

Evaluación comparativa de cuatro especies forrajeras bajo condiciones de estrés hídrico y salino durante la germinación

Ruiz, M.y O. Terenti

RESUMEN

Las forrajeras cultivadas junto con los pastizales son el sustento fundamental de los sistemas ganaderos de la Argentina. El avance de la agricultura hacia zonas ganaderas ha forzado a los sistemas pecuarios a desplazarse hacia áreas con problemas de escasez de agua y salinidad. La germinación es un proceso crucial en la vida de muchas plantas, y es especialmente crítico en suelos áridos y salinos. El objetivo de este trabajo fue evaluar comparativamente los efectos del estrés hídrico y salino durante la germinación, en cuatro especies forrajeras introducidas en nuestro país: *Agropyron elongatum*, *Antheophora pubescens*, *Cenchrus ciliaris* y *Panicum coloratum*. Se utilizaron soluciones de manitol y NaCl con potenciales osmóticos de -0,5; -1; -1,5; -2,0 y -2,5 MPa. Las semillas se sembraron en papel, se regaron con 4 ml de solución y se incubaron a 25 °C. Se calculó el porcentaje y la velocidad de germinación. En las cuatro especies se observó la disminución de la germinación a medida que se incrementa la concentración de la solución. *Cenchrus ciliaris* fue la que más toleró el estrés hídrico, mientras que *Panicum coloratum* fue la menos tolerante a condiciones de estrés y presentó los menores porcentajes de germinación.

Palabras clave: *Agropyron elongatum*, *Antheophora pubescens*, *Cenchrus ciliaris*, *Panicum coloratum*.

Ruiz, M. and O. Terenti, 2012. Comparative evaluation of four forage species under water stress and salinity conditions during germination. Agriscientia XXIX (2): 91-97

SUMMARY

In Argentina, cultivated and non cultivated fodder plants are the main components of livestock production system. The expansion of agriculture over livestock producing regions has forced the livestock production system to move to areas with water deficits and salinity problems. The germination is a crucial process in the plant life and it is especially critical in arid regions and saline soils. The objective of this study was to evaluate the effect of water stress and salinity during germination in four forage species introduced in our country, namely *Agropyron elongatum*, *Antheophora pubescens*, *Cenchrus ciliaris* and

Panicum coloratum. Solutions of mannitol and NaCl with a potential osmotic of -0.5, -1, -1.5 -2.0 -2.5 MPa were used. The seeds were placed in germination paper, irrigated with 4ml of solutions and stored at 25°C. The percentage and the speed of germination was calculated. In the four species, an increment of the solution concentration resulted in lower germination percentages. *Cenchrus ciliaris* was the most tolerant to water stress (induced with mannitol) and *Panicum coloratum* was the least tolerant to water stress and having the lowest percent of germination.

Key words: *Agropyron elongatum*, *Anthephora pubescens*, *Cenchrus ciliaris*, *Panicum coloratum*.

M. Ruiz: EEA INTA San Juan, Calle 11 y Vidart s/n Villa Aberastain, San Juan. O. Terenti: EEA INTA San Luis, Rutas Nac. 7 y 8, Villa Mercedes, San Luis. Correspondencia a: moruiz@sanjuan.inta.gov.ar

INTRODUCCIÓN

En la Argentina, las forrajeras cultivadas son el sustento fundamental de los sistemas ganaderos tradicionales. El incremento de las zonas agrícolas cultivables ha impulsado a estos sistemas a moverse hacia áreas menos productivas, de tipo marginal y con problemas de diversos tipos, como la escasez de agua y la salinidad (De León, 2004). La implantación de pasturas en zonas cada vez más áridas, afectadas no sólo por la escasez de precipitaciones sino por la salinidad y las elevadas temperaturas, es uno de los principales desafíos que debe afrontar el sector ganadero (Cirelli y Volpedo, 2002). Por lo tanto, incrementar la información del efecto de los ambientes estresantes sobre la implantación de especies forrajeras es clave para lograr incrementos de la productividad en los sistemas mencionados (Bazzigalupi *et al.*, 2008).

La germinación es un proceso crucial en el ciclo de vida de muchas plantas, y factores adversos como la salinidad y el estrés hídrico durante este período son críticos para su establecimiento (Ungar, 1978; Marañón *et al.*, 1989; Mohammed & Sen, 1990; Khan, 1991). La germinación de las semillas depende principalmente de la disponibilidad de agua en el medio; en condiciones de estrés hay una disminución de la disponibilidad de agua por la caída del potencial hídrico, y como consecuencia tanto los porcentajes como las tasas de germinación se afectan drásticamente (Marañón *et al.*, 1989; Mohammed & Sen, 1990; Khan, 1991;

Ungar, 1995; Gorai & Neffati, 2007). En los suelos salinos, la presencia de iones no sólo disminuye el potencial hídrico, sino que también provoca efectos tóxicos sobre la germinación (Fenner & Thompson, 2005; Khan *et al.*, 2006).

En muchos casos resulta de interés separar los efectos osmóticos de los iónicos sobre la germinación, ya que algunas especies responden de manera diferencial (Katembe *et al.*, 1998; Dodd & Donovan, 1999; Fenner & Thompson, 2005; Khan *et al.*, 2006). La inhibición de la germinación de semillas incubadas en soluciones con PEG (polietilenglicol) o manitol se atribuye a un efecto osmótico, pero si la germinación es más inhibida por una solución salina que por el PEG o Manitol, esto debe atribuirse a un efecto iónico (Khan *et al.*, 2006). En experimentos comparativos donde las especies son incubadas con soluciones de NaCl y PEG (Katembe *et al.*, 1998; Fenner & Thompson, 2005), se ha observado que las soluciones de NaCl ejercen un efecto combinado, por un lado el efecto osmótico debido a la disminución del potencial osmótico del medio, que crea estrés hídrico en la semilla, y por otro lado, un efecto iónico por la entrada y/o acumulación de iones en la semilla o plántula (Dodd & Donovan, 1999).

En general, las forrajeras perennes tienen un lento crecimiento inicial y pocas reservas en la semilla, lo que hace que el establecimiento de la plántula sea una etapa crucial para la implantación del cultivo (García-Espil, 1990). Si a esto se suman condiciones adversas en el medio, como son la fal-

ta de agua o la presencia de sales en el perfil, la implantación de la pastura es aún más difícil (Bazzigalupi *et al.*, 2008).

El objetivo de este trabajo fue evaluar comparativamente el efecto del estrés hídrico y salino durante la germinación, en cuatro especies forrajeras introducidas en la Argentina: *Agropyron elongatum*, *Antheophora pubescens*, *Cenchrus ciliaris* y *Panicum coloratum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Las especies seleccionadas para este trabajo lo fueron debido a que poseen cierto grado de tolerancia a condiciones de estrés durante la etapa adulta (Butt *et al.*, 1992; Newman & Delgado, 1999; Altuve *et al.*, 2000; Rudmann *et al.*, 2001; Petruzzi *et al.*, 2003). Las semillas de *Agropyron elongatum*, *Antheophora pubescens* y *Panicum coloratum* fueron provistas por la EEA Balcarce; estas se obtuvieron durante la temporada 2006-2007. Al momento de los ensayos las semillas de *Antheophora pubescens* y *Panicum coloratum* tenían 8 meses de almacenamiento mientras que las de *Agropyron elongatum*, 10 meses de postcosecha. Las semillas de *Cenchrus ciliaris* fueron provistas por IFIVE, INTA, obtenidas de plantas madres durante la temporada 2006-2007 y almacenadas durante ocho meses antes de la realización de los ensayos. Las condiciones de almacenamiento fueron de 20 °C y 20% de humedad relativa desde la cosecha hasta la realización de los ensayos.

Ensayo de germinación

Las semillas de las especies descritas se sembraron en cajas de Petri de 9 cm de diámetro con papel de filtro (Muntkel 1700); previamente se las sometió a un baño con solución fungicida al 0,5% del producto comercial Captan ando (polvo mojable N-(triclorometiltio) ciclohex-4ene-1,2dicarboximida 80 g; inertes y coadyuvantes c.p.s. 100 g). El sustrato se humedeció con 4 ml de soluciones de manitol o NaCl cuyos potenciales osmóticos (Ψ_o) de -0,5; -1; -1,5; -2,0 y -2,5 MPa se obtuvieron siguiendo la relación empírica de Vant'Hoff (Salisbury y Ross, 2000). Las soluciones se ajustaron utilizando un osmómetro (Wescor, USA). Como control se utilizó agua desionizada. Las semillas se mantuvieron en cámara de germinación programada a 25 °C sin luz y 80% de humedad durante todo el experimento. La germinación

se evaluó diariamente durante 10 días, considerando semilla germinada aquella cuya radícula superó los 2 mm de largo (Bradford, 1995; Bewley, 1997). Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje final de germinación y el índice de velocidad de emergencia (ERI) (Shmueli & Goldberg, 1971).

Diseño experimental

El diseño experimental utilizado en todas las determinaciones fue al azar con cuatro repeticiones de 25 semillas. Los datos se analizaron mediante el análisis de la varianza (ANOVA) de dos vías con los siguientes factores: dos soluciones osmóticas (manitol y NaCl) y seis concentraciones (-0,5; -1; -1,5; -2,0 y -2,5 MPa).

RESULTADOS

El análisis de la varianza para *Agropyron elongatum* mostró diferencias significativas entre las concentraciones de la solución ($p \leq 0,001$), no así entre los osmolitos empleados ($p = 0,2195$), tanto en el porcentaje de germinación como en el índice de velocidad de emergencia (ERI) (Tabla 1). La interacción entre el tipo de solución y su concentración resultó significativa, y arrojó un valor de $p \leq 0,001$. Esta interacción está dada principalmente por que en los Ψ_o más elevados (-2 y -2,5 MPa) la especie germinó más en las soluciones de manitol. En cuanto al efecto general, esta especie disminuye los porcentajes y la velocidad de germinación con el incremento de la concentración de la solución, independientemente del tipo de osmolito empleado (Figura 1A).

En *Antheophora pubescens* se observaron diferencias significativas para las soluciones y concentraciones ($p \leq 0,001$) no así para la interacción de ambos factores ($p = 0,0838$). A medida que los Ψ_o de las soluciones de riego se hicieron más negativos, tanto la germinación (Figura 1B) como la velocidad de ésta disminuyeron marcadamente (Tabla 1). Esta especie mostró similares porcentajes de germinación (50%) a -1 MPa tanto en NaCl como en manitol, mientras que a potenciales más negativos (-2 y -2,5 MPa) el efecto tóxico de las sales fue mayor que el efecto osmótico.

En *Cenchrus ciliaris* el tipo de osmolito, la concentración y la interacción entre los factores resultaron estadísticamente significativas con un valor de $p \leq 0,001$, tanto en el porcentaje como en la velocidad de germinación. La interacción se debe principalmente a que en las soluciones de manitol se alcanzaron porcentajes de germinación mucho

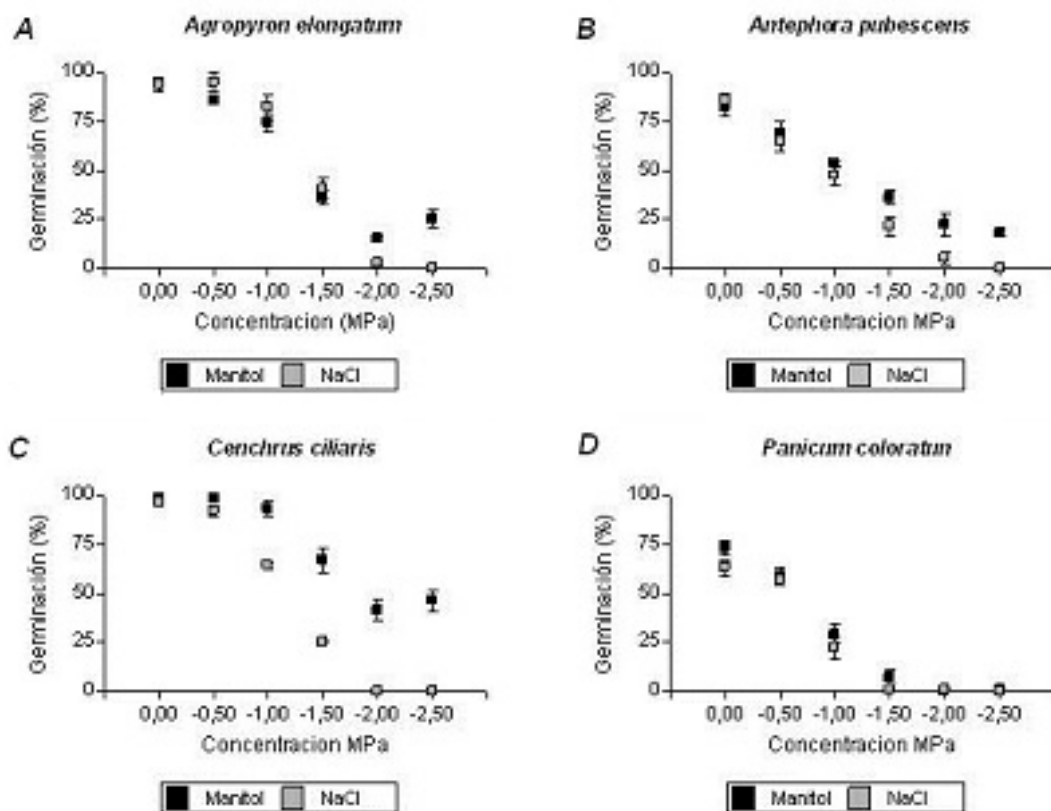


Figura 1: Porcentaje de germinación en función de las seis concentraciones ensayadas de manitol (negro) y NaCl (gris). (A) *Agropyron elongatum*, (B) *Anthephora pubescens*, (C) *Cenchrus ciliaris* y (D) *Panicum coloratum*.

más elevados que en el NaCl, para los Ψ_o inferiores a -1 MPa (Figura 1C). La velocidad de germinación respondió de manera similar al porcentaje de germinación, y mostró diferencias entre la sal y la solución de manitol (Tabla 1). Esta especie a diferencia del resto es la única que presenta niveles de germinación cercanos al 50% en los Ψ_o más negativos (-2 y -2,5 MPa) en la solución de manitol.

De todas las especies estudiadas, *Panicum coloratum* es la que menos germinó, con sólo un 25% de germinación a -1 MPa en las dos soluciones. En esta especie el tipo de osmolito y la concentración afectaron significativamente el porcentaje y la velocidad de germinación, y no se registró interacción entre los factores. Es importante destacar que, a diferencia de las otras especies, cuando el Ψ_o de la solución llegó a -1,5 MPa los niveles de germinación fueron de sólo 2% (Figura 1D). La velocidad de germinación representada con el ERI reflejó los mismos cambios que la germinación en función de la concentración y del tipo de osmolito (Tabla 1).

Al analizar la germinación de las cuatro espe-

cies en el potencial osmótico de -1,5 MPa, se pudo observar como éstas respondieron de manera distinta (Figura 2). *P. coloratum* fue la especie que menor porcentaje de germinación alcanzó en este nivel de estrés, sin diferencias entre los osmolitos utilizados. *A. pubescens* y *A. elongatum* resultaron con similares niveles de germinación a -1,5 MPa, sin diferencias significativas entre los osmolitos (Figura 2). Sólo en *C. ciliaris* se presentó una respuesta diferencial frente al osmolito usado, mostrando un nivel de germinación significativamente mayor en manitol que en la solución isosmótica de NaCl (Figura 2).

DISCUSION

La disminución del Ψ_o del sustrato afectó de manera diferencial la germinación de las cuatro especies evaluadas, principalmente en el rango comprendido entre 0 y -1,5 MPa; mientras que en Ψ_o menores a -1,5 MPa los niveles de germinación

Tabla 1: Índice de velocidad de emergencia (ERI) de las especies evaluadas en relación a la concentración de la solución (MPa) y el osmolito utilizado (manitol o NaCl).

	Concentración (MPa)	Osmolito	
		Manitol	NaCl
<i>Agropyron elongatum</i>	0,00	7,18 ^a ±0,10	7,26 ^a ±0,23
	-0,50	6,46 ^a ±0,24	6,42 ^a ±0,13
	-1,00	5,30 ^b ±0,46	5,63 ^{ab} ±0,40
	-1,50	2,89 ^c ±0,38	3,84 ^{bc} ±0,63
	-2,00	2,33 ^c ±0,62	3,25 ^c ±2,22
	-2,50	2,82 ^c ±0,62	0,00 ^d ±0,00
<i>Antheophora pubescens</i>	0,00	6,44 ^a ±0,81	6,83 ^a ±0,54
	-0,50	5,08 ^a ±0,85	4,63 ^b ±0,66
	-1,00	3,11 ^b ±0,20	2,63 ^c ±0,71
	-1,50	1,59 ^c ±0,45	1,06 ^d ±0,79
	-2,00	1,21 ^c ±0,63	0,19 ^d ±0,22
	-2,50	0,96 ^c ±0,22	0,00 ^d ±0,00
<i>Cenchrus ciliaris</i>	0,00	6,58 ^a ±0,33	6,49 ^a ±0,09
	-0,50	6,34 ^a ±0,36	5,57 ^b ±0,57
	-1,00	5,75 ^a ±0,51	3,43 ^c ±0,40
	-1,50	4,02 ^b ±0,71	0,98 ^d ±0,21
	-2,00	2,39 ^c ±0,54	0,00 ^e ±0,00
	-2,50	2,36 ^c ±0,61	0,00 ^e ±0,00
<i>Panicum coloratum</i>	0,00	5,84 ^a ±0,49	5,07 ^a ±0,72
	-0,50	4,31 ^b ±0,99	4,07 ^b ±0,44
	-1,00	1,74 ^c ±0,84	1,36 ^c ±0,69
	-1,50	0,37 ^d ±0,37	0,03 ^d ±0,06
	-2,00	0,01 ^d ±0,02	0,01 ^d ±0,02
	-2,50	0,01 ^d ±0,02	0,00 ^d ±0,00

Letras distintas (en columna) indican diferencias significativas entre las distintas concentraciones dentro de cada especie ($p < 0,05$) según test de Tukey.

resultaron muy bajos, en todas las especies, coincidiendo con lo observado para la mayoría de las especies vegetales estudiadas por otros investigadores (Khan & Rizvi, 1994; Katembe *et al.*, 1998; Gulzar *et al.*, 2001; Khan *et al.*, 2006; Gorai & Neffati, 2007; Bazzigalupi *et al.*, 2008; Bilquees & Khan, 2008). Disminuciones del Ψ_0 implican una menor tasa de imbibición y una prolongación del período previo a la emergencia de la radícula; esto se traduce en una menor velocidad de germinación de las semillas y una disminución del porcentaje final de germinación. En la mayoría de las especies la germinación ocurre en un rango de Ψ_0 entre 0 y -1,2 MPa (Bradford, 1995).

Excepcionalmente, algunas halófitas muy tolerantes a la salinidad, como *Zostera marina*, pueden germinar a niveles similares al agua de mar (-2,4 MPa) (Harrison, 1991; Probert & Brenchley, 1999); *Salicornia pacífica* var. *utahensis* presenta algo de germinación a niveles de -3,5 MPa de salinidad (Khan & Weber, 1986). Potenciales osmóticos cer-

canos a -1,2 MPa se consideran críticos y permiten evaluar la tolerancia al estrés. En un estudio sobre diferentes poblaciones de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) se observó que los potenciales hídricos que permitían discriminar entre poblaciones eran cercanos a -1 MPa, mientras que potenciales hídricos mayores -0,27 y -0,6 MPa no eran aptos para tal fin (Bazzigalupi *et al.*, 2008). En este trabajo se tomó como Ψ_0 crítico -1,5 MPa y se observaron diferencias significativas entre especies en cuanto a la tolerancia al estrés; *Panicum coloratum* resultó la especie más sensible a ambos tipos de estrés y *Cenchrus ciliaris* la que mejor toleró el estrés hídrico.

En *Agropyron elongatum*, *Antheophora pubescens* y *Panicum coloratum* los niveles de germinación disminuyeron de manera similar en las soluciones de manitol y NaCl, mientras que en *Cenchrus ciliaris* los porcentajes de germinación fueron mayores en manitol, principalmente en los potenciales hídricos críticos (-1 y -1,5 MPa). La mayoría de los autores coinciden en que el efecto inhibitorio de las sales sobre la germinación es mayor, debido a que al efecto osmótico se le suma la toxicidad de los iones Na^+ y Cl^- que interfieren directamente con la actividad metabólica (Dell'Aquila & Spada, 1993; Katembe *et al.*, 1998; Khan *et al.*, 2006). Sin embargo, en este trabajo sólo en *C. ciliaris* se observó este efecto de menor germinación en la solución salina respecto de una isosmótica de manitol. Los resultados obtenidos en el resto de las especies coinciden con otros autores (Ungar, 1987; Egan *et al.*, 1997), que sostienen que los iones inorgánicos no inhibieron más el porcentaje de germinación que el manitol y el PEG (polietilenglicol) en varias halófitas, sugiriendo que las semillas están principalmente afectadas por el estrés osmótico más que por la toxicidad de iones específicos. Los resultados obtenidos de este trabajo junto con la información generada por otros autores (Ungar, 1987; Dell'Aquila & Spada, 1993; Egan *et al.*, 1997; Katembe *et al.*, 1998; Khan *et al.*,

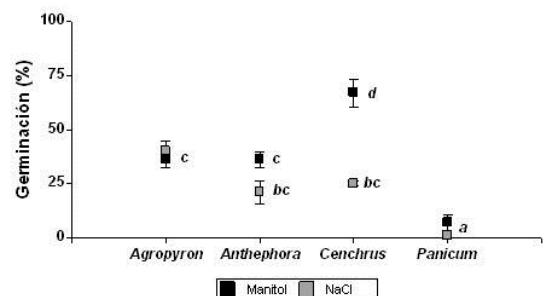


Fig. 2. Average monthly rainfall for a plot in Embarcación (Salta), where geminiviruses were detected in 2005.

2006) indican que la respuesta diferencial frente al tipo de estrés generado, osmótico o salino, durante la germinación puede ser particular de cada especie.

CONCLUSIONES

Las cuatro especies seleccionadas respondieron de manera diferente frente a condiciones de estrés durante la germinación. *Panicum coloratum* resultó la especie menos tolerante, mientras que *Agropyron elongatum* y *Antheophora pubescens* mostraron mayores niveles de germinación. En ninguna de estas especies se registraron diferencias en cuanto a la tolerancia al estrés hídrico respecto del estrés salino. Sólo en *Cenchrus ciliaris* el tipo de estrés aplicado modificó la respuesta germinativa, resultando esta especie más tolerante al déficit hídrico que a la salinidad.

BIBLIOGRAFIA

- Altuve, S.; J. Fernández y E. Ocampo, 2000. Experiencias con forrajeras del género *Panicum* en el medio-este de corrientes E.E.A. Mercedes, Corrientes, Argentina. Noticias y Comentarios N° 334.
- Bazzigalupi, O.; S. Pistorale y A. Andrés, 2008. Tolerancia a la salinidad durante la germinación de semillas provenientes de poblaciones naturalizadas de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*). Ciencia e Investigación. Agraria 35(3): 277-285.
- Bewley J.D., 1997. Seed germination and dormancy. Plant Cell 9:1053-1066.
- Bilquees, G. and M. A. Khan, 2008. Effect of compatible osmótica and plant growth regulators in alleviating salinity stress on the seed germination of *Allenrolfea occidentalis*. Pak. J. Bot. 40(5):1957-1964.
- Bradford, K, 1995. Water relations in seed germination. In Seed Development and Germination. Jaime Kigel y Gad Galili (Ed). Editorial Marcel Dekker, Inc. New York, USA. pp 351-396
- Butt, M.N.; G.B. Donart; M.G Southward; R.Pieper and D.N Mohamma, 1992. Effects of defoliation on plant growth of buffel grass (*Cenchrus ciliaris*). Annals of Arid Zones 31:19-24
- Cirelli, A. y A. Volpedo, 2002. Las tierras secas de Iberoamerica .El agua en Iberoamérica; De la escasez a la desertificación. CYTED XVII, Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo. Aprovechamiento y gestión de recursos hídricos. En http://www.produccion-animal.com.ar/agua_cono_sur_de_america/31-tierras_secas_iberamerica.htm (Consultado el 26/9/2010).
- De León, M., 2004. Ampliando la frontera ganadera. Informe Técnico N° 1. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Centro Regional Córdoba
- Dell'Aquila A. and D. Spada, 1993. The effect of salinity stress upon protein synthesis of germinating wheat embryos. Annals of Botany 72:97-101.
- Dodd, G. and L. Donovan, 1999. Water potential and ionic effects on germination and seedling growth of cold desert shrubs. American Journal of Botany 86(8): 1146-1153.
- Egan, T.; I. Ungar and J Meekins, 1997. The effect of different salts of sodium and potassium on the germination of *Atriplex prostrata* (Chenopodiaceae). Journal of plant Nutrition 20(12): 1723-1730.
- Fenner, M and K. Thompson, 2005. The Ecology of Seeds. Cambridge University Press. 241 Pp 1-29
- García Espil, A., 1990. Pasturas, implantación y cuidados culturales. Cuaderno de actualización técnica N° 49. Departamento de estudios y de prensa y difusión de AACREA, capítulos 1 y 3.
- Gorai, M. and M. Neffati, 2007. Germination responses of *Reaumuria vermiculata* to salinity and temperature. Annals of Applied Biology 151: 53-59
- Gulzar, S.; M. Khan and I. Ungar, 2001. Effect of salinity and temperature on the germination of *Urochondra setulosa* (Trin) C. E. Hubbard. Seed Science & Technology 29: 21-29
- Harrison, P. 1991. Mechanisms of seed dormancy in annual population of *Zostera marina* (eelgrass) from The Netherlands. Canadian Journal of Botany 69: 1972-1076.
- Katembe, W.J.; I.A. Ungar and J.P. Mitchel, 1998. Effect of salinity on germination and seedling growth of two *Atriplex* species (Chenopodiaceae). Annals of Botany 82 (2): 167-175.
- Khan, M. A, 1991. Studies on germination of *Cessa cretica*. Pak. J. Weed Sci. Res. 4: 89-98.
- Khan, M.A. and D.J. Weber, 1986. Factors influencing seed germination in *Salicornia pacifica* var. utahensis. American Journal of Botany 73: 1163-1167.
- Khan, M.A. and Y. Rizvi, 1994. Effect of salinity, temperature and growth regulators on the germination and early seedling growth of *Atriplex griffithii* var.stocksii. Canadian Journal of Botany 72 (4): 475-479
- Khan, M.A.; M. Zaheer Ahmed and A. Hameed, 2006. Effect of sea salt and L-ascorbic acid on the seed germination of halophytes. Journal of Arid Environments 67: 535-540
- Marañón, T.; L.V. García and A. Troncoso, 1989. Salinity and germination of annual *Melilotus* from the Gaddalquivir delta (SW). Plant Soil 119: 223-228.

- Mohammed, S. and D. Sen. 1990. Germination behaviour of some halophytes in Indian desert. *Indian J. Exp. Biol* 28: 545- 549.
- Newman, Y. y H. Delgado, 1999. Crecimiento del pasto buffel 1. Arquitectura de la planta. *Rev. Fac. agron (LUZ)*: 16:319-326.
- Petruzzi, H.; N. Stritzler, E. Adema, C. Ferri y J. Pagella, 2003. Mijo Perenne - *Panicum coloratum*. Talleres gráficos de la E.E.A. Anguil INTA "Ing. Agr. Guillermo Covas".
- Probert, R.J and J.L Brenchley, 1999. The effect of environmental factors on field and laboratory germination in a population of *Zostera marina* L. from southern England. *Seed Science Research* 9: 331-339
- Rudmann, S.; P.J. Milham and J. P. Conroy, 2001. Influence of high CO₂ partial pressure on nitrogen use efficiency of the C₄ grasses *Panicum coloratum* and *Cenchrus ciliaris*. *Annals of Botany* 88: 571-577.
- Salisbury, F y C. Ross, 2000. Fisiología de las plantas 3: Desarrollo de las plantas y fisiología ambiental. Ed. Thomson Learning, Paraninfo S.A. Madrid. Cap. 26.
- Shmueli, M. and D. Goldberg, 1971. Emergence, early growth and salinity of five vegetable crops germinated by sprinkle and trickle irrigation in arid zones. *Hort Science* 6: 176,177.
- Ungar, I., 1978. Halophyte seed germination. *Botanical Review* 44: 233-264.
- Ungar, I., 1987. Population ecology of halophyte seeds. *Botany. Review* 53:301-334.
- Ungar, I., 1995. Seed germination and seed bank ecology in halophytes. In *Seed Development and Germination*. Editory: Kigel J. and Galili, G. pp 599-628