

TD
582

R. 11427

ESTUDIO COMPARADO SOBRE DOS ECOTIPOS
DE *MELILOTUS SEGETALIS* (Brot.) Ser

Memoria que presenta Da ROSA
CARMEN CARRASCO NESTAL para
aspirar al grado de Licenciada
en Biología, en la Universidad
de Sevilla.

Sevilla, 6 de Mayo de 1993

Rosa Carrasco Nestal

El director del trabajo



Dr. Teodoro Marañón Arana

El codirector



Dr. Juan Arroyo Marín

A mi madre

El presente trabajo se ha realizado en el Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, durante los años 1990-1993. La autora desea expresar su sincero agradecimiento a las siguientes personas:

A los Dres T. Marañón y J. Arroyo por la dirección del trabajo y por su apoyo durante la realización del mismo.

Al Dr. J.M. Romero, por sus enseñanzas en diversos aspectos.

A la Dra. C. Mazuelos, por sus consejos y ayuda en los análisis químicos.

A M.C. Castro por su amistad y colaboración en los análisis químicos.

A M. Ibáñez por su compañerismo.

A A. Moreno, J. Cara y L. Ventura, por su colaboración en los análisis de suelos.

Catio, por tu constante apoyo durante todo este tiempo.

INDICE DE CONTENIDOS

| | Página |
|--|--------|
| I.- INTRODUCCION..... | 1 |
| I.1.- Selección rápida a través de condiciones ambientales extremas. El caso de la salinidad en <i>Melilotus segetalis</i> | 1 |
| I.2.- Objetivos..... | 4 |
| II.- BIOGEOGRAFIA DEL GENERO <i>MELILOTUS</i> | 6 |
| II.1- Material y métodos..... | 7 |
| II.1.1.- Distribución geográfica..... | 7 |
| II.1.2.- Características biológicas..... | 7 |
| II.2.-Resultados y discusión..... | 10 |
| II.2.1.- Distribución geográfica..... | 10 |
| II.2.2.- Características biológicas..... | 14 |
| III.- CARACTERIZACION DE LAS POBLACIONES EN CONDICIONES NATURALES..... | 18 |
| III.1.- Material y métodos..... | 18 |
| III.1.1.- Areas de estudio..... | 18 |
| III.1.1.1.- Marisma del Guadalquivir..... | 18 |
| III.1.1.2.- Marisma del Iro..... | 21 |
| III.1.1.3.- Sierra de Grazalema..... | 21 |
| III.1.2.- Análisis de suelos..... | 22 |
| III.1.2.1.- Determinación del pH..... | 23 |
| III.1.2.2.- Conductividad eléctrica..... | 23 |
| III.1.2.3.- Determinación de sodio y potasio..... | 23 |
| III.1.2.4.- Determinación de calcio y magnesio..... | 24 |
| III.1.2.5.- Determinación de cloruros..... | 24 |
| III.1.2.6.- Determinación de sulfatos..... | 25 |
| III.1.3.- Características morfológicas..... | 26 |
| III.1.3.1.- Aspectos vegetativos..... | 26 |
| III.1.3.2.- Aspectos reproductores..... | 26 |
| III.1.3.3.- Distribución de la biomasa..... | 28 |
| III.1.4.- Composición química..... | 28 |

| | |
|--|-----|
| III.1.4.1.- Mineralización de las muestras..... | 28 |
| III.1.4.2.- Determinación del fósforo..... | 29 |
| III.1.4.3.- Determinación de sodio y potasio..... | 30 |
| III.1.4.4.- Determinación de calcio y magnesio..... | 30 |
| III.1.4.5.- Determinación de micronutrientes..... | 30 |
| III.1.4.6.- Determinación de cloruros..... | 31 |
| III.1.4.7.- Determinación de nitrógeno..... | 32 |
| III.1.5.- Tratamiento estadístico..... | 33 |
| III.2.- Resultados..... | 33 |
| III.2.1.- Análisis de suelos..... | 33 |
| III.2.2.- Características morfológicas y productivas.... | 35 |
| III.2.2.- Acumulación de elementos minerales..... | 51 |
| III.3.- Discusión..... | 74 |
| | |
| IV.- ANALISIS EXPERIMENTAL DEL CRECIMIENTO EN CONDICIONES | |
| UNIFORMES..... | 80 |
| IV.1.- Material y métodos..... | 80 |
| IV.1.1.- Morfología..... | 80 |
| IV.1.2.- Análisis químicos..... | 82 |
| IV.1.3.- Tratamiento estadístico..... | 83 |
| IV.2.- Resultados..... | 84 |
| IV.2.1.- Morfología..... | 84 |
| IV.2.2.- Caracteres químicos..... | 98 |
| IV.3.- Discusión..... | 122 |
| | |
| V.- PRODUCCION DE SEMILLAS EN CONDICIONES CONTROLADAS..... | 126 |
| V.1.- Material y métodos..... | 126 |
| V.2.- Resultados y discusión..... | 127 |
| | |
| VI.- GERMINACION..... | 131 |
| VI.1.- Material y métodos..... | 131 |
| VI.1.1.- Germinación y salinidad..... | 131 |
| VI.1.2.- Germinación de semillas procedentes de los experimentos de polinización..... | 132 |
| VI.2.- Resultados y discusión..... | 133 |
| VI.2.1- Germinación de semillas del campo..... | 133 |
| VI.2.2- Germinación de semillas procedentes de los experimentos de polinización..... | 137 |

| | |
|--|-----|
| VII.- CONCLUSIONES..... | 139 |
| VIII.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS..... | 142 |
| IX.- APENDICE..... | 149 |

I.- INTRODUCCION

I.1.- SELECCION RAPIDA A TRAVES DE CONDICIONES AMBIENTALES EXTREMAS: EL CASO DE LA SALINIDAD EN *MELILOTUS SEGETALIS*

Los suelos con gran contenido en sales o en metales pesados causan estrés en las plantas, influyendo en su desarrollo y ocasionando modificaciones morfológicas y fisiológicas. Sin embargo, la distribución de ciertos taxones está restringida a estas zonas de condiciones edáficas adversas (Krause, 1958, Kruckeberg, 1969, 1984).

A medida que aumenta la variabilidad de las poblaciones, es más probable la existencia de una cierta preadaptación a la tolerancia a condiciones desfavorables, que haga posible la colonización de estos ambientes (Kruckeberg, 1986). Las condiciones edáficas, particularmente cuando se manifiestan en forma extrema, pueden ser un potente agente de selección. Se ha demostrado la evolución rápida de la tolerancia a metales pesados en plantas que colonizan escombreras de minas (Antonovics et al. 1971), así como variaciones ecotípicas en suelos derivados de serpentinas (Kruckeberg, 1951, 1967).

La acomodación genética a un ambiente con exceso de metales pesados puede ser rápida, y es posible en unas pocas generaciones (Smith and Bradshaw, 1979). Los mecanismos de tolerancia varían dependiendo de la planta y del elemento químico. Baker (1981) propuso dos estrategias básicas de tolerancia: Las plantas "acumuladoras", concentran los

metales en tallos y hojas, y tienen por consiguiente mecanismos de detoxificación a nivel celular, mientras que las plantas "excluseras" mantienen bajas concentraciones de metal en sus hojas, mediante la absorción selectiva por las raíces o el transporte reducido a los tallos (Antonovics *et al.* 1971; Baker, 1981, 1987; Foy *et al.* 1978; Popp, 1983).

La salinidad es un factor fuertemente desfavorable para el desarrollo de muchas plantas, ya que provoca la reducción del crecimiento por la acción combinada del efecto osmótico (Bernstein, 1963), iones tóxicos (Strogonov, 1973) y desequilibrios nutricionales (Greenway y Munns, 1980). Los suelos salinos ocupan una extensión a escala mundial de 9.5 millones de km² (Szabolcs, 1989), 1.5 millones de km² en la Cuenca Mediterránea (Le Houerou, 1986) y 84.000 km² en España (Szabolcs, 1989).

El perfil del terreno, la textura y estructura, los tipos de sales y su distribución absoluta y relativa, el pH y las prácticas de cultivo son factores que intervienen en la salinización del suelo. La escasez de agua en clima árido y semiárido, y la sobreexplotación de acuíferos contribuyen a acelerar el proceso de salinización (Szabolcs, 1974).

Un suelo se considera salino cuando la conductividad eléctrica del estrato de saturación (CEs) es mayor de 4 dS/m. Sin embargo, el efecto sobre el desarrollo de las plantas depende de su grado de tolerancia (Bernstein, 1964). Flowers *et al.* (1977) encontraron especies resistentes a la salinidad en 38 de los 94 órdenes de espermatofitas y distinguieron dos grandes grupos de plantas según el contenido de sal de sus

hábitats: "halofitas", que son capaces de completar su ciclo biológico en presencia de altas concentraciones salinas y "no halofitas", plantas que habitan suelos no salinos y que carecen de capacidad para sobrevivir y completar su ciclo en medio salino.

Para mejorar la producción vegetal en suelos salinizados se utilizan por una parte técnicas que reducen la concentración de sales en el suelo (drenaje, lavados) y en el agua (desalinización, regulación del uso) y por otra parte, plantas que son más tolerantes a la salinidad. En ocasiones esta tolerancia se ha conseguido mediante experimentos de selección artificial rápida. Para ello se utilizan cultivos hidropónicos de gran cantidad de semillas en condiciones extremas de salinidad y se utiliza como criterio de selección la longitud de la radícula a los 15 días. Las plántulas más desarrolladas son transferidas a frascos individuales donde se dejan crecer hasta completar el ciclo (McNeilly, 1990, Ashraf *et al.* 1989, Azhar *et al.* 1989). Este método proporciona una gran ventaja al no tener que esperar el final del ciclo para seleccionar las plantas más tolerantes, y no necesitar por tanto grandes parcelas experimentales. Por otra parte, supone la existencia de variabilidad fenotípica y que esa variabilidad tenga al menos un cierto grado de componente genético (McNeilly, 1990).

En el presente trabajo se ha elegido la especie *Melilotus segetalis* (Brot.) Ser. para estudiar el proceso de la adaptación a condiciones salinas. De acuerdo con la "Flora Vasculare de Andalucía Occidental" (Valdés *et al.*

1987), *M. segetalis* es una leguminosa anual, de altura hasta 65 cm, con diverso grado de ramificación, flores en racimos, corola pequeña (5-7 mm) y amarilla, legumbres de 3-4 mm con nerviación marcada, floración y fructificación desde Marzo a Junio, y distribución común en toda la Región Mediterránea.

En la zona de estudio *M. segetalis* vive en una variedad amplia de condiciones ecológicas, sin embargo este estudio se centra sólo en algunas poblaciones que viven en condiciones edáficas muy contrastadas, de alta y baja salinidad. Dada la extensión de su área de distribución y la frecuencia de suelos salinos en el Mediterráneo, parece probable que este patrón de diferenciación ecológica estudiado esté bastante generalizado.

M. segetalis es una leguminosa halotolerante (Romero, 1992), con alto valor nutritivo (Murillo et al., 1986), buena palatabilidad (Smith, 1964) y destaca su capacidad para mejorar los niveles de nitrógeno en el suelo y el drenaje (Smith & Gorz, 1965). Por todo ello, se puede considerar como un recurso fitogenético interesante para la recuperación de suelos salinos en clima mediterráneo.

I.2.- OBJETIVOS

Las fases de estudio y los objetivos principales han sido los siguientes:

1. Analizar la biogeografía del género *Melilotus*, compuesto por especies que en su mayoría habitan en la Cuenca Mediterránea. Este área comprende grandes extensiones de suelos con elevada salinidad, donde posiblemente se han

repetido procesos de diferenciación de poblaciones tolerantes a la salinidad, pertenecientes a diversas especies del género.

2. Caracterización morfológica y fisiológica de dos ecotipos de *Melilotus segetalis* que viven en condiciones contrastadas de salinidad en el sustrato. Se analizan las posibles diferencias intra e interpoblacionales en las características morfológicas y en la acumulación de elementos minerales.

3. Estudio experimental de la respuesta a la salinidad de ambos ecotipos. Se han distinguido cinco aspectos:

1. Morfología.
2. Concentración de elementos minerales.
3. Análisis de crecimiento
4. Fructificación
5. Germinación

II.- BIOGEOGRAFIA DEL GENERO *MELILOTUS*

La Cuenca Mediterránea representa uno de los centros de diversidad de plantas pascícolas, especialmente destacan las leguminosas, que han recibido una gran atención como recursos fitogenéticos exportables a otras áreas de clima mediterráneo, en Australia, California y Chile (Mathison, 1983).

Las especies incluidas en la tribu Trifolieae han sido las más utilizadas, especialmente las pertenecientes a los géneros *Trifolium*, *Medicago* y en menor medida *Melilotus*. En zonas de clima templado de Canadá, Estados Unidos, Europa y la U.R.S.S. se han cultivado variedades de *Melilotus albus*, *M. officinalis* y con menos frecuencia *M. suaveolens* y *M. indicus* como plantas forrajeras. También se utilizan para recuperar suelos pobres o erosionados (como "abono verde"), y como recurso melífero en apicultura. El interés mostrado por estas especies se refleja en los numerosos estudios realizados (especialmente entre 1940 y 1960) dirigidos a mejorar la producción y la calidad de forraje y a reducir el contenido en cumarina (véase revisión en Smith y Gorz, 1965).

Comparativamente, las especies mediterráneas de *Melilotus* han recibido poca atención, aunque diversos autores han resaltado su valor como plantas pascícolas en suelos con problemas de salinidad (Le Houerou, 1986; Marañón et al., 1991). Los objetivos de este estudio son 1) revisar el estatus biogeográfico de las 23 especies del género *Melilotus*, con especial atención a las que se distribuyen por

la Cuenca Mediterránea y 2) analizar las características biológicas de estas especies para establecer posibles relaciones con sus distribuciones geográficas.

II.1.- MATERIAL Y METODOS

II.1.1.- Distribución geográfica

Como fuentes de información para la distribución geográfica de las especies de *Melilotus*, se han utilizado principalmente "Med-Checklist" (Greuter et al., 1989) y "Flora Europaea" (Tutin et al., 1968). Complementariamente se ha comprobado la distribución de algunas especies problemáticas en las floras regionales (Davis, 1969; De Halacsy, 1968; Schischkin, 1945). A partir de estos datos se ha elaborado una matriz de presencia/ausencia de las 23 especies en 40 áreas. Estas áreas corresponden a las 27 de "Med-Checklist", 12 adicionales de "Flora Europaea" (excluyendo Rusia), más la antigua U.R.S.S. (excluyendo Crimea, ya incluida en "Med-Checklist"). Sólo se han tenido en cuenta las áreas donde estas especies se consideran nativas (Fig.II.1.).

Para la ordenación recíproca de áreas y especies, según sus similitudes y diferencias (Gauch, 1980), se ha empleado un análisis de correspondencia (*det. corr. anal., DCA*).

II.1.2.- Características biológicas

Se ha seleccionado una serie de 18 variables biológicas, de tipo vegetativo, reproductor y fitoquímico (Tabla II.1), a partir de las descripciones de las especies de *Melilotus*

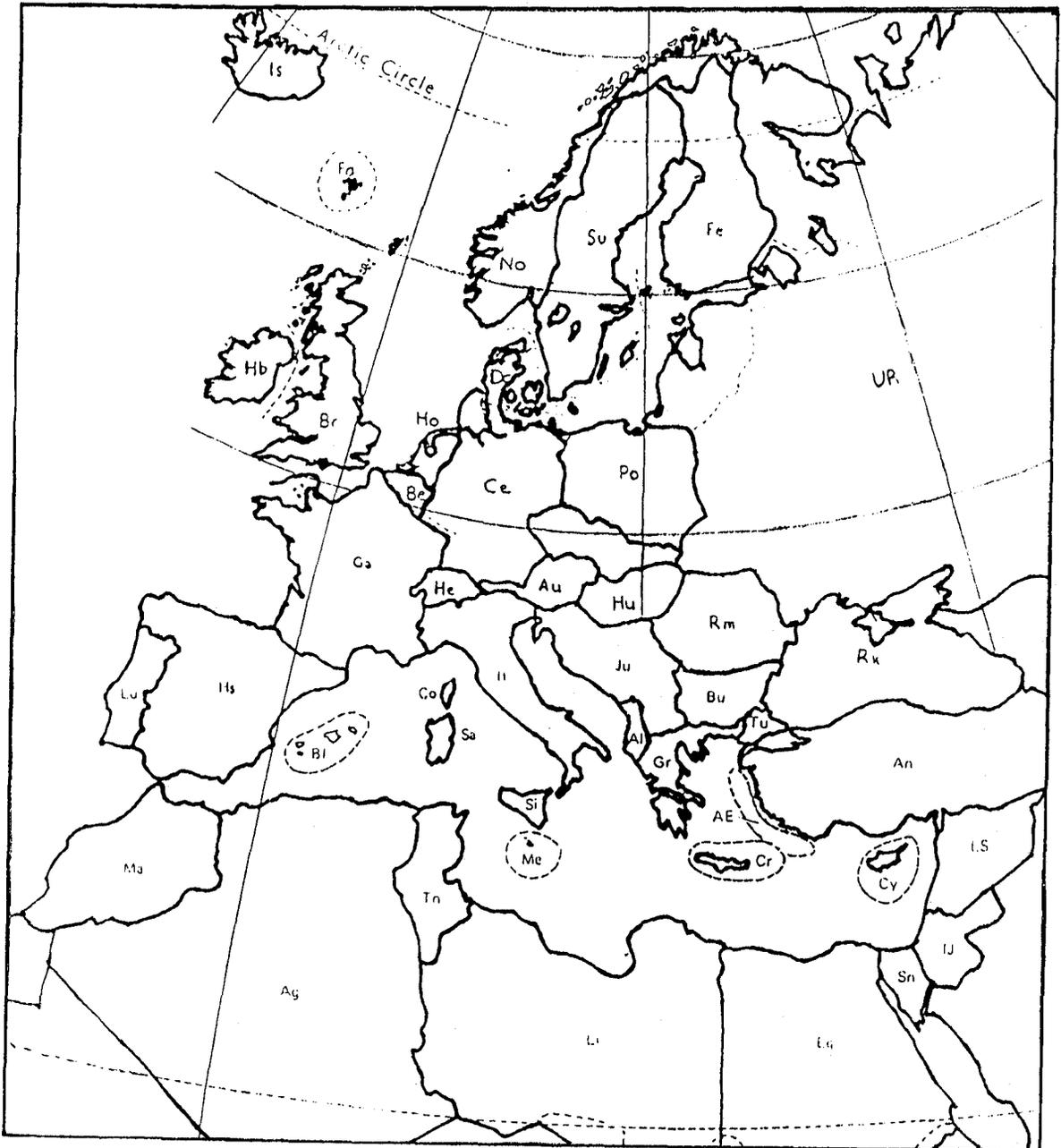


FIG. II.1.- Areas (países) consideradas en el estudio biogeográfico del género *Melilotus*. Las abreviaturas incluidas en ellas corresponden a las utilizadas en las fuentes bibliográficas utilizadas (véase texto).

TABLA II.1.- Características biológicas de *Melilotus* seleccionadas.

Altura media de la planta

Altura máxima de la planta

Suculencia de la hoja

Tamaño de la radícula

Forma de vida

Longitud media del racimo floral

Longitud máxima del racimo floral

Número de flores por racimo

Tamaño de la flor

Número de semillas por fruto

Volumen medio del fruto

Volumen medio de la semilla

Número 2n

Porcentaje de alogamia

Actividad β -glucosidasa

Porcentaje de ácido O-hidroxiciánico

Contenido de medicarpina difusa

Contenido de medicarpina en tejido

en las floras del área de estudio (Tutin et al., 1968; Davis, 1969; De Halacsy, 1969; Valdés et al., 1987), de las revisiones monográficas (Schulz, 1901; Stevenson, 1969), de estudios de biología de la reproducción (Sano, 1977) y fitoquímicos (Gorz y Haskins, 1964; Ingham, 1977). Para *M. serratifolius*, descrita en 1974 (véase Greuter et al., 1989), no se ha podido disponer de información sobre sus características biológicas.

El análisis de grupos (*cluster*), nos ha permitido obtener una agrupación jerárquica de las especies de *Melilotus*, a partir de las semejanzas de sus características biológicas, consideradas como distancias euclídeas en un espacio multidimensional (STSC, 1986).

La nomenclatura de las especies sigue a Greuter et al. (1989).

II.2.- RESULTADOS Y DISCUSION

II.2.1.- Distribución geográfica

Se han considerado 23 especies pertenecientes al género *Melilotus*, que corresponden a las 19 especies recogidas en la Med-Cheklist (Greuter et al., 1989), más 3 especies extramediterráneas, *M. hirsutus*, *M. polonicus* y *M. suaveolens* (Schulz, 1901; Schischkin, 1945), más *M. bicolor*, endémica de Turquía europea y Anatolia (Schulz, 1901; Tutin et al., 1968, Davis, 1969).

En la figura II.2 se han representado por separado la ordenación de los territorios (gráfica superior) y de las especies (gráfica inferior), en el espacio definido por los

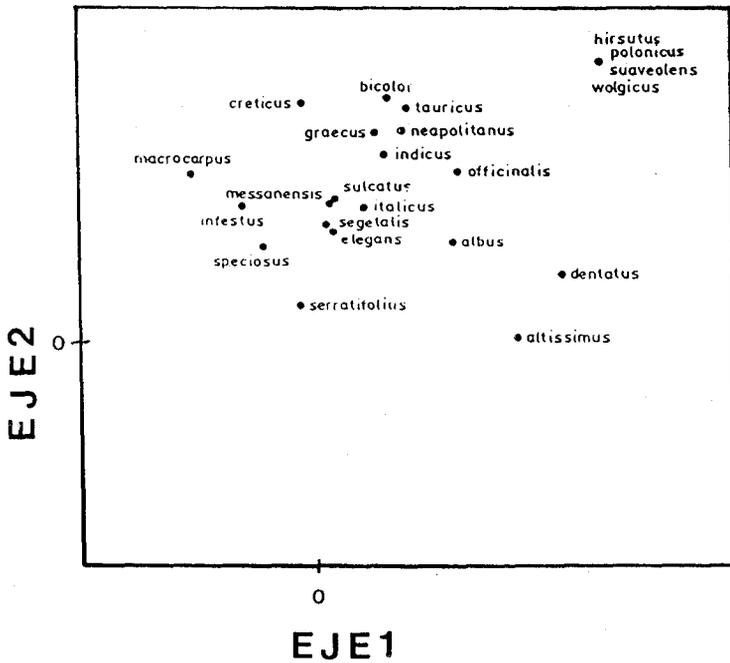
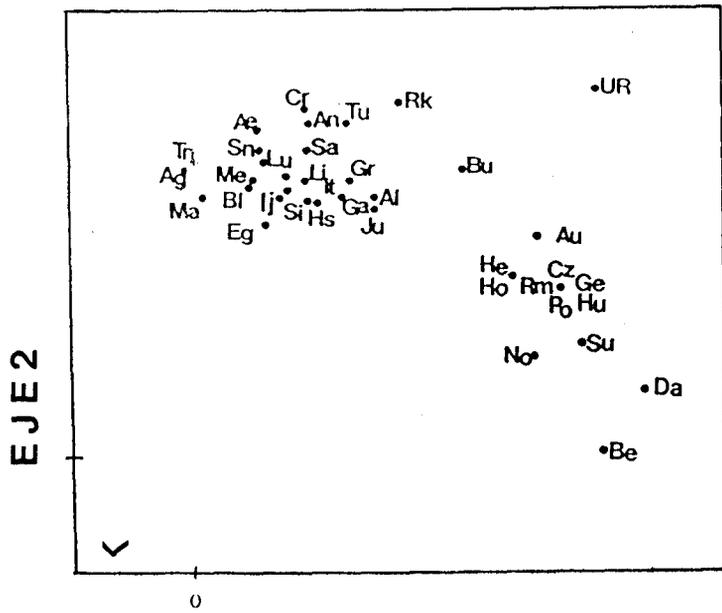


FIG. II.2.- Ordenación de los territorios (gráfica superior) y de las especies (gráfica inferior) en el plano definido por los ejes 1 y 2 del análisis de correspondencia (DCA). Las abreviaturas de los territorios son de Greuter et al. (1989) y Tutin et al. (1968)

ejes 1 y 2 del análisis de correspondencias (DCA).

Se pueden separar claramente dos grupos de territorios. Por un lado se agrupan los países de clima templado o continental, pertenecientes a la región florística Boreal (Takhtajan, 1986), que se caracterizan por presentar las especies de distribución más amplia (i.e., *M. albus*, *M. altissimus*, *M. officinalis*). En estos países existe además un pequeño grupo de especies características, en general de distribución amplia, pero que no llegan a la Cuenca Mediterránea: *M. hirsutus*, *M. suaveolens*, *M. polonicus*, *M. wolgicus* y *M. dentatus*. Estas especies aparecen claramente delimitadas en el extremo positivo del eje 1 (Fig. II.2).

Por otra parte, pueden reunirse en un segundo grupo todos los territorios que tienen, al menos en parte, clima de tipo Mediterráneo. Las especies de *Melilotus* que viven en ellos se pueden dividir en tres grupos: 1) de distribución muy amplia, ya mencionadas, 2) de distribución aproximadamente circunmediterránea (*M. indicus*, *M. elegans*, *M. italicus*, *M. messanensis*, *M. neapolitanus*, *M. segetalis* y *M. sulcatus*), y 3) de distribución restringida a sólo alguna parte de la Cuenca Mediterránea y que podemos definir como endémicas en el sentido más restrictivo.

Dentro de este grupo de territorios "mediterráneos" se observa una tendencia marcada, cuyos extremos están ocupados por países geográficamente alejados a lo largo de la Cuenca. En un extremo (parte negativa del eje 1) aparecen los países del SW (Túnez, Argelia y Marruecos), mientras que en el extremo opuesto, aparecen los países del NE (Grecia,

Albania, Yugoslavia), llegando incluso a la Cuenca del Mar Negro (Anatolia, Turquía europea, Crimea y Bulgaria). Estos territorios se incluyen en la región florística Mediterránea (Takhtajan, 1986) y representan la transición hacia el grupo de territorios de la región Boreal. Esta tendencia dentro del grupo de territorios "mediterráneos" viene determinada por la distribución del endemismo más restringido. Las especies endémicas aparecen representadas en la figura II.2 en la periferia, alrededor del grupo de especies circunmediterráneas. La única especie endémica del sur de la Cuenca, *M. serratifolius* de Egipto, aparece en el extremo inferior izquierdo de la gráfica (Fig.II.2). Hacia el extremo negativo del eje 1 se encuentran los endemismos del W y SW del Mediterráneo: *M. speciosus* de Argelia, Marruecos y España, *M. infestus* de Baleares, Córcega, Marruecos, Argelia y Túnez, y por último *M. macrocarpus* de Túnez y Argelia. En la parte superior izquierda se encuentran las especies endémicas del NE: *M. graecus* de Grecia y Creta, *M. creticus* del Egeo y Anatolia, *M. bicolor* de Turquía europea y Anatolia, y *M. tauricus* de Crimea y Anatolia.

El modelo de distribución que presenta el género *Melilotus* es el conocido para otros muchos grupos centrados en la Cuenca Mediterránea, donde presentan su mayor diversificación. Un grupo de especies que se distribuyen por zonas de clima más continental y no están presentes en la Región Mediterránea, podría constituir un grupo ancestral, o por el contrario tratarse de un grupo derivado dentro del género; incógnita que no se puede resolver con los datos

disponibles en la actualidad. El resto de las especies presenta una distribución de amplitud variable, pero centrada en el Mediterráneo. Las especies de ámbito geográfico más restringido, endémicas, muestran una tendencia también ampliamente representada en otros grupos vegetales mediterráneos, incluso no relacionados filogenéticamente (Quézel, 1985). Un grupo de especies son endémicas del W-SW de la Cuenca y otro del NE de la misma, más una del SE (Egipto). El relativo mayor peso del conjunto del Este y su mayor proximidad geográfica a las especies extramediterráneas hace pensar que éste es el principal centro de diversificación del género.

La representación gráfica de la amplitud de la distribución geográfica de las especies de *Melilotus* (figura II.3) muestra claramente un grupo de distribución amplia (más de 10 territorios) y otro de distribución restringida (menos de 5 territorios). Entre las 12 especies que se pueden considerar endémicas (en 1-5 territorios), 8 pertenecen a la Región Mediterránea.

II.2.2.- Características biológicas

El análisis de *cluster* de las 22 especies de *Melilotus* de los que se disponía de datos, separa en las dos primeras divisiones a *M. graecus* y *M. creticus* respectivamente, debido a que sus frutos son mucho más largos (y por tanto voluminosos, ya que la morfología es bastante constante) respecto del resto de las especies. Ambas son endémicas del Mediterráneo oriental.

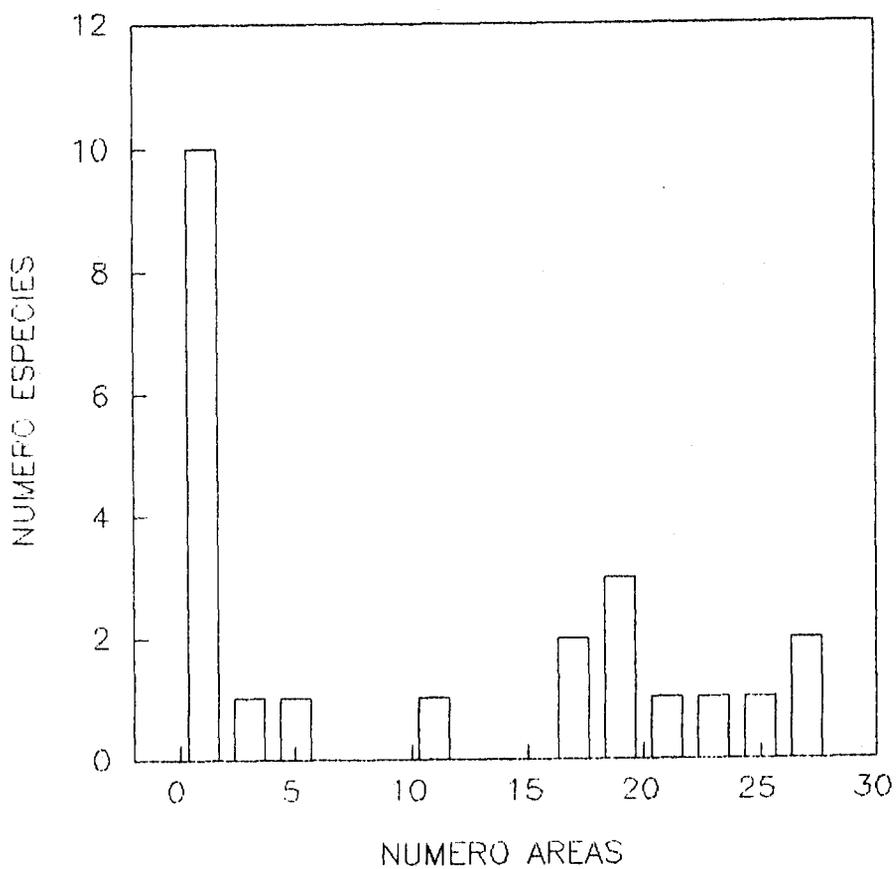


FIG. 11.3.- Histograma de la amplitud geográfica de las especies de *Melilotus*. Se indica la frecuencia de estas especies según el número de áreas en que están presentes como nativas.

Las divisiones siguientes van separando a un grupo formado por *M. albus*, *M. altissimus*, *M. polonicus*, *M. dentatus*, *M. elegans* y *M. officinalis* que se distinguen por su envergadura (altura media superior a 80 cm), niveles altos de medicarpina (610-840 $\mu\text{g/g}$) y forma biológica bianual (con la excepción de *M. elegans*, anual). Este grupo de 5 especies (exceptuando *M. elegans*) presentan distribución amplia, en zonas de clima templado (Fig. II.2.), y según Schulz (1901) estarían en el subgénero *Eumelilotus*.

Una división posterior del análisis separa un grupo de 5 especies, *M. infestus*, *M. neapolitanus*, *M. messanensis*, *M. macrocarpus* y *M. speciosus*, anuales, de pequeño tamaño (altura media menor de 50 cm), con distribución típicamente mediterránea (Fig. II.2) y que según Schulz (1901) estarían en el subgénero *Micromelilotus*.

El grupo restante, de 9 especies, es más heterogéneo. Por una parte están 4 especies bianuales, pero de tamaño mediano (50-80 cm de altura media) y con valores bajos de medicarpina (400-530 $\mu\text{g/g}$). Tres de ellas (*M. hirsutus*, *M. suaveolens* y *M. wolgicus*) son extramediterráneas y la cuarta (*M. tauricus*) es endémica de Anatolia y Crimea (Fig. II.2). Por otra parte, se encuentran 5 especies (*M. segetalis*, *M. sulcatus*, *M. italicus*, *M. indicus* y *M. bicolor*) anuales, pequeñas (altura media menor de 40cm), también con bajo contenido en medicarpina (500-560 $\mu\text{g/g}$), pero con distribución típicamente mediterránea (Fig. II.2).

El estudio biogeográfico del género *Melilotus* resalta la importancia de la Cuenca Mediterránea como centro de

diversificación, con un grupo de 7 especies circunmediterráneas y otro de 8 especies endémicas de algunas zonas de la Cuenca. La forma biológica, envergadura de la planta, tamaño del fruto y contenido en medicarpina, las variables biológicas que más han pesado en el análisis de grupos. Las especies boreales tienden a ser bianuales, mientras que las típicamente mediterráneas son anuales. Este patrón coincide con el presente en otros muchos grupos vegetales (Raven, 1973). Es frecuente la adaptación a suelos salinos, como es el caso de *M. altissimus*, *M. dentatus*, *M. messanensis* y *M. officinalis* (Tutin et al., 1968).

III.- CARACTERIZACION DE LAS POBLACIONES EN CONDICIONES NATURALES

Melilotus segetalis se encuentra frecuentemente en todo el territorio de Andalucía Occidental, principalmente el sur del Río Guadalquivir. Habita sobre suelos encharcados arcillosos y sobre calizas.

Se han muestreado poblaciones en hábitats contrastados: suelos sobre calizas en sierras, frente a suelos arcillosos salinos en marismas. En cada población se han estimado parámetros individuales morfológicos y fisiológicos.

III.1.- MATERIAL Y METODOS

III.1.1.- AREA DE ESTUDIO

El estudio ha sido realizado en el suroeste de España representando dos zonas de características ecológicas contrastadas. Se eligieron tres poblaciones de *M. segetalis* sobre calizas en la Serranía de Grazalema (CORTES en Málaga, GRAZALEMA y ZAHARA en Cádiz) y tres sobre suelos salinos de marismas, de ellas dos en el estuario del Guadalquivir (DOÑANA y TREBUJENA) y una en La Bahía de Cádiz (SANCTI-PETRI, en adelante S-PETRI)(Fig. III.1).

III.1.1.1.- Marisma del Guadalquivir

La Marisma (Fig. III.1) se ha originado por el aporte de materiales realizado por el río Guadalquivir en el gran estuario de su desembocadura. La formación de una barra arenosa fue cerrando el estuario, originando un lago, que con el tiempo se fue colmatando, debido a las mareas, que

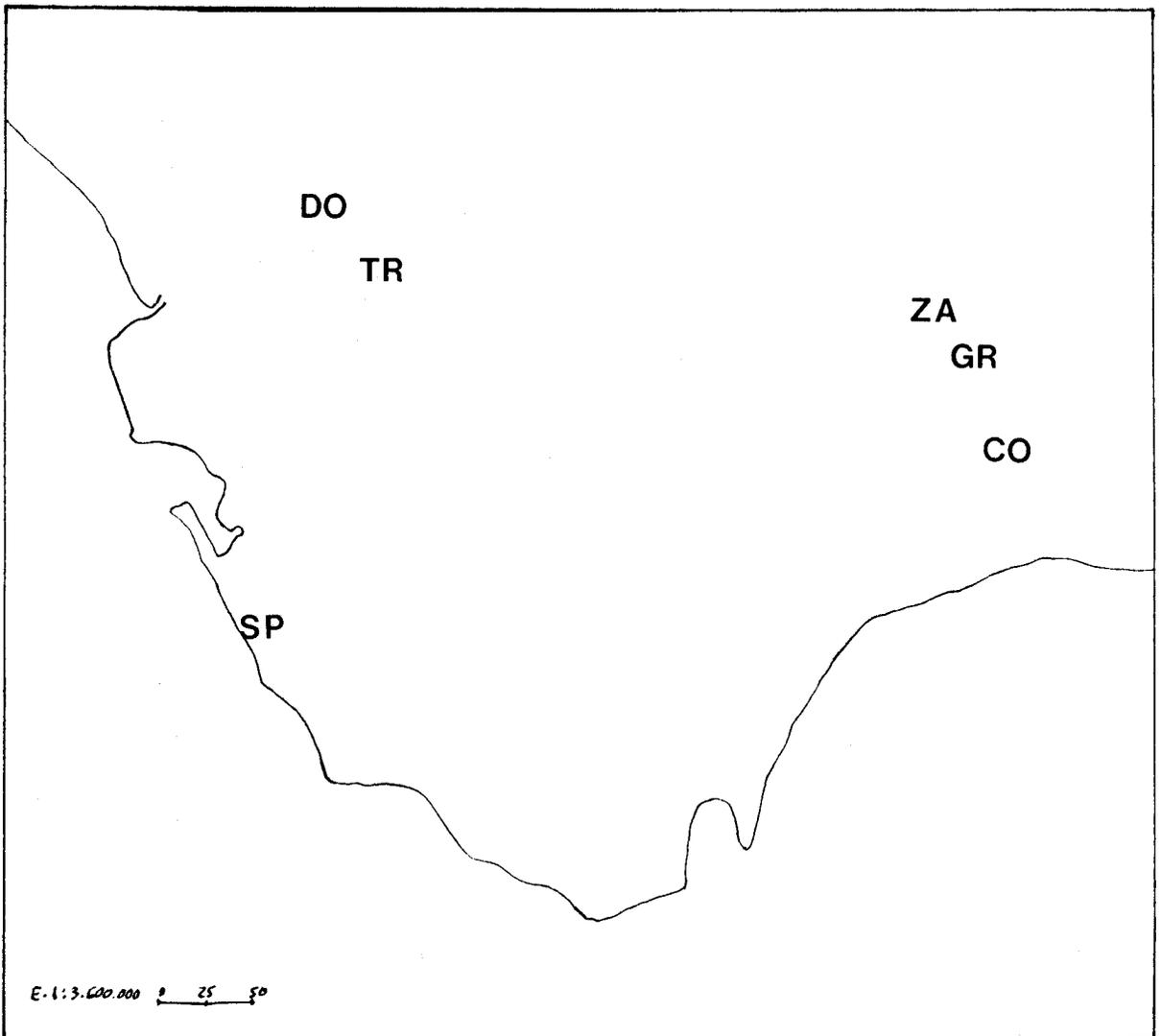
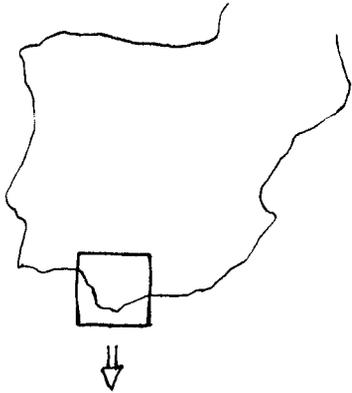


FIG. III.1.- Mapa de localización de las áreas donde habitan las poblaciones de *Melilotus segetalis* estudiadas. CO=Cortes, DO=Doñana, GR=Grazalema, SP=Sancti-Petri, TR=Trebujena, ZA=Zahara.

frenaban la velocidad del río y producían la deposición de materiales finos (limos y arcillas). Posteriormente, estos terrenos quedaron emergidos, resultando una gran llanura de relieve uniforme, con una altura media de 3.6 m sobre el nivel del mar y una pendiente media de 0.01% (García, 1993).

El agua salada del estuario, al interactuar con las arcillas aportadas por el río, determinaría la formación de sales sódicas. Los suelos se encuentran en general poco evolucionados (perfil AC), son pesados, calcáreos y salino-alcalinos. En los extractos de saturación predominan los cloruros, sodio, magnesio, calcio y sulfatos (García, 1993).

El clima es en general seco-subhúmedo (Rivas Martínez, 1983), con una precipitación anual media de 600 mm y una temperatura anual media de 18°C. La ETP potencial se estima en 800-1100 mm/año y la real (ETR) oscila entre 450-500 mm/año (Marañón y cols., 1988).

En la actualidad, un 80% de la Marisma ha sido transformada totalmente, comenzando la colonización de la zona en 1963. Con la ejecución del Canal del Bajo Guadalquivir y la colocación de drenaje, fue posible la puesta en riego de zonas situadas en la margen izquierda del río. La zona situada en la margen derecha comenzó a ser transformada en 1969, mediante el establecimiento de regadíos con aguas subterráneas. De la zona no transformada, la mayor parte queda incluida en el Parque Nacional de Doñana (Marañón y cols. 1989).

III.1.1.2.- Marisma del Iro

La Marisma del río Iro o Caño de Sancti-Petri se enclava en la Bahía de Cádiz, en la margen izquierda de la desembocadura del caño, antiguo brazo del río Guadalete y se apoya en terrenos pliocenos. Su formación exigió dos condiciones geomorfológicas: Por un lado, la apertura al mar, es decir, que no existiera obstáculo al desarrollo del oleaje hasta su orilla. Por otro lado, una componente dinámica del mar procedente del Oeste o del Suroeste, que ocurría hace unos diez mil años, el continuo aporte de materiales marinos y fluviales, así como la pérdida de torrencialidad de las corrientes continentales y el rechazo de la onda de marea, debido a la situación de las barras arenosas, han unido sus efectos para formar el complejo marismeño del Iro. Actualmente la mayoría de esta marisma se encuentra transformada en salinas, aunque cerca de la desembocadura se conservan retazos de marisma natural. Los suelos son calcáreos y salino-sódicos.

El clima es mediterráneo semihúmedo de invierno templado, con temperaturas medias comprendidas entre 10 y 12°C y precipitaciones de 500-600mm anuales (Fernández-Palacios, 1988).

III.1.1.3.- Sierra de Grazalema

La Serranía de Grazalema (Fig. III.1) está integrada en el Parque Natural que lleva su nombre. Limita al Norte y al Oeste por la Campiña Alta, al Este por la Serranía de Ronda, en la provincia de Málaga, y al Sur por la Comarca de

Algeciras. Ocupa una superficie basal de 700 km² sensiblemente aumentada por lo plegado y abrupto del paisaje.

La geología es de una composición eminentemente caliza, rocosa, con numerosas elevaciones y sierras, contrastando con la llana y margosa Campiña gaditana y el límite septentrional de la Comarca de Algeciras, con un claro predominio de areniscas silíceas. La naturaleza de las rocas calizas y las intensas precipitaciones a las que están sometidas ponen en marcha procesos cársticos en diversas zonas de la Serranía (Aparicio *et al.* 1987).

Las altitudes varían entre los 500 a los 1650 m, con clima subhúmedo a hiperhúmedo (Rivas Martínez, 1983), y precipitaciones anuales desde 600-1000 mm hasta más de 2200 mm. La temperatura media anual es de 15.4 °C y la ETP potencial 859 mm/año.

III.1.2.- ANALISIS DE SUELOS

En cada localidad se tomaron muestras del horizonte superficial de suelo (15 cm de profundidad) para su análisis químico.

La determinación de la conductividad eléctrica, pH o contenido en sales solubles, se efectuó de forma directa en un extracto acuoso que se obtuvo de la muestra de suelo previamente secada al aire y tamizada a través de malla de 2 mm.

A 100 gramos de suelo secado al aire y tamizado, se le añadieron 250 ml de agua desionizada. La suspensión se agitó durante 8 horas y se dejó reposar durante media hora. El

extracto acuoso se obtuvo por filtración de la suspensión (Richards, 1954).

III.1.2.1.- Determinación del pH

El pH es un parámetro de gran utilidad en el estudio de un suelo, ya que nos sirve de referencia para conocer las interacciones de los elementos químicos utilizados en la nutrición vegetal. El pH junto a otros parámetros nos sirve para definir las características de un suelo salino.

Se realizó la determinación del pH mediante un pHmetro Crison, modelo digilab 517 y electrodo combinado de vidrio calomelano, siguiendo las instrucciones del U.S.S.L. (Richards, 1954).

III.1.2.2.- Conductividad eléctrica

Al utilizar un extracto acuoso, la determinación de la conductividad se ve afectada por el tipo de sales presentes en el suelo (Wadleigh y cols, 1951), ya que si éstas son de una solubilidad relativamente baja, los resultados se ven afectados en proporción a la cantidad de agua añadida al extracto.

Se determinó la conductividad eléctrica mediante conductímetro Crison 522 según las normas del U.S.S.L. (Richards, 1954).

III.1.2.3.- Determinación de sodio y potasio

La determinación de sodio se efectuó comparando la lectura en el fotómetro de llama del extracto acuoso de suelo

respecto a una curva patrón, previamente preparada con una solución madre de cloruro sódico.

Las lecturas se realizaron en un fotómetro de llama Scharlav Science, realizándose la interpolación de las mismas en la curva de calibrado mediante el programa informático Interpol (García, 1989).

Para la determinación del potasio se siguió un método similar al anterior. Los resultados obtenidos para ambas cationes quedan expresados en meq/l.

III.1.2.4.- Determinación de calcio y magnesio

Se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica (Pinta et al., 1969 y 1973). Para su determinación se tomó del extracto problema una alícuota de 1 a 10 ml, según las características de la muestra, a la que se le añadió 1 ml de solución de lantano al 3% en medio clorhídrico, para evitar las interferencias producidas por Si, P, Al o Fe (Pinta, 1971). Por último se llevó a volumen de 10 ml con agua desionizada y se efectuó la lectura en un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer, modelo 1100-B. Los resultados quedan expresados en meq/l.

III.1.2.5.- Determinación de cloruros

Para la determinación de los cloruros existentes en el sustrato se empleó el método de Florence (1971). Se tomó una alícuota que contenía menos de 50 microgramos de cloruro y se llevó a un matraz aforado de 25 ml, añadiéndose a continuación 2 ml de reactivo nitrato férrico y 2 ml de

tiocianato de mercurio y llevándose a volumen con agua desionizada. Pasados 5 minutos se realizó la lectura de la absorbancia a 460 nm, comparándose con una curva de calibrado preparada a partir de una solución de cloruro de 10 ppm. La lectura se realizó en un espectrofotómetro visible Beckman D.U. 65.

III.1.2.6.- Determinación de sulfatos

La determinación se realizó en el extracto acuoso, según el método de Bardsley & Lancaster (1965). Previamente se preparó una curva patrón de azufre, disolviendo 1.088 g. de sulfato potásico previamente secado a 105°C, en agua y llevando a volumen de 500 ml en matraz aforado. Esta solución contiene 400 ppm de azufre, de ella se tomaron 0, 1, 2, 3, 4, y 5 ml en matraces de 100ml. Se añade 1 ml de ClH concentrado y se enrasó.

Para la lectura mediante turbidometría se tomaron 10 ml del problema y de las soluciones de la curva patrón en matraces de 50 ml. Se añadieron 1 ml de solución de goma acacia y 1 ml de ClH 6N. Se agitó, añadiendo 0.5 g. de cristales de $\text{Cl}_2\text{Ba} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y se dejó el matraz en reposo 1 minuto. Después se agitó suavemente hasta que los cristales se disolvieron se dejó en reposo 15 minutos y después se midió en colorímetro a 420 nm agitando el contenido de cada matraz antes de verterlo en la cubeta del espectrofotómetro visible Beckman DU 65.

La interpolación de las lecturas frente a la curva patrón se efectuó mediante el programa informático Interpol

(García, 1989). Los resultados se expresaron en meq/l.

III.1.3.- CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS

En cada población se recolectaron 30 plantas, elegidas al azar y que estaban en floración, durante el mes de abril de 1991.

III.1.3.1.- Aspectos Vegetativos

Se tomaron las siguientes medidas vegetativas de cada planta:

1. Altura de la planta, desde el inicio del tallo. La longitud se expresa en cm.
2. Anchura de la planta, expresada en cm.
3. Número de ramificaciones que presenta, considerando las ramificaciones primarias y contando después las ramificaciones secundarias de una de las ramas principales.
4. Longitud y anchura del foliolo mayor. Ambas medidas se expresan en mm.

III.1.3.2.- Aspectos Reproductores

Se tuvieron en cuenta los siguientes aspectos reproductores:

1. Número de racimos florales de cada planta. Se

separaron todas las inflorescencias y se contaron.

2. Longitud máxima de la corola. Se eligió una flor de la zona media de un racimo por planta. Las medidas se expresan en mm.

3. Número de granos de polen. Se utilizó un botón floral de cada planta y 3-5 plantas por población. En cada botón se separaron todas las anteras y se trituraron con varilla de vidrio, con objeto de liberar todos los granos de polen. A continuación se añadieron 1.5 ml de agua con detergente, para evitar la aglomeración de los granos de polen. Posteriormente, sin dejar de remover la suspensión, se tomaron 10 alícuotas de 5 μ l cada una, que se extendieron sobre un portaobjetos para contar los granos de polen de cada alícuota al microscopio óptico (x100). La media aritmética de las 10 alícuotas se extrapola a toda la suspensión. Los resultados se expresan en número de granos de polen por flor.

4. Peso de semillas. Se pesaron individualmente 30 semillas de cada población. Para ello se recolectaron gran cantidad de frutos en los meses de junio-julio, entre los cuales se eligieron 30 al azar y se escarificaron mediante lijado suave. No se pudieron recolectar frutos de TREBUJENA debido al intenso pastoreo sufrido en la localidad. Los resultados se expresan en gramos (diezmilésimas de precisión).

5. Porcentaje de dispermia. Se seleccionaron al azar 100 frutos de cada una de las cinco poblaciones anteriores y a continuación se procedió a su escarificación y al conteo de semillas de cada fruto (2 como máximo). Los resultados se expresan en porcentaje de frutos dispermos.

III.1.3.3.- Distribución de la biomasa

Las 30 plantas de cada población fueron divididas en: tallos, hojas y racimos florales. Posteriormente cada fracción fue secada en estufa a 70°C, durante un período de 48 horas, tiempo en que el peso alcanzó un valor constante. Una vez secas las muestras fueron pesadas en balanza de precisión (diezmilésimas de g. de precisión). La parte subterránea no fue incluida en el estudio debido a la imposibilidad de obtenerla completa. Los resultados se expresan en porcentaje sobre el peso total de la parte aérea de la planta y como pesos absolutos.

III.1.4.- COMPOSICION QUIMICA

III.1.4.1- Mineralización de las muestras

Las muestras secas de planta fueron molidas y se dejaron un mínimo de 48 horas en estufa a 70°C hasta quedar completamente secas. Posteriormente se pesaron en cápsula de porcelana (o bien de platino, si el peso fuese muy pequeño). Después se quemaron en horno eléctrico hasta su completa incineración y posteriormente se calcinaron en el horno a una temperatura de 500°C, hasta obtener cenizas blancas o grises, proceso que requiere un período de 2 horas.

Una vez calcinadas, las muestras fueron humedecidas con agua desionizada y se añadió 2 ml de HCl concentrado. Posteriormente se calentaron en baño de arena durante un minuto, a partir de la aparición de humo blanco.

Por último se procedió al filtrado con papel de filtro Albet 242, llevándose a volumen de 50 ml con agua desionizada. En los extractos obtenidos se realizaron las determinaciones de macro y micronutrientes como se detalla seguidamente.

III.1.4.2.- Determinación del fósforo

El método para la determinación del fósforo se basa en la formación del complejo fosfato-vanadato-molibdato para su determinación colorimétrica (Pinta et al., 1969). Los resultados obtenidos se expresan en porcentaje de materia seca.

Del extracto problema se tomó una alícuota de 5 a 10 ml (dependiendo de las características de las muestras), a continuación se añadieron 10 ml de reactivo vanadato-molibdato, y se llevó a volumen de 50 ml con agua desionizada.

Se precisa un tiempo mínimo de media hora para el desarrollo total del color, transcurrido el cual se realiza la determinación espectrofotométrica del fósforo, frente a una curva patrón previamente preparada, en las mismas condiciones que los extractos problemas a partir de una solución madre de fosfato potásico. Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro visible Beckman D.U. 65.

La interpolación de las lecturas frente a la curva patrón se efectuó mediante una regresión lineal.

III.1.4.3.- Determinación de sodio y potasio

Del extracto problema se tomó una alícuota de 5 ml de volumen y se llevó a 50 ml con agua desionizada. Efectuadas las diluciones de las muestras problema, se midieron directamente, tanto sodio como potasio en un fotómetro de llama Scharlav Science, frente a sus respectivas curvas patrón, previamente preparadas en las mismas condiciones que los problemas, a partir de sus soluciones madres comerciales. Los resultados obtenidos se expresan en porcentaje de materia seca.

III.1.4.4.- Determinación de calcio y magnesio

Se tomó del extracto problema una alícuota de 1 ml y se llevó a volumen de 50 ml con agua desionizada. A continuación se tomaron 9 ml de esta dilución y se le añadió un ml de una solución de lantano al 3% en medio clorhídrico, que evita las interferencias producidas por Si, P, Al y Fe (Pinta, 1971). Las concentraciones se obtuvieron mediante lectura en un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer 1100-B, frente a la correspondiente curva patrón comercial. Los resultados son expresados en porcentaje de materia seca.

III.1.4.5.- Determinación de micronutrientes

La determinación de estos elementos se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica, utilizando la

lectura directa de los extractos problema en el aparato y comparando las lecturas con sus correspondientes curvas patrones, preparadas en las mismas condiciones que los problemas, a partir de soluciones madres comerciales. Los resultados obtenidos se expresan en partes por millón de materia seca.

III.1.4.6- Determinación de cloruros

Este método requiere con la calcinación de la muestra en medio básico, con objeto de evitar las interferencias de iones cloruro. Se pesaron las muestras en cápsulas de porcelana, añadiéndole óxido de calcio en cantidad igual a la mitad de la muestra. A continuación se añadió agua desionizada en suficiente cantidad para formar una pasta fina, se calentó en baño de arena, se agitó y cuando se ha desecado se pasa al horno, donde deberá permanecer durante un período de 90 minutos a una temperatura de 550°C.

Una vez sacadas del horno las muestras se dejan enfriar y se les añadió 15 ml de agua bidestilada caliente, agitando cuidadosamente con una varilla de vidrio. En el baño de arena se calentaron durante unos minutos y se filtraron con papel Watman nº 2. Por último se llevaron a volumen de 50 ml.

Para realizar la colorimetría se tomó una alícuota de la solución problema de volumen variable, según el peso de la muestra y de las características de la misma y se llevó a un matraz aforado de 25 ml. Se le añadió 2 ml de nitrato férrico y 2 ml de tiocianato de mercurio por este orden, agitando y llevando a volumen de 25 ml.

La medición se efectuó en espectrofotómetro visible Beckman DU. 65 frente a la curva de calibrado preparada al mismo tiempo que los problemas con una solución estándar de cloruro. Los resultados se expresan en porcentaje de cloruros sobre materia seca.

Este método del tiocianato de mercurio (Florence y Farrar, 1971), se basa en la reacción de los iones cloruro con el tiocianato de mercurio, formándose el ión complejo cloromercurato (II), liberándose el ión tiocianato, que reacciona con el ión férrico, dando el color característico. Aunque el método es ligeramente menos sensible que otros, es mucho más fiable y tolera cambios razonables de las condiciones experimentales, siendo bastante más exacto para bajas concentraciones de cloruros.

III.1.4.7.- Determinación de nitrógeno

Para la determinación de nitrógeno ha sido aplicado el método Kjeldahl. Esta metodología no incluye el análisis de determinadas formas de nitrógeno, como NO_3^- y NO_2^- , el nitrógeno obtenido es fundamentalmente proteico, además de las fracciones de nitrógeno ureico y nitrógeno amoniacal, que puede llevar la planta.

Se pesaron 0.20 gramos de muestra seca y molida, se le añadió 0.50 gramos de catalizador de Selenio y 5 ml de H_2SO_4 concentrado. A continuación se calentó progresivamente hasta alcanzar una temperatura de $380 \text{ }^\circ\text{C}$, después se enfrió con agua destilada. Se filtró con papel Watman nº 40 y se llevó a volumen de 25 ml con agua desionizada.

La fracción de nitrógeno orgánico se determinó colorimétricamente en un autoanalizador Technicon, según la reacción de Berthelot en la que se forma un complejo de azul indofenol cuando el NH_4 reacciona con el fenato sódico tras la adición de NaClO , expresándose los resultados en tanto por ciento de materia seca.

III.1.5.- TRATAMIENTO ESTADISTICO

Para comprobar si las poblaciones difieren significativamente en las características vegetativas, reproductoras y químicas medidas se aplicó un análisis de varianza de un factor (población). Previamente fue aplicada una transformación logarítmica en algunas variables, para ajustar los datos a una distribución normal. A los datos expresados en porcentajes se les efectuó una transformación angular (Sokal y Rohlf, 1981).

Para las comparaciones múltiples entre las seis (o cinco en algunos casos) poblaciones, se utilizó el test de la menor diferencia significativa (L.S.D.) para un nivel de confianza del 95% (Steel y Torrie, 1980). Para su realización se utilizó el paquete estadístico STATGRAPHICS 6.2 (STSC, 1986).

III.2.- RESULTADOS

III.2.1.- ANALISIS DE SUELOS

En la tabla III.1 se muestran las características edáficas de las seis localidades donde se recolectaron las poblaciones de *M. segetalis*.

TABLA III.1.- Características de los suelos donde habitan las poblaciones de *Melilotus segetalis* estudiadas.

| Población | CE | pH | Na | Cl | Ca | Mg | K | SO ₄ |
|-----------|--------|------|---------|-------|-------|------|------|-----------------|
| | (ds/m) | | (meq/l) | | | | | |
| CORTES | 0.26 | 8.15 | 1.76 | 3.06 | 1.78 | 0.41 | 0.18 | 0.26 |
| GRAZALEMA | 0.34 | 7.97 | 1.07 | 3.04 | 2.65 | 0.45 | 0.16 | 0.38 |
| ZAHARA | 0.35 | 7.89 | 3.26 | 2.55 | 3.24 | 0.49 | 0.09 | 0.53 |
| DORANA | 4.32 | 8.07 | 28.97 | 33.28 | 13.50 | 8.97 | 0.45 | 4.60 |
| S-PETRI | 3.28 | 7.95 | 20.18 | 42.81 | 8.25 | 4.33 | 1.88 | 7.94 |
| TREBUJENA | 5.06 | 8.00 | 33.00 | 19.06 | 9.88 | 7.17 | 0.51 | 10.74 |

Los suelos son básicos (pH cercano a 8), sin embargo la conductividad eléctrica es claramente inferior en los suelos de sierra (CORTES=0,26, GRAZALEMA=0,34, ZAHARA=0,35 dS/m) que en los de marisma (DOÑANA=4,32, S-PETRI=3,28, TREBUJENA=5,06 dS/m) que tienen carácter salino. Las concentraciones de sales, especialmente de cloruro y sodio, son bastante más altas en los suelos de DOÑANA, S-Petri y TREBUJENA.

III.2.2.- CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS Y PRODUCTIVAS

-Altura de la planta

Las diferencias en las alturas medias de las plantas entre las poblaciones son significativas ($F=82,441$, g.l.=5, $p<0,0001$). El test de comparaciones múltiples separa a las poblaciones entre sí: la población de Sancti-Petri es la que menor altura alcanza (35,6 cm), seguida de las plantas de TREBUJENA y ZAHARA (63,4 cm y 67.3 cm). Las plantas más altas son las de DOÑANA, CORTES y GRAZALEMA (79.3, 86,8 y 97,0 cm respectivamente) (Tabla III.2).

En la figura III.2. se pueden observar las diferencias en la altura media de las plantas de las seis poblaciones. Las plantas que viven sobre suelos básicos no salinos (CORTES y GRAZALEMA) alcanzan en general mayor desarrollo que las procedentes de suelos salinos (DOÑANA, SANCTI-PETRI Y TREBUJENA), como excepción, el menor porte relativo de las plantas de ZAHARA, población de sierra, que puede deberse a una reducción causada por el pastoreo.

TABLE III.2.- Medias \pm errores estándar de las características vegetativas correspondientes a seis poblaciones de *M. segetalis*. n=30. NS= ecotipo no salino, S= ecotipo salino. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tipo | Planta | | | Foliolo | |
|--------------|------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | | Altura | Anchura | Ramas | Longitud | Anchura |
| | | (cm) | (cm) | (n ^o /planta) | (mm) | (mm) |
| CORTES | NS | 86.8 \pm 2.1 cd | 25.4 \pm 1.6 c | 7.8 \pm 0.9 bc | 34.6 \pm 0.5 d | 23.5 \pm 0.4 e |
| GRAZALEMA | NS | 97.0 \pm 3.7 d | 31.1 \pm 1.9 c | 9.8 \pm 0.7 c | 33.6 \pm 1.1 d | 21.7 \pm 0.6 de |
| ZAHARA | NS | 67.3 \pm 3.7 b | 20.3 \pm 1.9 ab | 7.5 \pm 0.6 bc | 30.7 \pm 0.7 d | 19.9 \pm 0.8 cd |
| DONANA | S | 79.3 \pm 2.9 c | 17.3 \pm 1.1 a | 4.3 \pm 0.2 a | 26.0 \pm 0.7 c | 17.5 \pm 0.7 bc |
| SANCTI-PETRI | S | 35.6 \pm 1.7 a | 19.9 \pm 1.9 ab | 7.8 \pm 0.8 bc | 17.5 \pm 0.8 a | 9.3 \pm 0.5 a |
| TREBUJENA | S | 63.4 \pm 1.5 b | 16.8 \pm 1.1 a | 6.5 \pm 0.4 b | 22.8 \pm 0.8 b | 15.5 \pm 0.6 b |
| | | F=82,441 g.l.=5 p<0,0001 | F=10,867 g.l.=5 p<0,0001 | F=12,637 g.l.=5 p<0,0001 | F=76,387 g.l.=5 p<0,0001 | F=50,718 g.l.=5 p<0,0001 |

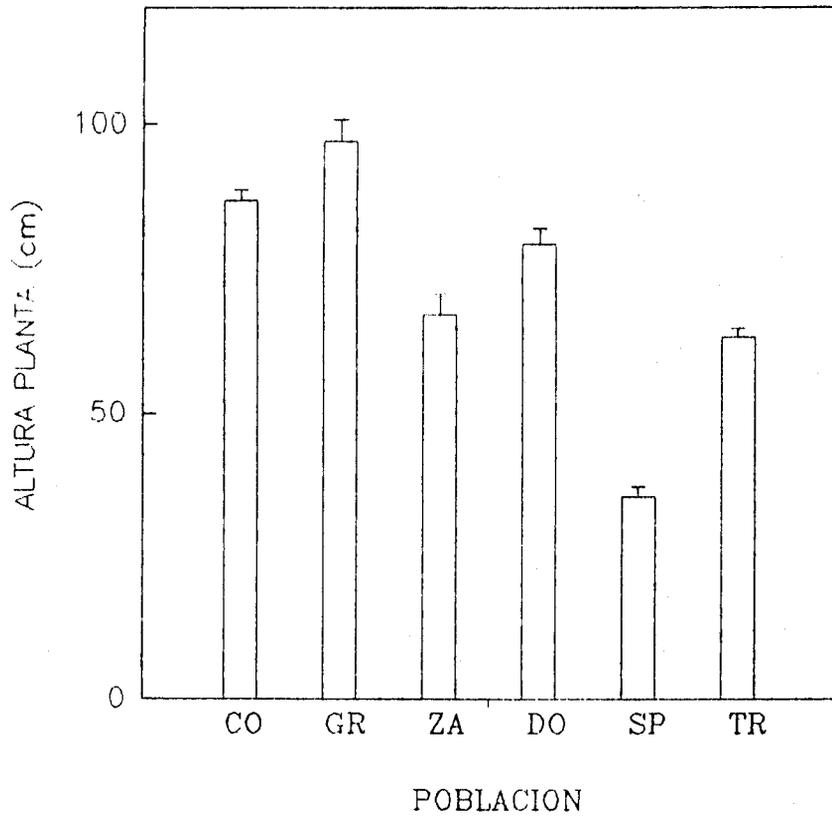


FIG. III.2.- Altura de la planta (media \pm errores estandar) de seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, TR= Trebujena, ZA= Zahara.

-Anchura de la planta

Aparecen diferencias significativas entre poblaciones en la anchura de la planta ($F=10,867$, g.l.=5, $p<0,0001$). El test de comparaciones múltiples muestra una separación clara de las poblaciones en dos grupos; Las plantas que más se desarrollan lateralmente son las de GRAZALEMA (31,1 cm) y CORTES (25,4 cm), mientras que las otras cuatro poblaciones ocupan menos superficie por individuo (Tabla III.2 y Figura III.3).

Existe por tanto una diferencia entre los dos grupos de poblaciones también para este carácter. Las plantas de sierra (CORTES y GRAZALEMA) no sólo son más altas que las de marisma, sino también más anchas. ZAHARA se comporta de forma similar a la altura.

-Número de ramificaciones

Hay diferencias significativas en el grado de ramificación entre las poblaciones ($F=12,637$, g.l.=5, $p<0,0001$). Las comparaciones múltiples diferencian la población de DOÑANA como la menos ramificada (4,3 ramas/planta), frente a GRAZALEMA con el mayor número de ramificaciones (9,8 ramas/planta). Las restantes cuatro poblaciones presentan un grado intermedio de ramificación (Tabla III.2).

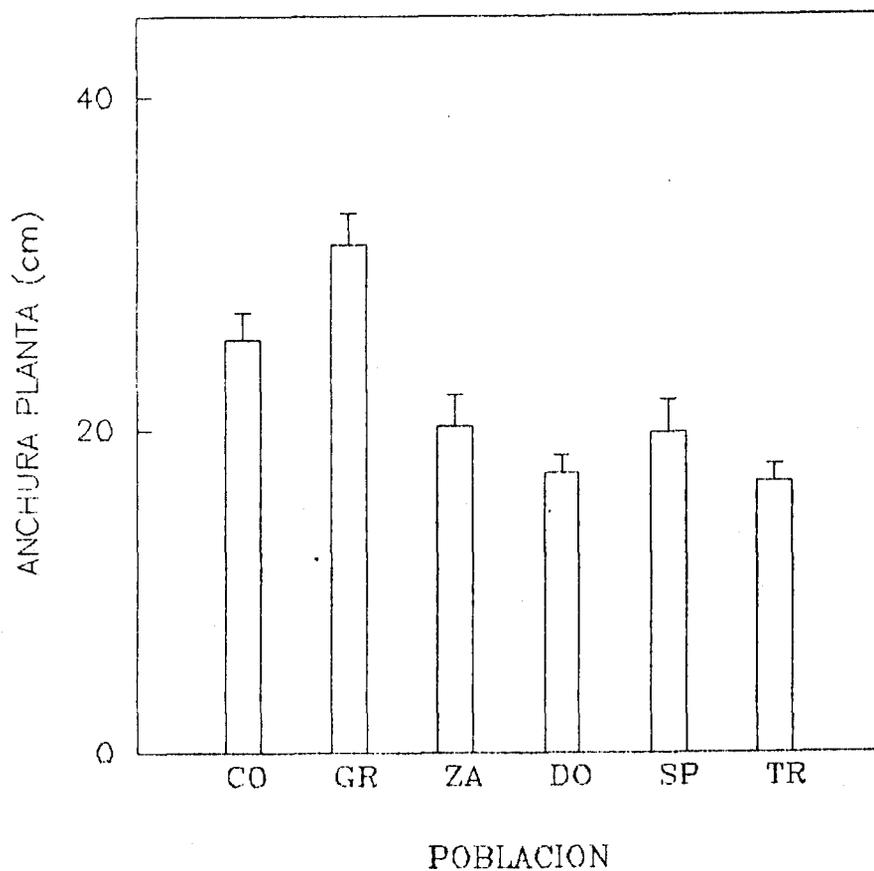


FIG. III.3.- Anchura de la planta (media \pm errores estándar) de seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, TR= Trebujena, ZA= Zahara.

-Longitud del foliolo mayor

El análisis de varianza muestra un comportamiento diferencial en la longitud del foliolo mayor, para las seis poblaciones ($F=76,386$, g.l.=5, $p<0,0001$). En la Tabla III.2 se muestra el resultado del test de comparaciones múltiples que diferencia las plantas de suelos salinos, con hojas más cortas, de las que viven sobre suelos básicos no salinos (Figura III.4).

-Anchura del foliolo mayor

Es igualmente significativa la diferencia en la anchura del foliolo mayor entre las poblaciones ($F=50,718$, g.l.=5, $p<0,0001$). El test de comparaciones múltiples confirma la separación entre los dos tipos de poblaciones: S-PETRI (marisma) con las hojas más estrechas (9,3 mm), frente a las de CORTES (sierra) que poseen las de mayor tamaño (23,5 mm), aunque para este carácter existe un solapamiento entre DONANA y ZAHARA (Tabla III.2 y Figura III.5).

-Longitud de la corola

Las poblaciones son significativamente diferentes respecto a la longitud de la corola ($F=133,701$, g.l.=5, $p<0,0001$). Las poblaciones de suelos salinos tienen corolas más pequeñas que las de sierra: la de flor más pequeña es la población de S-PETRI (0,6 cm), frente a las corolas mayores que aparecen en ZAHARA y CORTES (0,69 cm) (ver Tabla III.3 y Figura III.6).

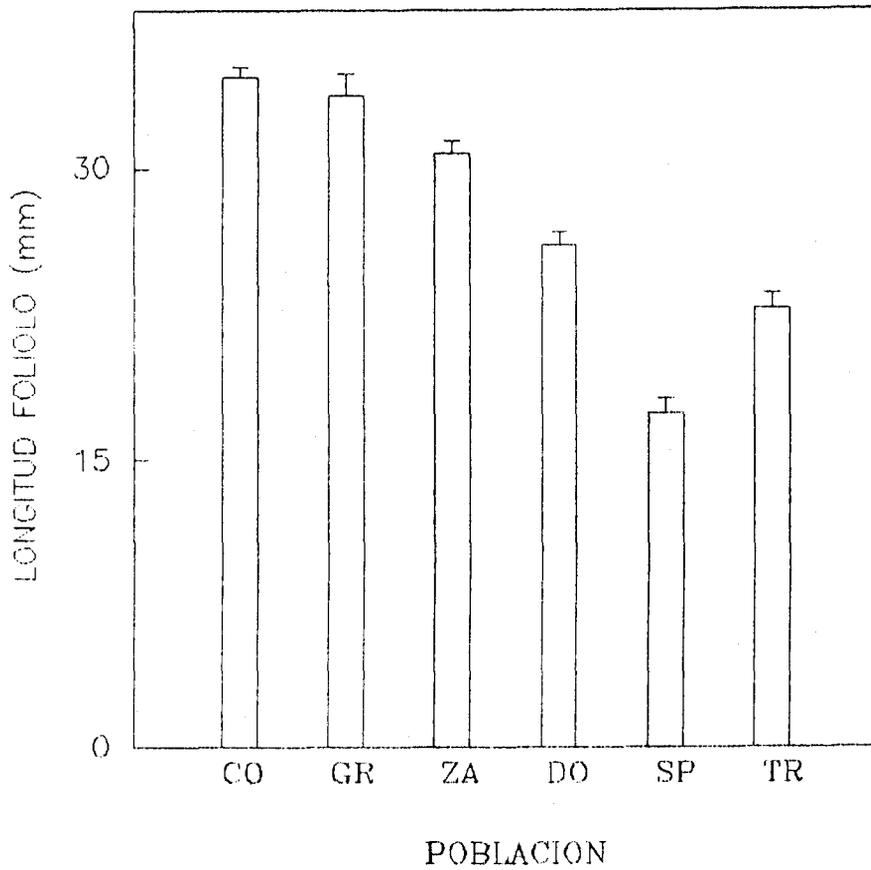


FIG. III.4.- Longitud del foliolo (media \pm errores estándar) de seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, TR= Trebujena, ZA= Zahara.

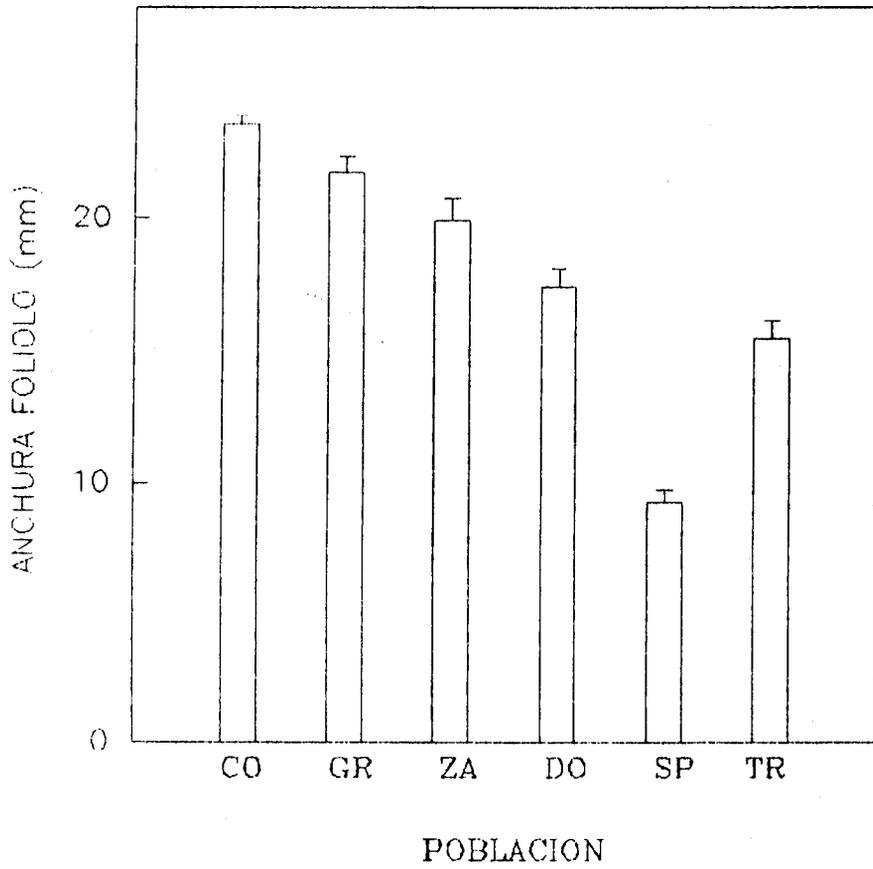


FIG. III.5.- Anchura del foliolo (media \pm errores estándar) de seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, TR= Trebujena, ZA= Zahara.

TABLE III.3.- Medias \pm errores estándar de las características reproductoras correspondientes a seis poblaciones de *M. segetalis*. n=30. NS= ecotipo no salino, S= ecotipo salino. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tipo | Long Corola (cm) | Nº Racimos (nº/planta) | Polen (nº granos/flor) | Peso Semilla (mg) | Dispermia (%) |
|--------------|------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|------------------|
| CORTES | NS | 0.7 \pm 0.0 d | 47.5 \pm 12.9 bc | 15810 \pm 207 bc | 5.4 \pm 0.3 a | 6 |
| GRAZALEMA | NS | 0.7 \pm 0.0 c | 102.6 \pm 18.1 d | 14475 \pm 177 b | 5.7 \pm 0.3 a | 8 |
| ZAHARA | NS | 0.7 \pm 0.0 cd | 53.2 \pm 13.7 cd | 17250 \pm 783 c | 5.6 \pm 0.2 a | 8 |
| DORANA | S | 0.6 \pm 0.0 ab | 15.5 \pm 1.1 a | 8424 \pm 168 a | 1.6 \pm 0.1 b | 4 |
| SANCTI-PETRI | S | 0.6 \pm 0.0 a | 67.4 \pm 15.0 cd | 7800 \pm 258 a | 1.7 \pm 0.1 b | 8 |
| TREBUJENA | S | 0.6 \pm 0.0 b | 29.3 \pm 3.6 bc | 7680 \pm 0.0 a | -- | -- |
| | | F=133,701 g.l.=5 p<0,0001 | F=8,329 g.l.=5 p<0,0001 | F=229,035 g.l.=5 p<0,0001 | F=15,419 g.l.=5 p<0,0001 | |

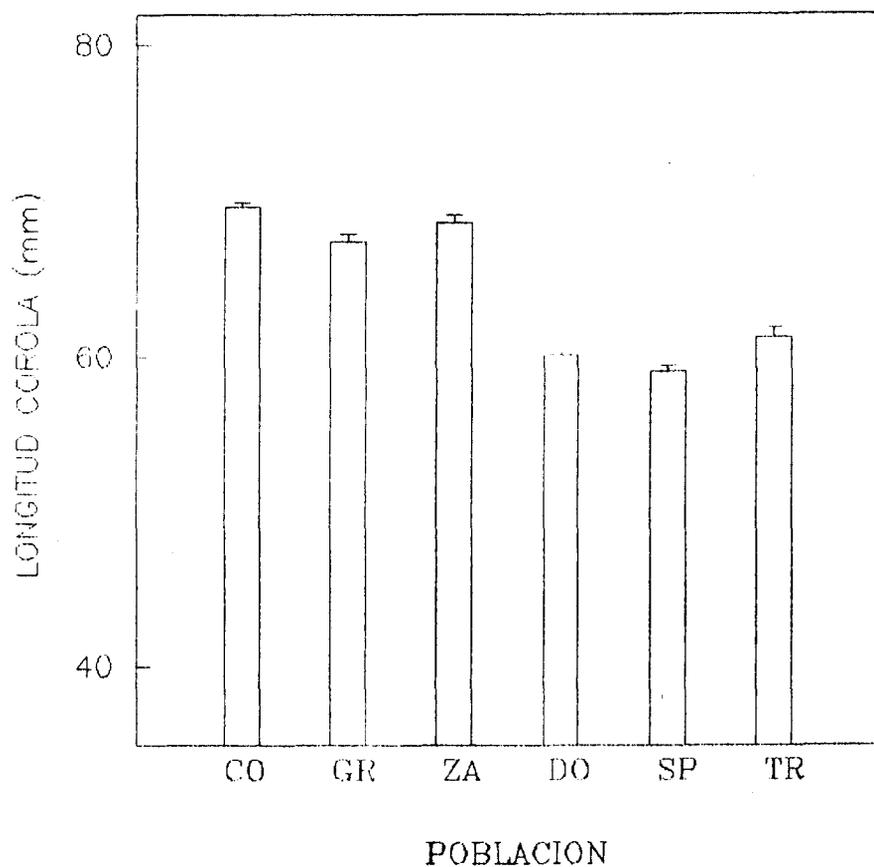


FIG. III.6.- Longitud de la corola (media \pm errores estándar) de seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, TR= Trebujena, ZA= Zahara.

-Número de racimos

Según el análisis de varianza las poblaciones difieren en el número de racimos florales por planta ($F=8,309$, g.l.=5, $p<0,0001$). Las plantas de DOÑANA y TREBUJENA son las que menos racimos florales poseen, mientras que las que más producen son las de GRAZALEMA. Las otras cuatro poblaciones tienen un número intermedio de racimos. (Tabla III.3).

-Número de granos de polen

La diferencia en el número de granos de polen por flor entre poblaciones es significativa ($F=229,035$, g.l.=5, $p<0,0001$). Las plantas de marismas presentan aproximadamente la mitad de granos de polen por flor que las de sierra (ver Tabla III.3 y Figura III.7).

-Peso de semillas

Existe diferencias significativas en el peso medio de la semilla de la poblaciones ($F=15,419$, g.l.=4, $p<0,0001$). Las semillas más pequeñas (menos de 2 mg) las tienen las plantas de S-PETRI y DOÑANA, mientras que las de ZAHARA, CORTES y GRAZALEMA son bastante mayores (más de 5 mg). Hay una diferencia clara entre las poblaciones de sierra y marisma (ver Tabla III.3 y Figura III.8).

-Porcentaje de dispermia

La proporción de frutos dispermos es baja en general (6-8 %) y no existen diferencias significativas entre las poblaciones (Tabla III.3).

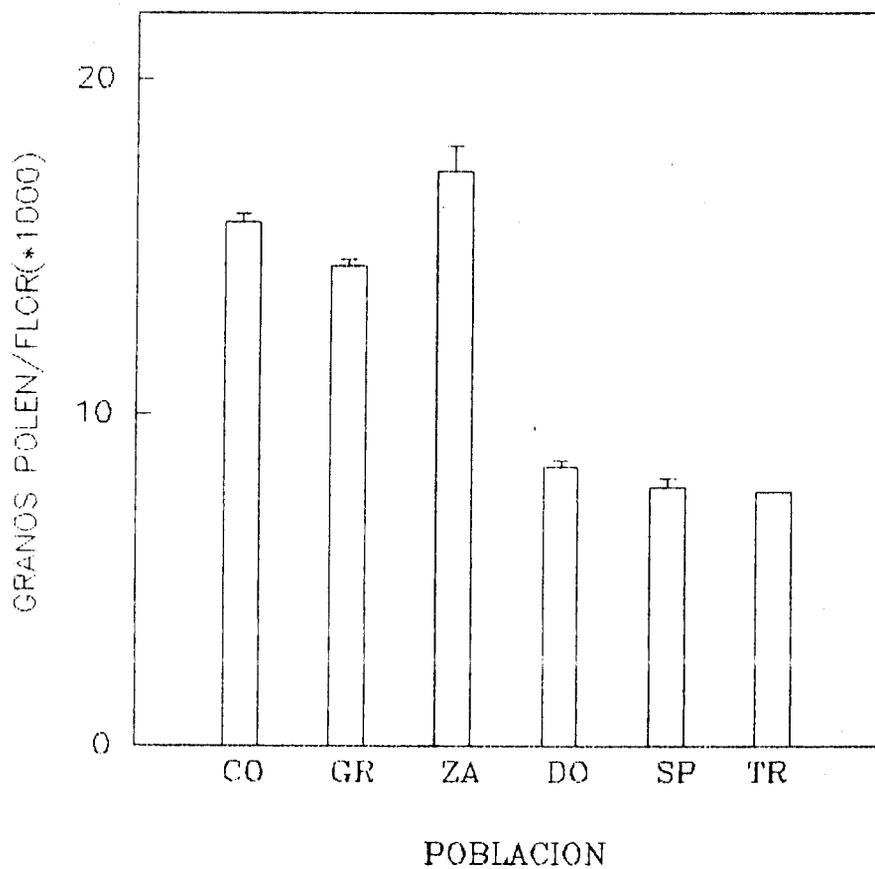


FIG. III.7.- Número de granos de polen (media \pm errores estándar) de seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. CO= Cortes, DO= Donana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, TR= Trebujena, ZA= Zahara.

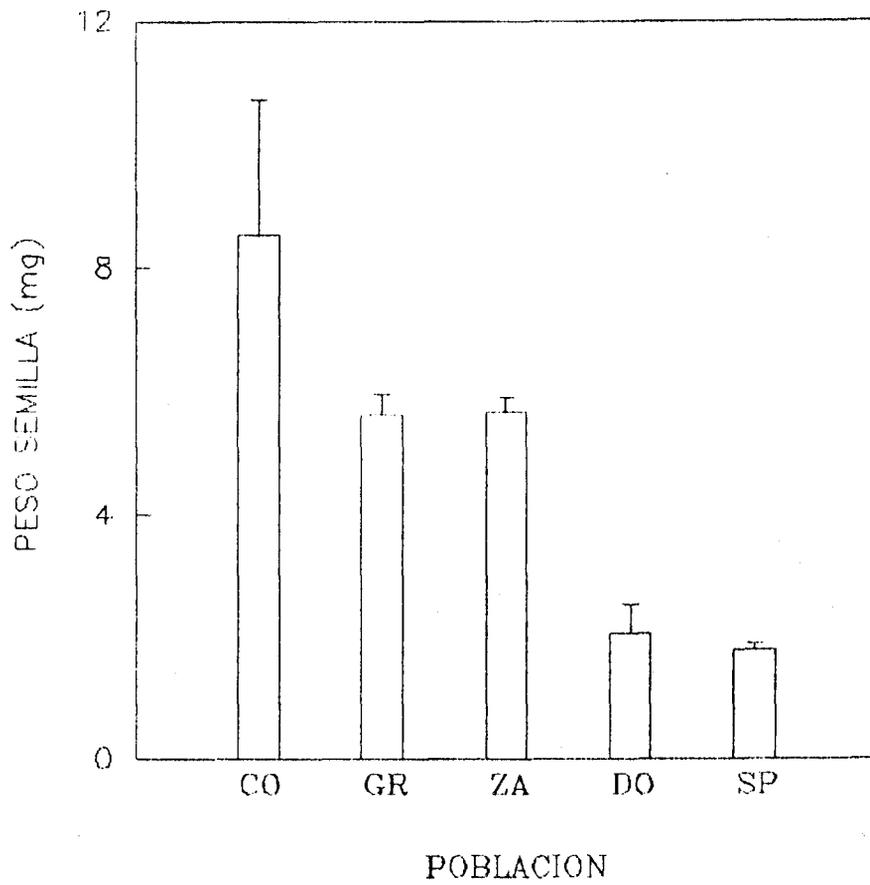


FIG. III.8.- Peso de semilla (media \pm errores estándar) de seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, ZA= Zahara.

-Peso total de la planta

Respecto al peso seco total las plantas difieren entre sí según los distintos lugares de procedencia ($F=44,683$, $g.l.=5$, $p<0,0001$). La tabla III.4 muestra que las plantas con mayor biomasa son las procedentes de la sierra (más de 7 g/planta), mientras que las de marisma son bastante menores (menos de 3 g/planta) (ver Figura III.9).

-Distribución de la biomasa

Es significativa la diferencia entre las poblaciones en la proporción de peso en tallos ($F=6,744$, $g.l.=5$, $p<0,0001$). El test de comparaciones múltiples diferencia la población de S-PETRI como la que menos biomasa invierte en los tallos (47,2%), frente a las de DOÑANA (64,3%). Las restantes poblaciones presentan valores intermedios. No existe por tanto separación entre ecotipos.

También aparecen diferencias significativas entre las poblaciones en la proporción de peso en hojas ($F=7,644$, $g.l.=5$, $p<0,0001$). Las plantas de ZAHARA son las que más hojas producen relativamente (31,9%), y las de DOÑANA las que menos biomasa invierten en hojas (22,2%). Se observa una tendencia a producir relativamente menos hojas en las plantas de suelos salinos.

En la tabla III.4 puede observarse una diferencia significativa entre las poblaciones para la proporción de peso en racimos ($F=17,886$, $g.l.=5$, $p<0,0001$). La población que menos biomasa invierte en racimos es CORTES (8,9%) y la que más, S-PETRI (28,1%). No existe una separación clara

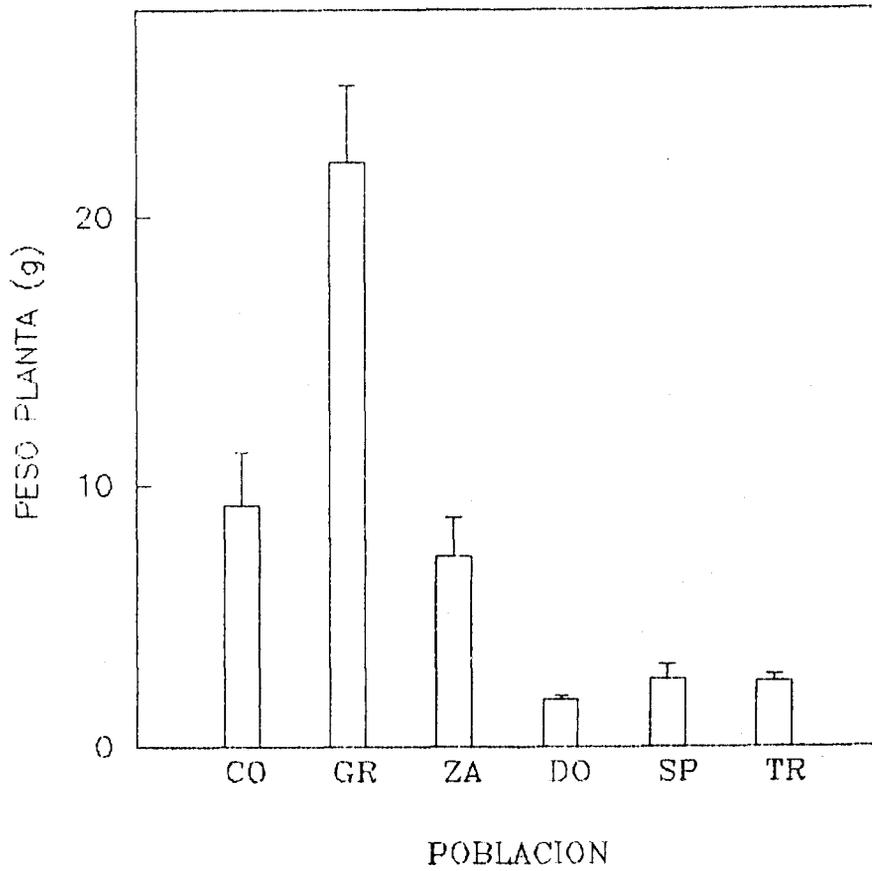


FIG. III.9.- Peso de la planta (media \pm errores estándar) de seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, TR= Trebujena, ZA= Zahara.

entre ecotipos (Tabla III.4).

En resumen, las plantas de suelos no salinos, alcanzan mayor desarrollo (altura, anchura y peso) que las de suelos salinos, y poseen folíolos más grandes. En las características reproductivas también aparecen diferencias importantes: corolas más grandes, semillas más pesadas y menor número de granos de polen en las poblaciones de sierra, frente a las de marisma.

III.2.3.- ACUMULACION DE ELEMENTOS MINERALES

-Sodio

En la tabla III.5 se muestran diferencias significativas ($F=26,75$, g.l.=5, $p<0,0001$) en la acumulación del sodio en los tallos entre las distintas poblaciones, pero sobre todo diferencia claramente las plantas de la sierra (CORTES=1,1%, GRAZALEMA=0,9%, ZAHARA=0,83%) de las de hábitats salinos (DOÑANA=2,5%, S-PETRI=1,3%, TREBUJENA=1,4%).

En las hojas se aprecia mejor esta diferencia, no sobrepasando las plantas procedentes de suelo no salino el 0,4%, en tanto que las de suelos salinos alcanzan desde 0,8% en el caso de S-PETRI, hasta 1,9% en DOÑANA.

Los racimos concentran menos sodio que las hojas y tallos y mantienen también la diferencia en cuanto al lugar de procedencia de las plantas (mayor en marisma que en sierra)(Figura III.10).

En todos los casos la población de DOÑANA es la que posee mayor acumulación de sodio en la parte aérea de la planta.

TABLA III.5.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de SODIO, expresadas en porcentaje de peso seco, en seis poblaciones de *M. segetalis*. n=30. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tallos | Hojas | Racimos |
|-----------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| CORTES | 1.12 \pm 0.10 a | 0.36 \pm 0.02 a | 0.30 \pm 0.03 a |
| GRAZALEMA | 0.89 \pm 0.03 b | 0.44 \pm 0.08 a | 0.29 \pm 0.02 a |
| ZAHARA | 0.83 \pm 0.16 b | 0.30 \pm 0.06 a | 0.26 \pm 0.02 a |
| DOÑANA | 2.46 \pm 0.37 d | 1.87 \pm 0.21 d | 0.81 \pm 0.08 c |
| S-PETRI | 1.31 \pm 0.13 c | 0.77 \pm 0.09 b | 0.59 \pm 0.02 b |
| TREBUJENA | 1.44 \pm 0.09 c | 1.34 \pm 0.14 c | 0.69 \pm 0.06 bc |
| | F=26,75 g.l.=5 p<0,0001 | F=39,99 g.l.=5 p<0,0001 | F=34,28 g.l.=5 p<0,0001 |

TABLA III.6.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de CLORURO, expresadas en porcentaje de peso seco, en seis poblaciones de *M. segetalis*. n=30. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tallos | Hojas | Racimos |
|-----------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| CORTES | 1.02 \pm 0.06 b | 0.58 \pm 0.11 a | 1.05 \pm 0.34 b |
| GRAZALEMA | 0.28 \pm 0.03 a | 0.33 \pm 0.12 a | 0.41 \pm 0.11 a |
| ZAHARA | 0.68 \pm 0.02 ab | 0.38 \pm 0.03 a | 0.96 \pm 0.02 b |
| DOÑANA | 5.90 \pm 2.45 e | 5.05 \pm 0.67 c | 2.30 \pm 0.71 c |
| S-PETRI | 3.98 \pm 0.59 cd | 1.58 \pm 0.86 ab | 2.20 \pm 2.51 c |
| TREBUJENA | 3.39 \pm 0.95 c | 1.93 \pm 1.04 bc | 2.50 \pm 1.03 c |
| | F=16,72 g.l.=5 p<0,0001 | F=8,09 g.l.=5 p=0,0015 | F=61,21 g.l.=5 p<0,0001 |

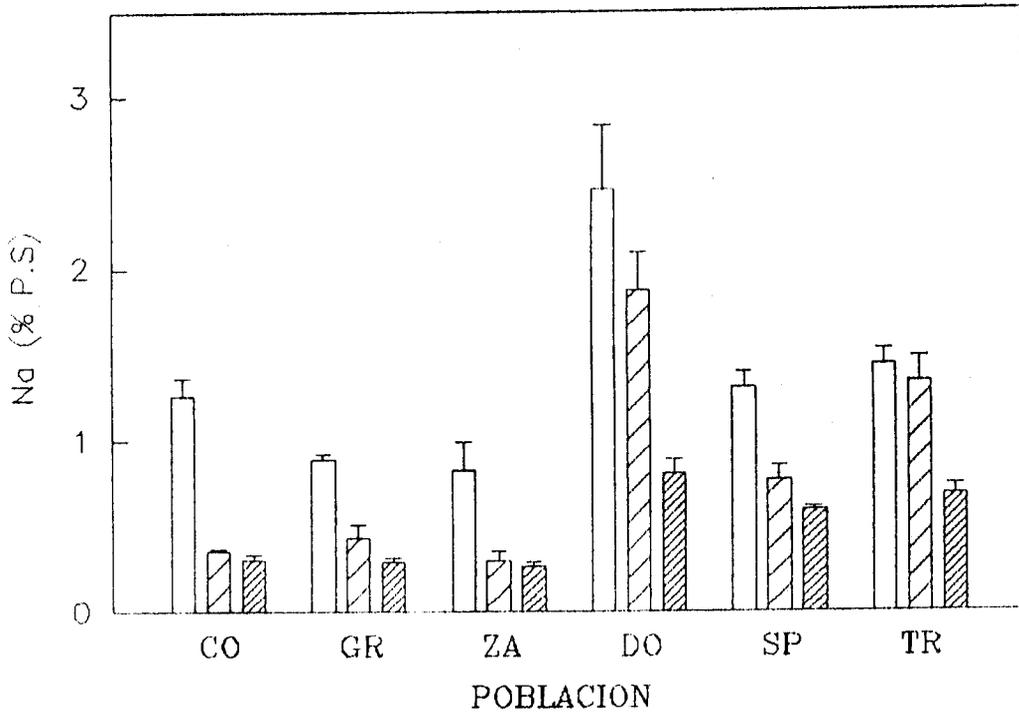


FIG III.10.- Concentraciones (medias \pm error estándar) de SODIO, expresadas en porcentaje de peso seco, en seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. Blanco=tallos, trama gruesa=hojas, trama fina=racimos. CO=Cortes, GR=Grazalema, ZA=Zahara, DO=Doñana, SP=Sancti-Petri, TR=Trebujena.

-Cloruro

El cloruro también presenta diferencias significativas entre las poblaciones en su acumulación en tallos ($F=16,721$, g.l.=5, $p<0,0001$), racimos y hojas, aunque las concentraciones en éstas son más bajas. Los valores más altos se alcanzan en las poblaciones de DOÑANA, S-PETRI y TREBUJENA, frente a las tres de sierra (Figura III.11). En la tabla III.6 se presentan las concentraciones medias de cloruro para cada población y órgano.

-Calcio

La acumulación de calcio en los tallos difiere significativamente entre las poblaciones ($F=17,88$, g.l.=5, $p<0,0001$), los valores más altos aparecen en las plantas de sierra, aunque GRAZALEMA presenta solapamiento con las poblaciones de marisma en el test de comparaciones múltiples. En las hojas es donde se concentra más este nutriente y la diferencia entre los dos hábitats es clara.

La población de ZAHARA presenta las concentraciones más altas de calcio en racimos (2,50%) y TREBUJENA la más baja (0,56%), las restantes poblaciones presentan valores intermedios (Tabla III.7 y Figura 12).

-Magnesio

Existen diferencias entre las poblaciones en la acumulación del magnesio en hojas y racimos. En la tabla III.8 se muestra la tendencia del magnesio a acumularse más en las hojas, y las poblaciones con valores más altos son

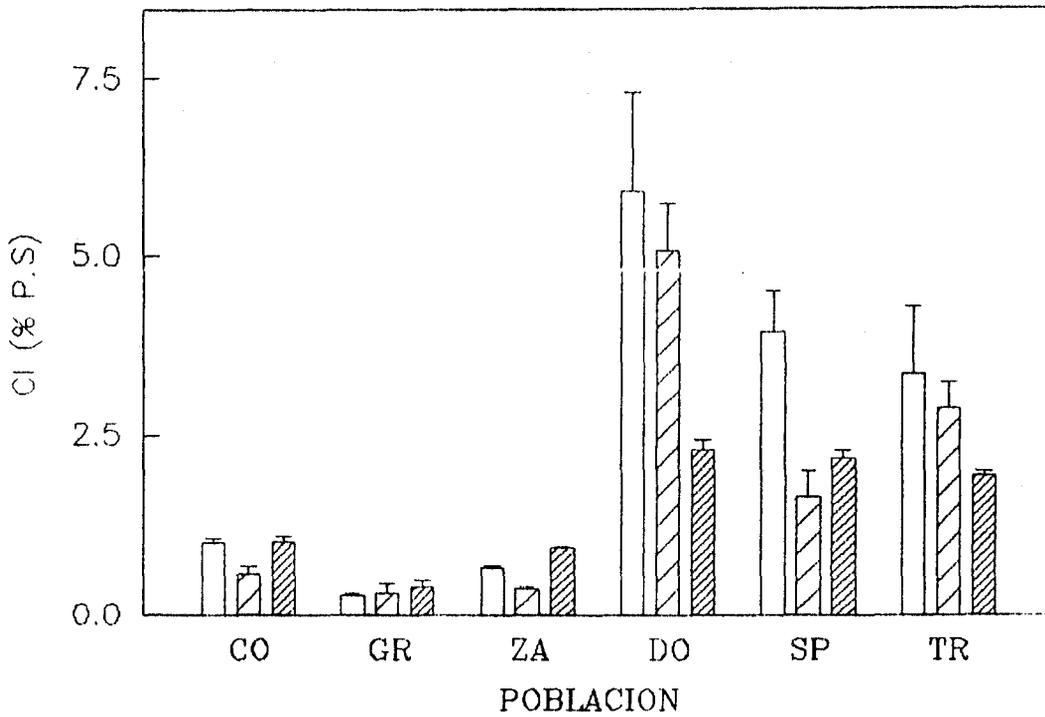


FIG III.11.- Concentraciones (medias \pm error estándar) de CLORURO, expresadas en porcentaje de peso seco, en seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. Blanco=tallos, trama gruesa=hojas, trama fina=racimos. CO=Cortes, GR=Grazalema, ZA=Zahara, DO=Doñana, SP=Sancti-Petri, TR=Trebujena.

TABLA III.7.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de **CALCIO**, expresadas en porcentaje de peso seco, de seis poblaciones de *M. segetalis*. n=3. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tallos | Hojas | Racimos |
|-----------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| CORTES | 1.76 \pm 0.21 d | 6.89 \pm 0.31 c | 1.11 \pm 0.05 b |
| GRAZALEMA | 1.27 \pm 0.23 cd | 6.10 \pm 0.58 c | 1.40 \pm 0.21 b |
| ZAHARA | 3.37 \pm 0.31 e | 9.55 \pm 0.66 d | 2.50 \pm 0.38 c |
| DOÑANA | 0.52 \pm 0.10 ab | 2.42 \pm 0.13 b | 1.23 \pm 0.05 b |
| S-PETRI | 0.90 \pm 0.22 bc | 2.15 \pm 0.30 a | 0.94 \pm 0.19 b |
| TREBUJENA | 0.38 \pm 0.17 a | 1.10 \pm 0.10 a | 0.56 \pm 0.10 a |
| | F=17,88 g.l.=5 p<0,0001 | F=188,93 g.l.=5 p<0,0001 | F=14,74 g.l.=5 p<0,0001 |

TABLA III.8.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de **MAGNESIO**, expresadas en porcentaje de peso seco, de seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. n=3. La misma letra en cada columna que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tallos | Hojas | Racimos |
|-----------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| CORTES | 0.24 \pm 0.02 a | 0.51 \pm 0.03 a | 0.24 \pm 0.01 a |
| GRAZALEMA | 0.16 \pm 0.04 a | 0.56 \pm 0.09 a | 0.26 \pm 0.04 a |
| ZAHARA | 0.55 \pm 0.08 a | 0.87 \pm 0.07 b | 0.29 \pm 0.06 a |
| DOÑANA | 0.30 \pm 0.10 a | 0.78 \pm 0.06 b | 0.50 \pm 0.04 b |
| S-PETRI | 0.42 \pm 0.07 a | 0.46 \pm 0.06 a | 0.34 \pm 0.05 ab |
| TREBUJENA | 0.16 \pm 0.06 a | 0.40 \pm 0.02 a | 0.24 \pm 0.04 a |
| | F=1,08 g.l.=5 p=0,42 | F=9,63 g.l.=5 p=0,0007 | F=3,24 g.l.=5 p=0,04 |

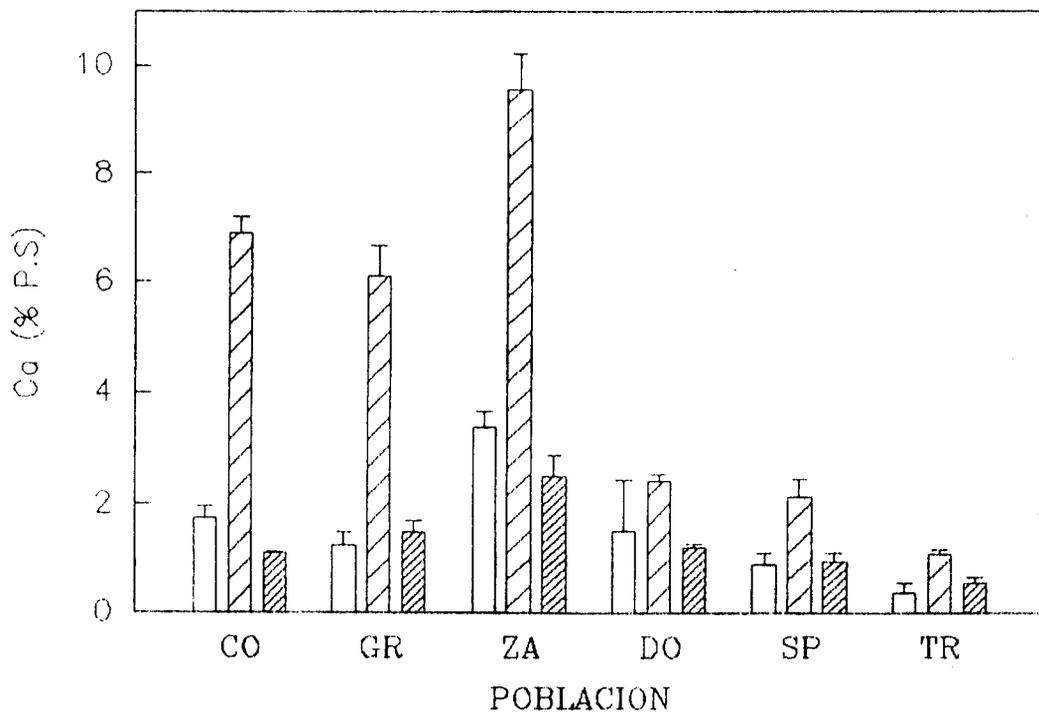


FIG III.12.- Concentraciones (medias \pm error estándar) de CALCIO, expresadas en porcentaje de peso seco, en seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. Blanco=tallos, trama gruesa=hojas, trama fina=racimos. CO=Cortes, GR=Grazalema, ZA=Zahara, DO=Doñana, SP=Sancti-Petri, TR=Trebujena.

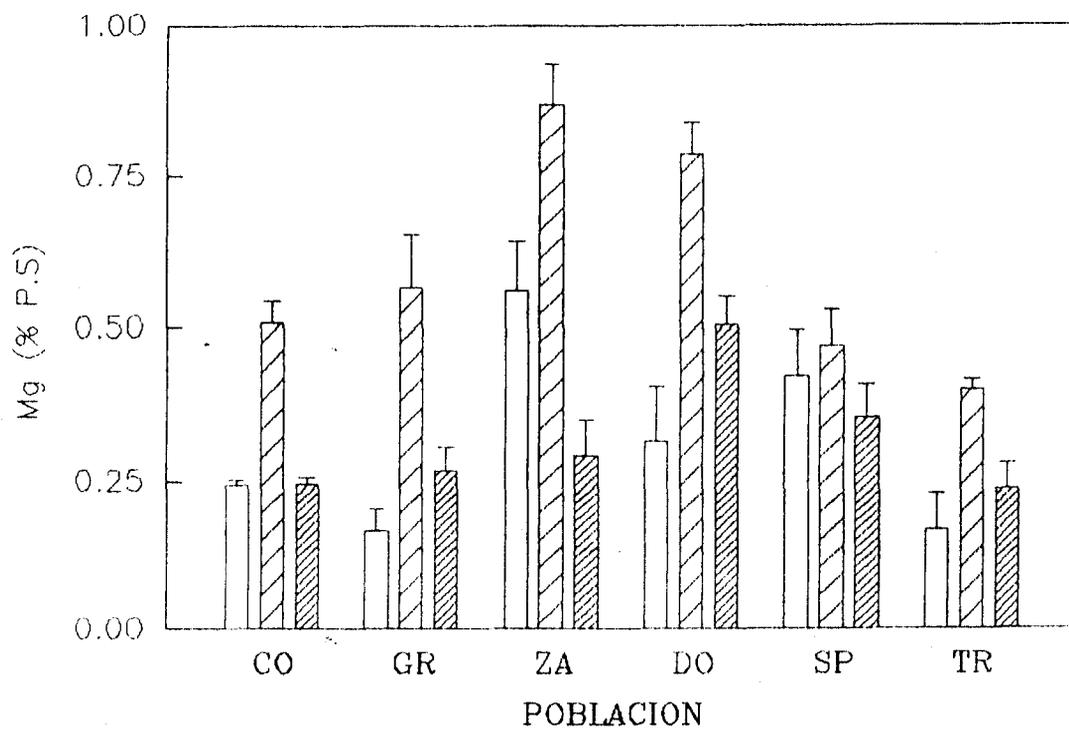


FIG III.13.- Concentraciones (medias \pm error estandar) de MAGNESIO, expresadas en porcentaje de peso seco, en seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. Blanco=tallos, trama gruesa=hojas, trama fina=racimos. CO=Cortes, GR=Grazalema, ZA=Zahara, DO=Doñana, SP=Sancti-Petri, TR=Trebujena.

ZAHARA y DONANA. Las diferencias en el contenido de magnesio en racimos son pequeñas entre poblaciones y no se separan claramente los ecotipos (Figura III.13).

-Potasio

Existen diferencias significativas entre las poblaciones para la acumulación del potasio en hojas y racimos. En los tallos la diferencia no es significativa, aunque el test de comparaciones múltiples separa la población de S-PETRI con una concentración de potasio en tallos mayor de las restantes.

En las hojas las poblaciones de la sierra tienden a presentar valores más bajos de acumulación de potasio (CORTES=0,78%, GRAZALEMA=1,21%, ZAHARA= 1,25%) que la de S-PETRI=2,79% sobre suelo salino. Las otras dos poblaciones de marisma (DONANA=1,77% y TREBUJENA=2,25%) presentan solapamiento en el test de comparaciones múltiples (Tabla III.9).

Los racimos concentran más potasio que las hojas y tallos en las plantas de sierra, sin embargo en las de suelos salinos los valores son similares. La población de S-PETRI presenta el contenido más alto de potasio en racimos (2,49%), significativamente superior a las restantes (Tabla III.9 y Figura 14).

-Nitrógeno

El contenido de nitrógeno en hojas presenta diferencias significativas entre las poblaciones ($F=7,27$, g.l.=5,

TABLA III.9.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de **POTASIO**, expresadas en porcentaje de peso seco, de seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. n=3. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tallos | Hojas | Racimos |
|-----------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| CORTES | 1.44 \pm 0.07 a | 0.78 \pm 0.06 a | 2.11 \pm 0.05 a |
| GRAZALEMA | 1.21 \pm 0.33 a | 1.21 \pm 0.26 ab | 2.03 \pm 0.08 a |
| ZAHARA | 1.45 \pm 0.06 a | 1.25 \pm 0.43 abc | 1.80 \pm 0.06 a |
| DOÑANA | 1.67 \pm 0.27 a | 1.77 \pm 0.02 bcd | 1.91 \pm 0.20 a |
| S-PETRI | 2.64 \pm 0.30 b | 2.79 \pm 0.17 d | 2.49 \pm 0.03 b |
| TREBUJENA | 1.57 \pm 0.29 a | 2.25 \pm 0.57 cd | 2.13 \pm 0.04 a |
| | F=3,87 g.l.=5 p=0,003 | F=5,63 g.l.=5 p=0,007 | F=7,01 g.l.=5 p=0,003 |

TABLA III.10.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de **NITROGENO**, expresadas en porcentaje de peso seco, en seis poblaciones de *M. segetalis*. n=3. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tallos | Hojas | Racimos |
|--------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| CORTES | 1.98 \pm 0.77 b | 2.47 \pm 0.57 a | 3.63 \pm 0.08 b |
| GRAZALEMA | 0.99 \pm 0.10 ab | 3.02 \pm 0.01 ab | 2.34 \pm 2.80 a |
| ZAHARA | 0.91 \pm 0.67 a | 2.34 \pm 0.43 a | 2.78 \pm 0.09 ab |
| DOÑANA | 1.61 \pm 0.22 ab | 4.27 \pm 0.17 c | 3.63 \pm 0.23 b |
| SANCTI-PETRI | 1.82 \pm 0.28 b | 4.42 \pm 0.43 c | 2.78 \pm 0.09 ab |
| TREBUJENA | 1.65 \pm 0.03 ab | 4.05 \pm 0.09 bc | 3.82 \pm 0.04 b |
| | F=2,17 g.l.=5 p=0,13 | F=7,27 g.l.=5 p=0,0024 | F=2,32 g.l.=5 p=0,11 |

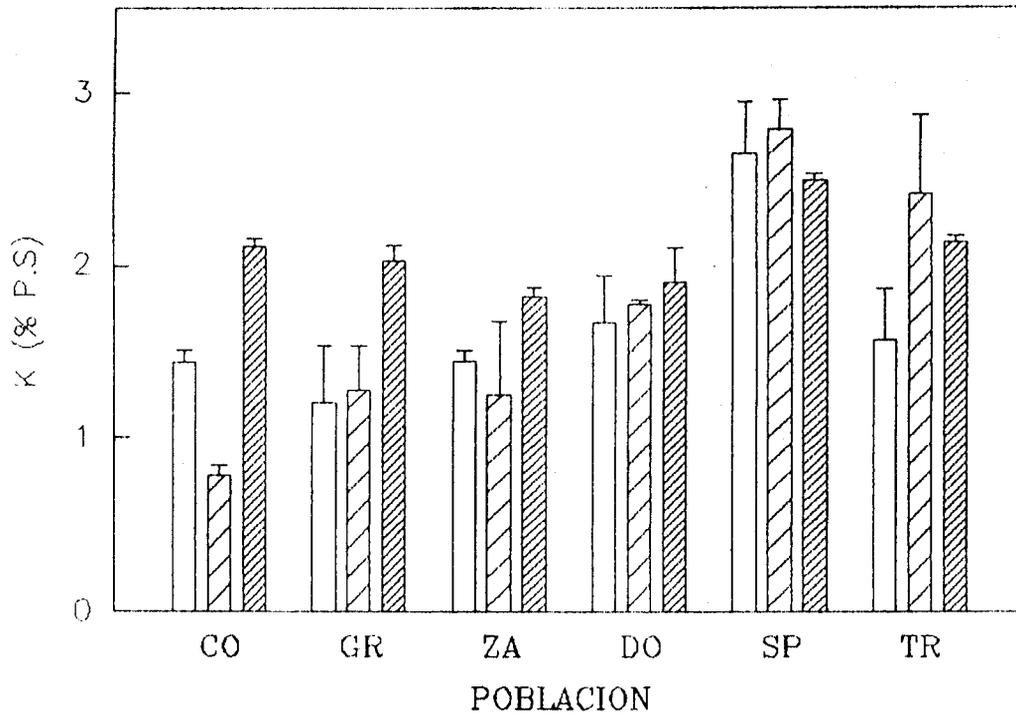


FIG III.14.- Concentraciones (medias \pm error estándar) de POTASIO, expresadas en porcentaje de peso seco, en seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. Blanco=tallos, trama gruesa=hojas, trama fina=racimos. CO=Cortes, GR=Grazalema, ZA=Zahara, DO=Doñana, SP=Sancti-Petri, TR=Trebujena.

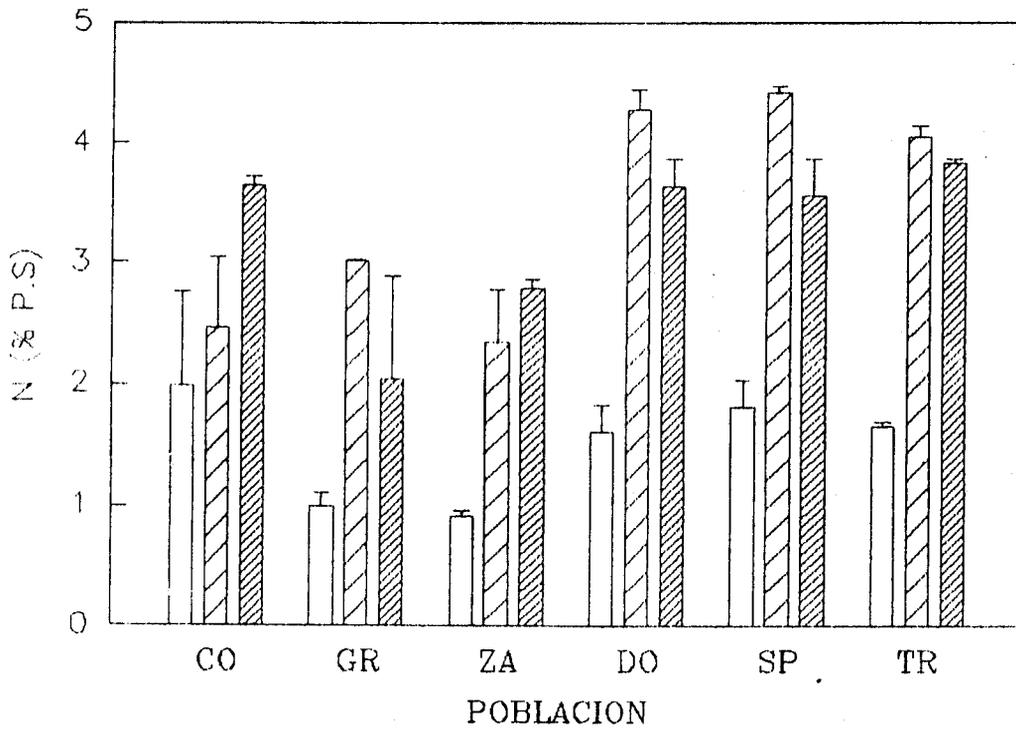


FIG III.15.- Concentraciones (medias \pm error estándar) de NITROGENO, expresadas en porcentaje de peso seco, en seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. Blanco=tallos, trama gruesa=hojas, trama fina=racimos. CO=Cortes, GR=Grazalema, ZA=Zahara, DO=Doñana, SP=Sancti-Petri, TR=Trebujena.

$p=0,0024$). Las plantas acumulan menos nitrógeno en los tallos que en las hojas y estructuras reproductoras (Figura 15).

En las hojas se observa una menor acumulación de nitrógeno en las plantas procedentes de suelos no salinos (CORTES=2,47%, GRAZALEMA=3,02% y ZAHARA=2,34%) que en las recolectadas en suelos salinos (DOÑANA=4,27% y S-PETRI=4,42%). TREBUJENA

(4,01) presenta solapamiento con las poblaciones de sierra en el test de comparaciones múltiples (Tabla III.10).

-Fósforo

Existen diferencias en el contenido de fósforo en hojas y racimos entre las seis poblaciones, sin embargo no difieren en su contenido en tallos. La figura III.16 muestra una menor acumulación del nutriente en los tallos y una mayor concentración en los racimos florales.

Las poblaciones de marisma S-PETRI (0,22%) y DOÑANA (0,20%) acumulan más fósforo en hojas que las poblaciones de sierra ZAHARA (0,11%) y GRAZALEMA (0,09%), mientras que CORTES y TREBUJENA tienen valores intermedios. El mayor contenido de fósforo en racimos se ha obtenido en la población de CORTES (=0,57%) y el menor en TREBUJENA (0,16%), las restantes poblaciones presentan valores intermedios (Tabla III.11).

TABLA III.11.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de FOSFORO, expresadas en porcentaje de peso seco, en seis poblaciones de *N. segetalis*. n=3. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tallos | Hojas | Racimos |
|--------------|----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| CORTES | 0.15 \pm 0.02 b | 0.17 \pm 0.02 bc | 0.57 \pm 0.03 c |
| GRAZALEMA | 0.08 \pm 0.02 a | 0.09 \pm 0.02 a | 0.28 \pm 0.28 b |
| ZAHARA | 0.07 \pm 0.01 a | 0.11 \pm 0.01 a | 0.26 \pm 0.06 ab |
| DOÑANA | 0.10 \pm 0.01 ab | 0.20 \pm 0.01 c | 0.31 \pm 0.02 b |
| SANCTI-PETRI | 0.15 \pm 0.02 b | 0.22 \pm 0.03 c | 0.33 \pm 0.03 b |
| TREBUJENA | 0.11 \pm 0.05 ab | 0.13 \pm 0.01 ab | 0.16 \pm 0.04 a |
| | F=1,72 g.l.=5 p=0,20 | F=6,41 g.l.=5 p=0,004 | F=11,26 g.l.=5 p=0,0003 |

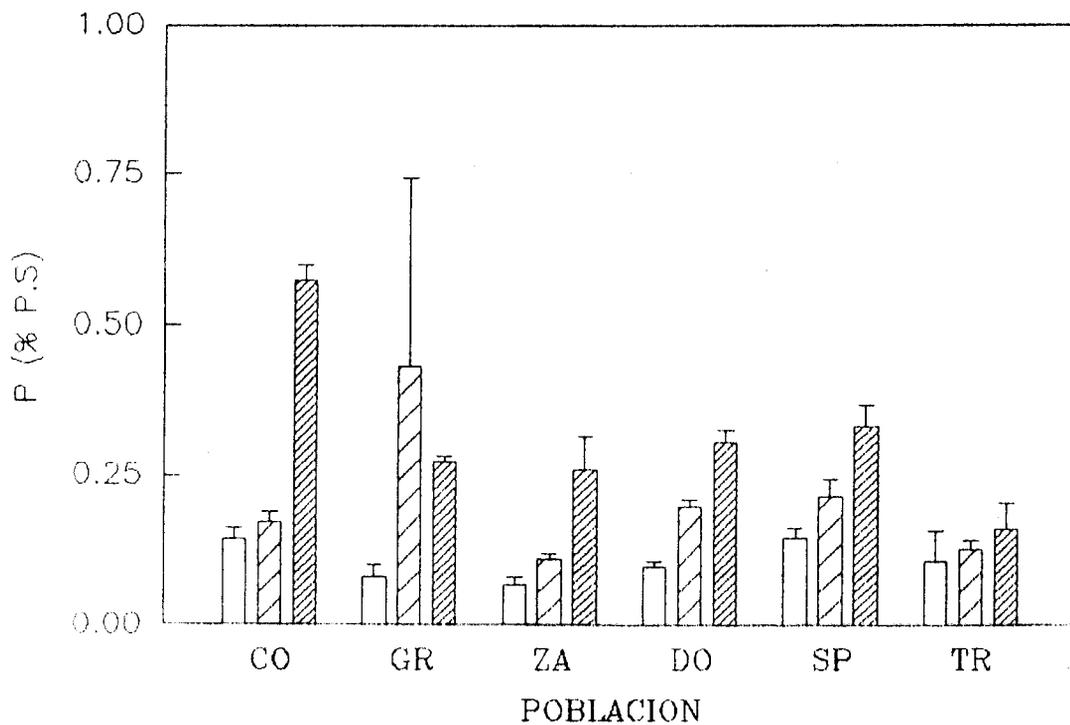


FIG III.16.- Concentraciones (medias \pm error estándar) de FOSFORO, expresadas en porcentaje de peso seco, en seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. Blanco=tallos, trama gruesa=hojas, trama fina=racimos. CO=Cortes, GR=Grazalema, ZA=Zahara, DO=Doñana, SP=Sancti-Petri, TR=Trebujena.

-Micronutrientes

a) Hierro

El análisis de comparaciones múltiples separa a las plantas de sierra con concentraciones de hierro en tallo menores que las de marisma. En las primeras las medias están muy igualadas (en tanto que en las segundas, destaca S-PETRI con 398 partes por millón (ppm). DOÑANA y TREBUJENA tienen 109 y 135 ppm respectivamente (Tabla III.12).

En las hojas encontramos que las poblaciones de CORTES y GRAZALEMA tienen los valores menores. Las plantas de marisma poseen concentraciones más elevadas y la población de ZAHARA se encuentra en una posición intermedia.

En cuanto a los racimos no hay diferencias entre grupos de poblaciones (Figura III.17).

b) Manganeso

Hay diferencias significativas entre las poblaciones para la concentración de manganeso en tallos, aunque no hay separación por grupos. Destaca la población de S-PETRI en el extremo más alto.

En las hojas los valores son similares en las seis poblaciones.

En cuanto a la acumulación en racimos, encontramos diferencias entre la población de S-PETRI (con valores mayores) y las cinco restantes (Tabla III.13 y Figura III.18).

TABLA III.12.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de **HIERRO**, expresadas en porcentaje de peso seco, en seis poblaciones de *Nelilotus segetalis*. n=3. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tallos | Hojas | Racimos |
|-----------|-------------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| CORTES | 64 \pm 4 ab | 87 \pm 4 a | 105 \pm 4 a |
| GRAZALEMA | 63 \pm 6 ab | 87 \pm 5 a | 105 \pm 4 a |
| ZAHARA | 62 \pm 5 a | 147 \pm 77 ab | 111 \pm 14 a |
| DONANA | 109 \pm 30 bc | 214 \pm 36 b | 123 \pm 24 a |
| S-PETRI | 398 \pm 118 d | 260 \pm 34 b | 157 \pm 16 ab |
| TREBUJENA | 135 \pm 29 c | 237 \pm 56 b | 155 \pm 8 ab |
| | F=17,35 g.l.=5 p<0,0001 | F=5,55 g.l.=5 p=0,007 | F=1,82 g.l.=5 p=0,18 |

TABLA III.13.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de **MANGANESO**, expresadas en porcentaje de peso seco, en seis poblaciones de *Nelilotus segetalis*. n=3. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tallos | Hojas | Racimos |
|-----------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| CORTES | 8 \pm 3 a | 60 \pm 6 a | 20 \pm 1 a |
| GRAZALEMA | 11 \pm 1 a | 55 \pm 2 a | 20 \pm 4 a |
| ZAHARA | 10 \pm 3 a | 51 \pm 13 a | 20 \pm 4 a |
| DONANA | 47 \pm 4 b | 49 \pm 12 a | 46 \pm 8 b |
| S-PETRI | 20 \pm 3 ab | 57 \pm 4 a | 26 \pm 1 a |
| TREBUJENA | 16 \pm 3 a | 55 \pm 4 a | 23 \pm 3 a |
| | F=4,11 g.l.=5 p=0,02 | F=0,97 g.l.=5 p=0,47 | F=3,97 g.l.=5 p=0,023 |

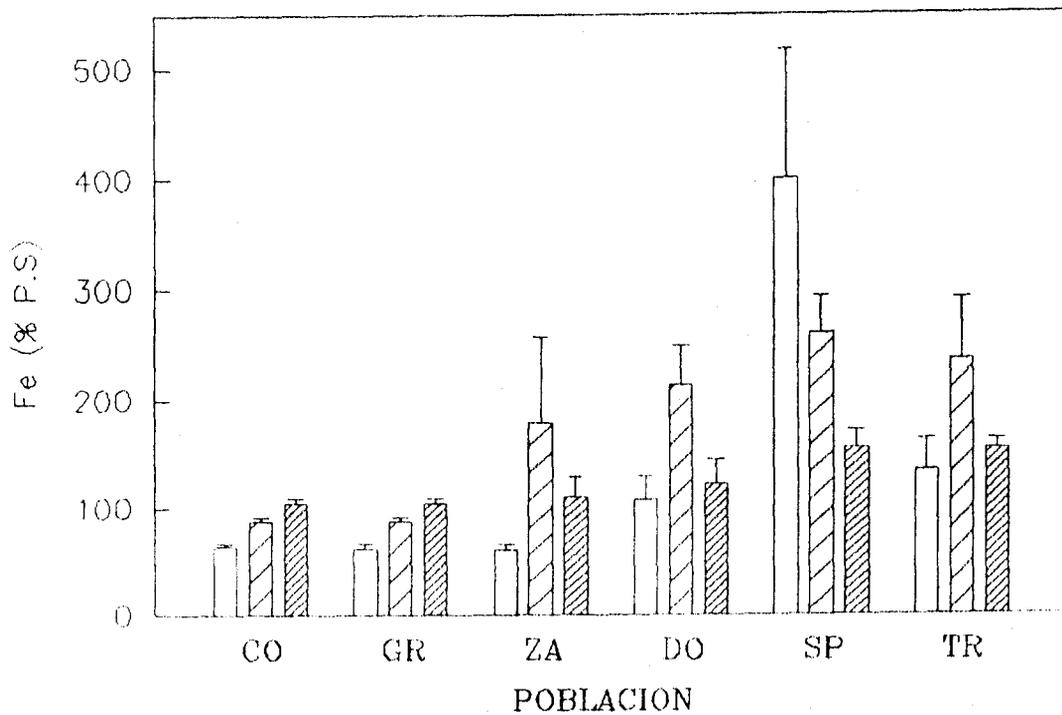


FIG III.17.- Concentraciones (medias \pm error estándar) de HIERRO, expresadas en porcentaje de peso seco, en seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. Blanco=tallos, trama gruesa=hojas, trama fina=racimos. CO=Cortes, GR=Grazalema, ZA=Zahara, DO=Doñana, SP=Sancti-Petri, TR=Trebujena.

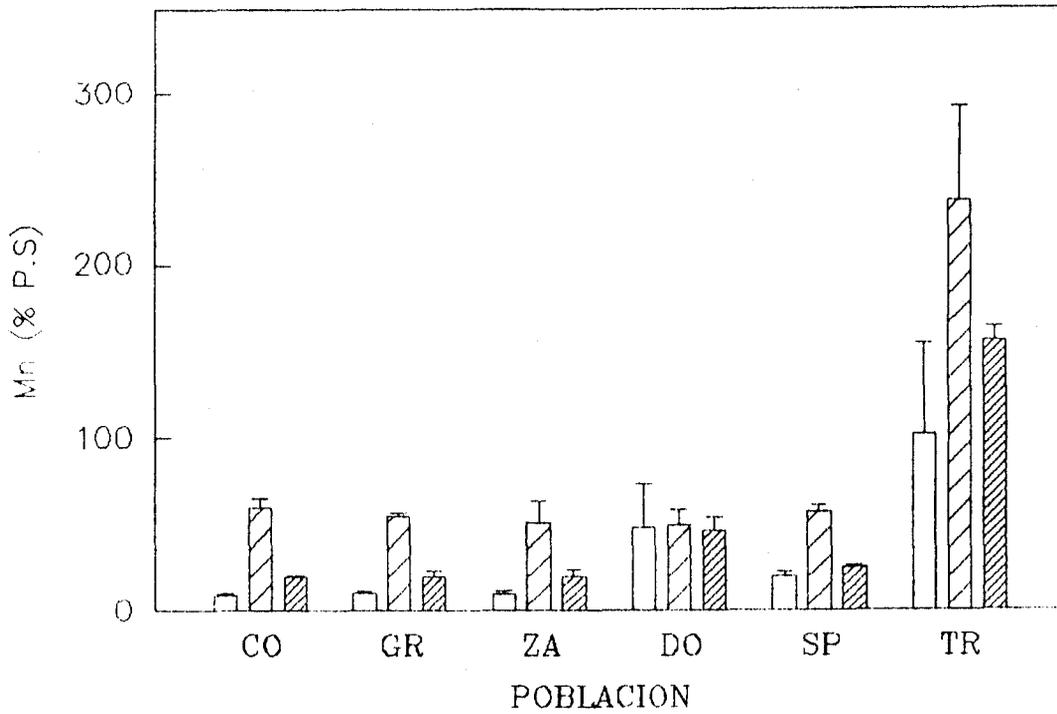


FIG III.18.- Concentraciones (medias \pm error estándar) de MANGANESO, expresadas en porcentaje de peso seco, en seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. Blanco=tallos, trama gruesa=hojas, trama fina=racimos. CO=Cortes, GR=Grazalema, ZA=Zahara, DO=Doñana, SP=Sancti-Petri, TR=Trebujena.

c) Cinc

Aparecen diferencias significativas entre las poblaciones para la acumulación de Cinc en tallos ($F=35,49$, g.l.=5, $p<0,0001$), sin embargo el análisis multifactorial no separa grupos de poblaciones. Igual ocurre con la acumulación de este nutriente en hojas y racimos (Tabla III.14 y Figura III.19).

d) Cobre

En la acumulación del cobre en tallos, las poblaciones difieren significativamente ($F=4,36$, g.l.=5, $p=0,017$), pero no hay separación de grupos en el análisis multifactorial. Asimismo aparecen diferencias en hojas ($F=3,5$, g.l.=5, $p=0,03$) y racimos ($F=3,6$, g.l.=5, $p=0,03$), no encontrándose diferencias entre grupos de poblaciones (Tabla III.15 y Figura III.20).

TABLA III.14.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de CINC, expresadas en porcentaje de peso seco, de seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. n=3. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tallos | Hojas | Racimos |
|-----------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| CORTES | 0 \pm 0 a | 0 \pm 0 a | 7 \pm 1 a |
| GRAZALEMA | 13 \pm 2 b | 17 \pm 4 bc | 28 \pm 3 bc |
| ZAHARA | 11 \pm 3 b | 40 \pm 26 d | 19 \pm 6 b |
| DONANA | 29 \pm 5 c | 29 \pm 13 c | 39 \pm 10 c |
| S-PETRI | 16 \pm 1 bc | 13 \pm 2 b | 23 \pm 4 bc |
| TREBUJENA | 12 \pm 3 b | 11 \pm 6 b | 15 \pm 2 b |
| | F=35,49 g.l.=5 p<0,0001 | F=10,58 g.l.=5 p=0,0005 | F=5,83 g.l.=5 p=0,006 |

TABLA III.15.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de COBRE, expresadas en porcentaje de peso seco, en seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. n=3. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tallos | Hojas | Racimos |
|-----------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| CORTES | 10 \pm 1 b | 10 \pm 0 abc | 12 \pm 2 bc |
| GRAZALEMA | 12 \pm 2 b | 14 \pm 1 bc | 15 \pm 1 c |
| ZAHARA | 7 \pm 1 b | 11 \pm 1 abc | 12 \pm 2 bc |
| DONANA | 4 \pm 3 a | 6 \pm 2 a | 5 \pm 3 a |
| S-PETRI | 16 \pm 1 b | 13 \pm 2 bc | 6 \pm 4 ab |
| TREBUJENA | 15 \pm 2 b | 15 \pm 2 c | 14 \pm 2 c |
| | F=4,36 g.l.=5 p=0,017 | F=3,50 g.l.=5 p=0,03 | F=3,56 g.l.=5 p=0,03 |

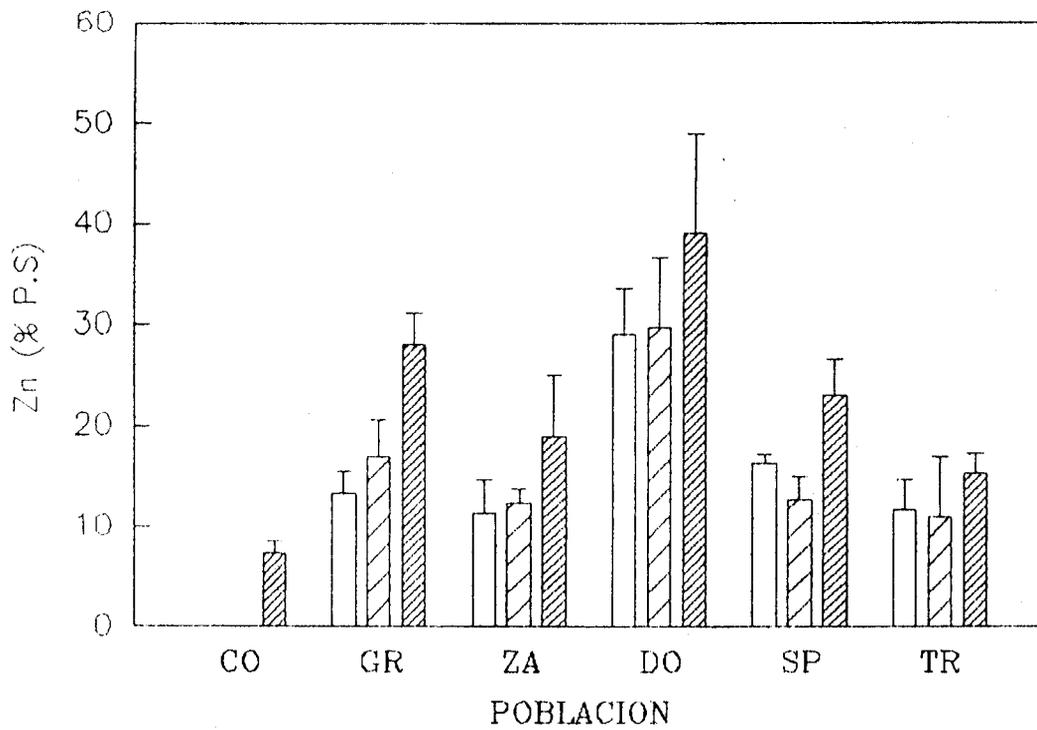


FIG III.19.- Concentraciones (medias \pm error estándar) de CINC, expresadas en porcentaje de peso seco, en seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. Blanco=tallos, trama gruesa=hojas, trama fina=racimos. CO=Cortes, GR=Grazalema, ZA=Zahara, DO=Doñana, SP=Sancti-Petri, TR=Trebujena.

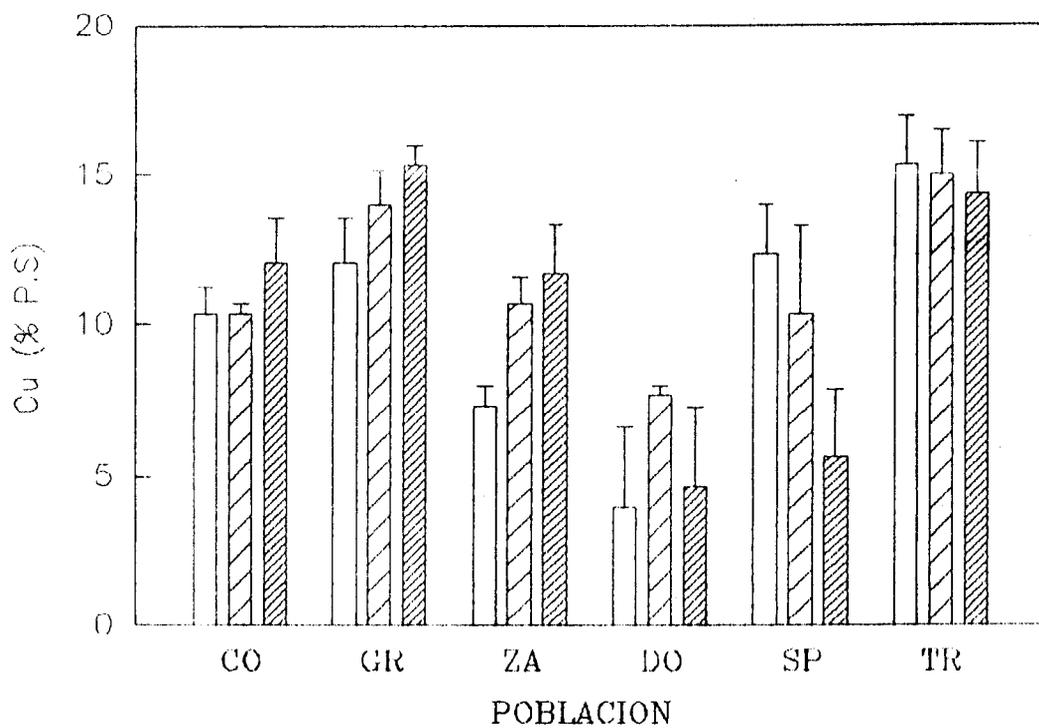


FIG III.20.- Concentraciones (medias \pm error estándar) de COBRE, expresadas en porcentaje de peso seco, en seis poblaciones de *Melilotus segetalis*. Blanco=tallos, trama gruesa=hojas, trama fina=racimos. CO=Cortes, GR=Grazalema, ZA=Zahara, DO=Doñana, SP=Sancti-Petri, TR=Trebujena.

III.3.- DISCUSION

Las tablas III.16 y III.17 resumen las diferencias entre los dos ecotipos de *Melilotus segetalis*.

Los caracteres vegetativos son plásticos y responden intensamente a las condiciones de "estrés" del medio (Harper, 1977). Todas las partes (tallo, hojas, racimos) responden aproximadamente de forma homogénea, de manera que no hay diferencias de distribución de recursos entre ecotipos (Bazzaz, 1984; Cruden, 1985; Rice, 1985).

Los caracteres reproductores (flores principalmente y en menor medida los frutos) son relativamente más estables, de hecho son usados más frecuentemente como caracteres taxonómicos. Previsiblemente, las variaciones deben afectar más al número de unidades reproductoras (Waller, 1988). Sin embargo se han observado ciertas variaciones morfológicas entre ecotipos de *M. segetalis*. En cualquier caso, todas estas variaciones fenotípicas afectan más a plantas anuales (Waller, 1988), como las que aquí se estudian.

Se ha observado una reducción del tamaño de la corola y del número de granos de polen en las plantas de marismas, lo cual puede estar relacionado con una mayor tasa de autogamia en el campo (Cruden, 1977; Short, 1981; Wyatt, 1984). Una de las características de las plantas invasoras es su mayor capacidad para producir semillas mediante autogamia (Baker, 1972, 1974).

Se observa también una reducción en el tamaño del fruto en las plantas de marisma sin que aparentemente cambie su morfología. Esto puede deberse a la existencia de problemas

en el desarrollo, al igual que el resto vegetativo de la planta, debido a la salinidad. Las altas concentraciones de sal en la solución del suelo ocasionan una baja disponibilidad de agua, causando efectos osmóticos en las raíces (Bernstein y Hayward, 1958), sin embargo, en muchos casos, la inhibición del desarrollo incluso a bajos niveles de salinidad es causada principalmente por toxicidad (Munns y Termaat, 1986), usualmente por parte del sodio y del cloruro, junto a desequilibrios nutricionales.

El aprovechamiento de un nutriente y su captación por la planta están relacionados con: (1) la actividad del nutriente en la solución del suelo, la cual depende del pH, concentración y composición, (2) la concentración y las razones de elementos acompañantes que influyen en la captación y transporte de este nutriente por las raíces; (3) factores medioambientales. Las plantas no sólo varían en la tasa de absorción, sino también en la distribución del elemento por la planta (Grattan, 1992). En suelos salinos la captación del calcio puede disminuir por interacciones iónicas (Bernstein, 1975). La salinidad incrementa la concentración del hierro en algunas especies (Dahiya and Singh, 1972; Maas et al., 1972, Verma and Neve, 1984).

Para la mayoría de los caracteres estudiados se ha observado una menor variabilidad morfológica (medida por medio del coeficiente de variación) en las poblaciones de suelos salinos que en las de sierra. Asumiendo la probable colonización de las zonas salinas a partir de las poblaciones circundantes más abundantes, la mayor uniformidad de las

poblaciones de marismas puede ser debida a varias causas independientes asociadas al proceso de la colonización: 1) efecto "fundador" que determine que sólo parte de la variabilidad se presente en las nuevas poblaciones (Mayr, 1963); 2) mayor tasa de autogamia, y por tanto consanguinidad como posible consecuencia de la menor proporción polen/óvulos por flor (véase más arriba) y 3) fuerte selección natural direccional hacia la uniformidad debida a un ambiente muy desfavorable (salinidad) (Karron, 1991). Adicionalmente, puede actuar la deriva genética (Wright, 1931) si el tamaño de las poblaciones es muy fluctuante, en asociación a un ambiente desfavorable. Sin embargo, en el limitado período de estudio se ha observado que tal fluctuación apenas existe y no es mayor en las poblaciones de marisma que en las de sierra. Serían necesarios estudios a más largo plazo para corroborarlo.

Con el conjunto de datos analizado y comprobando la estabilidad de algunos de los caracteres morfológicos estudiados, principalmente en la flor y el fruto, cabría la posibilidad de separar el ecotipo de salinas como taxón infraespecífico de *M. segetalis*.

En contraposición, los caracteres químicos no muestran la misma tendencia observándose en general una mayor variabilidad en las poblaciones de marisma (Tabla III.16). Las condiciones de estrés salino provocan una disfunción fisiológica que se refleja en una mayor variabilidad entre plantas respecto al contenido de elementos minerales. Como excepción, los valores de nitrógeno en hojas y racimos y de

potasio en racimos presentan en las poblaciones de marisma un coeficiente de variación medio menor al 10%.

TABLA III.16.- Resumen de las diferencias en caracteres vegetativos, reproductores y productividad entre los dos ecotipos de *Melilotus segetalis*. Medias de los coeficientes de variación de las tres poblaciones de cada ecotipo.

| Comparación de medias de ecotipos | | Coef. de Variación | |
|--------------------------------------|---|--------------------|--------|
| | | marisma | sierra |
| Car. Vegetativos | | | |
| Altura | < | 19,2 | 20,2 |
| Anchura | < | 40,9 | 40,0 |
| Nº Ramas | = | 40,4 | 46,0 |
| Long Foliolo | < | 20,4 | 12,6 |
| Anch Foliolo | < | 21,2 | 14,6 |
| Car. Reproductores | | | |
| Long Corola | < | 3,0 | 16,2 |
| Nº Racimos | = | 76,4 | 128,7 |
| Granos Polen | < | 3,7 | 4,4 |
| Peso Semillas | < | 10,5 | 8,3 |
| Producción | | | |
| Peso Planta | < | 72,4 | 101,0 |
| % Peso Tallo | = | 22,6 | 18,5 |
| % Peso Hojas | = | 29,2 | 54,7 |
| % Peso Racimos | = | 32,9 | 44,4 |

TABLA III.17.- Resumen de las diferencias en contenido en elementos minerales entre los dos ecotipos de *Melilotus segetalis*.

| | Comparación de medias de ecotipos | | Coeficiente Variación (%) | |
|------------------|--------------------------------------|-----------|---------------------------|--------|
| | marisma | vs sierra | marisma | sierra |
| Sodio | | | | |
| Tallo | | > | 18,0 | 18,2 |
| Hojas | | > | 19,2 | 14,8 |
| Racimos | | > | 40,0 | 14,2 |
| Cloruro | | | | |
| Tallo | | > | 48,6 | 11,3 |
| Hojas | | > | 70,1 | 36,4 |
| Racimos | | > | 54,9 | 35,3 |
| Potasio | | | | |
| Tallo | | = | 26,5 | 20,9 |
| Hojas | | = | 18,8 | 36,7 |
| Racimos | | = | 7,8 | 5,5 |
| Calcio | | | | |
| Tallo | | < | 51,0 | 22,6 |
| Hojas | | < | 16,4 | 10,1 |
| Racimos | | < | 55,2 | 20,0 |
| Magnesio | | | | |
| Tallo | | = | 54,0 | 27,6 |
| Hojas | | = | 14,8 | 17,3 |
| Racimos | | = | 22,7 | 23,0 |
| Nitrógeno | | | | |
| Tallo | | = | 17,8 | 70,7 |
| Hojas | | > | 9,2 | 24,1 |
| Racimos | | = | 9,5 | 47,7 |
| Fósforo | | | | |
| Tallo | | = | 39,7 | 30,3 |
| Hojas | | = | 15,2 | 24,8 |
| Racimos | | = | 23,4 | 74,0 |
| Hierro | | | | |
| Tallo | | > | 45,4 | 13,7 |
| Hojas | | > | 92,6 | 36,2 |
| Racimos | | = | 26,1 | 35,0 |
| Manganeso | | | | |
| Tallo | | = | 24,4 | 11,7 |
| Hojas | | = | 22,4 | 22,6 |
| Racimos | | = | 19,8 | 77,8 |
| Cinc | | | | |
| Tallo | | = | 28,0 | 24,6 |
| Hojas | | = | 66,2 | 51,1 |
| Racimos | | = | 97,5 | 32,6 |
| Cobre | | | | |
| Tallo | | = | 54,5 | 23,6 |
| Hojas | | = | 35,6 | 9,4 |
| Racimos | | = | 81,3 | 23,1 |

IV.- ANALISIS EXPERIMENTAL DEL CRECIMIENTO EN CONDICIONES UNIFORMES

Una vez caracterizados morfológica y químicamente los dos ecotipos de *Melilotus segetalis*, el objetivo principal de cultivar las plantas de *M.segetalis* en medio uniforme, a partir de semillas procedentes de poblaciones naturales, es observar la respuesta de las plantas a dos condiciones contrastadas con sal (ClNa)-y sin sal y en qué medida se conservan los caracteres morfológicos al cambiar de medio.

IV.1.- MATERIAL Y METODOS

IV.1.1.- Morfología

Fueron seleccionados al azar 200 frutos de cada una de las cinco poblaciones que fueron recolectadas en los meses de junio-julio de 1991. Las semillas fueron separadas del pericarpo de la legumbre (ver capítulo VI). Los contenedores donde se llevó a cabo el experimento fueron lavados previamente, y a continuación se midió la conductividad eléctrica del sustrato (Tabla IV.1). A continuación se sembraron 100 semillas en un contenedor que sirve como control y otras 100 en otro contenedor que lleva tratamiento salino. Para ello, los contenedores eran regados con agua corriente cada 2-3 días y a los de tratamiento salino, se les añadía agua con ClNa y conductividad eléctrica de 15 ds/m cada 7-8 días, a partir de los 45 días de la siembra. En ese momento fueron extraídas al azar plántulas de cada uno de los contenedores, hasta dejar 30 solamente en cada uno.

TABLA IV.1.- Conductividad eléctrica del substrato utilizado en los experimentos de crecimiento en medio uniforme, en un extracto 1:5, para profundidades de 10, 20 y 30 cm, medida al inicio del experimento.

| <u>Población</u> | <u>Profundidad (cm)</u> | <u>Control</u> | <u>Salinidad</u> |
|------------------|-------------------------|----------------|------------------|
| Cortes | 10 | 0,20 | 0,35 |
| | 20 | 0,22 | 0,30 |
| | 30 | 0,46 | 0,60 |
| Grazalema | 10 | 0,15 | 0,24 |
| | 20 | 0,16 | 0,22 |
| | 30 | 0,29 | 0,35 |
| Zahara | 10 | 0,23 | 0,22 |
| | 20 | 0,30 | 0,26 |
| | 30 | 0,52 | 0,38 |
| Doñana | 10 | 0,15 | 0,31 |
| | 20 | 0,12 | 0,72 |
| | 30 | 0,29 | 0,91 |
| S-Petri | 10 | 0,28 | 0,16 |
| | 20 | 0,26 | 0,30 |
| | 30 | 0,33 | 0,34 |

Se extrajeron 5 plantas de cada contenedor a los 150 días, a las que se les tomó medida de altura, anchura, número de ramificaciones, longitud y anchura del foliolo mayor y número de racimos florales. Posteriormente se les separó tallos, hojas y racimos florales y se les midió el área foliar en un medidor Skye Instruments. Cada una de las porciones separadas se envolvió en papel de filtro y se secó en estufa a 70°C durante 48 horas. A continuación se pesó cada una de las fracciones en balanza de precisión de diezmilésimas.

Las plantas restantes que quedaron en los contenedores, se dejaron fructificar. Se recolectaron los frutos y se pesaron 30 semillas de cada población. A la población de CORTES no se le hizo esta medida, pues las plantas del control sufrieron el ataque de hongos y no llegaron a fructificar.

Los datos se expresan en las mismas unidades que para las plantas del campo (ver capítulo III.1.1).

IV.1.2.- Análisis químicos

Los análisis químicos se realizaron en plantas de 150 días, pues estaban en el estadio de floración, al igual que las recogidas en el campo. Para ello se tomaron tres plantas como control y otras tres de las que recibieron tratamiento salino. Se analizaron tallos, hojas y racimos florales por separado, para los mismos nutrientes que en las plantas del campo (ver capítulo III.1.2.2).

IV.1.3.- Tratamiento estadístico

Se realizó un análisis de varianza de un factor (población), a los datos correspondientes al apartado de morfología (variables= altura de la planta, anchura de la planta, número de ramificaciones, longitud y anchura del foliolo mayor, área foliar, número de racimos florales, peso de semillas, %peso tallos, %peso hojas, %peso racimos y peso total planta), previa transformación logarítmica o angular, para mejorar el ajuste a una distribución (Sokal y Rohlf, 1981).

Para las posteriores comparaciones múltiples entre las cinco (o cuatro en el peso de semillas) poblaciones y entre tratamientos, se utilizó el test de la menor diferencia significativa (L.S.D.) para un nivel de confianza del 95% (Steel y Torrie, 1980).

A los análisis químicos (previas transformaciones logarítmica o angular) se les aplicó un análisis de varianza de dos factores (población, tratamiento) separadamente para cada una de las tres porciones de las plantas (tallos, hojas y racimos).

Las comparaciones múltiples se realizaron entre las cinco (o cuatro según el caso) poblaciones, entre tratamientos y entre porción de la planta. Se utilizó igualmente el test de la menor diferencia significativa para un nivel de confianza del 95% de Steel y Torrie (1980).

Para todos estos análisis se empleó de nuevo el paquete estadístico STATGRAPHICS 6.2 (STSC, 1986).

IV.2.- RESULTADOS

IV.2.1.- Morfología

-Altura de la planta

Las plantas difieren significativamente ($F=3,07$, g.l.=4, $p=0,04$) en la altura alcanzada en controles. El análisis de comparación múltiple separa la población de CORTES con las plantas más pequeñas. Las otra cuatro restantes son similares (Tabla IV.2 y Figura IV.1). En condiciones de salinidad, también hay diferencias significativas ($F=3,07$, g.l.=4, $p=0,05$), pero es la población de S-PETRI la más pequeña, ZAHARA está en una situación intermedia, y las demás (CORTES, GRAZALEMA y DOÑANA) estarían en el extremo más alto (Tabla IV.3 y Figura IV.1).

-Anchura de la planta

No existen diferencias significativas en la anchura de las plantas controles, entre las distintas poblaciones ($F=0,43$, g.l.=4, $p=0,8$), ni tampoco entre plantas cultivadas en condiciones de salinidad ($F=1,8$, g.l.=4, $p=0,17$). El análisis multifactorial distingue a las plantas de S-PETRI como las que menos espacio ocupan y a las de GRAZALEMA las que más (Tabla IV.3).

-Número de ramificaciones

Las poblaciones no difieren significativamente en el número de ramas desarrolladas en situación de control ($F=1,94$, g.l.=4, $p=0,14$). En condiciones de salinidad tampoco son significativas las diferencias ($F=2,35$, g.l.=4, $p=0,09$).

TABLA IV.2.- Medias \pm errores estándar de medidas morfológicas de cinco poblaciones de *Nelilotus segetalis*, cultivadas en condiciones uniformes (control). n=5. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Planta | | | Foliolo | | Area Foliar (mm ²) | Racimos (Nº) | Peso Semilla (mg) |
|--------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|----------------------------|------------------------------|
| | Altura (cm) | Anchura (cm) | Ramas (Nº) | Longitud (mm) | Anchura (mm) | | | |
| CORTES | 59.2 \pm 8.5 a | 40.0 \pm 3.8 a | 14.2 \pm 1.0 a | 34.2 \pm 2.1 c | 22.0 \pm 0.7 a | 57501 \pm 14507 c | 41 \pm 0 a | --- |
| GRAZALEMA | 83.6 \pm 12 b | 40.4 \pm 6.2 a | 19.6 \pm 2.5 ab | 32.8 \pm 1.9 c | 20.0 \pm 1.6 b | 46395 \pm 9081 b | 66 \pm 18 a | 4.0 \pm 0.3 b |
| ZAHARA | 83.2 \pm 6.3 b | 45.0 \pm 1.5 a | 21.2 \pm 1.3 b | 23.4 \pm 2.0 ab | 13.8 \pm 1.5 b | 34410 \pm 3552 b | 80 \pm 10 a | 4.4 \pm 0.2 b |
| DONANA | 84.2 \pm 7.1 b | 43.6 \pm 5.0 a | 17.8 \pm 1.5 ab | 26.6 \pm 2.4 b | 15.6 \pm 1.4 b | 68352 \pm 18157 c | 135 \pm 43 b | 1.6 \pm 0.1 a |
| SANCTI-PETRI | 80.4 \pm 5.5 b | 42.6 \pm 3.5 a | 17.8 \pm 2.6 ab | 19.2 \pm 1.2 a | 10.6 \pm 1.2 b | 26553 \pm 6906 ab | 163 \pm 18 b | 3.0 \pm 0.1 a |
| | F=3,07 g.l=4 p=0,04 | F=0,43 g.l=4 p=0,8 | F=1,94 g.l=4 p=0,14 | F=10,43 g.l=4 p=0,0001 | F=11,05 g.l=4 p=0,0001 | F=2,66 g.l=4 p=0,043 | 20,72 g.l=4 p<0,0001 | F=11,10 g.l=4 p<0,0001 |

TABLA IV.3.- Medias \pm errores estándar de medidas morfológicas de cinco poblaciones de *Melilotus segetalis*, cultivadas en condiciones uniformes (salinidad). n=5. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Planta | | | Foliolo | | | | |
|--------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|-------------------------------|
| | Altura (cm) | Anchura (cm) | Ramas (Nº) | Longitud (mm) | Anchura (mm) | Area Foliar (mm ²) | Racimos (Nº) | Peso Semilla (mg) |
| CORTES | 92.2 \pm 6.7 b | 45.6 \pm 3.7 ab | 16.0 \pm 3.3 a | 31.4 \pm 4.3 bc | 18.0 \pm 1.7 b | 104888 \pm 25951 c | 112 \pm 2 a | --- |
| GRAZALEMA | 86.8 \pm 3.6 b | 46.6 \pm 3.6 b | 19.4 \pm 2.7 ab | 33.0 \pm 2.5 b | 20.8 \pm 1.2 b | 71476 \pm 14662 bc | 122 \pm 28 a | 3.9 \pm 0.2 c |
| ZAHARA | 85.0 \pm 4.2 ab | 45.2 \pm 1.5 ab | 22.6 \pm 1.3 b | 33.0 \pm 1.1 b | 22.8 \pm 1.6 bc | 77084 \pm 13779 bc | 121 \pm 24 a | 5.7 \pm 0.1 d |
| DONANA | 95.6 \pm 10 b | 41.4 \pm 2.6 ab | 14.4 \pm 1.3 a | 24.4 \pm 3.2 ab | 16.8 \pm 1.8 b | 49188 \pm 4445 ab | 140 \pm 36 a | 1.8 \pm 0.1 a |
| SANCTI-PETRI | 70.0 \pm 4.4 a | 37.6 \pm 2.0 a | 18.0 \pm 2.7 ab | 19.2 \pm 0.6 a | 10.6 \pm 0.5 a | 19437 \pm 4711 a | 148 \pm 36 a | 2.7 \pm 0.1 b |
| | F=2,90 g.l=4 p=0,05 | F=1,80 g.l=4 p0,17 | F=2,35 g.l=4 p0,09 | F=6,52 g.l=4 p=0,02 | F=13,34 g.l=4 p<0,0001 | F=6,21 g.l=4 p=0,002 | F=0,14 g.l=4 p=0,97 | F=138,66 g.l=4 p<0,0001 |

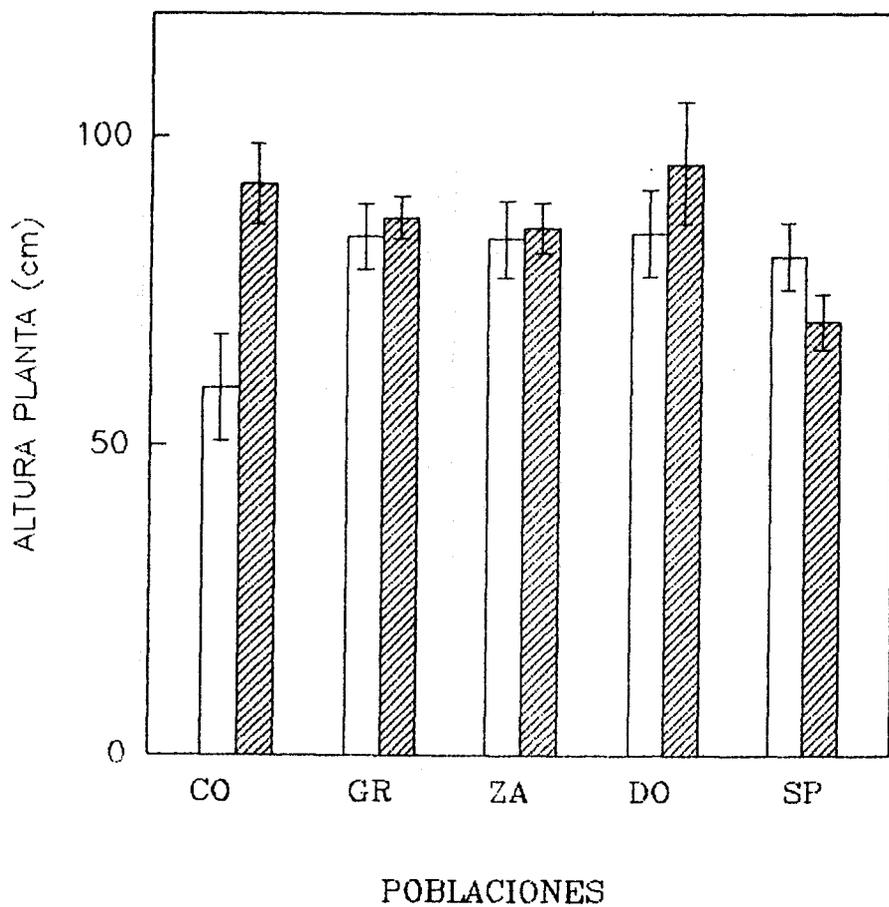


FIG. IV.1.- Altura de la planta \pm errores estándar) de cinco poblaciones de *Melilotus segetalis*. Blanco= Control, trama= Salinidad, CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, ZA= Zahara.

El análisis de comparación múltiple muestra las poblaciones de CORTES y DOÑANA como las menos ramificadas; GRAZALEMA, S-PETRI y ZAHARA producen más ramas (Tabla IV.3).

-Longitud del foliolo mayor

En condiciones de no salinidad las poblaciones son diferentes en la longitud del foliolo ($F=10,43$, g.l.=4, $p=0,0001$). La tabla IV.2 muestra a las plantas de S-PETRI, ZAHARA y DOÑANA con los foliolos más pequeños, en tanto que CORTES y GRAZALEMA poseen foliolos más largos. En condiciones de salinidad también existen diferencias significativas ($F=6,52$, g.l.=4, $p=0,0002$), encontrándose una separación de grupos clara entre plantas de sierra (CORTES, GRAZALEMA y ZAHARA), con los foliolos más largos y las de marisma (DOÑANA y S-PETRI), con los foliolos más cortos (Tabla IV.3 y Figura IV.2).

-Anchura del foliolo mayor

En condiciones de no salinidad, existen diferencias significativas entre poblaciones ($F=11,05$, g.l.=4, $p=0,0001$); al igual que en la longitud, destacan CORTES y GRAZALEMA con los valores más altos y S-PETRI, DOÑANA y ZAHARA estarían en otro grupo, con los foliolos más estrechos (Tabla IV.2). En condiciones de salinidad, también las poblaciones son significativamente diferentes para este carácter ($F=13,34$, g.l.=3, $p<0,0001$), siendo las plantas de S-PETRI las que tienen foliolos más estrechos, frente a las cuatro poblaciones restantes.

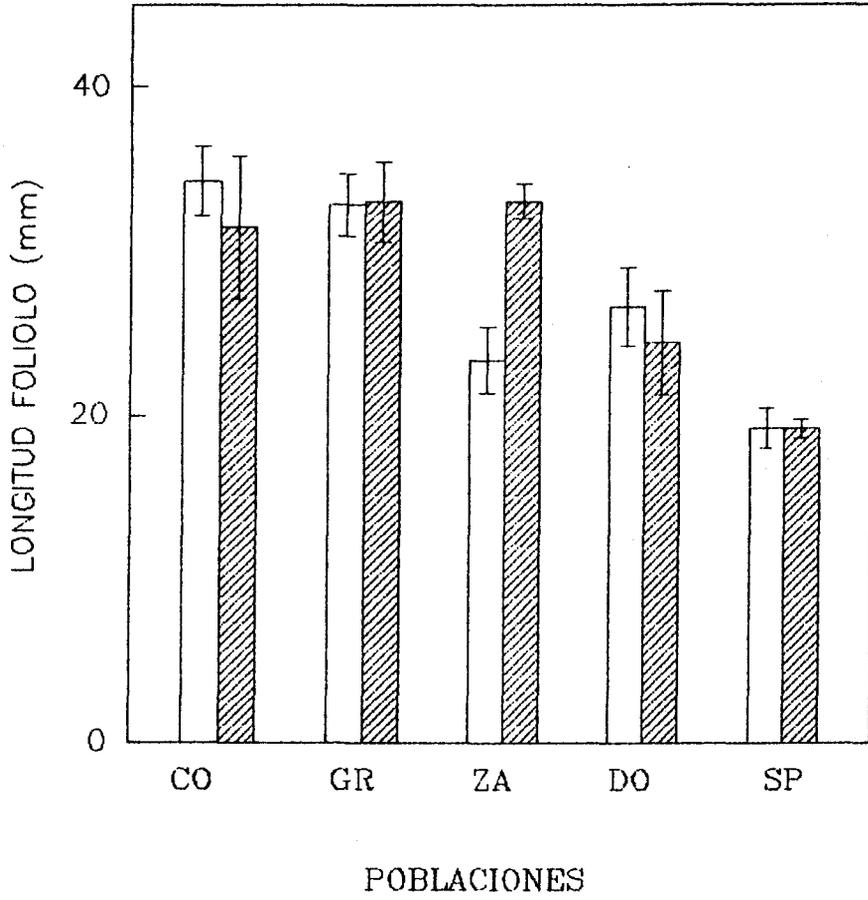


FIG. IV.2.- Longitud del foliolo \pm errores estándar) de cinco poblaciones de *Melilotus segetalis*. Blanco= Control, trama= Salinidad, CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, ZA= Zahara.

-Área Foliar

Las poblaciones son significativamente diferentes ($F=2,66$, g.l.=4, $p=0,043$) en condiciones no salinas para el área foliar. Las plantas con mayor área foliar son de CORTES y DOÑANA. GRAZALEMA, ZAHARA y S-PETRI tienen valores menores. En condiciones salinas también presentan diferencias significativas ($F=6,21$, g.l.=4, $p=0,002$). El análisis multifactorial distingue a las plantas de sierra con mayor área foliar frente a las de marisma (Tabla IV.2 y 3, Figura IV.3).

-Número de racimos

La tabla IV.2 muestra diferencias en los controles entre las poblaciones de CORTES, GRAZALEMA y ZAHARA con menos racimos florales que las otras dos restantes (DOÑANA y S-PETRI). En condiciones salinas no se aprecian diferencias entre las poblaciones ($F=0,14$, g.l.=4, $p=0,97$) (Fig.IV.4).

-Peso de semillas

Hay diferencias significativas en el peso de semillas ($F=11,1$, g.l.=4, $p<0,0001$), entre las poblaciones en condiciones de no salinidad. El análisis multifactorial separa dos grupos: plantas de sierra (GRAZALEMA y ZAHARA), con semillas más pesadas y plantas de marisma (DOÑANA y S-PETRI) con semillas más pequeñas (Tabla IV.2). En condiciones de salinidad las diferencias se mantienen ($F=138,6$, g.l.=3, $p<0,0001$), destacando ZAHARA con las semillas más grandes, le sigue GRAZALEMA. En tercer lugar se encuentra S-PETRI y

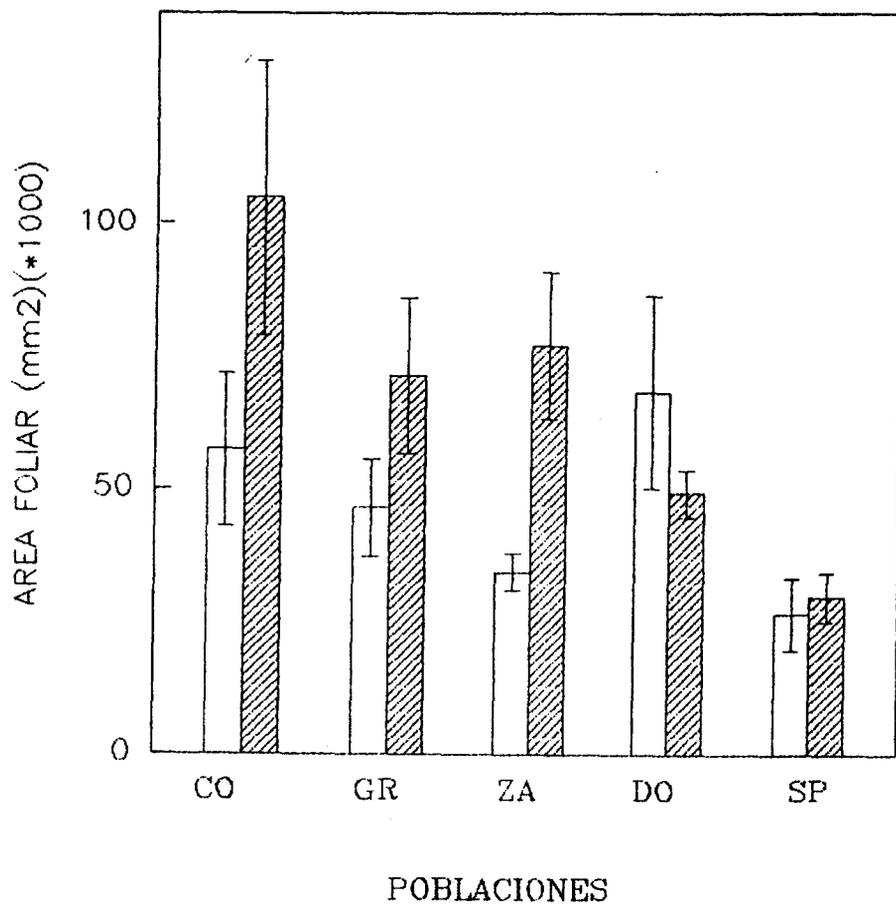


FIG. IV.3.- Area foliar \pm errores estándar) de cinco poblaciones de *Melilotus segetalis*. Blanco= Control, trama= Salinidad, CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, ZA= Zahara.

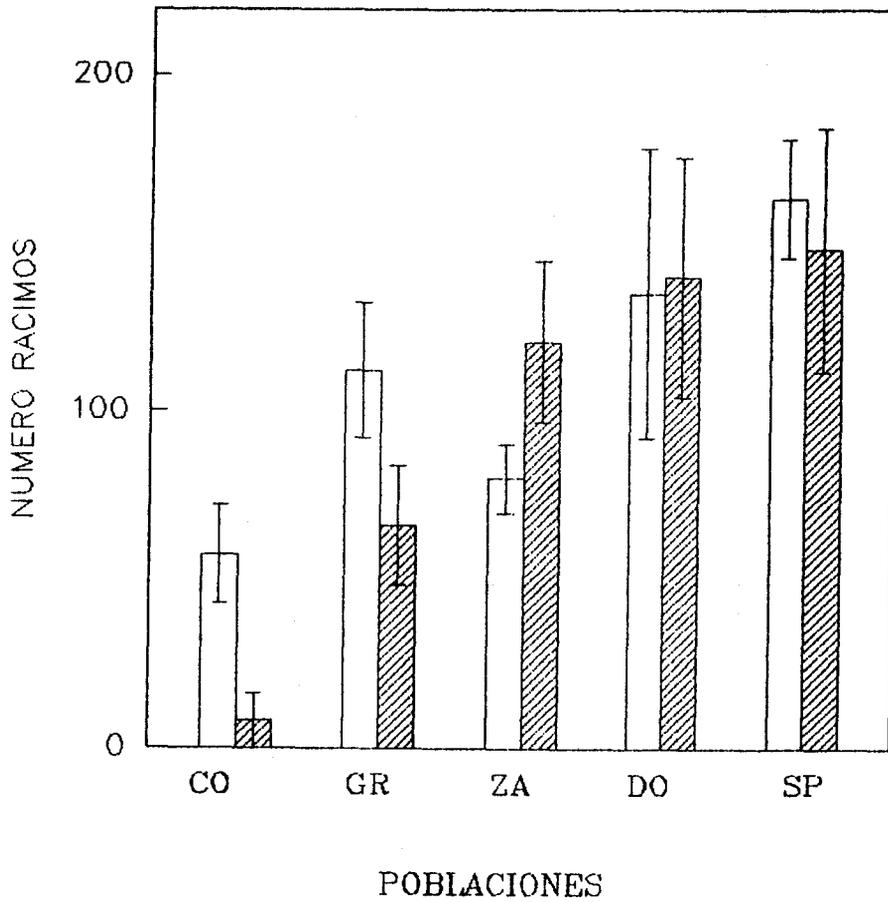


FIG. IV.4.- Número de racimos \pm errores estándar) de cinco poblaciones de *Melilotus segetalis*. Blanco= Control, trama= Salinidad, CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, ZA= Zahara.

DOÑANA tiene las semillas más pequeñas (Tabla IV.3).

-Peso total de la planta

La tabla IV.4 muestra diferencias significativas entre las poblaciones en el peso total ($F=4,3$, g.l.=4, $p=0,011$). El análisis multifactorial separa a las plantas de CORTES como las menos pesadas y las de DOÑANA las que más peso alcanzan en situación de no salinidad. GRAZALEMA, ZAHARA y S-PETRI están en una situación intermedia. En condiciones salinas también hay diferencias significativas ($F=6,81$, g.l.=4, $p=0,001$), pero hay una separación clara entre las plantas de sierra, que son más pesadas, frente a las de marisma, de menor peso (Tabla IV.5 y Figura IV.5).

-Distribución de biomasa

No aparecen diferencias significativas en cuanto a la proporción de peso en tallos en condiciones de no salinidad ($F=0,18$, g.l.=4, $p=0,95$), ni tampoco con tratamiento salino ($F=0,003$, g.l.=4, $p=1$), en general, las plantas invierten algo menos del 50% de su biomasa aérea en tallos (Tabla IV.4). En la proporción de peso en hojas las poblaciones presentan diferencias significativas en condiciones de no salinidad ($F=9,73$, g.l.=4, $p=0,0002$). DOÑANA presenta los valores más bajos (19%), GRAZALEMA, ZAHARA y S-PETRI están en situación intermedia y CORTES tiene el valor más alto (42%). En salinidad también hay diferencias ($F=6,7$, g.l.=4, $p=0,0014$). El análisis multifactorial separa dos grupos claros: las plantas de sierra (CORTES, GRAZALEMA y ZAHARA)

TABLA IV.4.- Distribución de biomasa (medias \pm errores estándar, n=5) en plantas cultivadas en condiciones uniformes, de cinco poblaciones de *Melilotus segetalis* (control). La misma letra en cada columna significa que las diferencias entre las poblaciones no son significativas Test L.S.D. 95%).

| Población | Peso Total (g) | Tallo (%) | Hojas (%) | Racimos (%) |
|-----------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------------|
| CORTES | 5.8 \pm 5.4 a | 45.6 \pm 3.3 a | 41.6 \pm 3.9 c | 1.2 \pm 1.2 a |
| GRAZALEMA | 14.3 \pm 3.8 b | 47.5 \pm 0.6 a | 29.0 \pm 1.6 bc | 17.7 \pm 1.9 b |
| ZAHARA | 16.1 \pm 1.9 b | 45.3 \pm 0.8 a | 21.4 \pm 5.5 ab | 22.3 \pm 4.9 b |
| DONANA | 24.2 \pm 5.6 bc | 37.4 \pm 3.1 a | 18.5 \pm 1.0 a | 35.9 \pm 3.9 b |
| S-PETRI | 14.4 \pm 3.5 b | 49.9 \pm 1.4 a | 21.7 \pm 3.2 ab | 18.9 \pm 4.5 b |
| | F=4,30 g.l=4 p=0,011 | F=0,18 g.l=4 p=0,95 | F=4,82 g.l=4 p=0,007 | F=19,49 g.l=4 p<0,0001 |

TABLA IV.5.- Distribución de biomasa (medias \pm errores estándar, n=5) en plantas cultivadas en condiciones uniformes, de cinco poblaciones de *Melilotus segetalis* (salinidad). La misma letra cada columna significa que las diferencias entre las poblaciones no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Peso Total (g) | Tallo (%) | Hojas (%) | Racimos (%) |
|-----------|----------------------------|-------------------------|----------------------------|----------------------------|
| CORTES | 19.8 \pm 4.8 b | 40.3 \pm 0.7 a | 31.0 \pm 5.4 b | 5.1 \pm 5.1 a |
| GRAZALEMA | 23.9 \pm 5.4 b | 50.4 \pm 0.9 a | 23.7 \pm 3.6 b | 1.7 \pm 1.4 a |
| ZAHARA | 18.1 \pm 3.8 b | 45.3 \pm 0.8 a | 21.4 \pm 5.5 b | 22.3 \pm 4.9 a |
| DONANA | 9.7 \pm 2.3 a | 42.5 \pm 1.1 a | 14.0 \pm 1.6 a | 35.2 \pm 0.6 a |
| S-PETRI | 9.5 \pm 1.3 a | 38.0 \pm 3.6 a | 15.0 \pm 2.2 a | 41.2 \pm 5.4 a |
| | F=6,81 g.l=4 p=0,001 | F=0,003 g.l=4 p=1 | F=6,70 g.l=4 p=0,001 | F=6,74 g.l=4 p=0,001 |

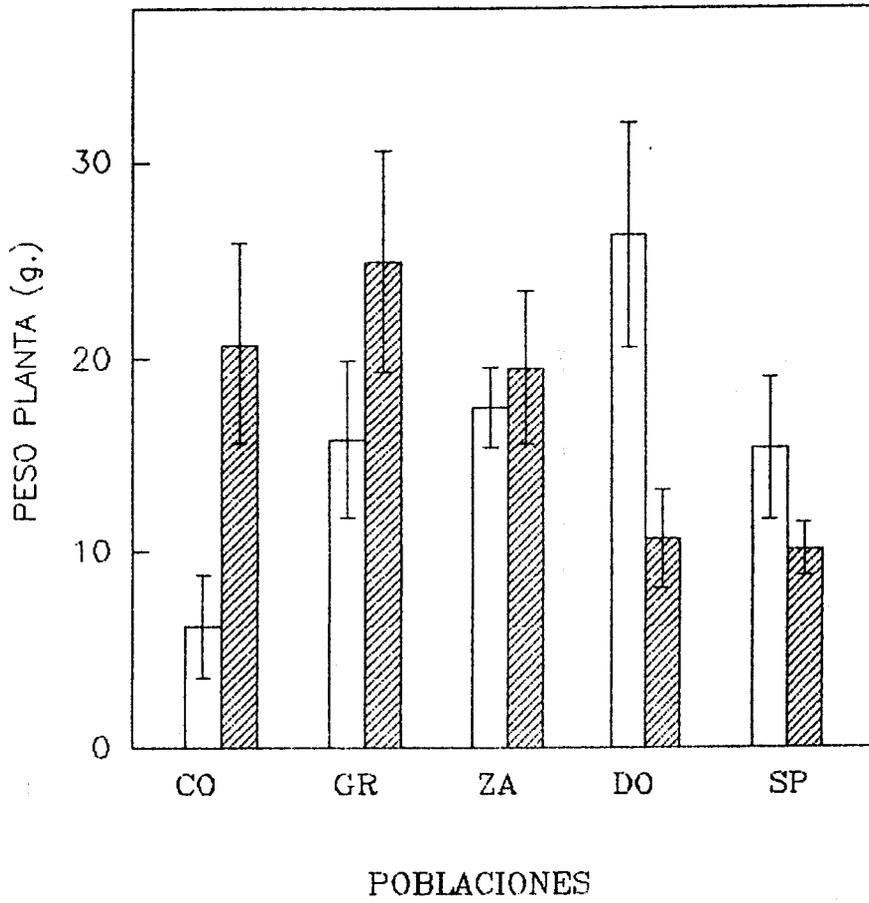


FIG. IV.5.- Peso de la planta \pm errores estándar) de cinco poblaciones de *Melilotus segetalis*. Blanco= Control, trama= Salinidad, CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, ZA= Zahara.

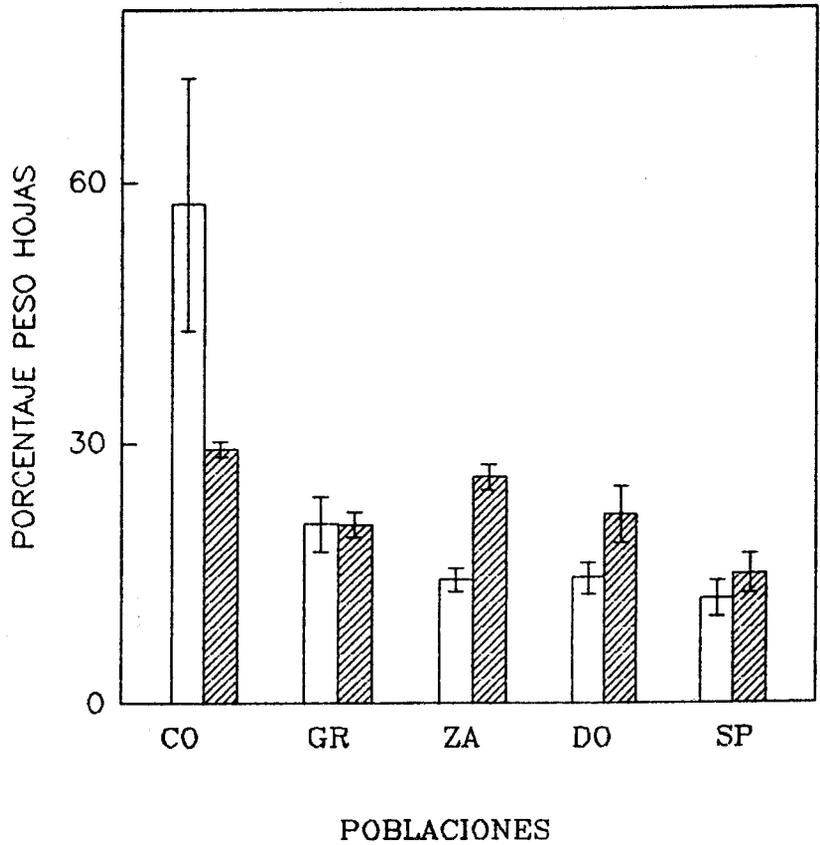


FIG. IV.6.- Porcentaje de peso en hojas \pm errores estándar) de cinco poblaciones de *Melilotus segetalis*. Blanco= Control, trama= Salinidad, CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, ZA= Zahara.

invierten más en hojas que las plantas de marisma (DOÑANA y S-PETRI). En cuanto a los racimos, existen diferencias en la distribución del peso en condiciones no salinas ($F=19,49$, $g.l.=4$, $p<0,0001$), diferenciándose en el análisis multifactorial la población de CORTES con una proporción menor. En tratamiento salino hay diferencias también ($F=6,74$, $g.l.=4$, $p=0,0013$), siendo igualmente las plantas de CORTES las que menos biomasa invierten en los racimos, en tanto que las de S-PETRI destacan con el valor más alto. Los tres restantes (GRAZALEMA, ZAHARA y DOÑANA) están en situación intermedia (Tabla IV.5 y Figura IV.6).

IV.2.2.- Caracteres químicos

-Sodio

El contenido de sodio en los tallos difiere significativamente entre poblaciones y entre tratamientos (control y salinidad). Asimismo la interacción entre estos factores es significativa (véase APENDICE IA para tablas completas de ANOVAS). En condiciones no salinas el análisis de comparaciones múltiples separa a las plantas de S-PETRI con el porcentaje de sodio más bajo (0,44%) y a las de CORTES con el valor más alto (2,23%). Las otras tres se encuentran en una posición intermedia. En condiciones salinas no hay diferencias. Las poblaciones de GRAZALEMA y S-PETRI presentan valores más bajos en los controles que en salinidad (Tabla IV.6).

En las hojas difiere significativamente el contenido de sodio entre poblaciones y entre tratamientos (APENDICE IB).

TABLA IV.6.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de SODIO, expresada en porcentaje de peso seco, en cinco poblaciones de *Heliotus segetalis*. n=3. NS=control, S=tratamiento salino. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tratamiento | Tallos | Hojas | Racimos |
|--------------|-------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| CORTES | NS | 2.23 \pm 0.36 e | 1.45 \pm 0.29 de | 0.35 \pm 0.00 ab |
| | S | 1.71 \pm 0.26 de | 1.74 \pm 0.14 e | 0.76 \pm 0.08 bc |
| GRAZALENA | NS | 0.91 \pm 0.13 b | 0.46 \pm 0.08 ab | 0.44 \pm 0.04 ab |
| | S | 1.67 \pm 0.21 de | 1.55 \pm 0.17 e | 0.39 \pm 0.19 a |
| ZAHARA | NS | 0.95 \pm 0.12 bc | 0.41 \pm 0.09 ab | 0.48 \pm 0.04 ab |
| | S | 1.47 \pm 0.05 cd | 1.70 \pm 0.15 e | 1.06 \pm 0.19 c |
| DOBANA | NS | 1.16 \pm 0.12 bcd | 0.69 \pm 0.20 bc | 0.29 \pm 0.15 bc |
| | S | 1.36 \pm 0.12 bcd | 1.09 \pm 0.17 cd | 0.68 \pm 0.02 bc |
| SANCTI-PETRI | NS | 0.44 \pm 0.08 a | 0.29 \pm 0.05 a | 0.26 \pm 0.06 a |
| | S | 1.63 \pm 0.35 de | 1.77 \pm 0.28 e | 0.73 \pm 0.07 bc |

TABLA IV.7.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de CLOURO, expresadas en porcentaje de peso seco, de cinco poblaciones de *H. segetalis*. n=3. NS=control, S=tratamiento salino. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tratamiento | Tallos | Hojas | Racimos |
|--------------|-------------|--------------------|----------------------|----------------------|
| CORTES | NS | 3.04 \pm 0.04 b | 3.17 \pm 0.07 bcd | 1.43 \pm 0.00 ab |
| | S | 3.70 \pm 0.25 c | 4.49 \pm 0.32 cd | 1.81 \pm 0.14 bcd |
| GRAZALENA | NS | 1.55 \pm 0.18 a | 1.44 \pm 0.04 ab | 1.15 \pm 0.44 a |
| | S | 3.67 \pm 0.27 c | 4.50 \pm 1.02 cd | 2.13 \pm 0.13 cde |
| ZAHARA | NS | 1.28 \pm 0.30 a | 1.82 \pm 0.03 abc | 1.46 \pm 0.06 abc |
| | S | 1.37 \pm 0.06 a | 1.51 \pm 0.24 abc | 1.06 \pm 0.06 a |
| DOBANA | NS | 2.70 \pm 0.15 bc | 2.78 \pm 0.82 abcd | 2.28 \pm 0.18 e |
| | S | 3.78 \pm 0.19 c | 5.11 \pm 0.06 d | 2.67 \pm 0.05 de |
| SANCTI-PETRI | NS | 1.30 \pm 0.07 a | 0.65 \pm 0.38 a | 0.85 \pm 0.09 a |
| | S | 2.37 \pm 0.35 b | 4.63 \pm 0.63 d | 2.06 \pm 0.32 bcde |

El análisis de comparaciones múltiples separa a la población de CORTES con concentraciones mayores en control, frente a las otras cuatro. En salinidad destacan las plantas de DOÑANA con concentraciones menores. GRAZALEMA, ZAHARA y S-PETRI tienen valores más bajos en condiciones de control frente al tratamiento salino (Tabla IV.6 y Figura IV.7).

En los racimos, difiere significativamente el contenido de sodio entre poblaciones y tratamientos (APENDICE IC). En salinidad se diferencia la población de GRAZALEMA con las menores concentraciones. ZAHARA y S-PETRI tienen menores concentraciones en control con respecto a salinidad.

-Cloruro

El contenido de cloruro en tallos difiere significativamente entre poblaciones y entre tratamientos. La interacción entre los dos factores también es significativa (APENDICE IIA). En los controles las plantas de GRAZALEMA, ZAHARA y S-PETRI tienen valores menores que CORTES y DOÑANA. En salinidad ZAHARA tiene concentraciones menores, le sigue S-PETRI. Los valores mayores los tienen CORTES, GRAZALEMA y DOÑANA. CORTES, GRAZALEMA y S-PETRI concentran menos cloruro en los tallos en tratamiento no salino, respecto a salinidad (Tabla IV.7 y Figura IV.8). En las hojas la concentración de cloruro no presenta diferencias significativas entre las poblaciones, aunque sí entre tratamientos (APENDICE IIB). Las poblaciones de GRAZALEMA y S-PETRI, presentan concentraciones más bajas en control que en salinidad. En cuanto a los racimos, hay diferencias entre

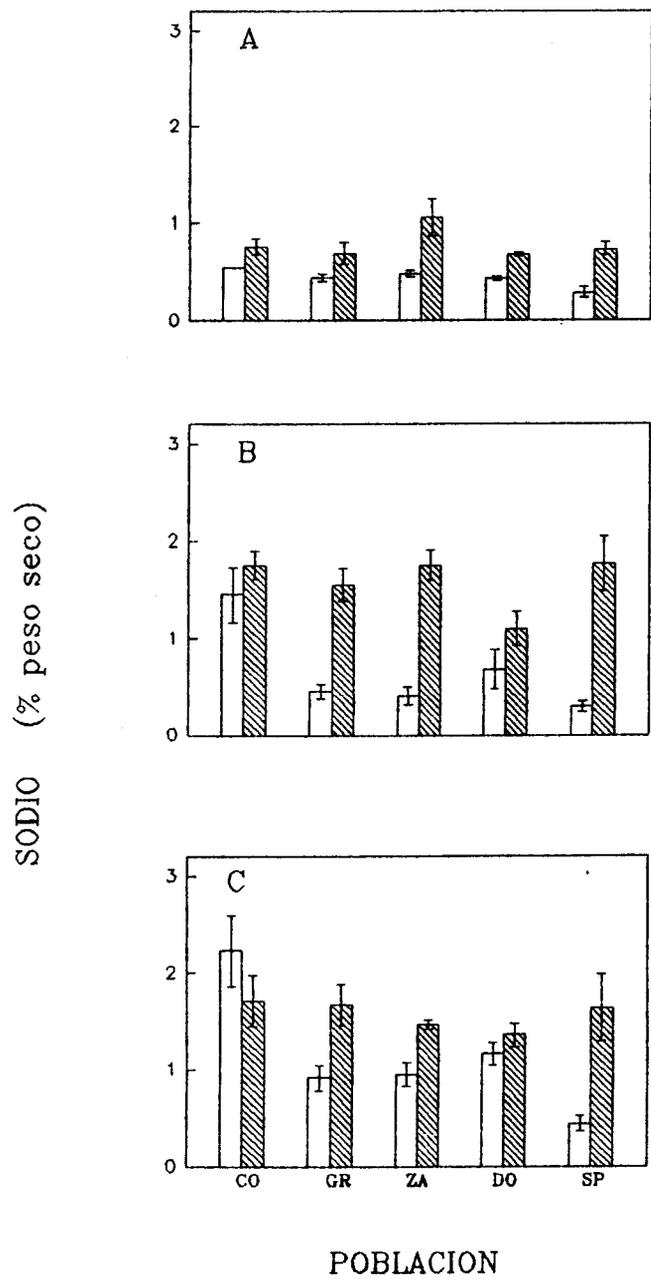


FIG. IV.7.- Concentración de SODIO en Racimos florales (A), hojas (B) y tallos (C). Blanco= Control, Trama= Salinidad, CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, ZA= Zahara.

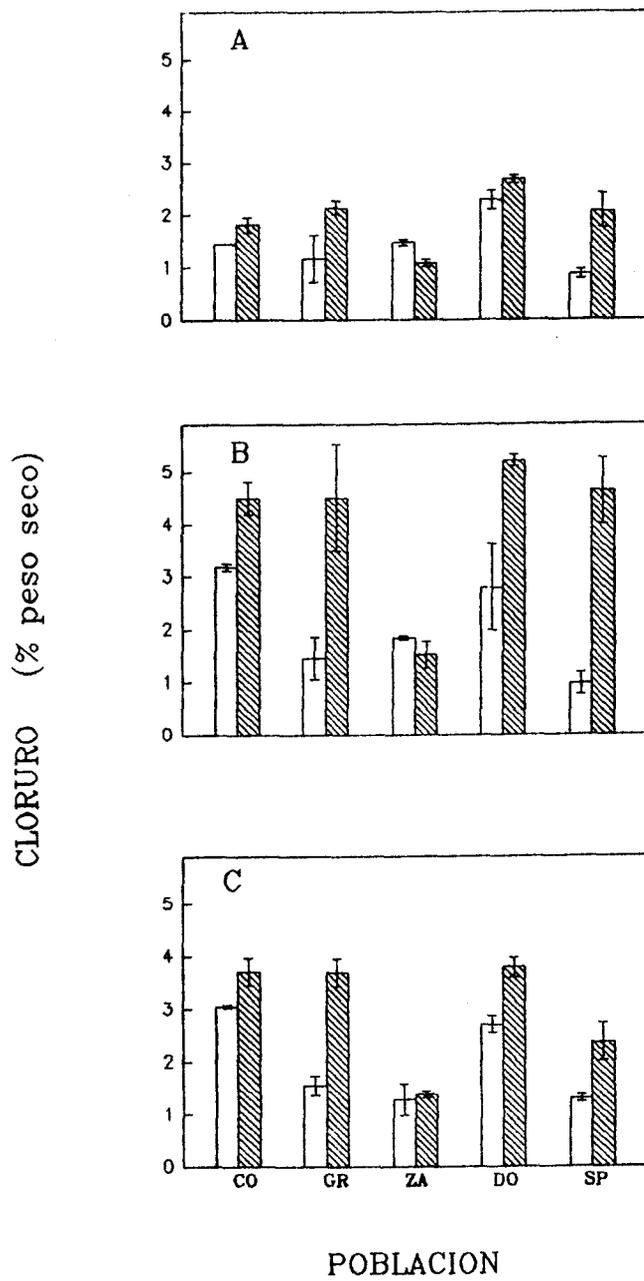


FIG. IV.8.- Concentración de CLORURO en Racimos florales (A), hojas (B) y tallos (C). Blanco= Control, Trama= Salinidad, CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, ZA= Zahara.

las poblaciones y entre tratamientos en el contenido en cloruro (APENDICE IIC), siendo en condiciones no salinas la población de DOÑANA la que más cloruro acumula frente a las cuatro restantes. En condiciones de salinidad, destacan con el valor más bajo las plantas de ZAHARA, frente a las otras cuatro.

-Calcio

En la acumulación del calcio en tallos, hay diferencias significativas entre las poblaciones y entre tratamientos, así como también es significativa la interacción entre ambos factores (APENDICE IIIA). CORTES, DOÑANA y S-PETRI presentan en los controles concentraciones menores, GRAZALEMA está en una situación intermedia y ZAHARA tiene el valor más alto. En condiciones salinas no hay diferencias. GRAZALEMA y ZAHARA tienen concentraciones de calcio más bajas en salinidad (Tabla IV.8 y Figura IV.9). Las hojas también presentan diferencias en la acumulación de calcio entre las poblaciones y entre tratamientos, aunque no es significativa la interacción entre estos dos factores (APENDICE IIIB). CORTES, DOÑANA y S-PETRI, acumulan menos calcio en condiciones de no salinidad, GRAZALEMA está en situación intermedia y ZAHARA alcanza las mayores concentraciones. En condiciones salinas no hay diferencias. Las poblaciones de GRAZALEMA y ZAHARA presentan concentraciones mayores en los controles con respecto a la salinidad. En los racimos también aparecen diferencias significativas entre las poblaciones, entre tratamientos. Hay interacción de ambos (APENDICE IIIC). Las

plantas de CORTES acumulan en condiciones de no salinidad menos calcio, DOÑANA y S-PETRI poseen valores intermedios y GRAZALEMA y ZAHARA tienen los valores más altos. Las plantas de GRAZALEMA y ZAHARA acumulan más calcio en control que en salinidad.

-Magnesio

No aparecen diferencias significativas en la acumulación de Magnesio en tallos entre las poblaciones, ni entre los tratamientos, así como tampoco es significativa la interacción de los dos factores (APENDICE IVA). En las hojas hay diferencias entre poblaciones y entre tratamientos y existe interacción de ambos factores (APENDICE IVB). En condiciones de salinidad, GRAZALEMA tiene concentraciones más bajas que las restantes poblaciones y a su vez esta población acumula más magnesio en hojas en control (Figura IV.10). Hay diferencias significativas entre las poblaciones y entre tratamientos para la concentración de magnesio en los racimos (APENDICE IVC). En condiciones de no salinidad destacan CORTES con las concentraciones más bajas y S-PETRI con las más altas. GRAZALEMA, ZAHARA y DOÑANA presentan valores intermedios. En condiciones salinas es S-PETRI la que tiene menos magnesio en racimos, en tanto que GRAZALEMA se encuentra en el otro extremo (Tabla IV.9). GRAZALEMA y ZAHARA acumulan más magnesio en racimos en condiciones de salinidad, en tanto que S-PETRI concentra más este nutriente en condiciones de no salinidad.

TABLE IV.8.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de CALCIO, expresadas en porcentaje sobre peso seco, de cinco poblaciones de *M. segetalis*. n=3. NS= control, S=tratamiento salino. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tratamiento | Tallos | Hojas | Racimos |
|--------------|-------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| CORTES | NS | 1.03 \pm 0.05 b | 2.93 \pm 0.26 a | 1.03 \pm 0.00 a |
| | S | 0.78 \pm 0.11 a | 3.52 \pm 0.23 ab | 1.11 \pm 0.06 ab |
| GRAZALENA | NS | 1.56 \pm 0.37 c | 6.18 \pm 1.30 d | 1.71 \pm 0.11 d |
| | S | 0.94 \pm 0.16 ab | 4.10 \pm 0.16 abc | 1.24 \pm 0.10 b |
| ZAHARA | NS | 2.06 \pm 0.27 d | 8.30 \pm 0.84 e | 1.88 \pm 0.07 d |
| | S | 1.01 \pm 0.09 ab | 5.40 \pm 0.36 cd | 1.50 \pm 0.04 c |
| DOÑANA | NS | 0.80 \pm 0.05 ab | 3.78 \pm 0.54 abc | 1.30 \pm 0.06 bc |
| | S | 0.73 \pm 0.08 a | 3.45 \pm 0.39 ab | 1.22 \pm 0.09 b |
| SANCTI-PETRI | NS | 0.77 \pm 0.06 ab | 4.43 \pm 0.57 bcd | 1.28 \pm 0.06 bc |
| | S | 0.64 \pm 0.09 a | 3.90 \pm 0.15 abc | 1.01 \pm 0.06 ab |

TABLE IV.9.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de MAGNESIO, expresada en porcentaje sobre peso seco, de cinco poblaciones de *M. segetalis*. n=3. NS= control, S= tratamiento salino. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tratamiento | Tallos | Hojas | Racimos |
|--------------|-------------|--------------------|-------------------|----------------------|
| CORTES | NS | 0.25 \pm 0.05 ab | 0.51 \pm 0.03 b | 0.21 \pm 0.00 a |
| | S | 0.17 \pm 0.02 ab | 0.56 \pm 0.05 b | 0.29 \pm 0.02 bcde |
| GRAZALENA | NS | 0.21 \pm 0.03 ab | 0.64 \pm 0.07 b | 0.28 \pm 0.01 bcd |
| | S | 0.18 \pm 0.04 ab | 0.22 \pm 0.21 a | 0.35 \pm 0.00 f |
| ZAHARA | NS | 0.22 \pm 0.02 ab | 0.65 \pm 0.07 b | 0.26 \pm 0.03 b |
| | S | 0.16 \pm 0.02 ab | 0.67 \pm 0.02 b | 0.31 \pm 0.01 def |
| DOÑANA | NS | 0.13 \pm 0.01 a | 0.52 \pm 0.02 b | 0.26 \pm 0.00 bc |
| | S | 0.13 \pm 0.01 a | 0.62 \pm 0.02 b | 0.30 \pm 0.01 cde |
| SANCTI-PETRI | NS | 0.23 \pm 0.02 ab | 0.72 \pm 0.08 b | 0.32 \pm 0.01 ef |
| | S | 0.21 \pm 0.02 ab | 0.59 \pm 0.01 b | 0.26 \pm 0.01 b |

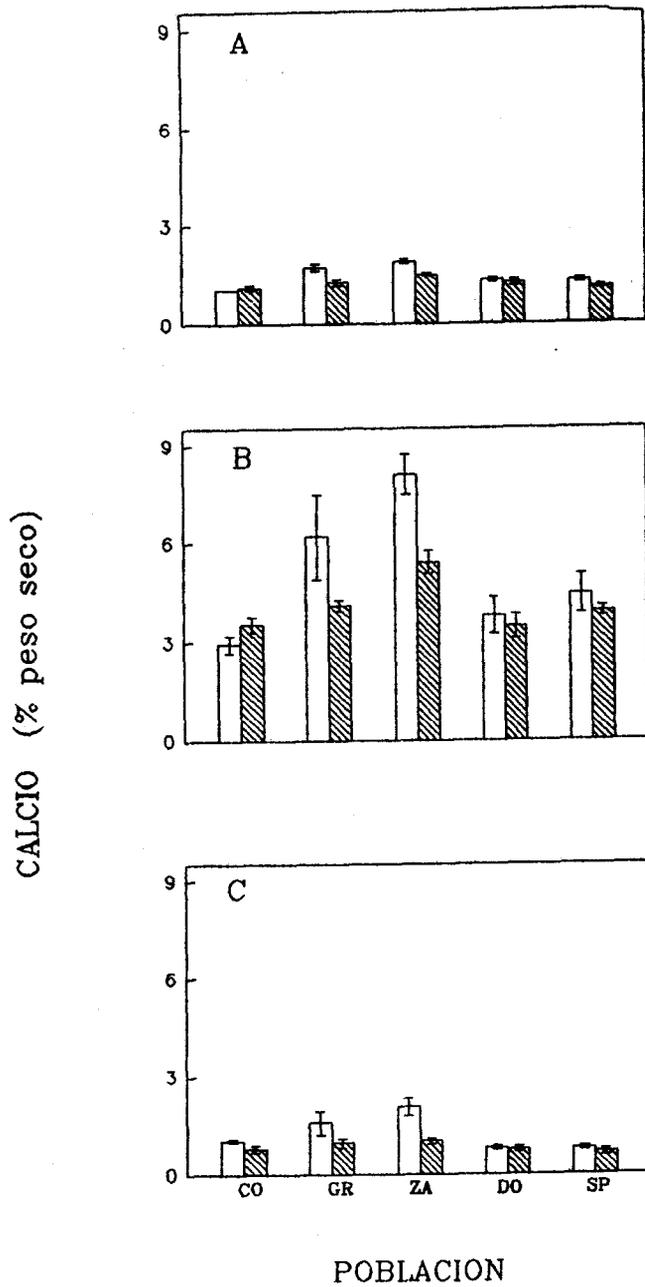


FIG. IV.9.- Concentracion de CALCIO en Racimos florales (A), hojas (B) y tallos (C). Blanco= Control, Trama= Salinidad, CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, ZA= Zahara.

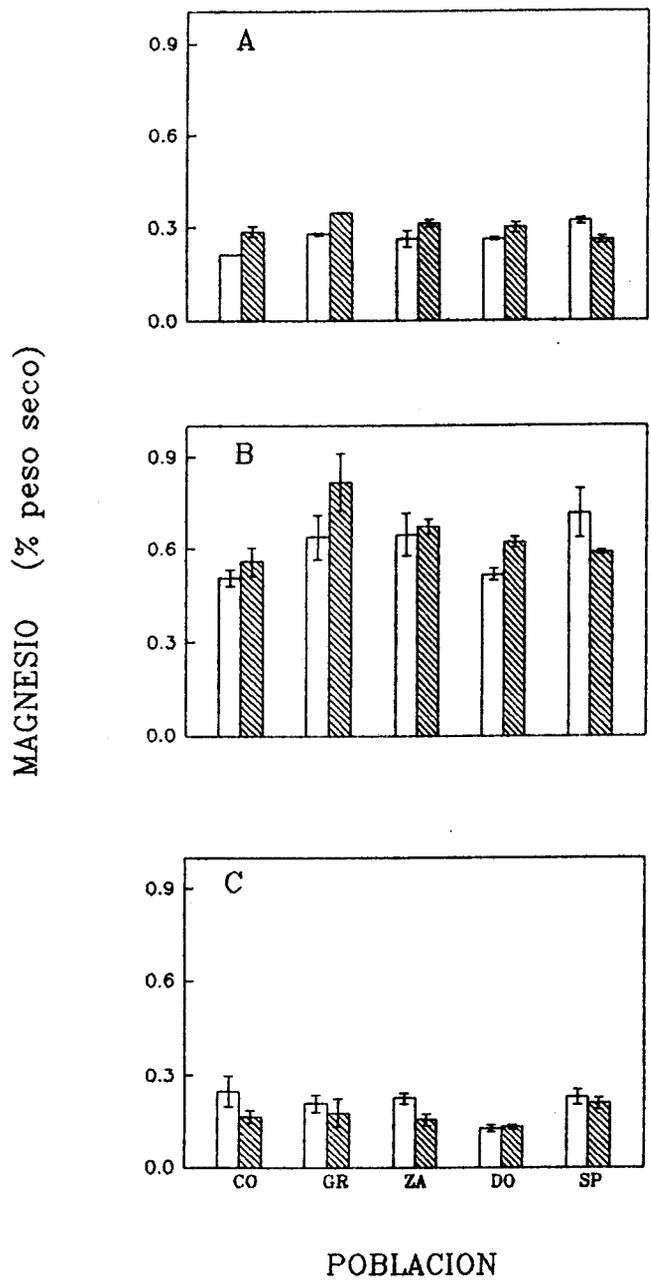


FIG. IV.10.- Concentración de **MAGNESIO** en Racimos florales (A), hojas (B) y tallos (C). Blanco= Control, Trama= Salinidad, CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, ZA= Zahara.

-Potasio

Hay diferencias significativas entre las poblaciones en la acumulación del potasio en tallos y también entre tratamientos. Existe interacción entre los dos factores (APENDICE VA). Las plantas de CORTES presentan concentraciones mayores que las cuatro restantes en condiciones no salinas. En las poblaciones de ZAHARA y DOÑANA, las concentraciones son mayores en salinidad; en tanto que en CORTES es en los controles donde se acumula más potasio en tallos (Tabla IV.10). En las hojas la acumulación difiere entre las poblaciones y entre los tratamientos. ZAHARA y DOÑANA presentan una menor acumulación en condiciones no salinas, les siguen GRAZALEMA y S-PETRI. CORTES presenta el valor mayor. En salinidad CORTES es la población que más potasio acumula en las hojas, frente a las cuatro restantes poblaciones, con valores similares entre sí (Figura IV.11). Las plantas de CORTES, ZAHARA y DOÑANA tienen concentraciones menores de potasio en hojas en situación salina, frente a salinidad. Asimismo hay diferencias significativas entre poblaciones y tratamientos en la concentración de potasio en los racimos (APENDICE IVC). La acumulación es menor en DOÑANA y S-PETRI; GRAZALEMA y ZAHARA tienen valores intermedios y CORTES es la población que presenta concentraciones mayores para los controles. La misma pauta sigue en salinidad. En los tratamientos sólo hay diferencias en la población de DOÑANA, que acumula más potasio en condiciones de salinidad (ver Tabla IV.10 y Figura IV.11).

IV.10.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de POTASIO, expresada en porcentaje sobre peso seco, en cinco poblaciones de *Melilotus segetalis*. n=3. NS= control, S= tratamiento salino. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tratamiento | Tallos | Hojas | Racinos |
|--------------|-------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| CORTES | NS | 2.91 \pm 0.44 f | 1.72 \pm 0.18 cd | 2.57 \pm 0.00 d |
| | S | 1.25 \pm 0.27 cd | 2.21 \pm 0.16 e | 2.73 \pm 0.10 d |
| GRAZALENA | NS | 0.72 \pm 0.19 ab | 1.23 \pm 0.20 b | 1.83 \pm 0.12 c |
| | S | 0.68 \pm 0.03 ab | 1.47 \pm 0.02 bc | 1.78 \pm 0.12 bc |
| ZAHARA | NS | 0.37 \pm 0.05 a | 0.56 \pm 0.20 a | 1.70 \pm 0.16 bc |
| | S | 1.11 \pm 0.05 cd | 1.41 \pm 0.16 bc | 1.94 \pm 0.06 c |
| DOÑANA | NS | 0.69 \pm 0.01 ab | 0.77 \pm 0.08 a | 1.34 \pm 0.16 a |
| | S | 1.30 \pm 0.32 d | 1.32 \pm 0.11 bc | 1.73 \pm 0.02 bc |
| SANCTI-PETRI | NS | 0.74 \pm 0.03 ab | 1.18 \pm 0.12 b | 1.30 \pm 0.00 a |
| | S | 0.87 \pm 0.07 bc | 1.50 \pm 0.15 bc | 1.50 \pm 0.10 ab |

TABLE IV.11.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de NITROGENO, expresada en porcentaje sobre peso seco, de cinco poblaciones de *H. segetalis*. n=3. NS= control, S= tratamiento salino. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tratamiento | Tallos | Hojas | Racinos |
|--------------|-------------|---------------------|--------------------|-------------------|
| CORTES | NS | 1.58 \pm 0.12 d | 4.14 \pm 0.23 d | 4.68 \pm 0.00 b |
| | S | 1.14 \pm 0.04 cd | 3.06 \pm 0.15 bc | 3.15 \pm 0.02 a |
| GRAZALENA | NS | 0.99 \pm 0.20 bc | 2.52 \pm 0.32 bc | 3.06 \pm 0.12 a |
| | S | 0.87 \pm 0.28 abc | 2.69 \pm 0.34 bc | 3.29 \pm 0.03 a |
| ZAHARA | NS | 0.67 \pm 0.01 ab | 1.70 \pm 0.09 a | 3.07 \pm 0.16 a |
| | S | 0.94 \pm 0.04 bc | 2.84 \pm 0.09 bc | 3.04 \pm 0.10 a |
| DOÑANA | NS | 0.87 \pm 0.07 abc | 3.33 \pm 0.24 bc | 3.00 \pm 0.41 a |
| | S | 0.88 \pm 0.03 abc | 4.00 \pm 0.06 cd | 2.84 \pm 0.19 a |
| SANCTI-PETRI | NS | 1.12 \pm 0.08 cd | 3.90 \pm 0.14 cd | 3.14 \pm 0.44 a |
| | S | 0.96 \pm 0.09 bc | 3.04 \pm 0.37 bc | 2.74 \pm 0.15 a |

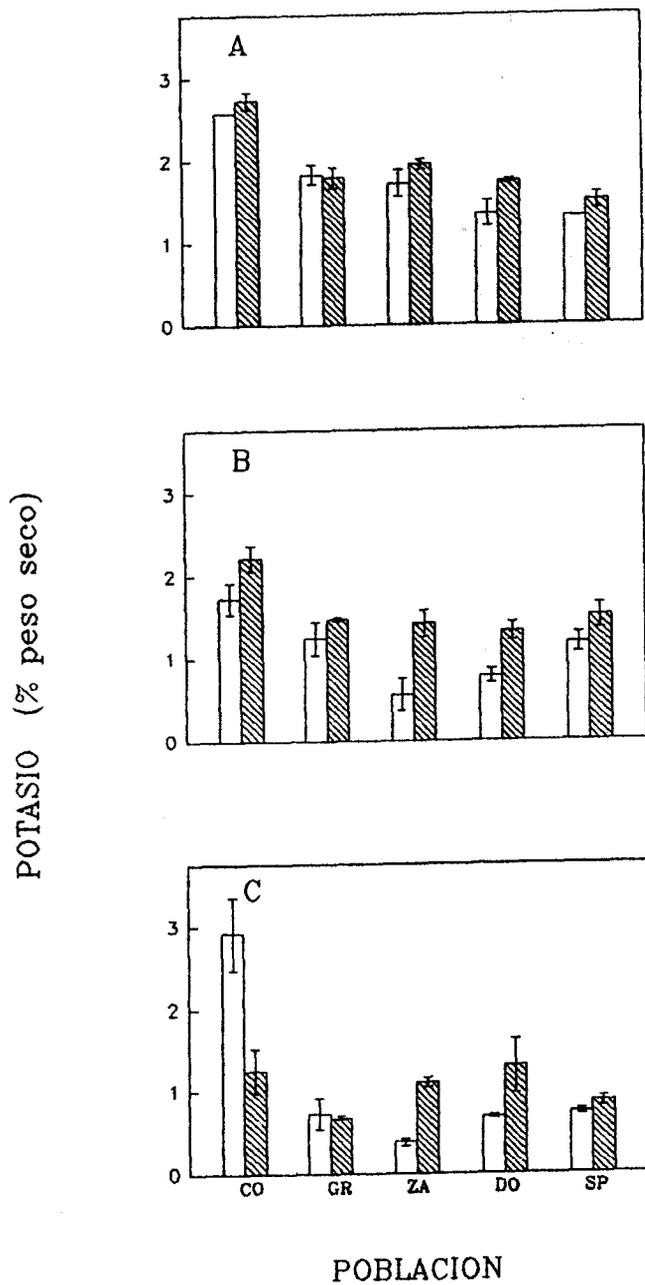


FIG. IV.11.- Concentración de POTASIO en Racimos florales (A), hojas (B) y tallos (C). Blanco= Control, Trama= Salinidad, CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, ZA= Zahara.

-Nitrógeno

Aparecen diferencias significativas entre las poblaciones en la acumulación de nitrógeno en tallos, pero no entre tratamientos (APENDICE VIA). El análisis de comparaciones múltiples no separa grupos de poblaciones. En las hojas encontramos diferencias significativas entre poblaciones y tratamientos (APENDICE VIB). Destaca ZAHARA en el control, frente a las otras cuatro que poseen valores mayores; en tanto que en salinidad, DONANA acumula más nitrógeno en hojas que las demás. Las plantas de ZAHARA tienen más nitrógeno en las hojas en salinidad frente a control, en CORTES y S-PETRI, los controles tienen mayores concentraciones (Tabla IV.11 y Figura IV. 12). En los racimos, las diferencias entre poblaciones y tratamientos resultantes en el ANOVA (APENDICE VIC), se deben a las plantas de CORTES, que alcanzan mayores concentraciones que las cuatro poblaciones restantes, para condiciones de no salinidad. En salinidad no hay diferencias. CORTES por tanto tiene mayor acumulación en control que en tratamiento salino.

-Fósforo

La concentración de fósforo en tallos presenta diferencias significativas entre poblaciones y entre tratamientos (APENDICE VIIA). La población de GRAZALEMA acumula menos fósforo en tallos en salinidad frente a las otras cuatro. ZAHARA tiene valores más bajos en control que en salinidad (Tabla IV.12 y Figura IV.13). En las hojas no aparecen diferencias significativas entre las poblaciones ni

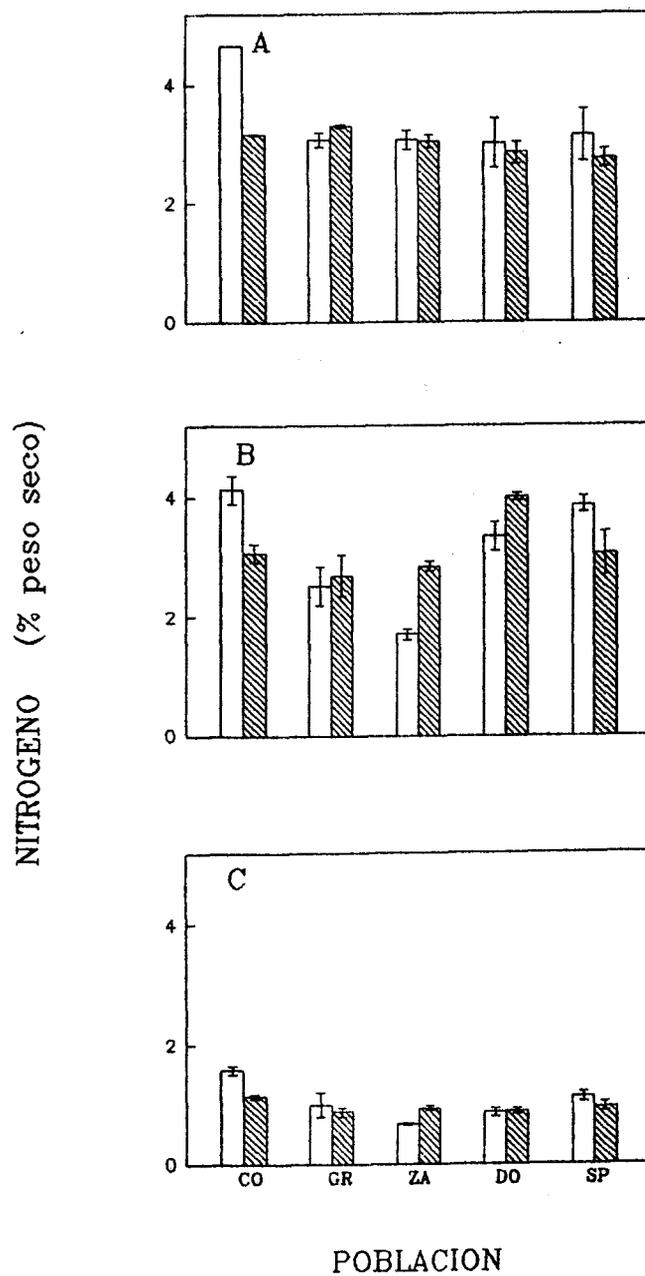


FIG. IV.12. Concentración de NITROGENO en Racimos florales (A), hojas (B) y tallos (C). Blanco= Control, Trama= Salinidad, CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, ZA= Zahara.

TABLA IV.12.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de FOSFORO, expresada en porcentaje sobre peso seco, de cinco poblaciones de *H. segetalis*. n=3. NS=controles, S= tratamiento salino. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (L.S.D. 95%).

| Población | Tratamiento | Tallos | Hojas | Racimos |
|--------------|-------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| CORTES | NS | 0.04 \pm 0.02 bc | 0.19 \pm 0.01 ab | 0.33 \pm 0.00 bc |
| | S | 0.04 \pm 0.01 bc | 0.12 \pm 0.01 a | 0.23 \pm 0.01 ab |
| GRAZALENA | NS | 0.04 \pm 0.03 bc | 0.08 \pm 0.02 a | 0.19 \pm 0.02 a |
| | S | 0.02 \pm 0.01 a | 0.07 \pm 0.01 a | 0.18 \pm 0.02 a |
| ZAHARA | NS | 0.03 \pm 0.00 b | 0.06 \pm 0.01 a | 0.18 \pm 0.01 a |
| | S | 0.05 \pm 0.00 cd | 0.10 \pm 0.00 a | 0.27 \pm 0.01 ab |
| DOÑANA | NS | 0.04 \pm 0.01 bc | 0.09 \pm 0.01 a | 0.20 \pm 0.01 a |
| | S | 0.04 \pm 0.02 bc | 0.12 \pm 0.24 a | 0.20 \pm 0.04 a |
| SANCTI-PETRI | NS | 0.04 \pm 0.00 bc | 0.10 \pm 0.00 a | 0.18 \pm 0.00 a |
| | S | 0.05 \pm 0.01 cd | 0.11 \pm 0.03 a | 0.24 \pm 0.04 ab |

TABLA IV.13.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de NITRO, expresada en porcentaje sobre peso seco, de cinco poblaciones de *H. segetalis*. n=3. NS=controles, S=tratamiento salino. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tratamiento | Tallos | Hojas | Racimos |
|--------------|-------------|------------------|-----------------|-----------------|
| CORTES | NS | 83 \pm 1 bc | 127 \pm 17 cd | 88 \pm 0 ab |
| | S | 95 \pm 5 bc | 175 \pm 16 d | 138 \pm 22 bc |
| GRAZALENA | NS | 89 \pm 43 bc | 89 \pm 21 b | 73 \pm 6 a |
| | S | 95 \pm 15 c | 82 \pm 16 b | 75 \pm 11 a |
| ZAHARA | NS | 52 \pm 4 ab | 67 \pm 7 ab | 87 \pm 7 ab |
| | S | 97 \pm 15 bc | 110 \pm 8 bc | 98 \pm 14 ab |
| DOÑANA | NS | 116 \pm 17 cde | 161 \pm 17 cd | 221 \pm 41 d |
| | S | 141 \pm 14 de | 176 \pm 14 d | 170 \pm 26 cd |
| SANCTI-PETRI | NS | 66 \pm 7 ab | 82 \pm 15 b | 77 \pm 21 a |
| | S | 74 \pm 5 ab | 120 \pm 5 cd | 100 \pm 7 ab |

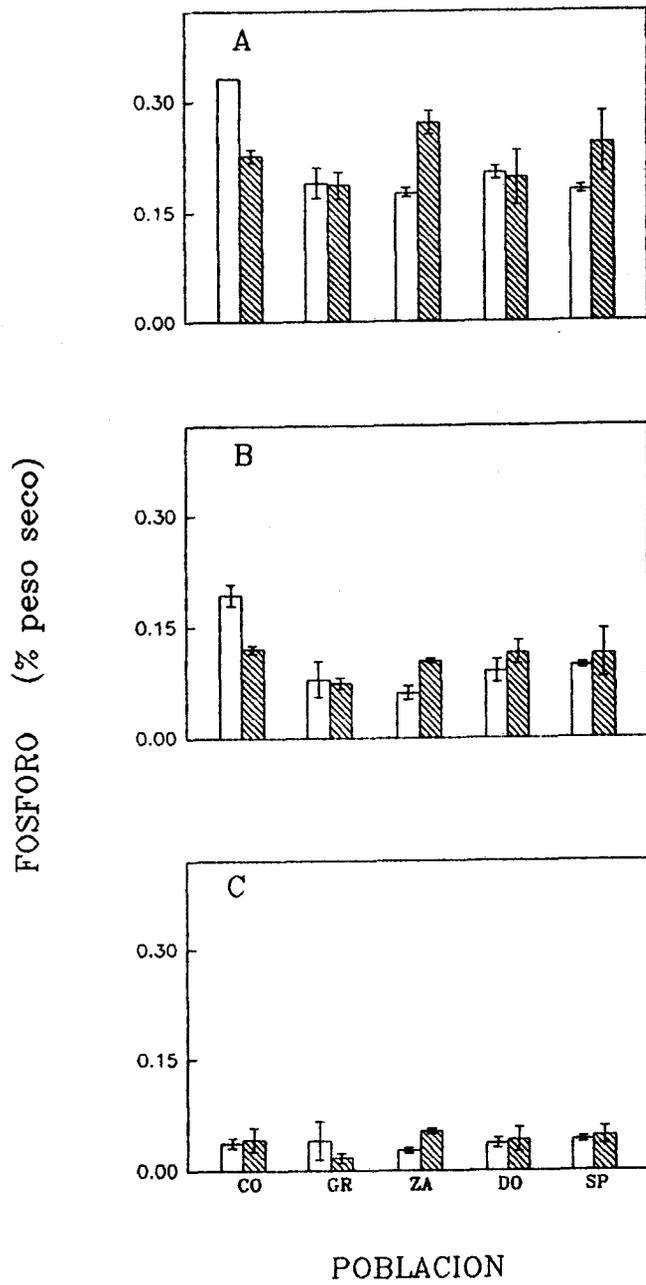


FIG. IV.13.- Concentración de FOSFORO en Racimos florales (A), hojas (B) y tallos (C). Blanco= Control, Trama= Salinidad, CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, ZA= Zahara.

entre tratamientos (APENDICE VIIB). En cuanto a la acumulación en los racimos, hay diferencias entre las poblaciones, pero no entre tratamientos. Hay interacción entre los dos factores (APENDICE VIIC). Las plantas de CORTES también acumulan más en el control que en tratamiento salino.

-Micronutrientes

a) Hierro

Hay diferencias significativas entre las poblaciones en la acumulación de hierro en tallos, pero no entre tratamientos. Hay interacción entre ambos factores (APENDICE VIIIA). DOÑANA acumula más hierro que las demás poblaciones en salinidad. En las hojas aparecen diferencias entre las poblaciones, aunque no entre tratamientos. Hay interacciones entre los dos factores (APENDICE VIIIB). Las poblaciones de GRAZALEMA, ZAHARA y S-PETRI poseen los valores más bajos en los controles, frente a CORTES y DOÑANA (Tabla IV.13 y Figura 14). En los racimos hay diferencias significativas entre las poblaciones, aunque no entre tratamientos. No hay interacción entre los factores (APENDICE VIIIC). Las plantas de DOÑANA acumulan más hierro que las de las otras cuatro poblaciones en los controles (Tabla IV.13 y Figura IV.14).

b) Manganeso

La acumulación del manganeso en tallos no diferencia a las poblaciones entre sí, ni en los controles, ni en salinidad. Asimismo tampoco existen diferencias entre los tratamientos (APENDICE IXA). En las hojas en cambio las

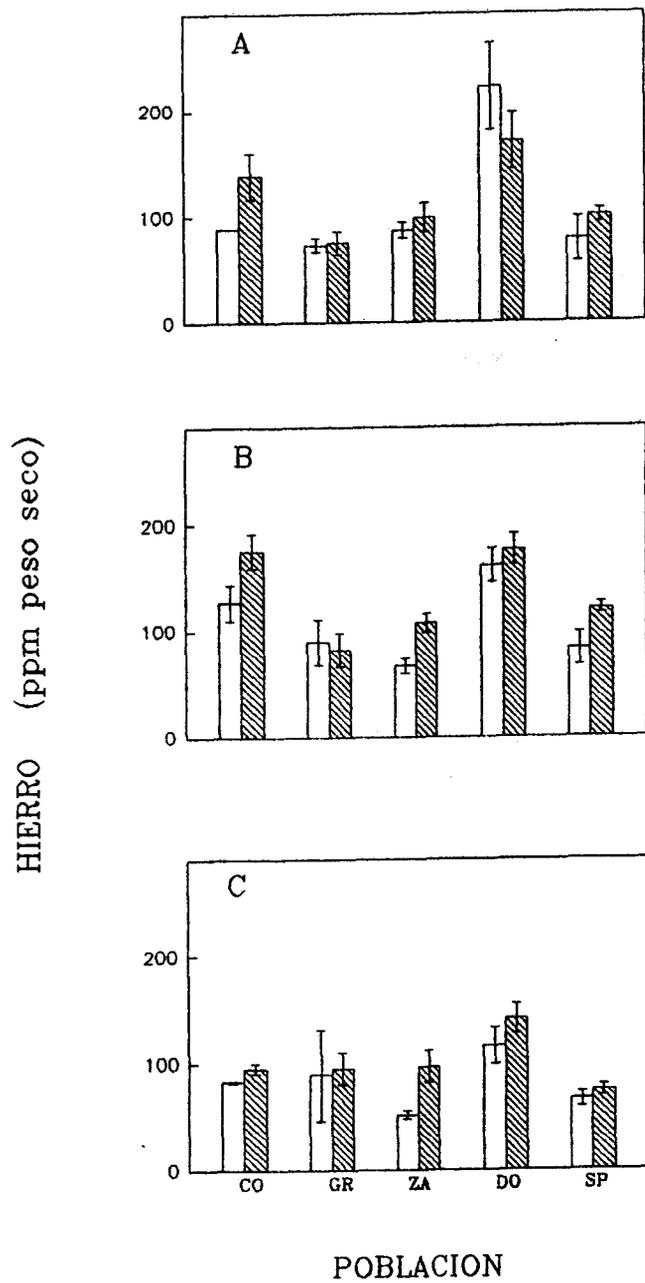


FIG. IV.14.- Concentración de HIERRO en Racimos florales (A), hojas (B) y tallos (C). Blanco= Control, Trama= Salinidad, CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, ZA= Zahara.

TABLA IV.14.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de **MANGANESO**, expresada en porcentaje sobre peso seco, de cinco poblaciones de *H. segetalis*. n=3. NS=controles, S=tratamiento salino. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tratamiento | Tallos | Hojas | Racimos |
|--------------|-------------|--------------|----------------|----------------|
| CORTES | NS | 12 \pm 2 b | 46 \pm 1 a | 25 \pm 0 ab |
| | S | 8 \pm 1 ab | 65 \pm 2 b | 23 \pm 2 ab |
| GRAZALENA | NS | 10 \pm 2 b | 82 \pm 11 cd | 24 \pm 2 ab |
| | S | 11 \pm 1 b | 102 \pm 7 d | 24 \pm 2 ab |
| ZAHARA | NS | 8 \pm 1 ab | 78 \pm 7 cd | 22 \pm 2 a |
| | S | 10 \pm 1 b | 61 \pm 25 b | 32 \pm 4 d |
| DOÑANA | NS | 11 \pm 1 b | 92 \pm 12 d | 31 \pm 1 cd |
| | S | 12 \pm 2 b | 79 \pm 16 cd | 27 \pm 2 bcd |
| SANCTI-PETRI | NS | 7 \pm 0 ab | 69 \pm 7 bc | 21 \pm 1 a |
| | S | 10 \pm 1 b | 102 \pm 12 d | 28 \pm 3 bcd |

TABLA IV.15.- Medias \pm errores estándar de las concentraciones de **CINCO**, expresada en porcentaje sobre peso seco, de cinco poblaciones de *H. segetalis*. n=3. NS=controles, S=tratamiento salino. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D. 95%).

| Población | Tratamiento | Tallos | Hojas | Racimos |
|--------------|-------------|----------------|----------------|------------------|
| CORTES | NS | 39 \pm 1 bc | 40 \pm 4 a | 49 \pm 0 cde |
| | S | 33 \pm 4 bc | 38 \pm 5 a | 38 \pm 13 abc |
| GRAZALENA | NS | 70 \pm 14 d | 52 \pm 12 ab | 52 \pm 13 de |
| | S | 52 \pm 8 cd | 48 \pm 5 ab | 48 \pm 13 bcde |
| ZAHARA | NS | 41 \pm 5 bc | 31 \pm 2 a | 52 \pm 14 de |
| | S | 58 \pm 11 cd | 57 \pm 1 ab | 63 \pm 7 e |
| DOÑANA | NS | 38 \pm 7 bc | 38 \pm 2 a | 51 \pm 5 de |
| | S | 49 \pm 23 cd | 50 \pm 21 ab | 39 \pm 8 abc |
| SANCTI-PETRI | NS | 19 \pm 2 a | 42 \pm 12 a | 33 \pm 0 a |
| | S | 23 \pm 2 ab | 30 \pm 8 a | 37 \pm 4 ab |

poblaciones son significativamente diferentes y también los tratamientos. Hay interacción entre los factores (APENDICE IXB). Las plantas de CORTES se diferencian de las demás al presentar en condiciones no salinas menor acumulación de manganeso. En salinidad CORTES y ZAHARA muestran las concentraciones menores, GRAZALEMA y S-PETRI tienen los valores mayores, y DONANA se encuentra en situación intermedia (Tabla IV.14 y Figura IV.15). ZAHARA y S-PETRI tienen concentraciones menores en condiciones no salinas frente a salinidad. La concentración del manganeso en los racimos es significativamente diferente entre poblaciones y tratamientos. Hay interacción entre los dos factores (APENDICE IXC). DONANA tiene valores mayores que las cuatro poblaciones restantes en control. ZAHARA y S-PETRI acumulan menos manganeso en los racimos en control que en salinidad (Tabla IV.14 y Figura IV.15).

c) Cinc

La acumulación del Cinc en tallos muestra diferencias significativas entre las poblaciones, aunque no entre tratamientos (APENDICE XA). Las plantas de S-PETRI tienen los valores más bajos en control y las de GRAZALEMA los más altos. Las hojas no muestran diferencias entre poblaciones ni entre tratamientos (APENDICE XB). En cambio los racimos presentan diferencias significativas entre poblaciones y tratamientos, y hay interacciones entre los factores (APENDICE XC). Aparecen concentraciones menores en control en la población de S-PETRI con respecto a las cuatro

restantes. Las plantas de DOÑANA poseen más cinc en control que en salinidad (Tabla IV.15 y Figura IV.16).

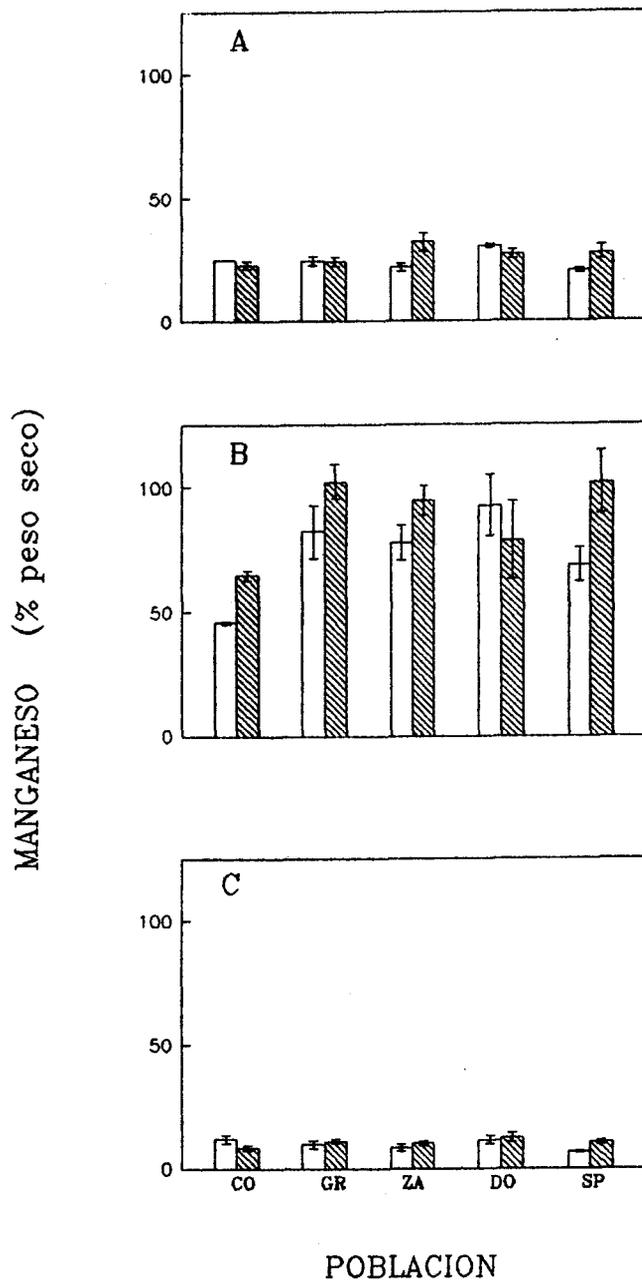


FIG. IV.15.- Concentración de **MANGANESO** en Racimos florales (A), hojas (B) y tallos (C). Blanco= Control, Trama= Salinidad, CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, ZA= Zahara.

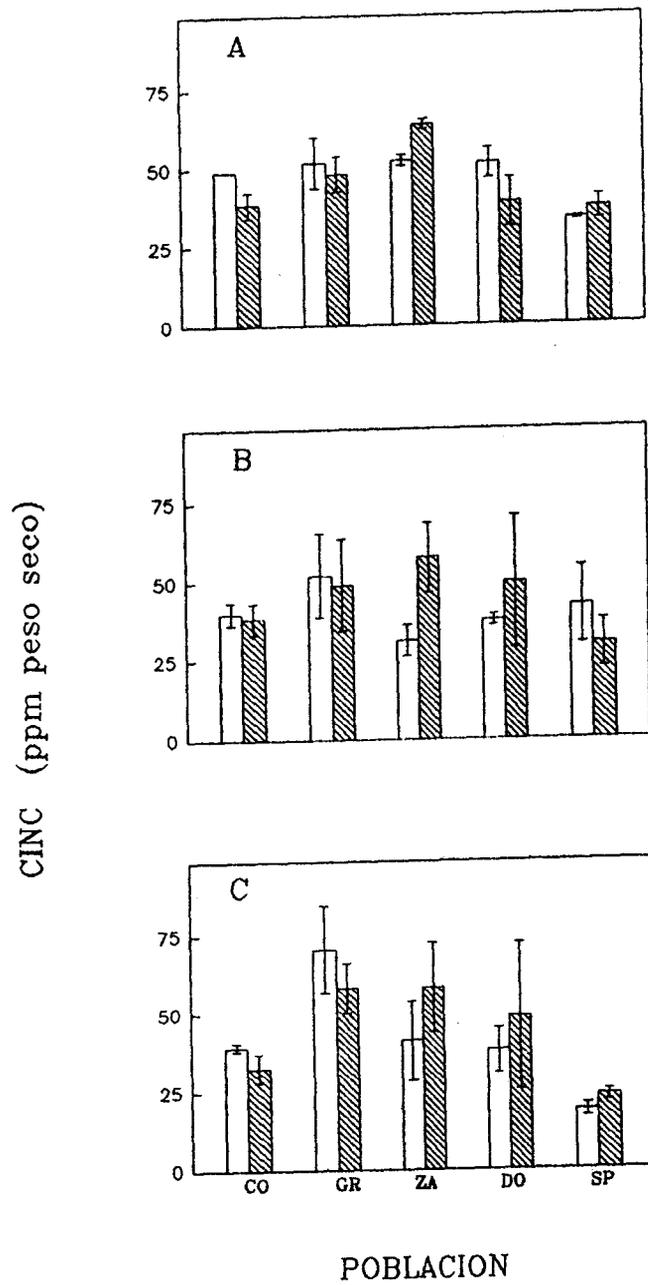


FIG. IV.16.- Concentración de CINC en Racimos florales (A), hojas (B) y tallos (C). Blanco= Control, Trama= Salinidad, CO= Cortes, DO= Doñana, GR= Grazalema, SP= Sancti-Petri, ZA= Zahara.

IV.3.- DISCUSION

En las tablas IV.16 y IV.17 se muestran las diferencias entre los dos ecotipos de *Melilotus segetalis* cultivados en medios uniformes.

La plasticidad fenotípica es el grado con el que el fenotipo varía bajo diferentes condiciones ambientales. Las diversas respuestas fenotípicas tienen una base genética y pueden ser seleccionadas en ambientes particulares (Bradshaw, 1965, 1972; Via and Lande, 1985; Schlichting, 1986). Aunque no es posible separar el efecto de las componentes ambiental y genética sobre el fenotipo, al menos sí es posible la variación fenotípica dentro de la variación entre genotipos y entre ambientes, con experimentos de crecimiento en un medio uniforme (Mather and Jinks, 1982; Falconer, 1989).

La longitud del foliolo y el peso de semillas de *M. segetalis* (ver capítulo III), siguen siendo mayores en las poblaciones de sierra que en las de marisma en condiciones uniformes de control y salinidad (Tabla IV. 16). Este efecto también se observó, aunque no se tomaron medidas, en la longitud de la corola.

Los coeficientes de variación , muestran una mayor variabilidad fenotípica en las poblaciones de sierra (Tabla IV.16).

Las plantas de sierra acumulan más magnesio en los racimos en salinidad. Asimismo concentran menos calcio en tallos en condiciones salinas (Tabla IV.17). Un medio adverso como es la salinidad, produce diferencias en las respuestas a nivel fisiológico en poblaciones procedentes de diferentes

TABLA IV.16.- Resumen de las diferencias en caracteres vegetativos, reproductores y productividad entre los dos ecotipos de *Heliotus segetalis* cultivados en condiciones uniformes (control y salinidad). Medias de los coeficientes de variación de las tres poblaciones de cada ecotipo.

| | Comparaciones de medias de ecotipos | | Coeficiente de Variación (%) | | | |
|---------------------------|-------------------------------------|-----------|------------------------------|-----------|---------|-----------|
| | marisma vs sierra | | marisma | | sierra | |
| | Control | Salinidad | Control | Salinidad | Control | Salinidad |
| Car. Vegetativos | | | | | | |
| Altura | = | = | 9,5 | 18,7 | 27,1 | 12,2 |
| Anchura | = | = | 12,9 | 13,0 | 21,0 | 14,3 |
| Nº Ramas | = | = | 17,2 | 26,9 | 19,3 | 32,5 |
| Long Foliolo | < | < | 11,4 | 18,2 | 17,2 | 18,4 |
| Anch Foliolo | = | = | 15,2 | 64,8 | 16,5 | 16,6 |
| Area Foliar | = | < | 58,9 | 37,3 | 41,2 | 47,1 |
| Car. Reproductores | | | | | | |
| Nº Racimos | > | = | 32,0 | 56,0 | 29,7 | 33,3 |
| Peso Semillas | < | < | 10,7 | 10,4 | 13,5 | 7,7 |
| Biomasa | | | | | | |
| Peso Planta | = | < | 53,1 | 41,9 | 17,7 | 52,1 |
| % Peso Tallo | = | = | 40,7 | 13,5 | 16,1 | 3,9 |
| % Peso Hojas | = | < | 22,6 | 29,2 | 30,3 | 43,5 |
| % Peso Racimos | = | = | 38,8 | 16,6 | 99,0 | 152,6 |

TABLA IV.17.- Resumen de las diferencias en contenido en elementos minerales entre los dos ecotipos de *Nelilotus segetalis* cultivados en condiciones uniformes (control y salinidad).

| | Comparaciones de medias de ecotipos marisma vs sierra | | Coeficiente de Variación (%) | | | |
|------------------|---|-----------|------------------------------|-----------|---------|-----------|
| | Control | Salinidad | marisma | | sierra | |
| | | | Control | Salinidad | Control | Salinidad |
| Sodio | | | | | | |
| Tallo | = | = | 24,7 | 26,2 | 24,8 | 18,0 |
| Hojas | = | = | 40,0 | 27,2 | 34,2 | 16,1 |
| Racimos | = | = | 64,7 | 10,8 | 10,0 | 44,5 |
| Cloruro | | | | | | |
| Tallo | = | = | 9,5 | 17,1 | 21,0 | 10,7 |
| Hojas | = | = | 76,1 | 12,8 | 3,8 | 26,3 |
| Racimos | = | = | 16,0 | 10,0 | 24,4 | 11,2 |
| Calcio | | | | | | |
| Tallo | = | = | 12,1 | 21,6 | 24,0 | 23,1 |
| Hojas | = | = | 23,5 | 13,1 | 22,5 | 14,7 |
| Racimos | = | = | 8,0 | 11,5 | 5,9 | 9,3 |
| Magnesio | | | | | | |
| Tallo | = | = | 14,2 | 16,3 | 30,6 | 26,8 |
| Hojas | = | = | 12,9 | 4,3 | 15,9 | 61,9 |
| Racimos | = | = | 2,7 | 6,2 | 1,7 | 5,8 |
| Potasio | | | | | | |
| Tallo | < | = | 4,8 | 28,2 | 31,7 | 17,6 |
| Hojas | = | = | 17,8 | 15,9 | 36,0 | 11,5 |
| Racimos | = | = | 10,3 | 7,8 | 9,2 | 7,8 |
| Nitrógeno | | | | | | |
| Tallo | = | = | 13,1 | 11,1 | 16,9 | 23,1 |
| Hojas | = | = | 9,3 | 11,8 | 13,6 | 11,9 |
| Racimos | = | = | 23,9 | 8,3 | 5,3 | 2,8 |
| Fósforo | | | | | | |
| Tallo | = | = | 21,6 | 60,6 | 72,1 | 43,4 |
| Hojas | = | = | 9,6 | 79,7 | 27,1 | 13,0 |
| Racimos | = | = | 4,3 | 31,7 | 9,3 | 11,0 |
| Hierro | | | | | | |
| Tallo | = | = | 21,8 | 14,4 | 33,0 | 21,1 |
| Hojas | = | = | 24,9 | 10,5 | 27,3 | 20,7 |
| Racimos | = | = | 43,8 | 23,2 | 9,6 | 21,2 |
| Manganeso | | | | | | |
| Tallo | = | = | 7,9 | 23,1 | 28,4 | 18,2 |
| Hojas | = | = | 20,1 | 27,7 | 14,2 | 29,4 |
| Racimos | = | = | 6,9 | 15,7 | 10,0 | 17,0 |
| Cinc | | | | | | |
| Tallo | = | = | 25,0 | 31,9 | 20,0 | 26,8 |
| Hojas | = | = | 29,3 | 59,4 | 22,8 | 14,6 |
| Racimos | = | = | 27,1 | 27,1 | 29,9 | 41,8 |

hàbitats (Rozema et al., 1978).

Si existe una diferenciación fisiológica, la tolerancia a la salinidad, debe ser un carácter en parte heredable y controlada por genes con efectos aditivos. Las mejoras obtenidas bajo condiciones salinas son modestas comparadas con las logradas en control, pero en repetidos ciclos de selección, es de esperar un incremento en la tolerancia a la salinidad (McNeilly, 1990).

No se observa un patrón definido en los coeficientes de variación para el contenido de elementos minerales (Tabla IV.6).

Era de esperar que el tratamiento de salinidad hubiera afectado de forma diferente a las plantas de marisma (más tolerantes) frente a las de sierra (más sensibles). Sin embargo, apenas se han observado diferencias. La razón de esta respuesta aparentemente similar entre los dos ecotipos a la salinidad, se debe a que el medio salino estaba por debajo del umbral a partir del cual provoca efectos adversos. Aunque se regaba periódicamente con agua salada (15 dS/m), el riego complementario por goteo ha debido provocar una dilución, aminorando el efecto de la salinidad. Sería por tanto necesario realizar nuevos experimentos con niveles de salinidad más elevados para comprobar si existe una respuesta diferencial de los dos ecotipos a la salinidad.

V.- PRODUCCION DE SEMILLAS EN CONDICIONES CONTROLADAS

El objetivo de este estudio es comprobar si las plantas son autógamas o no y analizar las posibles diferencias entre las poblaciones de las dos clases de hábitats (marisma y sierra) y en dos tratamientos diferenciados (salino y no salino). Las diferencias florales observadas podrían determinar una capacidad de autofecundación diferenciada (ver capítulo III). Asimismo las condiciones desfavorables (salinidad) podrían afectar negativamente la fructificación.

V.1.- MATERIAL Y METODOS

Se eligieron tres plantas por cada población, entre las sembradas en los contenedores (ver capítulo IV), que habían alcanzado una edad de 150 días. La población de CORTES no se tuvo en cuenta para este experimento, pues las plantas del control habían sido atacadas por hongos (véase capítulo IV). Para cada una de las plantas elegidas se embolsó con tela fina de nylon (tamaño de poro 0.3 mm) una de las ramas que poseían racimos florales. Otra rama florífera de la misma planta fue marcada, para que sirviera como control.

Posteriormente, para la recolección de los frutos, se recogieron los extremos de las ramas embolsadas y los controles. Se contó el número de frutos de cuatro racimos de cada rama por separado, desde el ápice hacia abajo.

Se realizó un ANOVA de cuatro factores: población, tratamiento salino, embolsamiento y posición del racimo en la rama, sobre la producción de frutos por racimo.

V.2.- RESULTADOS Y DISCUSION

El ANOVA de cuatro factores refleja diferencias significativas en la producción de semillas para dos de los factores (población y posición del racimo). Las únicas interacciones significativas ocurren entre los factores población y embolsamiento, y entre población y posición del racimo (Tabla V.1).

TABLA V.1.- ANOVA de los factores: 1) población (1-5), 2) tratamiento (control, salinidad), 3) embolsamiento (polinización libre, controlada) y 4) posición del racimo (1-4).

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|----------------------|-----------|------|-----------|---------|--------|
| Población (P) | 6,1793104 | 3 | 2,0597701 | 108,221 | 0,0000 |
| Tratamiento (T) | 0,0016333 | 1 | 0,0016333 | 0,086 | 0,7731 |
| Embolsamiento (E) | 0,0243000 | 1 | 0,0243000 | 1,277 | 0,2602 |
| Posición (Ps) | 1,0159604 | 3 | 0,3386535 | 17,793 | 0,0000 |
| Interacciones | | | | | |
| PxT | 0,0840125 | 3 | 0,0280042 | 1,471 | 0,2244 |
| PxE | 0,3618042 | 3 | 0,1206014 | 6,336 | 0,0004 |
| TxE | 0,275521 | 1 | 0,0275521 | 1,448 | 0,2307 |
| PxPs | 0,7389437 | 9 | 0,0821049 | 4,314 | 0,0000 |
| TxPs | 0,0313542 | 3 | 0,0104514 | 0,549 | 0,6494 |
| ExPs | 0,0640542 | 3 | 0,213514 | 1,122 | 0,3420 |
| Error | 3,0643063 | 161 | 0,0190330 | | |

Atendiendo al análisis de las comparaciones múltiples, las plantas de DOÑANA producen más frutos que las demás. S-PETRI se encuentra en una situación intermedia. GRAZALEMA y ZAHARA (sierra) producen menos. El racimo más cercano al ápice produce menos frutos comparando con el que ocupa la posición más basal (Tabla V.2).

Queda confirmada la autogamia en ambos ecotipos, al producir ambos semillas sin intervención de los polinizadores, vectores obligados de polen entre flores en estas plantas (Sano, 1977). La autocompatibilidad es una de las características más frecuentes de las plantas invasoras (Baker, 1974). Sin embargo, con los datos obtenidos no puede conocerse si el nivel de autogamia en condiciones naturales es similar. Debido a su apotecibilidad por los herbívoros es muy difícil que alguna población llegue a completar el ciclo biológico de forma intacta, por lo que se hace impracticable realizar los experimentos de embolsamiento en el campo. Sería necesario realizar estudios probabilísticos con marcadores genéticos (Brown *et al.*, 1989) en poblaciones en las que al menos pudiera obtenerse un número suficiente de plantas con descendencia (semillas maduras).

Existen diferencias en la producción de semillas entre los dos ecotipos de *M. segetalis*. Las poblaciones de marisma producen muchas semillas pequeñas y las de sierra pocas y grandes. El esfuerzo reproductor en términos de biomasa invertida puede quedar compensado. Las implicaciones en la biología de las poblaciones a través del posible éxito diferencial de estas semillas sería un interesante aspecto a estudiar en el futuro (Harper, 1977).

La tendencia general a producir menor número de frutos por parte del racimo más cercano al ápice puede deberse a una producción menor de flores, a una disminución de la fecundación, o al agotamiento de

reservas, por ser el último racimo formado.

TABLA V.2.- Producción de frutos por racimo (media \pm error estándar, n=3) en plantas cultivadas en invernadero, procedentes de cinco poblaciones, sometidas a tratamiento salino frente a control, y con embolsamiento frente a polinización libre. Los cuatro valores medios están ordenados según la posición del racimo, comenzando por el ápice. La misma letra en cada columna indica que las diferencias no son significativas (Test L.S.D., 95%).

| Población y Tratamiento | Producción de frutos por racimo | | |
|-------------------------|---------------------------------|----------------|----------------|
| | Polinización libre | Embolsamiento | |
| GRAZALEMA | Control | 9 \pm 0 a-e | 6 \pm 0 a |
| | | 15 \pm 0 c-i | 14 \pm 0 c-h |
| | | 11 \pm 0 b-g | 13 \pm 0 c-h |
| | | 11 \pm 0 b-g | 8 \pm 0 a-d |
| | Salinidad | 12 \pm 0 a-g | 6 \pm 0 a |
| | | 15 \pm 0 c-i | 17 \pm 0 e-k |
| | | 14 \pm 1 c-h | 15 \pm 2 c-i |
| | | 11 \pm 0 a-g | 8 \pm 0 a-c |
| ZAHARA | Control | 7 \pm 1 a-b | 7 \pm 1 a-b |
| | | 10 \pm 2 a-d | 6 \pm 1 a |
| | | 12 \pm 0 a-g | 9 \pm 0 a-f |
| | | 14 \pm 0 c-h | 10 \pm 0 a-f |
| | Salinidad | 7 \pm 1 a-b | 7 \pm 1 a-b |
| | | 10 \pm 2 a-d | 7 \pm 1 a-b |
| | | 12 \pm 4 a-f | 10 \pm 1 a-f |
| | | 14 \pm 4 c-h | 10 \pm 4 a-f |
| DOÑANA | Control | 30 \pm 2 p-r | 27 \pm 1 n-r |
| | | 32 \pm 3 q-s | 32 \pm 4 q-s |
| | | 30 \pm 1 p-r | 36 \pm 3 t-u |
| | | 30 \pm 2 p-r | 43 \pm 4 u |
| | Salinidad | 18 \pm 1 f-l | 19 \pm 3 g-m |
| | | 21 \pm 6 i-ñ | 27 \pm 5 n-r |
| | | 25 \pm 7 l-q | 32 \pm 6 q-s |
| | | 28 \pm 5 ñ-s | 34 \pm 3 s-t |
| SANCTI-PETRI | Control | 12 \pm 0 a-g | 17 \pm 0 e-k |
| | | 26 \pm 0 m-r | 21 \pm 0 i-n |
| | | 28 \pm 0 ñ-s | 9 \pm 0 a-d |
| | | 18 \pm 0 f-l | 12 \pm 0 a-g |
| | Salinidad | 8 \pm 0 a-c | 17 \pm 0 e-k |
| | | 22 \pm 0 j-o | 13 \pm 0 b-h |
| | | 14 \pm 0 c-i | 21 \pm 0 i-ñ |
| | | 23 \pm 0 k-o | 16 \pm 0 d-j |

VI.- GERMINACION

Los objetivos de este estudio son: 1) comparar las respuestas frente a la salinidad en la fase de germinación, entre dos poblaciones de *Melilotus segetalis* procedentes de hábitats salinos respecto a tres poblaciones que viven en suelos con baja conductividad eléctrica y 2) examinar la viabilidad de semillas autógamias frente a posible autogamia más alogamia (Jain, 1976).

VI.1.- MATERIAL Y METODOS

VI.1.1.- Germinación y salinidad

Se recolectaron (en julio 1991) frutos maduros de *Melilotus segetalis* en cinco de las seis poblaciones que han sido objeto de este estudio: tres sobre suelos básicos de calizas en las Sierras Subbéticas (CORTES en Málaga, GRAZALEMA y ZAHARA en Cádiz) y dos sobre suelos salinos en las marismas del Guadalquivir (DOÑANA) y en la Bahía de Cádiz (S-PETRI). Los frutos se almacenaron en bolsas de papel a temperatura ambiente hasta la realización de la experiencia. Las semillas fueron escarificadas mecánicamente y esterilizadas con hipoclorito sódico al 2% durante 3 minutos. Se colocaron lotes de 25 semillas sobre papel de filtro humedecido con 5 ml de solución-tratamiento en placas Petri (9 cm diámetro) independientes para cada población. Las placas se mantuvieron en oscuridad (envueltas con papel aluminio) durante 16 días en una cámara de cultivo a 24°C y con humedad relativa del 72%. Cada dos días se contó el número de semillas germinadas, tomando como tales aquellas

en que la radícula emerge a través de la cubierta (Evenari 1956).

Las soluciones-tratamiento se prepararon a partir de una solución Hoagland al 20%, añadiendo la cantidad de cloruro sódico necesaria para obtener cuatro niveles de salinidad: CE=1,04 - 5 - 10 - 15 dS/m. Cada tratamiento constó de cuatro réplicas. Los resultados se han expresado como porcentaje de semillas germinadas respecto del control (CE=1,04 dS/m).

Se ha realizado un análisis de varianza, ANOVA, del porcentaje de germinación respecto a dos factores (población y salinidad), después de una transformación angular. Para la comparación múltiple entre las cinco poblaciones, en cada nivel de salinidad, se ha utilizado el test de la menor diferencia significativa (L.S.D.) para un nivel de confianza del 95% (STEEL et al., 1990).

VI.1.2.- Germinación de semillas procedentes de los experimentos de polinización

Tras la recolección de los frutos procedentes de los experimentos de producción de semillas en condiciones controladas (véase capítulo V), se hicieron experimentos de germinación. Para ello elegimos 30 frutos de cada planta embolsada, y 30 de las plantas correspondientes a las mismas poblaciones en el campo. Las semillas se prepararon igual que para el experimento de germinación en diferentes concentraciones salinas. A continuación se sembraron en placas de petri de 9 cm de diámetro, sobre papel de filtro humedecido con 5 ml de agua destilada. Se hicieron tres

réplicas para las semillas del campo, tres para las embolsadas controles y tres para las embolsadas de tratamiento salino. Las placas fueron envueltas en papel de aluminio y colocadas en cámara de cultivo a 24°C y humedad relativa del 72%, durante un período de 16 días. Se contó el número de semillas germinadas cada 2 días. Los resultados se expresan en tanto por uno.

Se realizó un análisis de varianza de dos factores (población y origen de las semillas).

En cuanto a las comparaciones múltiples, se utilizó el mismo test (L.S.D.). Se empleó también el paquete estadístico STATGRAPHICS 6.2 (STSC, 1986).

VI.2.- RESULTADOS Y DISCUSION

VI.3.1. Germinación de semillas del campo

Los suelos donde se han recolectado las poblaciones de S-PETRI y DOÑANA se pueden considerar moderadamente salinos, con predominio del ion sodio (Tabla III.1), mientras que en las tres localidades restantes, la conductividad eléctrica es baja.

La salinidad induce un efecto general de retraso en la velocidad de germinación y una reducción en el número de semillas germinadas (Figura VI.1.). Este efecto es más acusado en las tres poblaciones procedentes de hábitats no salinos (CORTES, GRAZALEMA Y ZAHARA). El análisis de varianza muestra una diferencia significativa en la germinación por efecto de la salinidad ($F=51,1$, g.l.=3, $p<0,0001$), pero también un comportamiento diferencial entre las poblaciones

($F=13,0$, g.l.=4, $p<0,0001$).

La comparación múltiple entre las cinco poblaciones, respecto a su porcentaje de germinación con el tratamiento salino de conductividad eléctrica 15 dS/m, distingue claramente a las dos poblaciones procedentes de suelos salinos (92-100% de germinación) frente a las tres sobre suelos básicos no salinos (4-44% de germinación) (Tabla VI.1.). Es decir, existe una relación entre la tolerancia salina durante la germinación y el nivel de salinidad del medio donde crecen las plantas (Ungar 1978, Marañón et al. 1989).

El efecto adverso de la salinidad sobre la germinación resulta de una combinación de efectos osmóticos (bajo potencial hídrico externo) y tóxicos (alta concentración interna de iones tóxicos (Redmann 1974). Sin embargo, la tolerancia a la salinidad durante el período de germinación debe ser crítica para la persistencia de estas poblaciones en medio salino. Se ha demostrado la heredabilidad de este carácter en varias especies, por ejemplo Allen et al. (1985) mediante selección masiva de *Medicago sativa* y después de cinco generaciones, consiguieron aumentar el porcentaje de germinación en medio salino (310 mM de NaCl) del 3% al 80%.

Los resultados obtenidos sugieren que las dos poblaciones de *Melilotus segetalis* procedentes de suelos salinos forman parte de un ecotipo diferenciado, es decir, de un "grupo infraespecífico con caracteres distintivos resultantes de las presiones selectivas del medio ambiente local" (Lincoln et al. 1982).

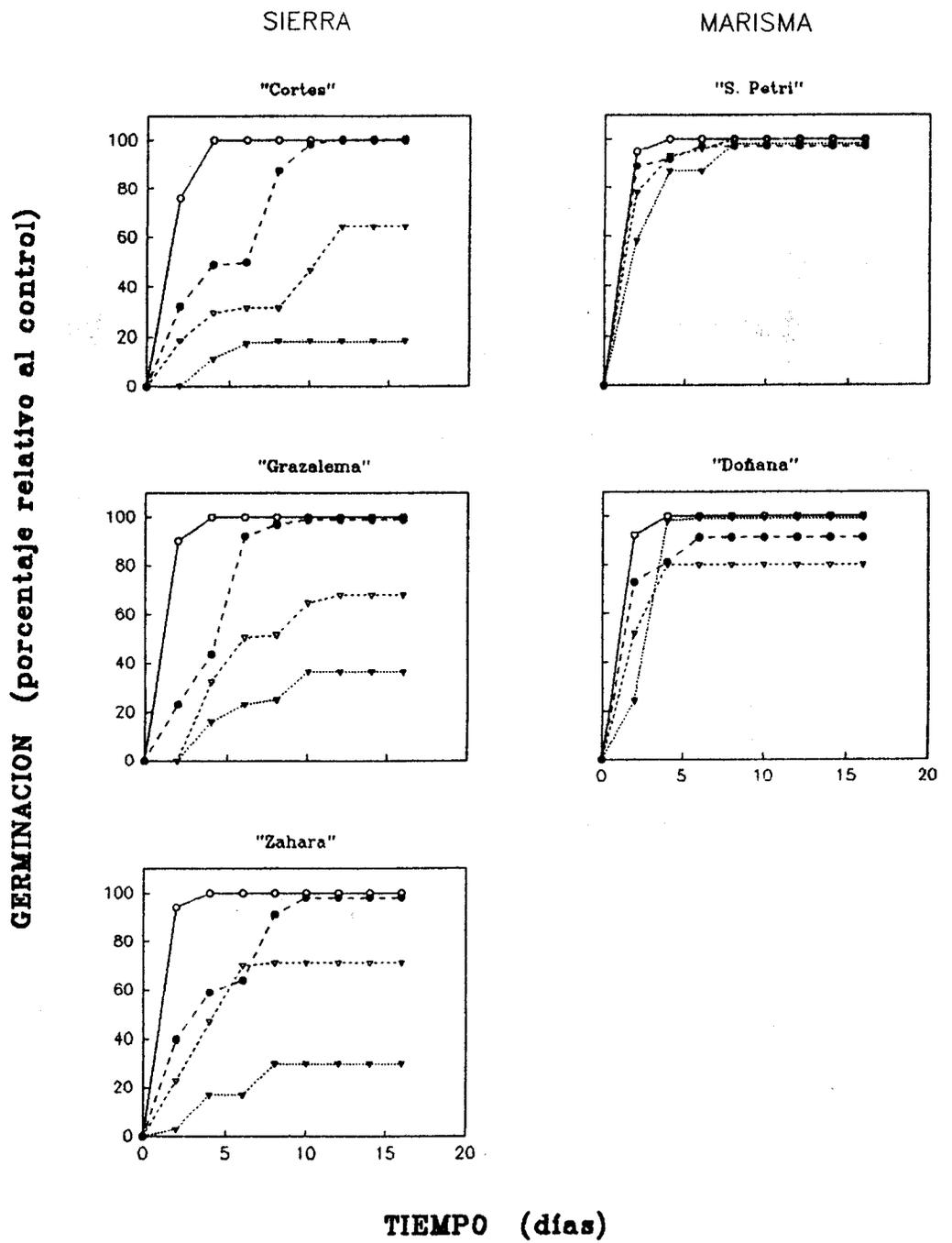


Fig. VI.1.- Efecto de las concentraciones de NaCl, CE= 1,04, 5, 10, y 15 dS/m, sobre la germinación (porcentaje relativo al control, media de 4 replicados, de 5 poblaciones de *Melilotus segetalis*.

TABLA VI.1.- Efecto de la salinidad sobre el porcentaje de germinación relativo al control (media \pm error estándar de cuatro replicados) de cinco poblaciones de *Melilotus segetalis*.

| | Concentración de NaCl (dS/m) | | | |
|-----------|------------------------------|------------------|------------------|-----------------|
| | 1,04 | 5 | 10 | 15 |
| CORTES | 100,0 \pm 2,0a | 100,5 \pm 1,0a | 64,3 \pm 5,6a | 18,4 \pm 5,9a |
| GRAZALEMA | 100,0 \pm 1,0a | 99,0 \pm 1,1ab | 67,7 \pm 12,2a | 36,4 \pm 5,2a |
| ZAHARA | 100,0 \pm 0,0a | 98,0 \pm 1,1ab | 57,5 \pm 19,4a | 32,0 \pm 5,9a |
| S-PETRI | 100,0 \pm 0,0a | 97,0 \pm 1,0ab | 100,0 \pm 0,0a | 98,0 \pm 2,0b |
| DOÑANA | 100,0 \pm 1,0a | 90,0 \pm 3,9b | 79,8 \pm 9,6a | 99,0 \pm 1,5b |
| Población | F=13,0, g.l.=4, p<0,0001 | | | |
| Salinidad | F=51,1, g.l.=3, p<0,0001 | | | |

VI.2.2.- Germinación de semillas procedentes de los experimentos de polinización

En la tabla VI.2 se muestran las medias del número de semillas germinadas de cada población y según la procedencia (campo, invernadero), expresadas en tanto por ciento. Las semillas procedentes de las cuatro poblaciones estudiadas no difieren significativamente en el porcentaje de germinación ($F=1,014$, g.l.=5, $p=0,4312$). En todos los casos el porcentaje de semillas germinadas supera el 90%. Tampoco aparecen diferencias entre las semillas procedentes del campo (recolectadas en sus condiciones naturales) y las cultivadas en invernadero y embolsadas, tanto en condiciones de salinidad como en los controles ($F=1,273$, g.l.=2, $p=0,298$). Ello puede ser debido a 1) que no haya diferencias en la proporción de semillas producidas por autogamia, 2) que el vigor diferencial de las progenies se muestre después de la germinación, y 3) a que no haya depresión consanguínea. De hecho la depresión consanguínea no suele ser intensa en poblaciones en que la autofecundación ocurre normalmente (Wright, 1977; Falconer, 1981).

La autofecundación obligada es una situación rara en las plantas con flores, sin embargo muchas especies muestran altos niveles de autofecundación, que pueden exceder el 99% de todas las fertilizaciones. Esto es particularmente frecuente en plantas invasoras anuales (Richards, 1986).

En algunas especies la autocompatibilidad puede incrementar la eficiencia reproductiva, pero sólo aquellos caracteres que conducen a la autofecundación maximizarán la

producción de semillas en ausencia de polinizadores (Richards, 1986).

TABLA VI-2- Medias \pm errores estándar del porcentaje de semillas germinadas. $n=3$. Campo= semillas procedentes de condiciones naturales, no embolsadas, Emb. NS= semillas procedentes de invernadero, embolsadas, en condiciones no salinas, Emb. S= semillas de invernadero embolsadas, en condiciones de salinidad.

| Población | Campo | Emb. NS | Emb. S |
|--------------|---------------------------|-------------|-------------|
| GRAZALEMA | 97 \pm 3 | 100 \pm 0 | 97 \pm 3 |
| ZAHARA | 90 \pm 10 | 97 \pm 3 | 97 \pm 3 |
| DOÑANA | 100 \pm 0 | 100 \pm 0 | 97 \pm 3 |
| SANCTI-PETRI | 93 \pm 3 | 100 \pm 0 | 100 \pm 0 |
| Población | F=1,014, g.l.=5, p=0,4312 | | |
| Tratamiento | F=1,273, g.l.=2, p=0,298 | | |

VII.- CONCLUSIONES

1. Las especies de *Melilotus* son nativas de la región templada y subtropical de Eurasia y norte de Africa. Se distinguen dos grandes grupos, uno de distribución boreal que llega a la Región Mediterránea, y otro centrado en esta última, con varias especies endémicas.

2. Las plantas de *Melilotus segetalis* presentan características morfológicas y productoras diferentes dependiendo de su hábitat natural. Así, en las poblaciones de marisma las plantas son más pequeñas, poseen folíolos de menor tamaño y pesan menos que las de sierra. Además tienen corolas más cortas, semillas menos pesadas y producen mayor número de granos de polen por flor.

3. Cuando las diferentes poblaciones se cultivan en invernadero en igualdad de condiciones, algunas de las características mantienen las diferencias entre ambos grupos (sierra y marisma), como son la longitud del folíolo y peso de las semillas, tanto en situación de salinidad como de no salinidad. Otras características como el peso de la planta y el porcentaje de biomasa invertida en las hojas, no se diferencian en condiciones sin sal, sin embargo en salinidad siguen manteniéndose igual que en el campo.

4. En sus hábitats naturales las plantas de marisma acumulan más iones sodio y cloruro que las de sierra. A su vez concentran más calcio que las primeras, especialmente en las

hojas. Nitrógeno y potasio se acumulan más en las hojas de plantas de suelos salinos. El hierro también alcanza mayor concentración en estas poblaciones, en tallos y hojas.

5. En condiciones uniformes, los caracteres químicos no siguen la misma pauta de acumulación que en el campo. No hay diferencias en la concentración de iones cloruro, sodio y calcio. Únicamente el potasio se acumula más en racimos de plantas de sierra en sal y sin sal). El magnesio también se concentra más en los racimos de las plantas de sierra cultivadas en medio salino.

6. Las plantas de *Melilotus segetalis* son autocompatibles y la autogamia debe ser normalmente muy frecuente.

7. Las poblaciones de sierra producen menor número de frutos que las de marisma, pero éstos son mayores.

8. La salinidad disminuye la velocidad de germinación y reduce el número de semillas germinadas. Aunque esta reducción es menor en las poblaciones procedentes de suelos salinos (más tolerantes) que en las de la sierra.

9. El porcentaje de semillas germinadas procedentes de polinización libre (campo) y controlada (embolsadas) es similar.

10. Los resultados sugieren que las poblaciones de *Melilotus segetalis* sobre suelo salino forman parte de un ecotipo diferenciado, a partir del más general de la especie y representado por las poblaciones de sierra, como consecuencia de la fuerte selección que imprimen las concentraciones elevadas de sal en el suelo.

VIII.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ANTONOVICS, J., A.D. BRADSHAW, & R.G. TURNER. (1971). *Heavy metal tolerance in plants*. Advances in Ecological Research., 7: 1-85.
- APARICIO, A. y S. Silvestre (1987). *Flora del Parque Natural de la Sierra de Grazalema*. Junta de Andalucía. Agencia del Medio Ambiente. Sevilla.
- ASHRAF, M., T. McNEILLY, & A. A. BRADSHAW. (1989). *The potential for evolution of tolerance to sodium chloride, calcium chloride, magnesium chloride, and sea water in four grass species*. New Phytologist, 112: 245-254.
- AZHAR, F.M. & T. McNEILLY. (1989). *Heritability estimates of variation for NaCl tolerance in Sorghum bicolor (L.) Moench seedlings*. Euphytica, 43: 69-72.
- BAKER, H.G. (1972). *Migrations of weeds*. Taxonomy phytogeography and Evolution. Ed: D.H. Valentine. Academic Press. 327-47.
- BAKER, H.G. (1974). *The evolution of weeds*. An. Rev. Ecol. and Syst. 5: 1-24.
- BAKER, A.J.M. (1981). *Accumulators and excluders strategies in the response of plants to heavy metals*. Journal of Plants Nutrition, 3: 643-654.
- BAKER, A.J.M. (1987). *Metal tolerance*. New Phytologist 106 (Suppl.):93-111.
- BARDSLEY, C.E. y J.D. LANCASTER (1965). *Methods of Soil Analysis*. Part.2 (Chemical and Microbiological Properties). Agronomy. Nº 9, 1102-1110. American Society of Agronomy. Madison. Wisconsin.
- BAZZAZ, F.A. (1984b). *Response breadth and between individual variation in plants of an early-successional community*. NSF grant proposal BSR, 84-14555.
- BERNSTEIN, L. (1963). *Osmotic adjustment of plants to saline media. II. dynamic phase*. Amer. J. Bot., 50: 360-370.
- BERNSTEIN, L. (1975), *Effects of salinity and sodicity on plant growth*. Ann. Rev. Phytopath. 13: 295-312.
- BERNSTEIN, L. & H.E. HAYWARD. (1985). *Physiology of salt tolerance*. Ann. Rev. Plant responses to salinity. Aust. J. Plant Physiol. 13:143-160.
- BRADSHAW, A.D. (1965). *Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants*. Advan. Genet. 13: 115-155.

- BRADSHAW, A.D. (1972). *Some evolutionary consequences of being a plant*. *Evol. Biol.* 5:25-47.
- BROWN, A.H.D., J.J. BURDON & A.M. JAROSZ. (1989). *Isozyme analysis of plant mating systems*. En: D.E. SOLTIS & P.S. SOLTIS (eds.). *Isozyme in plant biology*, pp. 73-86. Dioscorides Press, Portland.
- CRUDEN, R.W. (1977). *Pollen-Ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants*. *Evolution.*, 31: 32-46.
- CRUDEN, R.W. & D. LYON (1985). *Patterns of biomass allocation to male and female functions in plants with different mating systems*. *Oecologia*; 66: 299-306.
- DAVIS, P.H. (1969). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 3. Edinburgh Univ. Press.
- DAHIYA, S. & M. SINGH. (1976). *Effect of salinity, alkalinity and iron application on the availability of iron, manganese, phosphorus and sodium in pea (Pisum sativum L.)*. *Crop. Plant and .* 44: 697-702. Soil
- EVENARI, M. (1957). *Bull Soc. Franç. Physiology vegetal.* 3(4). 105-124.
- FALCONER, D.S., (1981). *Introduction to quantitative genetics*. Longman, New York.
- FALCONER, D.S., (1989). *Introduction to quantitative genetics (3rd ed.)*. Longman Inc. New York.
- FERNANDEZ-PALACIOS A., J. FERNANDEZ-PALACIOS y B. J. GIL, (1988). *Guías Naturalistas de la Provincia de Cádiz. El Litoral*. (Vol.1). Libros de la Diputación de Cádiz.
- FLORENCE, T.M. y FARRAR, J.S. (1971). *Spectrophotometric determination of chloride at the parts-per-billion level by the mercury (II) thiocyanate method*. *Anal. Chemical Acta*, 54, 373-377.
- FLOWERS, T.J., P.F. TROKE & A.R. YEO. (1977). *The mechanism of salt tolerance in halophytes*. *Ann. Reviv of Biology*, 61: 313-337.
- FOY, C.D., R.L. CHANEY & M.C. WHITE. (1978). *The physiology of metal toxicity in plants*. *Annual Review of Plant Physiology*. 29: 511-556.
- GAUCH, H.G. (1980). *Multivariate analysis in community ecology*. Cambridge University Press.
- GORZ, H.J. & HASKINS, F.A. (1964). *Occurrence of o-hydroxycinnamic acid in species of Melilotus and trigonella*. *Crop Sci.*, 4: 193-196.

- trigonella*. *Crop Sci.*, 4: 193-196.
- GRATTAN, S.R. & C.M. GRIEVE. (1972). *Mineral element acquisition and growth response of plants grown in saline environments*. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 38: 275-30.
- GREUTER, W., BURDET, H.M. & LONG, G. (1989). *Med-Checklist*. Vol. 4. Editions des Conservatoire et Jardin Botaniques de la Ville de Genève.
- GARCIA, L.V. (1989). *Interpol: Programa para el tratamiento e interpolación de datos analíticos en Agrobiología*. Monografía I.R.N.A.
- GARCIA, L.V. (1993). Tesis doctoral. Universidad de Sevilla (en preparación).
- DE HALACSY, E. (1968). *Conspectus Florae Graecae*. Wheldon & Wesley. Codicote, Herts. New York.
- HARPER, J.L. (1977). *Population Biology of Plants*. Academic Press, London.
- LE HOUEROU, H.N. (1986). *Salt tolerant plants of economic value in the Mediterranean Basin*. *Reclam. and Reveg. Res.*, 5: 319-341.
- INGHAM, J.L. (1977). *Medicarpin as a phytoalexin of the genus Melilotus*. *Z. Naturforsch ser C*, 32: 449-452.
- KARRON, S.D. (1991). *Patterns of genetics variation and breeding systemens in rare plant species*. En: D.A. FALK & K.E. MOLSINGER (eds.). *Genetics and conservation of rare plants*. pp. 87-98. Oxford University Press. New York.
- KRAUSE, W. (1958). *Andere Bodenspezialisten*. *Handb. Pflanzenphysiol.* 4: 755-806.
- KRUCKEBERG, A.R. (1951). *Intraespecif variability in the response of certain native plant species to serpentine soil*. *Amer. J. Bot.* 38: 408-419.
- KRUCKEBERG, A.R. (1967). *Ecotipc response to ultramafic soils by some plant species of northwestern United States*. *Brittonia*, 19: 133-151.
- KRUCKEBERG, A.R. (1969). *Soil diversity and the distribution of plants, with examples from western North America*. *Madroño*, 20: 129-154.
- KRUCKEBERG, A.R. (1984). *California serpentines: Flora, vegetation, geology, soils and management problems*. *Univ. Calif. Publ. Bot.*, 78: 1-180.

- MAAS, E.V., G.O. GATA & M.J. GARBER, (1972). *Influence of salinity on Fe, Mn and Zn uptake by plants*. Agron. J. 64: 793-795.
- MARAÑON, T., L.V. GARCIA, J.M. MURILLO Y L. CLEMENTE, (1988). *Recursos fitogenéticos para zonas salinas: leguminosas de Las Marismas del Guadalquivir*. Actas II Congr. Nac. Ciencia del Suelo. Sevilla. Págs. 641-646
- MARAÑON, T., L.V. GARCIA, J.M. MURILLO Y L. CLEMENTE, (1989). *Las Marismas del Guadalquivir, reserva bigenética de plantas tolerantes a la salinidad*. An. Edaf. Agrobiol., 5:725-740.
- MARAÑON, T., ROMERO, J.M. y J.M. MURILLO, (1991). *Native melilotus species from S.W. Spain as forage resources for saline soils under Mediterranean climate*. Proc. IV Inter.Rangeland Congr., Montpellier, (in press).
- MATHER, K. & J.L. JINKS, (1982). *Biometrical genetics (3rd ed.)*. Chapman and Hall. London.
- MATHISON, M.J. (1983). *Mediterranean and temperate forage legumes*. En: J.G. McIvor & R.A. Bray (eds.), Genetic Resources of Forage Plants, CSIRO, Melbourne, págs. 63-81.
- MAYR, E. (1963). *Animal species and evolution*. Harvard University Press. Cambridge.
- McNEILLY, T. (1990). *Selection and breeding for salinity tolerance in crop species. A case for optimism?*. Acta Ecológica. Liverpool, 4: 595-610.
- MUNNS, R. & A. TERMAAT, (1986). *Whole-plant responses to salinity*. Aust. J. Plant Physiol. 13: 143-160.
- MURILLO, J.M., F. MORENO, M. BARROSO y J.M. HERNANDEZ, (1986). *Native pastures of the Guadalquivir river marshes: a worthwhile natural resource*. Oecol. Applic., 7, 299-312.
- PINTA, M. (1971). *Spectrometria d'Absorption Atomique Aplicacions à L'Analyse Chimique*. Vol. 2, O.R.S.T.O.M. Masson et Cie. París.
- PINTA, M. y MIEMBROS DEL COMITE INTERINSTITUTOS PARA EL ESTUDIO DE LAS TECNICAS ANALITICAS DE DIAGNOSTICO FOLIAR (1969). *Méthodes de référence pour la détermination des éléments minéraux dans les végétaux: N, P, K, Na, Ca, Mg*. Oléagineux, 24: 497-504.
- PINTA, M. y MIEMBROS DEL COMITE INTER-INSTITUTOS PARA EL ESTUDIO DE LAS TECNICAS ANALITICAS DE DIAGNOSTICO FOLIAR

- (1973). *Méthodes de référence pour la détermination des éléments minéraux dans les végétaux. Oléagineux*, 2: 87-92.
- POPP, M. (1983). *Genotypic differences in the mineral metabolism of plants adapted to extreme habitats. Plant and Soil*. 72: 261-273.
- QUEZEL, P. (1985). *Definition of the Mediterranean region and the origin of its flora*. En: C. Gómez-Campo (ed.), *Plant Conservation in the Mediterranean area*, págs. 9-24. Dr. W.Junk, Dordrecht.
- RICE, S. (1985). *Plasticity of photosynthetic light response, growth and allocation patterns in old field, prairie, and forest species of Aster*. *Bull. Ecol. Soc.* 65:255-2
- RICHARDS, L.A. (1954). *Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils*. Handbook USDA 60.
- RICHARDS, A.J. (1986). *Plant breeding systems*. George Allen & Unwin (eds.). Londres.
- RIVAS-MARTINEZ, S. (1983). *Pisos bioclimáticos de España*. Lazaroa. 5: 33-43.
- ROMERO, J.M. (1992). *Análisis de crecimiento y alocación de nutrientes en respuesta a la salinidad*. *Biología Vegetal y Ecología*. Universidad de Sevilla.
- ROZEMA, J., E. ROZEMA-DIJST, A.H.J. FREIJSEN & J.J.L. HUBER, (1978). *Population Differentiation within Festuca rubra L. with Regard to Soil Salinity and Soil Water*. *Oecologia* ? : 329-341.
- SANO, Y. (1977). *The pollination systems of Melilotus species*. *Oecol. Plant.*, 12: 383-394.
- SCHULZ, O.E. (1901). *Monographie der Gattung Melilotus*. *Bot. Jahrb.* 29:660-753.
- SCHISCHKIN, B.K. (1945). *Flora of the URSS*. Vol XI. Academy of Sciences, Leningrad.
- SCHLICHTING, C.D. (1986). *The evolution of phenotypic plasticity in plants*. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 17: 667-693.
- SHORT, P.S. (1981). *Pollen-ovule ratios, breeding systems and distribution patterns of some Australian Gnaphthalinae (Compositae)*. *Inulae. Muelleria*. 4:395-417.
- SMITH, W.K., (1964). *Crop Sci*, 4:666-667.
- SMITH, R.A.H. & BRADSHAW. (1979). *The use of metal tolerant plant populations for the reclamation of metalliferous*

- wastes. *Journal of Applied Ecology*, 16: 595-612.
- SMITH, W.K. & GORZ, H.J. (1965). *Sweetclover Improvement*. *Advances in Agronomy*, 17: 163-231.
- SOKAL, R.R. y F.J. ROHLF (1979). *Biometría*. Blume. Madrid
- STSC, (1986). *Statgraphics. User's guide*. STSC, Inc.
- STEEL, R.G.D. y Torrie, J. H. (1980). *Principles and procedures of statistics. A biometrical*. McGraw-Hill, Nueva York.
- STEVENSON, G.A., (1969). *An agronomic and taxonomic review of genus Melilotus Mill*. *Canadian Journal of Plant Science*, 49: 1-20.
- STROGOV, B.P. (1973). *Structure and Function of Plant Cells in Saline Habitats*. Wiley Intersci. New York.
- SZABOLCS, I. (1974). *Salt affected soils in Europe*. Martinus Nijhoff, La Haya. 63 p.
- SZABOLCS, I. (1989). *Salt-affected soils*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- TAKHTAJAN, A. (1986). *Floristic regions of the World*. California Univ. Press, Berkeley.
- TUTIN, T.G., HEYWOOD, V.H., BURGESS, N.A., MOORE, D.M., VALENTINE, D.H., WALTERS, S.M. & WEBB, D.A. (1968). *Flora Europaea*. Vol.2. Cambridge University Press.
- VALDES, B., TALAVERA, S. & FERNANDEZ-GALIANO, E. (1987). *Flora Vasculare de Andalucía Occidental*. Vol. 2. Ketres, Barcelona.
- VIA, S. & R. LANDE. (1975). *Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity*. *Evolution*. 39: 505-522.
- WADLEIGH, C.H., GAUCH, H.G. y KOLISCH, M. (1951). *Mineral composition of orchard grass grown on pachappaloam salinized with various salts*. *Soil Science*, 72, 275-282.
- WALLER, D.M. (1988). *Plant morphology and reproduction*. En: J. LOVETT DOUST & L. LOVETT DOUST (eds.). *Plant Reproductive Ecology. Patterns and Strategies*. pp. 203-227. Oxford University Press, New York.
- WRIGHT, S. (1931). *Evolution in Mendelian populations*. *Genetics*. 16: 97-159.
- WRIGHT, S. (1977). *Evolution and the genetics of populations*. Vol. 3. The University of Chicago Press. Chicago,

London.

WYATT, R. (1984). *The evolution of self-pollination in granite out crop species of Arenaria (Caryophyllaceae). Morphological correlates.* Evolution. 38: 804-16.

IX.- APENDICE

ANOVAS de dos factores (población y tratamiento) sobre los contenidos en: 1) Na, 2) Cl, 3) Ca, 4) Mg, 5) K, 6) N, 7) P, 8) Fe, 9) Mn y 10) Zn; en A) Tallos, B) Hojas y C) Racimos, de cinco poblaciones de *Melilotus segetalis*.

IA)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|--------|------|--------|--------|--------|
| Población (P) | 19,706 | 4 | 4,926 | 6,924 | 0,0011 |
| Tratamiento (T) | 12,008 | 1 | 12,008 | 16,875 | 0,0005 |
| Interacción (PxT) | 17,020 | 4 | 4,255 | 5,980 | 0,0025 |
| Error | 14,231 | 20 | 0,711 | | |
| Total | 62,966 | 29 | | | |

IB)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|---------|------|--------|--------|--------|
| Población (P) | 16,318 | 4 | 4,079 | 6,105 | 0,0022 |
| Tratamiento (T) | 64,856 | 1 | 64,856 | 97,057 | 0,0000 |
| Interacción (PxT) | 19,376 | 4 | 4,844 | 7,249 | 0,0009 |
| Error | 13,364 | 20 | 0,668 | | |
| Total | 113,916 | 29 | | | |

IC)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|--------|------|-------|--------|--------|
| Población (P) | 7,851 | 4 | 1,962 | 3,045 | 0,0411 |
| Tratamiento (T) | 6,778 | 1 | 6,778 | 10,516 | 0,0041 |
| Interacción (PxT) | 6,688 | 4 | 1,672 | 2,594 | 0,0676 |
| Error | 12,891 | 20 | 0,644 | | |
| Total | 34,209 | | | | |

IIA)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|---------|------|--------|--------|--------|
| Población (P) | 71,992 | 4 | 17,998 | 28,501 | 0,0000 |
| Tratamiento (T) | 26,470 | 1 | 26,470 | 41,917 | 0,0000 |
| Interacción (PxT) | 11,362 | 4 | 2,840 | 4,498 | 0,0094 |
| Error | 12,629 | 20 | 0,631 | | |
| Total | 122,455 | 29 | | | |

IIB)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|---------|------|--------|-------|--------|
| Población (P) | 26,674 | 4 | 6,668 | 1,081 | 0,3924 |
| Tratamiento (T) | 38,397 | 1 | 38,397 | 6,224 | 0,0215 |
| Interacción (PxT) | 86,353 | 4 | 21,588 | 3,499 | 0,0254 |
| Error | 123,388 | 20 | 6,169 | | |
| Total | 274,812 | 29 | | | |

IIC)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|--------|------|-------|-------|--------|
| Población (P) | 36,598 | 4 | 9,149 | 9,309 | 0,0002 |
| Tratamiento (T) | 7,222 | 1 | 7,222 | 7,348 | 0,0135 |
| Interacción (PxT) | 19,100 | 4 | 4,775 | 4,858 | 0,0067 |
| Error | 19,658 | 20 | 0,982 | | |
| Total | 82,580 | | | | |

IIIA)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|--------|------|-------|--------|--------|
| Población (P) | 18,477 | 4 | 4,619 | 9,947 | 0,0001 |
| Tratamiento (T) | 9,509 | 1 | 9,509 | 20,477 | 0,0002 |
| Interacción (P×T) | 6,109 | 4 | 1,527 | 3,289 | 0,0317 |
| Error | 9,287 | 20 | 0,464 | | |
| Total | 43,383 | | | | |

IIIB)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|---------|------|--------|--------|--------|
| Población (P) | 88,839 | 4 | 22,209 | 12,208 | 0,0000 |
| Tratamiento (T) | 11,919 | 1 | 11,919 | 6,552 | 0,0187 |
| Interacción (P×T) | 18,751 | 4 | 4,687 | 2,577 | 0,0187 |
| Error | 36,385 | 20 | 1,819 | | |
| Total | 155,895 | | | | |

IIIC)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|--------|------|-------|--------|--------|
| Población (P) | 8,713 | 4 | 2,178 | 22,518 | 0,0000 |
| Tratamiento (T) | 1,781 | 1 | 1,781 | 18,412 | 0,0004 |
| Interacción (P×T) | 1,670 | 4 | 0,417 | 4,317 | 0,0112 |
| Error | 1,934 | 20 | 0,096 | | |
| Total | 14,100 | | | | |

IVA)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|--------|------|-------|-------|--------|
| Población (P) | 0,443 | 4 | 0,110 | 0,322 | 0,8601 |
| Tratamiento (T) | 1,718 | 1 | 1,718 | 4,989 | 0,0571 |
| Interacción (PxT) | 1,004 | 4 | 0,251 | 0,729 | 0,5824 |
| Error | 6,888 | 20 | 0,344 | | |
| Total | 10,055 | 29 | | | |

IVB)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|--------|------|-------|-------|--------|
| Población (P) | 8,131 | 4 | 2,032 | 3,352 | 0,0296 |
| Tratamiento (T) | 1,689 | 1 | 1,689 | 2,786 | 0,0407 |
| Interacción (PxT) | 9,516 | 4 | 2,379 | 3,923 | 0,0165 |
| Error | 12,129 | 20 | 0,606 | | |
| Total | 31,467 | 29 | | | |

IVC)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|-------|------|-------|--------|--------|
| Población (P) | 0,379 | 4 | 0,094 | 6,177 | 0,0021 |
| Tratamiento (T) | 0,253 | 1 | 0,253 | 16,538 | 0,0006 |
| Interacción (PxT) | 0,514 | 4 | 0,128 | 8,382 | 0,0004 |
| Error | 0,307 | 20 | 0,015 | | |
| Total | 1,455 | 29 | | | |

VA)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|---------|------|--------|--------|--------|
| Población (P) | 45,944 | 4 | 11,486 | 16,058 | 0,0000 |
| Tratamiento (T) | 39,413 | 1 | 10,413 | 15,577 | 0,0000 |
| Interacción (PxT) | 32,225 | 4 | 8,056 | 11,263 | 0,0001 |
| Error | 14,306 | 20 | 0,715 | | |
| Total | 112,888 | 29 | | | |

VB)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|--------|------|--------|--------|--------|
| Población (P) | 23,955 | 4 | 5,988 | 12,357 | 0,0000 |
| Tratamiento (T) | 13,306 | 1 | 13,306 | 27,456 | 0,0000 |
| Interacción (PxT) | 4,181 | 4 | 1,045 | 2,157 | 0,1112 |
| Error | 9,693 | 20 | 0,484 | | |
| Total | 51,136 | 29 | | | |

VC)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|--------|------|-------|--------|--------|
| Población (P) | 23,982 | 4 | 5,995 | 38,775 | 0,0000 |
| Tratamiento (T) | 1,314 | 1 | 1,314 | 8,502 | 0,0085 |
| Interacción (PxT) | 0,893 | 4 | 0,223 | 1,445 | 0,2561 |
| Error | 3,092 | 20 | 0,154 | | |
| Total | 29,283 | | | | |

VIA)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|--------|------|-------|-------|--------|
| Población (P) | 12,575 | 4 | 3,143 | 4,812 | 0,0070 |
| Tratamiento (T) | 1,456 | 1 | 1,456 | 2,229 | 0,1510 |
| Interacción (PxT) | 5,400 | 4 | 1,350 | 2,067 | 0,1234 |
| Error | 13,066 | 20 | 0,653 | | |
| Total | 32,498 | 20 | | | |

VIB)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|--------|------|-------|--------|--------|
| Población (P) | 26,866 | 4 | 6,716 | 15,539 | 0,0000 |
| Tratamiento (T) | 2,006 | 1 | 2,006 | 4,015 | 0,0493 |
| Interacción (PxT) | 16,211 | 4 | 4,052 | 9,376 | 0,0002 |
| Error | 8,644 | 20 | 0,432 | | |
| Total | 53,737 | 29 | | | |

VIC)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|--------|------|-------|-------|--------|
| Población (P) | 10,060 | 4 | 2,515 | 5,722 | 0,0031 |
| Tratamiento (T) | 2,505 | 1 | 2,505 | 5,700 | 0,0269 |
| Interacción (PxT) | 6,740 | 4 | 1,685 | 3,834 | 0,0180 |
| Error | 8,791 | 20 | 0,439 | | |
| Total | 28,097 | 29 | | | |

VIIA)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|-------|------|-------|-------|--------|
| Población (P) | 2,721 | 4 | 0,068 | 7,913 | 0,0005 |
| Tratamiento (T) | 0,051 | 1 | 0,051 | 5,596 | 0,0472 |
| Interacción (PxT) | 0,791 | 4 | 0,197 | 2,302 | 0,0941 |
| Error | 1,719 | 20 | 0,085 | | |
| Total | 5,283 | | | | |

VIIB)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|--------|------|-------|-------|--------|
| Población (P) | 3,487 | 4 | 0,871 | 2,163 | 0,1104 |
| Tratamiento (T) | 0,627 | 1 | 0,627 | 1,557 | 0,2265 |
| Interacción (PxT) | 3,236 | 4 | 0,809 | 2,007 | 0,1323 |
| Error | 8,062 | 20 | 0,403 | | |
| Total | 15,414 | 29 | | | |

VIIC)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|-------|------|-------|-------|--------|
| Población (P) | 1,173 | 4 | 0,293 | 5,765 | 0,0030 |
| Tratamiento (T) | 0,029 | 1 | 0,029 | 0,579 | 0,4637 |
| Interacción (PxT) | 1,163 | 4 | 0,290 | 5,716 | 0,0031 |
| Error | 1,017 | 20 | 0,050 | | |
| Total | 3,383 | | | | |

VIII A)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|-------|------|-------|-------|--------|
| Población (P) | 0,428 | 4 | 0,107 | 5,847 | 0,0028 |
| Tratamiento (T) | 0,020 | 1 | 0,020 | 1,120 | 0,3025 |
| Interacción (PxT) | 0,222 | 4 | 0,055 | 3,035 | 0,0416 |
| Error | 0,366 | 20 | 0,018 | | |
| Total | 1,038 | 29 | | | |

VIII B)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|-------|------|-------|-------|--------|
| Población (P) | 0,718 | 4 | 0,179 | 6,208 | 0,0020 |
| Tratamiento (T) | 0,023 | 1 | 0,023 | 0,813 | 0,3874 |
| Interacción (PxT) | 0,352 | 4 | 0,088 | 3,051 | 0,0409 |
| Error | 0,578 | 20 | 0,028 | | |
| Total | 1,672 | | | | |

VIII C)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|-------|------|-------|--------|--------|
| Población (P) | 0,603 | 4 | 0,150 | 12,447 | 0,0000 |
| Tratamiento (T) | 0,016 | 1 | 0,016 | 1,387 | 0,2527 |
| Interacción (PxT) | 0,068 | 4 | 0,017 | 1,422 | 0,2630 |
| Error | 0,242 | 20 | 0,012 | | |
| Total | 0,931 | | | | |

IXA)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|-----------|------|---------|-------|--------|
| Población (P) | 1494,495 | 4 | 373,623 | 0,979 | 0,4414 |
| Tratamiento (T) | 370,094 | 1 | 370,094 | 0,969 | 0,3470 |
| Interacción (PxT) | 1556,814 | 4 | 389,203 | 1,019 | 0,4212 |
| Error | 7636,390 | 20 | 381,819 | | |
| Total | 11057,795 | 29 | | | |

IXB)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|-------|------|-------|--------|--------|
| Población (P) | 2,452 | 4 | 0,613 | 69,763 | 0,0000 |
| Tratamiento (T) | 0,095 | 1 | 0,095 | 10,831 | 0,0037 |
| Interacción (PxT) | 0,109 | 4 | 0,027 | 3,116 | 0,0381 |
| Error | 0,175 | 20 | 0,008 | | |
| Total | 2,833 | 29 | | | |

IXC)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|-------|------|-------|--------|--------|
| Población (P) | 0,094 | 4 | 0,023 | 8,716 | 0,0003 |
| Tratamiento (T) | 0,074 | 1 | 0,074 | 27,174 | 0,0000 |
| Interacción (PxT) | 0,094 | 4 | 0,023 | 8,704 | 0,0003 |
| Error | 0,054 | 20 | 0,002 | | |
| Total | 0,318 | | | | |

XA)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|-------|------|-------|-------|--------|
| Población (P) | 0,731 | 4 | 0,182 | 5,486 | 0,0038 |
| Tratamiento (T) | 0,001 | 1 | 0,001 | 0,048 | 0,8304 |
| Interacción (PxT) | 0,210 | 4 | 0,052 | 1,579 | 0,2186 |
| Error | 0,666 | 20 | 0,033 | | |
| Total | 1,609 | 29 | | | |

XB)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|-------|------|-------|-------|--------|
| Población (P) | 0,088 | 4 | 0,022 | 0,546 | 0,7040 |
| Tratamiento (T) | 0,028 | 1 | 0,028 | 0,708 | 0,4191 |
| Interacción (PxT) | 0,152 | 4 | 0,038 | 0,935 | 0,4639 |
| Error | 0,814 | 20 | 0,040 | | |
| Total | 1,085 | 29 | | | |

XC)

| Fuente de variación | S.C. | g.l. | M.C. | Fs | p |
|---------------------|-------|------|-------|-------|--------|
| Población (P) | 0,146 | 4 | 0,036 | 6,709 | 0,0014 |
| Tratamiento (T) | 0,001 | 1 | 0,001 | 0,245 | 0,6313 |
| Interacción (PxT) | 0,039 | 4 | 0,009 | 1,814 | 0,1657 |
| Error | 0,108 | 20 | 0,005 | | |
| Total | 0,295 | 29 | | | |