Lim	19,300	10,900	12,810	5,420	42,311

**Tabla 3.** Pesos recogidos de las muestras de estudio en el periodo de otoño con los porcentajes de Ps/Pf para el calculo de la concentración de prolina.

**Leyendas:**

**Lugar:** Representa el lugar de almacenamiento del material vegetal en el congelador.

**Zona:** Zona de estudio de donde ha sido extraído el material.

**Especie:** Abreviatura del nombre de la especie.

**P. total:** Peso total de la muestra.

**P.f. a secar:** Peso fresco a secar de la muestra en la estufa.

**P.s+papel:** Peso fresco a secar de la muestra en la estufa con el papel como recipiente.

**P.s+papel estufa:** peso seco como resultado de la seca.

**%P.s/P.f:** ((P.s+papel estufa) dividido por (P.s+papel)) por 100.

**T:** Torre; **C:** Caja; **Z:** Zona; **A:** Alicante; **P:** Peso

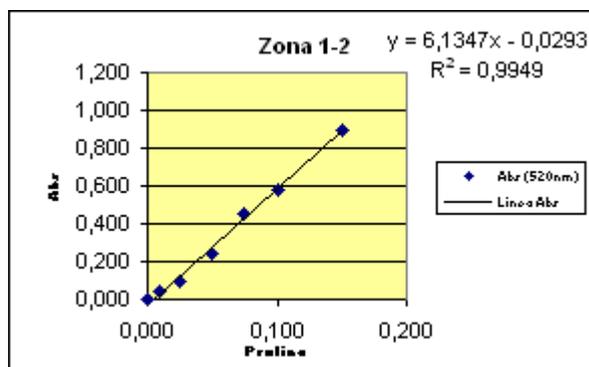
**Ja:** Juncus acutus; **Lm:** Limoniuml; **Sf:** Sarcocornia fructicosa; **Am:** Arthrocremum macros; **Ic:** Inula crithmoides; **Jm:** Juncus maritimus.

## 9.5 Cálculos otoño

### Alicante-Otoño

#### Ecuación 1:

Nº.tubos	Prolina (µmoles/ml)	Abs (520nm)
1	0,000	0,000
2	0,010	0,040
3	0,025	0,100
4	0,050	0,240
5	0,075	0,450
6	0,100	0,580
7	0,150	0,900



**Fig 8.** Ecuación de la recta de regresión de la zona 1 y parte de la 2ª zona en el periodo de otoño

Zona1									
M	Abs	Prol	Prol. esp	P. m	ProlPf/gr	%P.s/P.f	Prol Ps/gr	M	D
Ja1	0,200	0,0374	0,0748	0,2510	0,2978	41,6877	0,7144	0,8684	0,1741
Ja2	0,340	0,0602	0,1204	0,2590	0,4649	42,2713	1,0997		
Ja3	0,230	0,0423	0,0845	0,2560	0,3302	44,2728	0,7459		
Ja4	0,230	0,0423	0,0845	0,2570	0,3289	42,5748	0,7726		
Ja5	0,310	0,0553	0,1106	0,2520	0,4390	43,4897	1,0093		
Sf1	0,023	0,0085	0,0171	0,2540	0,0671	26,0246	0,2579	0,2646	0,0223
Sf2	0,010	0,0064	0,0128	0,2570	0,0499	19,3108	0,2582		
Sf3	0,020	0,0080	0,0161	0,2580	0,0623	25,3835	0,2454		
Sf5	0,010	0,0064	0,0128	0,2510	0,0510	17,1942	0,2969		
Jm1	0,990	0,1662	0,6646	0,2510	2,6479	46,1307	5,7399	5,9206	3,9496
Jm2	0,420	0,0732	0,2930	0,2520	1,1625	47,6705	2,4387		
Jm3	0,960	0,1613	0,6451	0,2540	2,5396	51,0572	4,9740		
Jm4	0,680	0,1156	0,4625	0,2550	1,8137	47,4138	3,8252		
Jm5	0,990	0,1662	1,4954	0,2590	5,7737	45,7306	12,6254		
Lim1-A	0,460	0,0798	0,1595	0,2520	0,6330	37,0052	1,7106	1,3301	0,4618
Lim1-B	0,470	0,0814	0,1628	0,2520	0,6459	37,0052	1,7456		
Lim2-A	0,220	0,0406	0,0813	0,2530	0,3212	36,5385	0,8792		
Lim2-B	0,250	0,0455	0,0911	0,2530	0,3599	36,5385	0,9850		
Zona2									
M	Abs	Prol	Prol. esp	P. m	ProlPf/gr	%P.s/P.f	Prol Ps/gr	M	D
Am1	0,330	0,0586	0,1171	0,2550	0,4594	29,6881	1,5473	1,1803	0,4430
Am2	0,300	0,0537	0,1074	0,2560	0,4194	28,8425	1,4540		
Am3	0,130	0,0260	0,0519	0,2530	0,2053	30,5506	0,6719		
Am4	0,100	0,0211	0,0422	0,2520	0,1673	30,1570	0,5547		

Am5	0,350	0,0618	0,1237	0,2520	0,4907	34,3246	1,4296		
Am6	0,320	0,0569	0,1139	0,2570	0,4431	31,1111	1,4243		
Sf1	0,630	0,1075	0,2149	0,2530	0,8496	23,2754	3,6501	1,6703	1,3048
Sf2	0,100	0,0211	0,0422	0,2530	0,1666	20,3690	0,8180		
Sf3	0,280	0,0504	0,1008	0,2570	0,3924	24,5849	1,5959		
Sf4	0,370	0,0651	0,1302	0,2550	0,5105	25,0314	2,0394		
Sf5	0,025	0,0089	0,0177	0,2530	0,0700	28,1938	0,2482		

### Ecuación 2:

Nº.tubos	Prolina (µmoles/ml)	Abs (520nm)
1	0,000	0,000
2	0,010	0,066
3	0,025	0,130
4	0,050	0,260
5	0,075	0,420
6	0,100	0,580
7	0,150	0,880

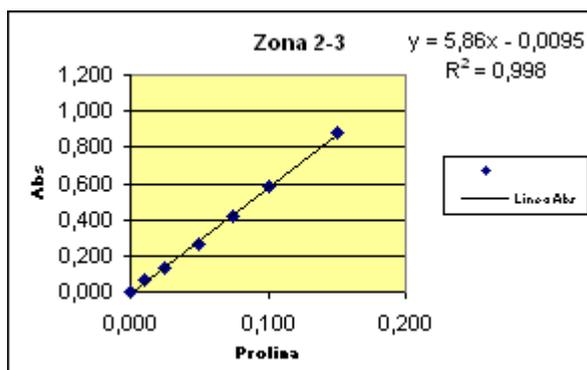


Fig 8. Ecuación de la recta de regresión de la zona 1 y parte de la 2ª zona en el periodo de otoño.

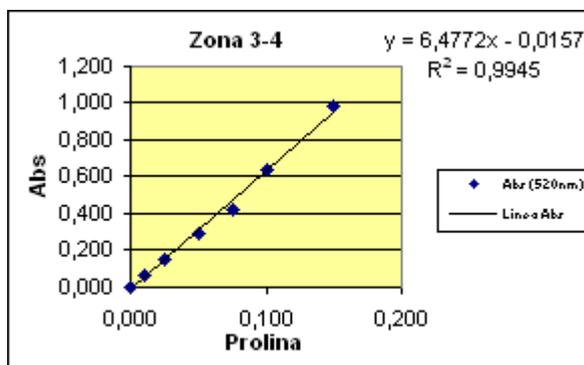
Zona2									
M	Abs	Prol	Prol. esp	P. m	ProlPf/gr	%P.s/P.f	Prol Ps/gr	M	D
Jm1	0,690	0,1194	0,3581	0,2540	1,4099	49,4263	2,8525	1,7276	0,9271
Jm2+3a	0,360	0,0631	0,1261	0,2530	0,4985	48,4979	1,0278		
Jm2+3b	0,730	0,1262	0,2524	0,2580	0,9783	48,4979	2,0171		
Jm4	0,810	0,1398	0,2797	0,2540	1,1012	50,2825	2,1899		
Jm5	0,200	0,0358	0,0715	0,2520	0,2837	51,5399	0,5505		

Zona3									
M	Abs	Prol	Prol. esp	P. m	ProlPf/gr	%P.s/P.f	Prol Ps/gr	M	D
Am1	0,140	0,0255	0,0510	0,2530	0,2017	24,6749	0,8173	1,0027	0,2927
Am2	0,230	0,0409	0,0817	0,2550	0,3206	25,3095	1,2665		
Am3	0,230	0,0409	0,0817	0,2550	0,3206	24,8742	1,2887		
Am4	0,100	0,0187	0,0374	0,2580	0,1449	23,8348	0,6077		
Am5	0,180	0,0323	0,0647	0,2540	0,2546	24,6385	1,0335		
Sf1	0,072	0,0139	0,0278	0,2530	0,1099	24,9659	0,4404	0,6454	0,2268
Sf2	0,120	0,0221	0,0442	0,2570	0,1720	20,5795	0,8357		
Sf3	0,100	0,0187	0,0374	0,2530	0,1477	21,5885	0,6842		
Sf4	0,050	0,0102	0,0203	0,2520	0,0806	21,0544	0,3827		
Sf5	0,120	0,0221	0,0442	0,2580	0,1713	19,3782	0,8840		
Jm1	0,860	0,1484	0,5935	0,2520	2,3552	43,8828	5,3671	3,2930	1,9256
Jm2	0,800	0,1381	0,5526	0,2560	2,1584	49,7409	4,3394		

Jm3	0,480	0,0835	0,2506	0,2540	0,9866	50,4058	1,9573
Jm4	0,760	0,1313	0,5253	0,2530	2,0761	50,1322	4,1413
Jm5	0,240	0,0426	0,0852	0,2510	0,3393	51,3919	0,6601

**Ecuación 3:**

Nº.tubos	Prolina (µmoles/ml)	Abs (520nm)
1	0,000	0,000
2	0,010	0,066
3	0,025	0,150
4	0,050	0,290
5	0,075	0,420
6	0,100	0,640
7	0,150	0,980



**Fig 8.** Ecuación de la recta de regresión de la zona 1 y parte de la 2ª zona en el periodo de otoño

Zona3									
M	Abs	ProL	ProL. esp	P. m	ProIPf/gr	%P.s/P.f	ProL Ps/gr	M	D
Ic1	0,150	0,0256	0,0512	0,2560	0,1999	23,7415	0,8418	0,9243	0,3192
Ic2A	0,100	0,0179	0,0357	0,2510	0,1423	21,7485	0,6544		
Ic2B	0,210	0,0348	0,0697	0,2510	0,2777	21,7485	1,2766		
Lim A	0,930	0,1460	0,8760	0,2540	3,4489	27,4175	12,5793	9,1623	5,9320
Lim B	0,510	0,0812	0,1623	0,2560	0,6341	27,4175	2,3127		
Lim C	0,920	0,1445	0,8668	0,2510	3,4532	27,4175	12,5950		
Zona4									
M	Abs	ProL	ProL. esp	P. m	ProIPf/gr	%P.s/P.f	ProL Ps/gr	M	D
Sf1	0,700	0,1105	0,3315	0,2560	1,2949	28,7254	4,5077	1,4503	1,5213
Sf2	0,190	0,0318	0,0635	0,2540	0,2501	25,6066	0,9765		
Sf3+6a	0,100	0,0179	0,0357	0,2580	0,1385	24,5640	0,5637		
Sf3+6b	0,250	0,0410	0,0820	0,2580	0,3180	24,5640	1,2945		
Sf4	0,140	0,0240	0,0481	0,2520	0,1908	29,2469	0,6523		
Sf5	0,120	0,0210	0,0419	0,2570	0,1630	23,0539	0,7072		
Am1+3a	0,150	0,0256	0,0512	0,2510	0,2038	27,1166	0,7517	0,9563	0,4024
Am1+3b	0,100	0,0179	0,0357	0,2530	0,1412	27,1166	0,5207		
Am2	0,380	0,0611	0,1222	0,2510	0,4868	33,9596	1,4334		
Am4	0,220	0,0364	0,0728	0,2530	0,2877	25,7000	1,1193		
Ja1	0,380	0,0611	0,1222	0,2530	0,4829	50,1214	0,9635	3,6247	3,7296
Ja2	0,610	0,0966	0,1932	0,2530	0,7636	53,7325	1,4212		
Ja3+4a	0,990	0,1553	1,2421	0,2530	4,9097	53,2622	9,2179		
Ja3+4b	0,810	0,1275	1,0198	0,2550	3,9993	53,2622	7,5087		

Ja5	0,740	0,1167	0,2333	0,2500	0,9334	49,9476	1,8687	
Ja6	0,320	0,0518	0,1037	0,2530	0,4097	53,3333	0,7682	
Lim A	0,220	0,0364	0,0728	0,2530	0,2877	42,3107	0,6799	0,5919
Lim B	0,140	0,0240	0,0481	0,2570	0,1871	42,3107	0,4421	
Lim C	0,210	0,0348	0,0697	0,2520	0,2766	42,3107	0,6536	

**Tabla 4:** Cálculos para la obtención del contenido medio de prolina de las especies en las diferentes zonas de estudio en el periodo de otoño.

**Leyenda:**

**m:** muestra.

**Abs:** Absorbancia.

**Prol:** Prolina (micromol/ml).

**Prol. esp:** Prolina (micromol/ml) en la especie.

**P.m:** Peso muestra.

**Prol Pf/gr:** Prolina en la muestra seca por gramo.

**% Ps/ Pf:** Porcentaje de peso seco de lamuestra por el peso fresco.

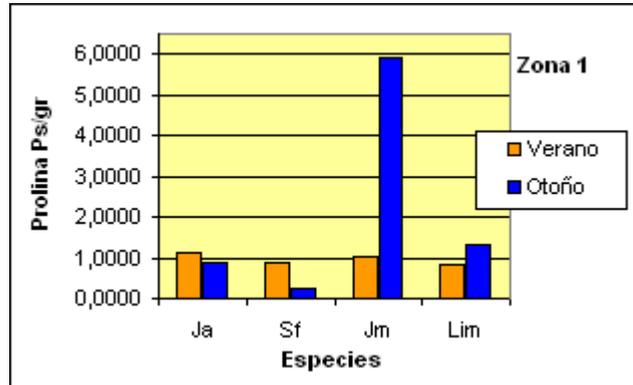
**M:** Media del contenido de la concentración de prolina.

**D:** Desviación de la media.

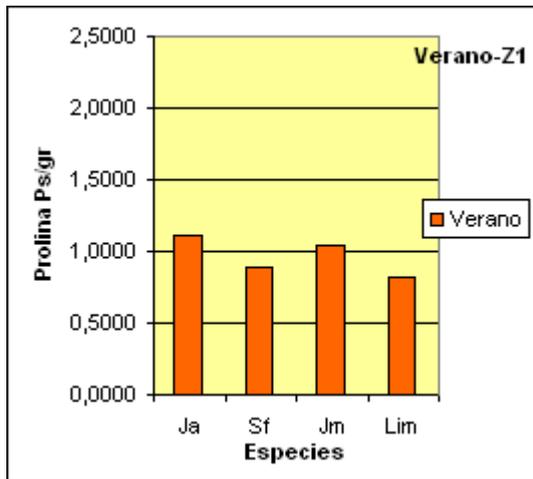
## 9.6 Prolina verano-otoño

### ZONA 1

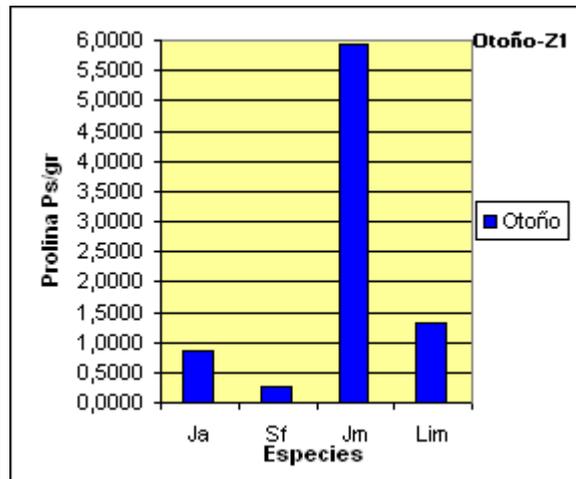
Muestra	Verano	Otoño
Ja	1,1044	0,8684
Sf	0,8836	0,2646
Jm	1,0359	5,9206
Lim	0,8212	1,3301



**Fig 11.** Comparativa del valor medio en el contenido de prolina de las especies muestreadas en la zona 1.

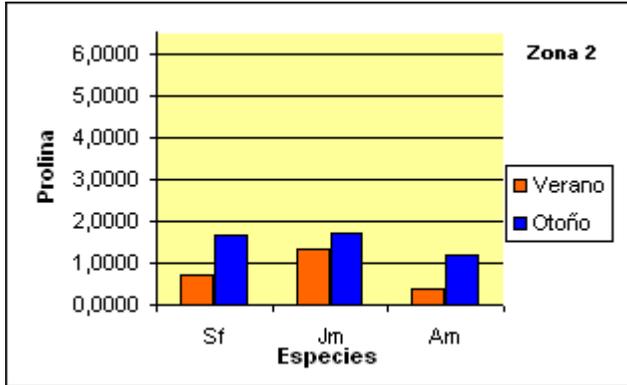


**Fig 11.1.** Concentración de prolina en las especies de zona 1 en el periodo de verano.

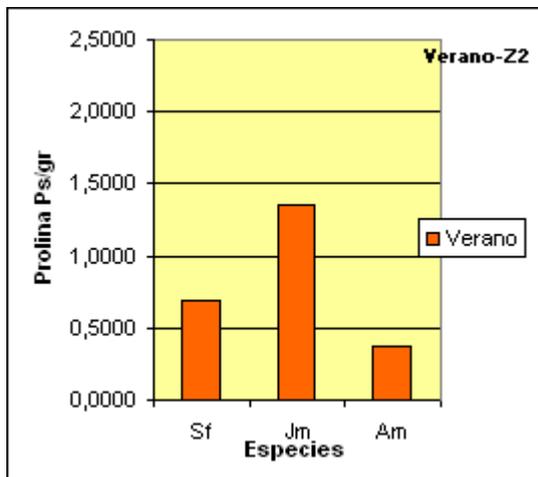


**Fig 11.2.** Concentración de prolina en las especies de la zona 1 en el periodo de otoño

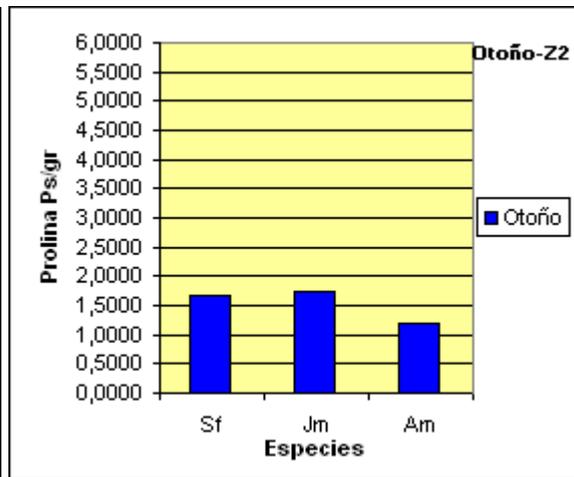
ZONA 2		
Muestra	Verano	Otoño
Sf	0,6936	1,6703
Jm	1,3511	1,7276
Am	0,3717	1,1803



**Fig 12.** Comparativa del valor medio en el contenido de prolina de las especies muestreadas en la zona 2.

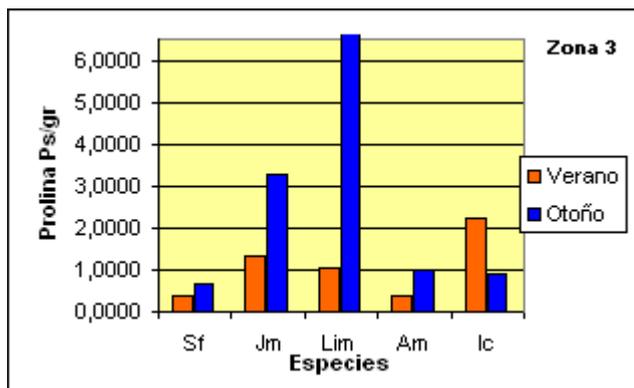


**Fig 12.1.** Concentración de prolina en las especies de zona 2 en el periodo de verano.

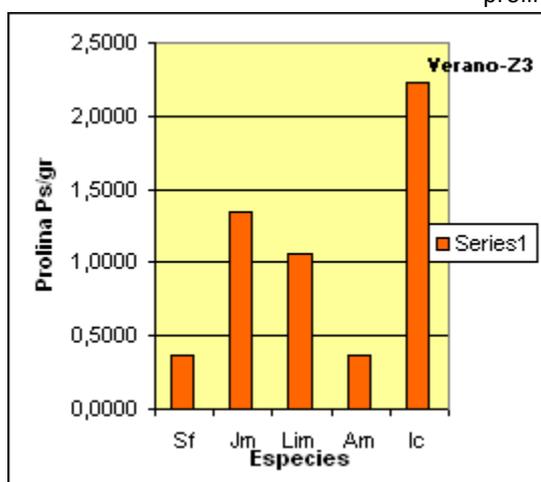


**Fig 12.2.** Concentración de prolina en las especies de la zona 2 en el periodo de otoño.

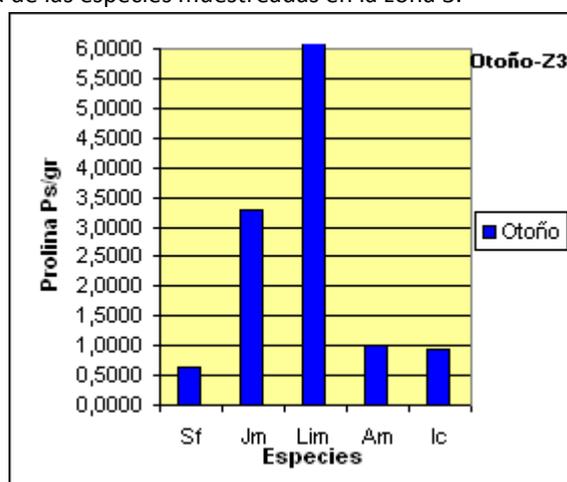
ZONA 3		
Muestra	Verano	Otoño
Sf	0,3650	0,6454
Jm	1,3448	3,2930
Lim	1,0583	9,1623
Am	0,3632	1,0027
Ic	2,2303	0,9243



**Fig 13.** Comparativa del valor medio en el contenido de prolina de las especies muestreadas en la zona 3.



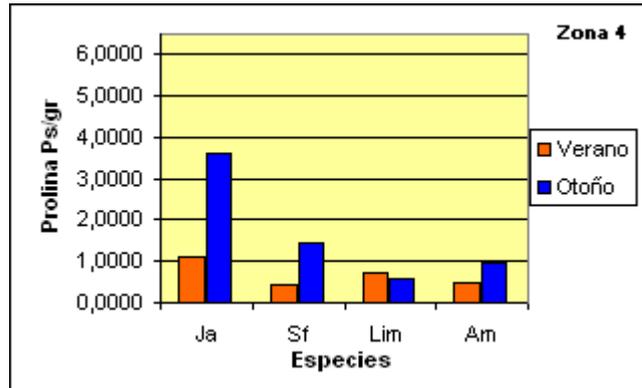
**Fig 13.1.** Concentración de prolina en las especies de zona 3 en el periodo de verano.



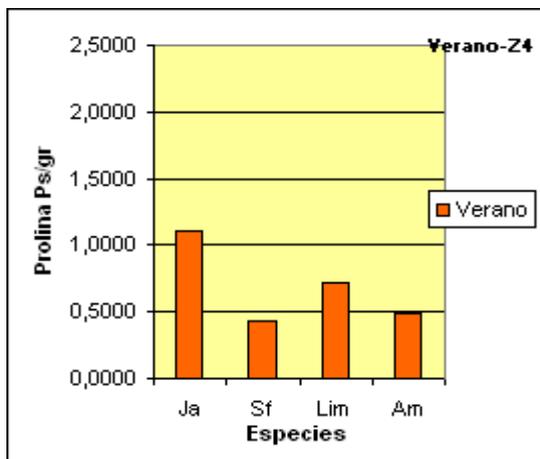
**Fig 13.2.** Concentración de prolina en las especies de la zona 3 en el periodo de otoño.

**ZONA 4**

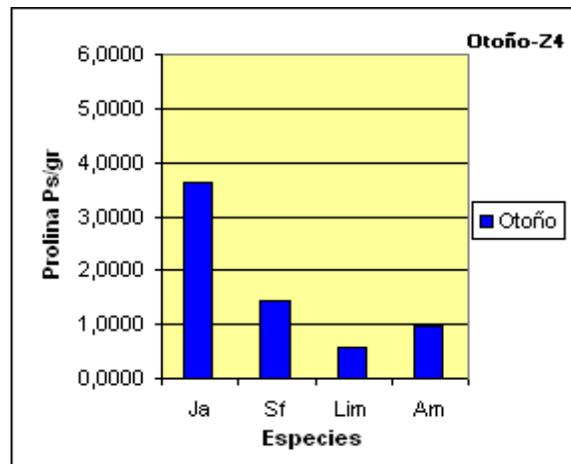
Muestra	Verano	Otoño
Ja	1,1098	3,6247
Sf	0,4305	1,4503
Lim	0,7131	0,5919
Am	0,4888	0,9563



**Fig 14.** Comparativa del valor medio en el contenido de prolina de las especies muestreadas en la zona 4.



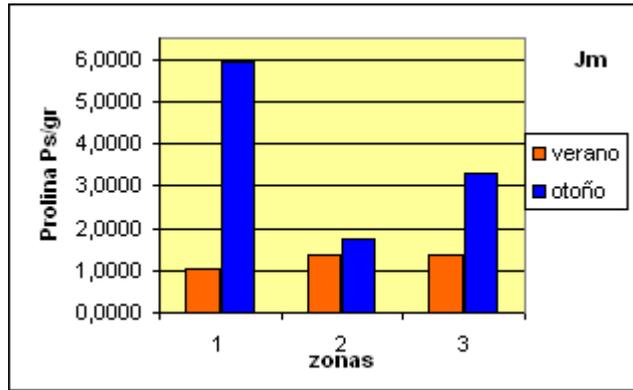
**Fig 14.1.** Concentración de prolina en las especies de zona 4 en el periodo de verano.



**Fig 14.2.** Concentración de prolina en las especies de la zona 4 en el periodo de otoño.

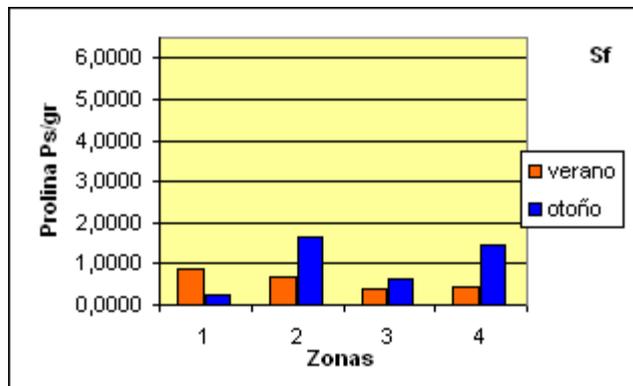
**Por especies:**

jm	verano	otoño
z1	1,0359	5,9206
z2	1,3511	1,7276
z3	1,3448	3,2930



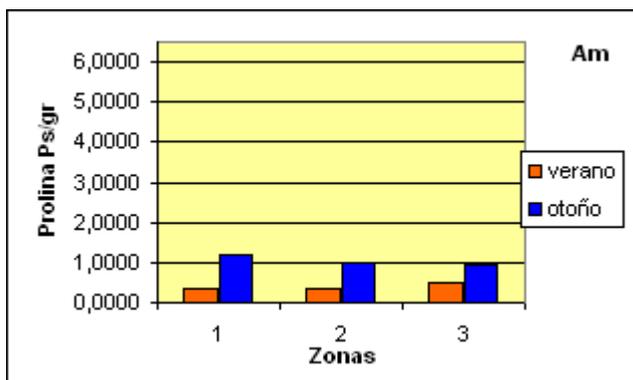
**Fig 15.** Comparativa del valor medio en el contenido de concentración de prolina del *Juncos maritimus*, de los especímenes muestreado en las zonas donde se han encontrado.

Sf	verano	otoño
z1	0,8836	0,2646
z2	0,6936	1,6703
z3	0,3650	0,6454
z4	0,4305	1,4503



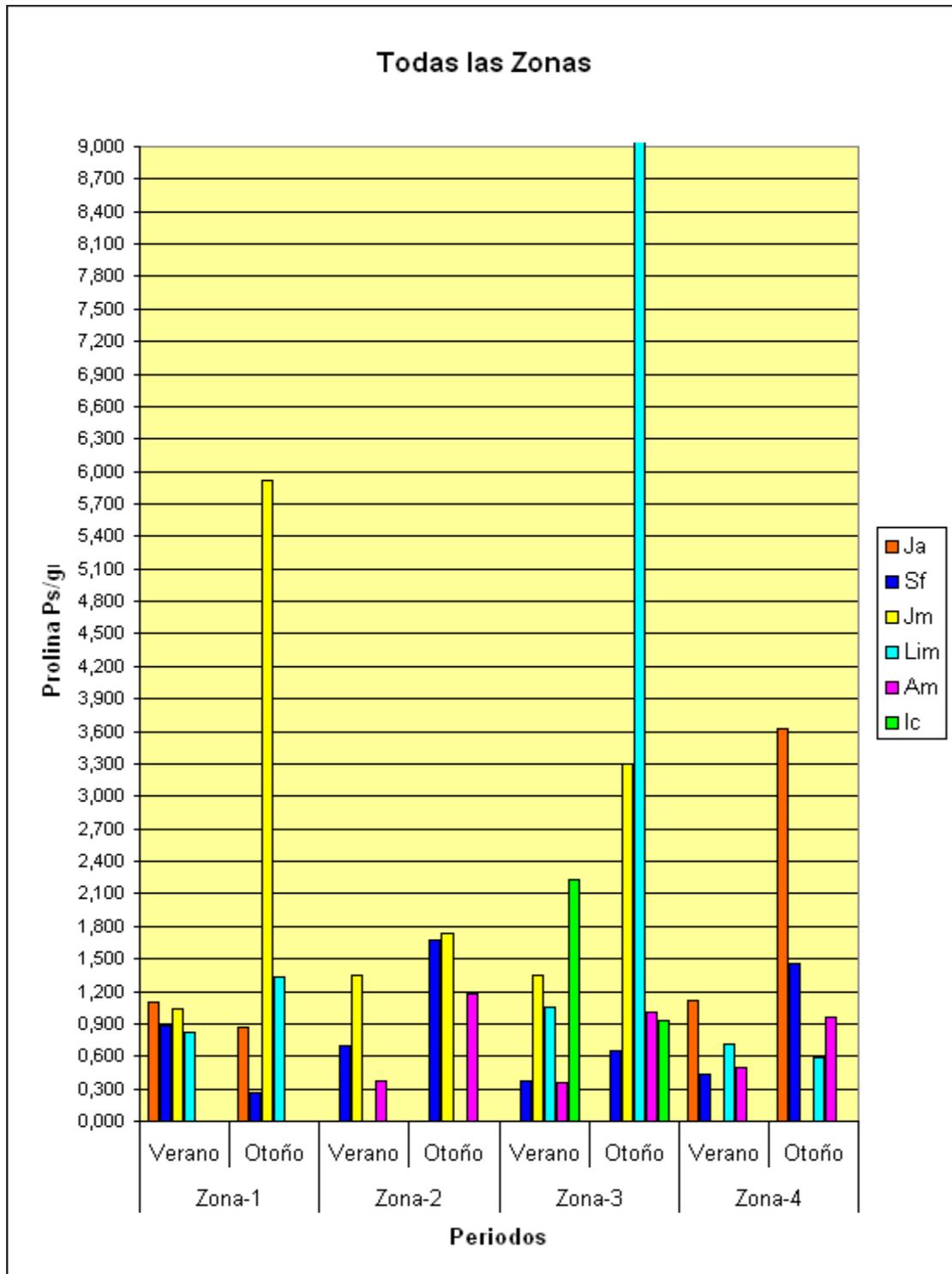
**Fig 16.** Comparativa del valor medio en el contenido de concentración de prolina del *Sarcocornia fructicosa*, de los especímenes muestreado en las zonas donde se han encontrado.

Am	verano	otoño
z1	0,3717	1,1803
z3	0,3632	1,0027
z4	0,4888	0,9563



**Fig 17.** Comparativa del valor medio en el contenido de concentración de prolina del *Arthrocnemum macrostachyum*, de los especímenes muestreado en las zonas donde se han encontrado.

Muestra	Zona-1		Zona-2		Zona-3		Zona-4	
	Verano	Otoño	Verano	Otoño	Verano	Otoño	Verano	Otoño
Ja	1,1044	0,8684					1,1098	3,6247
Sf	0,8836	0,2646	0,6936	1,6703	0,3650	0,6454	0,4305	1,4503
Jm	1,0359	5,9206	1,3511	1,7276	1,3448	3,2930		
Lim	0,8212	1,3301			1,0583	9,1623	0,7131	0,5919
Am			0,3717	1,1803	0,3632	1,0027	0,4888	0,9563
Ic					2,2303	0,9243		



**Fig 18.** Valor medio del contenido en prolina de todas las especies muestreadas, separadas por zonas y periodos de estudio.

## **10. Resultados y discusión**

En *Juncus acutus*, se observa una diferencia muy notable entre las muestras correspondientes a la zona 1 y la zona 4, ya que en la zona 1 existe una disminución de prolina del 0.236  $\mu\text{moles/g}$  en relación a las muestras recogidas en verano-otoño. Sin embargo en la zona 4 existe un aumento del 2.515  $\mu\text{moles/g}$ .

En *Sarcocornia fruticosa* existe una clara diferencia entre la zona 1 y la zona 3, ya que en la zona 1 se aprecia una disminución del 0.619  $\mu\text{moles/g}$  en prolina entre el periodo de estudio, mientras que en las demás zonas existe un aumento en prolina del 0.976  $\mu\text{moles/g}$ , 0.280  $\mu\text{moles/g}$ , 1.020  $\mu\text{moles/g}$  respectivamente, observándose que en la zona 4 es la que recoge un mayor aumento.

En *Juncus maritimus*, los datos obtenidos nos indican que en las zonas de estudio con este material vegetal existe un aumento generalizado, siendo en la zona 1 la que mas cantidad de prolina se mide con 4.885  $\mu\text{moles/g}$  respecto a las demás zonas con cantidades del 0.378  $\mu\text{moles/g}$  y 1.948  $\mu\text{moles/g}$  respectivamente.

En *Limonium*, existe aumento durante los periodos de estudio tanto en la zona 1 como en la zona 2, experimentando un considerable aumento en la zona 3 con valores de 8.104  $\mu\text{moles/g}$ , cuyo valor representa la mayor cantidad de prolina obtenida en todas las zonas de estudio. Por lo contrario en la zona 4 se observa una pequeña disminución de prolina del 0.121  $\mu\text{moles/g}$ .

En *Arthrocnemum macrostachyum* se observa que es bastante regular en el aumento de la concentración de prolina durante el periodo de estudio en las diferentes zonas, ya que recoge un aumento del 0.843  $\mu\text{moles/g}$ , 0.640  $\mu\text{moles/g}$ , 0.467  $\mu\text{moles/g}$  respectivamente de las zonas 2, 3, Y 4.

En *Inula crithmoides*, no se puede decir mucho ya que solo se tiene los datos de la zona 3, cuya cantidad nos indica una disminución en la concentración de prolina del 1.306  $\mu\text{moles/g}$  en el periodo de verano-otoño.

La prolina se acumula en las plantas durante la adaptación a varios tipos de estrés ambiental (Claussen, 2005). El aumento de la radiación solar y la temperatura al final de verano desencadena una serie de mecanismos de defensa antioxidante contra el estrés, incluyendo la acumulación de solutos compatibles como la prolina.

Por lo tanto la respuesta de las plantas es cualquier alteración tanto estructural como funcional que se producen en los vegetales como consecuencia de un estrés.

Siendo la resistencia y tolerancia al estrés la capacidad de la planta para sobreponerse a condiciones medioambientales desfavorables.

Los efectos causados por los diferentes factores de estrés aparecen como respuesta no inmediata, demorándose durante algún tiempo después del comienzo del estímulo ambiental.

Lo cual demuestra nuestros datos obtenidos con el incremento de la concentración de prolina en la segunda toma de material realizada en otoño.

Los resultados obtenidos en este trabajo, muestran un aumento significativo en el contenido de prolina en hojas, cuando las plantas fueron sometidas a concentraciones de NaCl, alcanzándose los valores más altos en el periodo de otoño.

La acumulación de prolina bajo condiciones de estrés se puede producir por la inducción o la activación de las enzimas de biosíntesis de la prolina (P5CS u OAT), por la reducción de la oxidación de prolina a glutamato (PDH), por un bajo uso de prolina en la síntesis de proteínas, o por un aumento de la degradación de proteínas (Claussen, 2005).

La acumulación de prolina también depende de su degradación, catalizada por la enzima mitocondrial PDH, que transforma la L-prolina en Q1-pirrolin-2-carboxilato (P5C) mediante consumo de O<sub>2</sub> y producción de H<sub>2</sub> (Hare et al., 1999).

En general, ante ciertos tipos de estrés (deshidratación y estrés salino) se produce una inhibición drástica de la actividad PDH donde la prolina podría actuar como un compuesto osmorregulador (Claussen, 2005).

Existen numerosos datos en la bibliografía sobre la acumulación de prolina en condiciones de estrés. Mencionamos brevemente algunos de estos estudios:

- En plantas transgénicas de tabaco se ha producido una mayor cantidad de prolina, mejorando así su tolerancia a las sales. Sin embargo, también se han obtenido evidencias de una mayor acumulación de este aminoácido en genotipos sensibles a sales, lo que sugiere que la respuesta en cuanto a la acumulación de prolina es compleja y en algunos casos, más que una causa de tolerancia a sales, podría ser un sensor del grado de estrés al que está sometido la planta.
- Varios autores han informado de incrementos en el contenido de prolina en las plantas cuando se dejan de regar, en comparación con plantas bajo riego (Barnetty Naylor, 1966; Hanson y Tully, 1979). Esta acumulación, según Aspinall y Paleg (1981), Barnett y Naylor, (1966) Singh *et al.* (1973a) y Andrade *et al.* (1995) se inicia por una reducción en el potencial de agua en los tejidos de las

células, como respuesta a la adaptación de las plantas cuando son sometidas a estrés hídrico.

- Muchas especies vegetales cuando son cultivadas en sustratos con diferentes niveles de salinidad aumentan el contenido de prolina en sus tejidos.

El aumento de sales en la solución del suelo ocasiona disminución de los potenciales hídrico y osmótico del suelo, lo cual se refleja en el estado hídrico de la planta; es decir, la planta tiende a perder agua, por lo que la planta debe mantener un potencial hídrico más negativo que el sustrato para asegurar la absorción de agua (Buchanan et al., 2000).

También ante esta situación, está bien establecido la inducción de una señal (ABA) en la raíz la cual alcanza las hojas gracias a la transpiración para inducir el cierre de estomas (Wilkinson & Davies, 2002), reduciéndose así la pérdida de agua.

De hecho, el estado hídrico foliar interactúa con la conductancia estomática y transpiración bajo deficiencia hídrica y una buena correlación ha sido a menudo observada entre potencial hídrico foliar y conductancia estomática (Medrano et al, 2002).

## **11. conclusiones**

Los beneficios inmediatos del estudio se centran, en principio, en contribuir al avance del conocimiento sobre los mecanismos de tolerancia a estrés abiótico de las plantas, por otro, en ecosistemas naturales sometidos a diversas condiciones de estrés ambiental.

El estudio correlacionará los datos obtenidos con las características edafoclimáticas del hábitat y con los cambios espacio-temporales en dichas características.

Nuestros datos pueden contribuir a establecer estrategias de conservación o restauración apropiadas para ecosistemas amenazados, y por tanto a evitar la pérdida de biodiversidad.

Los resultados relativos a los mecanismos de respuesta a estrés en táxones tolerantes en sus hábitats naturales pueden proporcionar información útil para seleccionar alguna de estas especies halófilas, para profundizar, en un futuro, en el estudio de los mecanismos de respuesta a estrés a nivel molecular.

Por otra parte, y en línea con nuestra idea de que las plantas silvestres adaptadas a condiciones específicas de estrés constituyen un recurso genético infrutilizado, a partir de ellas podrían aislarse genes de tolerancia a estrés, y sus promotores, para ser utilizados como herramientas biotecnológicas para la mejora genética molecular de la tolerancia a estrés abiótico en plantas cultivadas. En resumen, estas plantas silvestres podrían utilizarse como modelos alternativos (o, más correctamente, complementarios) al de *Arabidopsis thaliana*, para investigaciones en este tema concreto.

## **12. Bibliografía**

Andrade, J.L., Larqué- Saavedra, A.; Trejo López, C. 1995. Proline accumulation in leaves of four cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. with different drought resistance. *Fyton* 57(2): 149-157.

Arshi, A., M.Z. Abdin, M. Iqbal 2005. Ameliorative effects of CaCl<sub>2</sub> on growth, ionic relations and proline content of Senna under salinity stress. *Plant Nutr.* 28: 101-125.

Aspinall, D. and L. G. Paleg. 1981. Proline accumulation: physiological aspects. In: Paleg, L. G. Y. D. Aspinall (eds.). *The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants*. Academic Press, Australia. pp. 205-241.

Attipalli R.R., V.C. Kolluru, V. Munusamy 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J. Plant Physiol.* 161: 1189-1202.

Avendaño C.H., C. Trejo, C. López, J. D. Molina, A. Santacruz, F. Castillo 2005. Comparación de la tolerancia a la sequía de cuatro variedades de maíz (*Zea mays* L.) y su relación con la acumulación de prolina. *INCI* 9: 560-564.

Azcón-Bieto, J. y M. Talón. 1993. *Fisiología y bioquímica vegetal*. Editorial McGraw-Hill Interamericana, Nueva York. pp. 285-326.

Azevedo A.D., J. Tarquinio, J. Enéas-Filho, C. Feitosa, J. Vieira, P.H. Alves, E. Gomes-Filho 2004. Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. *Braz. J. Plant Physiol.* 1: 31-38.

Barnett, N. M. & Naylor, A. W. (1966). Amino acid and protein metabolism in Bermuda grass during water stress. *Plant Physiology*, 41, 1222.

Bates L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* 39: 205-207.

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.

Buchanan B.B., W. Gruissem, R.L. Jones 2000. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists. Rockville, Maryland. USA. 1367 p.

Camara, B. (1993) Plant phytoene synthase complex: component enzymes, immunology, and biogenesis. *Methods Enzymol.* 214: 352-365.

Chinnusamy, V., and J.-K. Zhu. 2003. Plant salt tolerance. *Topics. Curr. Genet.* 4:241-270.

Crespo, M. B. & M. D. Lledó (1998). *El género Limonium en la Comunidad Valenciana*. Generalitat Valenciana. Conselleria de Medi Ambient. València.

Delauney A.J., D.P.S., Verma 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant Journal* 4: 215–223.

E. Fintan Walton and John R. Pringle. Effect of growth temperature upon heat sensitivity in *Saccharomyces cerevisiae*. Volume 124, Numbers 2-3, 285-287.

Epstein and Mills. (2005). Climate change and Human health. *N Engl J Med* 353: 1433–1436.

Flora Ibérica. Plantas vasculares de la Península Ibérica y Baleares. Real Jardín Botánico de Madrid.

Hanson Ad. Re Tully 1979 Light stimulation of proline synthesis in water-stressed barley leaves. *Planta* 145: 45-51.

Hare P.D., W.A. Cress 1997. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation* 21: 79-102.

Hare P.D., W.A. Cress, L. Van Ataden 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell Envir.* 21: 535-553.

Hare, M. D, T. Hummasaeng, K., Suriyajantratong, W., Wongpichet, K., Saenghum, M., Tatsapong, P., Kaewkunya, C. and Boonchareen. 1999a. Pasture grass and legume evaluation on seasonally waterlogged and seasonally dry soils in north-east Thailand. *Tropical Grasslands*, 33, 65–74.

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.

Hasegawa, P.M., R.A., Bressan, J-K, Zhu, H.J., Bohnert. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51: 463-499.

Herbario Virtual del Mediterráneo Occidental. Àrea de Botànica, Departament de Biologia, Universitat de les Illes Balears.

Iyer, S., A. Caplan 1998. Products of proline catabolism can induce osmotically regulated genes. *Plant Physiology* 116: 203-211.

Jackson, R.B., and Caldwell, M.M. 1993. The scale of nutrient heterogeneity around individual plants and its quantification with geostatistics. *Ecology*, 74: 612-614.

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 P.B., S. Sangam, R.N. Amrutha, P. Sri Laxmi, K.R. Naidu, K.R.S.S. Rao, Sreenath Rao, K.J. Reddy, P. Theriappan and N. Screenivasulu 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.

Kavi Kishor P.B., Z. Hong, G.H. Miao, C.A.A. Hu, D.P.S. Verma. 1995. Overexpression of "1-pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. *Plant Physiology* 108: 1387–1394.

Konstantinova, T., D. Parvanova, A. Atanassov, D. Djilianov. 2002. Freezing tolerant tobacco, transformed to accumulate osmoprotectants. *Plant Science*. 163: 157-164.

Kleb, H.R. & Wilson, S.D. (1997). Vegetation effects on soil resource heterogeneity in prairie and forest. *American Naturalist* 150: 283–298.

Lacerda, C.F. 2004. Changes in growth and in solute concentrations in sorghum leaves and roots during salt stress recovery. *Environmental and Experimental Botany* 54: 69-76.

Laguna E *et al.* (1998). Flora endémica, rara o amenazada de la Comunidad Valenciana. Ed. Gen. Valenciana. Consejería de Medio Ambiente.

Laguna E *et al.* (2003). Hábitats prioritarios de la Comunidad Valenciana. Ed. Generalitat Valenciana. Conselleria de Territori i Habitatge.

Larcher, W. 1977. *Ecofisiología Vegetal*. Ed. Omega, 305 pp.

Lin y Kao, 1995. Cell wall peroxidase activity, hydrogen peroxide level and NaCl-inhibited root growth of rice seedlings. *Volume 230, Number 1: 135-143.*

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: 187–19.

Mateo, G & M. B. Crespo (2001). Manual para la determinación de la flora valenciana. 2ª ed. Valencia.

Medrano, H., J.M. Escalona, J. Bota, J. Gulias, J. Flexas 2002. Regulation of photosynthesis of C3 plants in response to progressive drought stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of Botany* 89: 895-905.

Misra N., Dwivedi UN. 2004. Genotypic difference in salinity tolerance of green gram cultivars. *Plant Sci*. 166: 1135-1142.

Munn, I.A., S.A. Barlow, D.L. Evans, and D. Cleaves. 2002. Urbanization's impact on timber harvesting in the south central United States. *Journal of Environmental Management* 64:65-76.

Munns R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell & Environment* 25: 239–250.

Ning Liu, An-Ping Chen, Nai-Qin Zhong, Fang Wang, Hai-Yun Wang and Gui-Xian Xia. 2007. Functional screening of salt stress-related genes from *Thellungiella halophila* using fission yeast system. *Physiologia Plantarum* 129 (4), 671–678.

Nuccio M.L., D. Rhodes, S. McNeil, A. Hanson, 1999. Metabolic engineering of plants for osmotic stress resistance. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2: 128-134.

*Ortola, A.G.- Ecofisiología Vegetal. Introducción a la fisiología del estrés., Ed. UPV, España, 183 pp, 2001.*

Parida K.A., A.B. Das. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants. *Ecotoxicol Environ Saf.* 60: 324-349.

Poustini K., A. Siosemardeh, M. Ranjbar 2007. Proline accumulation as a response to sal stress in 30 wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars differing in salt tolerance. *Genet Resour Crop Evol* 54: 924-934.

Ramanjulu S., C. Sudharkar. 2000. Proline metabolism during dehydration in two mulberry genotypes with contrasting drought tolerance. *Journal of Plant Physiology* 157: 81-85.

Rahnama, H. and H. Ebrahimzadeh 2004. The effect of NaCl on proline accumulation in potato seedlings and calli. 26 (3): 263-270.

Rivas-Martínez S. 2007. Mapa de series, Geoseries y geopermaseries de vegetación de España. (memoria del mapa de vegetación potencial de España. parte 1). *Itinera Geobot.* 17: 1-436.

Rus, A., B. Lee, A. Muñoz, A. Sharkhuu, J. Zhu, R. Bressan, P. Hasegawa 2004. AtHKT1 facilitates Na<sup>+</sup> homeostasis and K<sup>+</sup> nutrition in plant. *Plant Physiology* 136: 2500-2511.

Serrano, R., R. Gaxiola, 1994, *Microbial Models and Salt Stress Tolerance in Plants*, *Critical Rev. Plant Sci.* 13: 121-138.

Sivritepe, N., H.O. Sivritepe, A. Eris. 2003. The effects of NaCl priming on SALT tolerance in melon seedling grown under saline conditions. *Scientia Horticulturae* 97: 229-237.

Salisbury, F. B., Ross, C. M. 1994. *Fisiología Vegetal*. Grupo editorial Iberoamérica. México.

Sánchez, P., Guerra, J., Coy, E., Hernández, A., Fernández, S., Carrillo, A.F. (1998). *Flora de Murcia: Claves de Identificación e Iconografía de Plantas Vasculares*. Ed. Diego Marín, Murcia. España.

Sanders K, Pasco J, Ugoni A, et al. The exclusion of high trauma fractures may underestimate the prevalence of bone fragility fractures in the community: The Geelong Osteoporosis Study. *J Bone Mineral Res* 1998; 13: 1337-1342.

Singh, T.N.; Paleg, L.G; Boggess, S.F. 1973b. Stress metabolism. II. Changes in proline concentration in excised plants tissues. *Aust. J. Biol. Sci.* 26: 57-63.

Stewart, G.R. and J.A. Lee 2004. The role of praline accumulation in halophytes. *Biochem. Life Sci.* 120: 279-289.

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.

Trejo CL, Davies WJ, Ruiz LdMP. Sensitivity of Stomata to Abscisic Acid (An Effect of the Mesophyll). *Plant Physiol.* 1993 Jun; 102(2):497–502.

Umezawa T, Fujita M, Fujita Y, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. 2006a. Engineering drought tolerance in plants: discovering and tailoring genes unlock the future. *Current Opinion in Biotechnology* 17: 113–122.

Valdes, B., Talavera, S. & Fernandez Galiano, E. (Ed.) 1987. *Flora vascular de Andalucía Occidental*. Ed. Ketres. Vol. 2. Barcelona. España.

Vera-Estrella, R., B. Barkla. H. Bohnert and O. Pantoja 2004. Novel regulation of aquaporins during osmotic stress. *Plant Physiology* 135: 2318-2329.

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.

Waldren, R. P.; I. D. Teare. 1974. Free proline accumulation in drought-stressed plants under laboratory conditions. *Plant and Soil* 40. 689-692.

*Wang, W.X., Vinocur, B., Altman, A., 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. Planta* 218, 1–14.

Wilkinson, S., W.J. Davies 2002. ABA-based chemical signaling: the coordination of responses to stress in plants. *Plant, Cell and Environment* 25: 195-210.

Wyn Jones y Storey, 1981. Assessment of glycinebetaine and proline compartmentation by analysis of isolated beet vacuoles . *Volumen* 153, *Numero* 1, 34-41.

Yoshida Y, T., Kiyosue, K., Nakashima, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki. 1997. Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. *Plant Cell and Physiology* 38: 1095–1102.

Zhang J, Davies WJ. 1987. ABA in root and leaves of flooded pea plants. *Journal of Experimental Botany* 38, 649-659.

Zhang J, Davies WJ. 1990. Changes in the concentration of ABA in xylem sap as a function of changing soil water status will account for changes in leaf conductance. *Plant, Cell and Environment* 13, 277-285.

Zhu. (2001). Global Analysis of Protein Activities Using Proteome Chips. *Science* 14: 2101-2105.

Zhu, J.K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 53: 247-273.

Página web del Servicio de Tecnología del Riego (STR). Instituto Valenciano de Investigación Agraria. (IVIA). Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Medio Ambiente.