



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Relaciones filogenéticas del género
Sarcocornia A.J. Scott (Amaranthaceae):
Implicaciones taxonómicas, evolutivas y
biogeográficas

Ana Guilló Recuerda



Tesis

Doctorales

www.eltallerdigital.com

UNIVERSIDAD de ALICANTE



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Relaciones filogenéticas del género
***Sarcocornia* A.J. Scott (*Amaranthaceae*):**
Implicaciones taxonómicas, evolutivas y
biogeográficas

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Tesis Doctoral

Ana Guilló Recuerda

Febrero, 2013

M^a ÁNGELES ALONSO VARGAS, PROFESORA CONTRATADO DOCTOR Y ANA JUAN GALLARDO, PROFESORA TITULAR DE BOTÁNICA, MIEMBROS DEL ÁREA DE BOTÁNICA DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AMBIENTALES Y RECURSOS NATURALES, Y DEL I.U. CIBIO, DE LA UNIVERSIDAD DE ALICANTE,

CERTIFICAN: Que la presente memoria titulada “Relaciones filogenéticas del género *Sarcocornia* A.J. Scott (*Amaranthaceae*): Implicaciones taxonómicas, evolutivas y biogeográficas”, que para aspirar al grado de Doctor presenta la Licenciada en Biología D^a Ana Guilló Recuerda, ha sido realizada bajo nuestra dirección en este Departamento, y considerando que reúne los requisitos necesarios a tal efecto, autorizamos que siga los trámites preceptivos para su exposición y defensa.

Y para que así conste donde convenga al interesado, y a petición suya, expedimos el presente certificado en Alicante, a ocho de enero de dos mil trece.

A mis padres, Ana y Santiago

a Alicia

y a Lolo



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Las plantas parecían producir incansablemente nuevas formas y colores. Cada vez se abrían más capullos de flores, cada vez centelleaban más cuajadas umbelas. Y todo aquel desarrollo se producía en medio de un silencio absoluto.

Al cabo de un rato, muchas plantas habían alcanzado ya la altura de girasoles, y algunas eran incluso tan grandes como árboles frutales. Había plumeros o pinceles de hojas largas de un verde esmeralda, o flores como colas de pavo real, llenas de ojos con los colores del arco iris. Otras plantas parecían pagodas de sombrillas de seda violeta, superpuestas y desplegadas. Algunos troncos gruesos se retorcían como trenzas. Como eran transparentes, parecían de cristal rosa iluminado por dentro. Y había ramilletes de flores como grandes racimos de farolillos azules y amarillos. En muchos sitios colgaban millares y millares de florecitas estrelladas, en cataratas brillantes como la plata, o cortinas de oro viejo hechas de lirios de los valles con largos estambres en forma de borla. Y aquellas plantas nocturnas luminosas crecían cada vez más exuberantes y espesas, entrelazándose poco a poco para formar un magnífico tejido de suave luz.

—¡Tienes que darle un nombre! —susurró la Hija de la Luna.

Bastían asintió.

—Perelín, la Selva Nocturna —dijo.

Michael Ende

AGRADECIMIENTOS

La realización de esta Tesis ha sido posible a la ayuda de muchas personas, que de una u otra manera han hecho su aportación. Por este motivo, en las próximas líneas me gustaría dar las gracias a todos aquellos que me han acompañado en este camino, esperando no dejarme nombres en el tintero.

Para empezar, he de agradecer al departamento de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales, y al Instituto Universitario-CIBIO, la posibilidad de realizar la tesis con ellos. Asimismo, quiero dar las gracias a la Generalitat Valenciana por concederme una beca para la formación de personal investigador de carácter predoctoral.

Personificando los agradecimientos, en primer lugar quisiera expresarles mi gratitud a mis dos directoras, Ana y M^a Ángeles, sin las que esta tesis no hubiese sido lo mismo. Sé que son conscientes de lo mucho que las aprecio, porque no sólo han sido directoras, han sido amigas, compañeras de viajes, de cervezas, de risas, de buenos y malos ratos. Por ello quiero decirles que no imagino esta tesis sin ellas. ¡Muchas gracias por estar ahí siempre!

Siguiendo con el departamento, a Benito quiero agradecerle su entusiasmo por la Botánica, que ha sabido transmitirlo a todos los que le rodean, y me ha brindado su ayuda siempre que la he necesitado. A José Carlos, por toda su ayuda, destacando el gran trabajo que ha hecho con los pliegos de *Sarcocornia*, que sé que le han dado más de un quebradero de cabeza. Y como no, a todas aquellas personas que han pasado o que actualmente forman parte del laboratorio y del grupo de becarios (Jonás, José Luis, Alicia, Fernando, Mario, Palma, Nuria, Irene, Josy, Chiara, Hipólito, Pablo, Flor), a los que se han unido recientemente (Alejandro, Joaquín, Noelia), a los que estuvieron de estancia, Andrijana y a los que dedicaron su tiempo al género *Arthrocnemum* (Laura). Pero especialmente, a Jonás, siempre dispuesto a echarme una mano, con quién he compartido la gran mayoría de mis salidas de campo, parte de una estancia e interminables horas de laboratorio y dialéctica sobre cualquier cosa, y a Jose Luis y Alicia que llevamos juntos muchísimos años.

Las estancias, constituyen un apartado de gran importancia en cualquier trabajo que se realice. Tanto como si sales al extranjero o te quedas en territorio nacional tienes la posibilidad de conocer nuevos lugares, costumbres, y por supuesto, personas que enriquecen tu vida. De mis dos estancias en Kew, en el Jodrell laboratory de los Royal Botanic Gardens, guardo muy buenos recuerdos, que de vez en cuando rescato y me

sorprendo a mi misma sonriendo. Desde el primer día que puse un pie en el Jodrell me he sentido muy querida, y eso ha sido gracias a todas aquellas personas que estuvieron allí y que me guiaron en mis primeros pasos en el laboratorio (Illia Leitch), me echaron una mano con los recuentos de cromosomas (Ralph G. Kynast, Peter Brandham), fueron compañeros de laboratorio (Benedetta, Araya, Jeff, Ian, Marco, Jim, Michel, Dyon, Rhyan, Laszlo), me hicieron partícipe de sabrosas cenas de alto contenido botánico (Michael F. Fay y Mark W. Chase), compartimos largas charlas durante el almuerzo o en cualquier otro momento por la common room (Edith, Leslie, Begoña), me prestaron su ayuda con algunos programas informáticos (Robyn Cowan, Felix Forest), se convirtieron en grandes amigos (Jaume y Laura) o simplemente fueron esenciales durante mi estancia. A esta última persona le quiero dar mil gracias, Lola (M^a Dolores Lledó), igual que me sucede con Ana y M^a Ángeles, no imagino esta tesis sin toda su ayuda y momentos de risas. Por último, no puedo olvidarme de Vivien Isaac y de su familia, que me acogieron como a un miembro más.

El otro lugar en el que también he realizado una estancia, ha sido Salamanca. Igualmente aquí, pasé dos meses muy intensos rodeada de personas muy especiales. Blanca, Santi, Sara, Pinto y María me brindaron toda su ayuda con los análisis de los datos, tanto filogenéticos como de los AFLP. Gracias a todos ellos, esta parte de la tesis ha sido más llevadera y por supuesto divertida, es lo que tiene entrar en el mundo “*Mar?*”. Y por supuesto, quiero dar las gracias a Montse (Montserrat Martínez-Ortega), que como buena amiga que es de Lola, Ana y M^a Ángeles, también entró a formar parte de los imprescindibles de esta tesis.

Volviendo a la Universidad de Alicante, quiero expresarle mi gratitud a Vero del MEB. Hemos pasado muchas horas juntas fotografiando primero semillas, y luego estomas. Horas en las que nos poníamos al día y compartíamos largas charlas sobre cualquier tema, que finalmente derivaron en una bonita amistad.

A Carlos Salazar, M^a Luz Lendínez, José Antonio Torres y Antonio García, de la Universidad de Jaén, que han pensado en nosotras a la hora de recoger material de *Sarcocornia*, y en especial a Carlos y M^a Luz que me han ofrecido su ayuda cuando la he necesitado.

Al director del Parque Natural de la Mata-Torrevecija, por permitirme recolectar material en el parque. A los herbarios mencionados en esta tesis que me han permitido

revisar sus pliegos. A aquellas personas que sin conocerlas, me han ayudado recogiendo *Sarcocornia* (Sandra Saura), con el análisis de mis datos (Pablo Goloboff y Mercè Galbany-Casals) y a Kelly Shepherd, con la que he intercambiado largos emails hablando sobre *Sarcocornia* y *Tecticornia*, y ha puesto a mi disposición toda su ayuda y bibliografía.

A aquellas personas del departamento, que siempre que me han visto por los pasillos se han interesado por ver cómo iba, han respondido a mis preguntas o simplemente desde muy lejos me han prestado su ayuda (Santos, Celeste, Anabel, Vanessa, Ana Marco, Bea, Yelitza, Paola, Diego Pavón, Asun, Javi, Laura Campello, Laura Fernández), y también a Mati, Jesús Ordoñez y Carmen, con los que siempre he compartido ratitos del día muy amenos.

Fuera del ámbito de la Universidad, a mi gran amiga Cene que ha ejercido tanto de amiga, como de revisora. Le agradezco de todo corazón el haber aceptado a leerse la tesis, aún cuando ella misma no da abasto con su trabajo.

A mis amigos y amigas de Ibi y Madrid, que han estado atentos y me han dado ánimos.

A la familia de Lolo (Manolo, Merce, Raquel, Luis, Santi y Alejandra), que me han acompañado a revisar pliegos y me han dejado ponerles la casa perdida de *Sarcocornia*. En especial a Santi, que con tan sólo cuatro añitos, me ayudó a separar semillas de *Sarcocornia* para mi primera estancia en Kew.

A mi familia, a Alicia y Víctor que en estos últimos meses se han convertido en los rescatadores de mi exilio en mi habitación. A mi abuela Carmen, que con 93 años no me pierde la pista y está al tanto de mi tesis. Y como no, a mis padres, Santiago y Ana, piezas clave de mi vida, que han sabido transmitirme desde muy pequeñita su pasión por la naturaleza y por hacer las cosas bien. Siempre han estado a mi lado en todas las etapas de mi vida, y ésta en especial, la han vivido día a día, ¡muchas, muchas gracias!

Por último, a Lolo, que me ha empujado en muchas ocasiones hacia arriba, me ha acompañado a recoger *Sarcocornia*, ha ejercido de botánico, de revisor, y siempre ha estado ahí dispuesto a ayudarme y por supuesto, a formar parte de esta tesis.

MUCHAS GRACIAS



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Índice

ÍNDICE

Introducción general	1
1. ANTECEDENTES	3
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS GENERALES	6
Capítulo 1. Relaciones filogenéticas del clado <i>Salicornia/Sarcocornia</i> en el seno de la subfamilia <i>Salicornioideae</i>	7
1. INTRODUCCIÓN	9
2. OBJETIVOS	12
3. MATERIAL Y MÉTODOS	12
3.1. <i>Material vegetal</i>	12
3.2. <i>Extracción de ADN, amplificación y secuenciación</i>	13
3.3. <i>Análisis Molecular</i>	14
3.4. <i>Caracterización morfológica</i>	15
4. RESULTADOS	18
4.1. <i>Análisis ITS</i>	18
4.2. <i>Análisis ETS</i>	21
4.3. <i>Análisis conjunto ITS+ETS</i>	23
4.4. <i>Evolución de los caracteres morfológicos</i>	24
4.4.1. Caracteres morfológicos que permiten la identificación del clado <i>Salicornia/Sarcocornia</i>	25
4.4.2. Caracteres morfológicos en los que se ha basado la separación de los géneros <i>Salicornia</i> y <i>Sarcocornia</i>	25
4.4.3. Caracteres morfológicos comunes a los géneros <i>Salicornia</i> y <i>Sarcocornia</i> sin valor diferencial	27
4.4.4. Caracteres morfológicos exclusivos de ciertos táxones del grupo externo	31
5. DISCUSIÓN	32

5.1. <i>Relaciones filogenéticas del clado Salicornia/Sarcocornia en el seno de la subfamilia Salicornioideae</i>	32
5.2. <i>Relaciones filogenéticas y sistemática del grupo Salicornia/Sarcocornia: implicaciones taxonómicas</i>	34
Capítulo 2. Relaciones filogenéticas, diversificación y biogeografía del género <i>Sarcocornia</i> en América, Europa y Norte de África	41
1. INTRODUCCIÓN	43
2. OBJETIVOS	45
3. MATERIAL Y MÉTODOS	46
3.1. <i>Estudio filogenético de los táxones de distribución americana, europea y norteafricana</i>	46
3.1.1. Material vegetal	46
3.1.2. Extracción de ADN, amplificación y secuenciación	46
3.1.3. Análisis molecular	48
3.2. <i>Estudio de los táxones de distribución europeo-norteafricana con la técnica AFLP</i>	49
3.2.1. Material vegetal y extracción de ADN	49
3.2.2. Técnica AFLP	49
3.2.3. Análisis de los datos	50
4. RESULTADOS	51
4.1. <i>Estudio filogenético de los táxones de distribución americana, europea y norteafricana</i>	51
4.1.1. Análisis de la región ITS	52
4.1.2. Análisis <i>PHYC</i>	54
4.1.3. Análisis conjunto del plasto: regiones <i>rpl32-trnL^(UAG)</i> , <i>trnQ^(UUC)-rps16</i> y <i>rps16</i>	56
4.1.4. Análisis conjunto de la región nuclear ITS y regiones plastidiales	59
4.2. <i>Estudio de los táxones de distribución europea-norteafricana con la técnica AFLP</i>	60

5. DISCUSIÓN	64
5.1. <i>Relaciones filogenéticas entre las especies americanas y las europeas y norteafricanas en el género Sarcocornia</i>	64
5.2. <i>Relaciones filogenéticas entre las especies europeas y norteafricanas de Sarcocornia</i>	66
5.2.1. Un caso de introgresión en la península ibérica	68
5.3. <i>Relaciones filogenéticas entre las especies americanas de Sarcocornia</i>	69
5.4. <i>Biogeografía del género Sarcocornia en América, Europa y Norte de África</i>	72
Capítulo 3. Estudio morfológico del género <i>Sarcocornia</i> en la cuenca mediterránea y costa atlántica	79
1. INTRODUCCIÓN	81
2. OBJETIVOS	84
3. MATERIAL Y MÉTODOS	85
3.1. <i>Obtención y estudio del material vegetal</i>	85
3.2. <i>Caracteres macromorfológicos</i>	86
3.2.1. Hábito y ramas vegetativas	86
3.2.2. Hojas vegetativas	87
3.2.3. Caracteres reproductivos	87
3.3. <i>Caracteres micromorfológicos</i>	88
3.3.1. Características de los estomas	88
a. <i>Morfología estomática</i>	88
b. <i>Densidad estomática y análisis estadístico</i>	89
c. <i>Células epidérmicas</i>	90
3.3.2. Características del polen	90
3.3.3. Características de las semillas	90
a. <i>Tamaño de las semillas</i>	91
b. <i>Indumento de la exotesta</i>	91

b.1. Forma del tricoma	91
b.2. Longitud del tricoma y anchura de su base	91
b.3. Densidad de tricomas (tricomas/mm ²)	92
b.4. Distribución de los tricomas en la semilla	92
b.5. Disposición de los tricomas	92
3.3.4. Nivel de ploidía	92
3.4. <i>Rastreo morfológico</i>	93
4. RESULTADOS	94
4.1. <i>Caracteres macromorfológicos</i>	94
4.1.1. Hábito y ramas vegetativas	94
4.1.2. Hojas vegetativas	96
a. <i>Tamaño de los artejos</i>	96
b. <i>Coloración de los artejos</i>	97
c. <i>Forma y ápices de los artejos</i>	97
4.1.3. Caracteres reproductivos	98
a. <i>Medidas de las espigas</i>	98
b. <i>Número de espigas laterales</i>	98
c. <i>Cimas</i>	99
d. <i>Flores</i>	100
e. <i>Tipo de fruto y relación con el perianto</i>	101
4.2. <i>Caracteres micromorfológicos</i>	101
4.2.1. Características de los estomas	101
a. <i>Morfología estomática</i>	101
b. <i>Densidad estomática</i>	102
c. <i>Células epidérmicas</i>	103
4.2.2. Características del polen	104
4.2.3. Características de las semillas	105

a. <i>Tamaño de las semillas</i>	105
b. <i>Indumento de la exotesta</i>	106
b.1. <i>Forma del tricoma</i>	106
b.2. <i>Longitud y anchura de la base del tricoma</i>	107
b.3. <i>Densidad de tricomas</i>	107
b.4. <i>Distribución de los tricomas en la semilla</i>	107
b.5. <i>Disposición de los tricomas</i>	107
4.2.4. <i>Nivel de ploidía</i>	110
4.3. <i>Rastreo morfológico</i>	110
4.3.1. <i>Caracteres que permiten la identificación de grupos morfológicos</i>	111
4.3.2. <i>Caracteres que no permiten la identificación de grupos morfológicos</i>	114
4.3.3. <i>Relevancia taxonómica de los caracteres estudiados</i>	115
5. DISCUSIÓN	116
5.1. <i>La identidad taxonómica de <i>Sarcocornia perennis</i> subsp. <i>alpini</i></i>	125
5.2. <i>Identidad taxonómica de la especie <i>Sarcocornia hispanica</i></i>	127
5.3. <i>Tratamiento taxonómico del género <i>Sarcocornia</i> en Europa y Norte de África</i>	129
Capítulo 4. Estructuración genética y filogeografía de <i>Sarcocornia fruticosa</i> y <i>Sarcocornia perennis</i> en la cuenca mediterránea y costa atlántica	133
1. INTRODUCCIÓN	135
2. OBJETIVOS	136
3. MATERIAL Y MÉTODOS	137
3.1. <i>Material vegetal y extracción de ADN</i>	137
3.2. <i>Análisis de AFLP</i>	140
3.3. <i>Marcadores plastidiales</i>	140
3.4. <i>Análisis de los datos</i>	142
3.4.1. <i>Datos de AFLP</i>	142

3.4.2. Marcadores plastidiales	144
4. RESULTADOS	145
4.1. Datos de AFLP	145
4.2. Marcadores plastidiales	156
5. DISCUSIÓN	162
5.1. Diversidad genética y filogeografía	162
5.1.1. <i>Sarcocornia fruticosa</i>	164
5.1.2. <i>Sarcocornia perennis</i>	165
5.2. Estructuración genética espacial y migración de <i>Sarcocornia</i> en el Mediterráneo occidental y costa atlántica	167
5.2.1. Germinación y dispersión de semillas	168
5.2.2. Importancia del estrecho de Gibraltar en la estructura genética de las poblaciones de <i>Sarcocornia</i>	171
5.2.3. El sur de la península ibérica como refugio genético.....	172
5.2.4. El aislamiento genético de la isla de Cerdeña	172
5.3. Principales amenazas	173
Conclusiones	175
Bibliografía	181
Apéndices	225
Apéndice 1. Listado de los táxones estudiados en los capítulos 1 y 2	227
Apéndice 2. Matriz de datos del rastreo morfológico realizado en el capítulo 1 ...	249
Apéndice 3. Listado de las localidades estudiadas en el capítulo 3	255
Apéndice 4. Matriz de datos del rastreo morfológico realizado en el capítulo 3 ...	263



Universitat d'Alacant
Introducción general
Universidad de Alicante

1. ANTECEDENTES

La subfamilia *Salicornioideae* Kostel. (*Amaranthaceae* Juss.) está formada por plantas halófilas, obligadas a vivir en hábitats salinos a lo largo de las costas y saladares interiores de todos los continentes, con la excepción de la Antártida (WAYSEL, 1972; WILSON, 1980; DAVY *et al.*, 2001; SHEPHERD *et al.*, 2005b; KADEREIT *et al.*, 2006, 2007; ALONSO & CRESPO, 2008). Esta subfamilia compuesta por 11 géneros (KADEREIT *et al.*, 2006), se caracteriza por presentar adaptaciones morfológicas y fisiológicas, lo que les facilita la tolerancia a desarrollarse en estos hábitats extremos (WAYSEL, 1972; SHORT & COLMER, 1999). Sin embargo, tales adaptaciones suponen una homogenización de la morfología, lo que conlleva notables dificultades taxonómicas, puesto que la disponibilidad de caracteres diagnósticos es limitada, haciendo muy difícil incluso la circunscripción genérica (SHEPHERD & WILSON, 2007). *Sarcocornia* A.J. Scott es uno de los géneros que componen la subfamilia y del que se reconocen entre 20 y 24 especies (STEFFEN *et al.*, 2010). SCOTT (1977) describió este género para agrupar pequeños arbustos erectos o prostrados, en ocasiones enraizadas en los nudos, con flores insertas al mismo nivel, semillas sin perisperma y con pericarpo membranoso, y la testa de las semillas cubierta con papilas o pelos. De esta manera, lo separaba de las especies anuales del género *Salicornia* L. (LINNEO, 1753) y lo diferenciaba de otro género afín, *Arthrocnemum* Moq (MOQUIN-TANDON, 1840), atendiendo a la presencia de perisperma en las semillas glabras y brillantes de éste último.

A pesar de esta reorganización genérica, la taxonomía de este grupo ha sido muy complicada, debido tanto a su elevada variabilidad fenotípica, como a las múltiples denominaciones taxonómicas que ha recibido a lo largo de la historia. Muchas de las especies reubicadas en *Sarcocornia* por SCOTT (1977), fueron descritas inicialmente en el seno de los géneros *Salicornia* (LINNEO, 1753) y *Arthrocnemum* (MOQUIN-TANDON, 1840). Por tanto, no es de extrañar, que atendiendo a la fuente bibliográfica consultada, encontremos en el género *Salicornia* (MAIRE & QUÉZEL, 1962; QUÉZEL & SANTA, 1963; MEIKLE, 1985; FREITAG, 2000; COSTE, 2007) y *Arthrocnemum* (AELLEN *et al.*, 1967; LAUSI, 1982; BOLÒS & VIGO, 1990; BALL, 1993) muchas de las especies consideradas hoy en día en el género *Sarcocornia* (SCOTT, 1977; CASTROVIEJO, 1990; STACE, 1991; JEANMONOD & GAMISANS, 2007). Sin embargo, la separación realizada por SCOTT

(1977) de los géneros *Salicornia* y *Sarcocornia* no ha sido siempre aceptada por algunos autores (LAUSI, 1982; MEIKLE, 1985; BALL, 1993; LÓPEZ GONZÁLEZ, 1997; GIUSTI, 1997; JUDD & FERGUSON, 1999; FREITAG, 1989, 2000). Para éstos, los caracteres morfológicos comúnmente utilizados para separar ambos géneros –el hábito perenne del género *Sarcocornia* frente al anual de *Salicornia*, o la disposición de las flores, en un nivel (*Sarcocornia*) o en dos niveles (*Salicornia*)–, no tienen entidad suficiente como para diferenciar los dos géneros. Estudios recientes basados en herramientas moleculares, han puesto de manifiesto la monofilia del agregado formado por los géneros *Salicornia* y *Sarcocornia*, frente a otros géneros afines como *Arthrocnemum* o *Microcnemum* Ung.-Sternb. (SCHÜTZE *et al.*, 2003; SHEPHERD *et al.*, 2004, 2005a; KADEREIT *et al.*, 2006, 2007). Sin embargo, en estos trabajos, no queda claro si *Sarcocornia* y *Salicornia* han de tratarse como géneros diferentes, puesto que la posición filogenética de *Sarcocornia* es parafilética respecto a *Salicornia*, que sí resulta ser un grupo monofilético. Además, cabe indicar que la posición filogenética de este último género varía atendiendo a las regiones analizadas (SHEPHERD *et al.*, 2004, 2005a; KADEREIT *et al.*, 2006, 2007).

La distribución del género *Sarcocornia* abarca las costas europeas con límite más septentrional en Escocia, llegando por el Mediterráneo hasta Turquía (GREUTER *et al.*, 1984). En el continente americano, este género se distribuye prácticamente en todas las costas oceánicas, además de zonas altoandinas y del interior de Estados Unidos (BALL, 2003; ALONSO & CRESPO, 2008). En África, se distribuye por los países ribereños del Mediterráneo (MOLERO & MONTSERRAT, 2006), y en el sur de Sudáfrica, Namibia y Mozambique (STEFFEN *et al.*, 2009, 2010). Por último, también aparecen representantes de este género en algunas islas de Oceanía (Australia, Nueva Zelanda y Tasmania) (SHEPHERD *et al.*, 2005a; DURETO & MORRIS, 2011). De toda esta amplia distribución, las especies americanas constituyen un grupo que ha estado sujeto a una nomenclatura muy cambiante (ALONSO & CRESPO, 2008), llegándose a proponer hasta 18 táxones diferentes. Además, la proposición del género *Sarcocornia* (SCOTT, 1977) no ayudó a esclarecer la identidad de estas plantas en el continente americano, ya que este autor sinonimizó la mayor parte de las especies americanas a los dos táxones descritos en Europa: *Sarcocornia fruticosa* (L.) A.J. Scott y *S. perennis* (Mill.) A.J. Scott. Recientemente, ALONSO & CRESPO (2008) reconocieron únicamente cinco especies de *Sarcocornia* en

Sudamérica, entre las cuales no se encuentra presente ninguna de las especies de distribución europeo-norteafricana, tal y como había dicho SCOTT (1977). A pesar de esto, actualmente, si se consultan diferentes obras, todavía se pueden encontrar citas de los táxones *S. fruticosa* y *S. perennis* formando parte de la flora del continente americano (e.g. MOSTACERO *et al.*, 2002; BALL, 2003; HOKCHE *et al.*, 2008).

En el continente europeo y en el Norte de África se aceptan tres especies del género: *S. fruticosa*, *S. perennis* y *S. hispanica* Fuente *et al.*, de las cuales se han descrito numerosas subespecies y variantes que en la mayoría de los casos han resultado ser cambios en la morfología por causas fundamentalmente ecológicas (LÓPEZ GONZÁLEZ, 1997). Además, a esta complejidad taxonómica hay que sumarle la mención de fenómenos hibridativos por algunos autores (CASTROVIEJO & LAGO, 1992; FIGUEROA *et al.*, 2003; SHEPHERD & YAN, 2003) y la aparición de plantas poliploides (CASTROVIEJO & COELLO, 1980; CASTROVIEJO & LAGO, 1992; SHEPHERD & YAN, 2003). Toda esta maraña de información hace que en muchas ocasiones sea prácticamente imposible diferenciar entre los distintos táxones descritos, sobre todo dentro de la península ibérica, donde se encuentran todos ellos e incluso llegan a convivir. Por una parte, la presencia de las subespecies *S. perennis* subsp. *perennis* y *S. perennis* subsp. *alpini* (Lag.) Castrov. con caracteres morfológicos poco estables para diferenciarlas y con un área de distribución, que en el caso de *S. perennis* subsp. *alpini* no está bien definida, crean muchos problemas a la hora de distinguirlas *in situ* (LÓPEZ GONZÁLEZ *et al.*, 1997). Y, por otra parte, la reciente descripción de *S. hispanica* (FUENTE *et al.*, 2011), con un área de distribución plenamente coincidente con la de *S. fruticosa* (ÁLVAREZ ROGEL, 1997; ALONSO & DE LA TORRE, 2002; SALAZAR *et al.*, 2002; LENDÍNEZ *et al.*, 2011; GUILLÓ *et al.*, 2012b) complica todavía más la diferenciación taxonómica, en este caso, para las poblaciones del sureste peninsular.

A todo lo comentado, hay que sumarle la fragilidad de los hábitats en los que se desarrolla el género *Sarcocornia* (ALONSO, 2000). Los táxones de *Sarcocornia* crecen en suelos salinos, normalmente cerca de la costa y en saladares de regiones áridas y semiáridas de todo el mundo (CASTROVIEJO, 1990; SHEPHERD *et al.*, 2005a; DAVY *et al.*, 2006; ALONSO & CRESPO, 2008; STEFFEN *et al.*, 2010); hábitats éstos muy fragmentados y seriamente amenazados por actividades antrópicas (HERNÁNDEZ-GIL &

ROBLEDANO, 1997; BROMBERG-GEDAN *et al.*, 2009; PALOP-ESTEBAN *et al.*, 2011). Estos ecosistemas, debido a la reducida superficie que presentan a nivel mundial, tienen un gran valor por su escasez y singularidad (HUESO & CARRASCO, 2009). Asimismo, desde un punto de vista botánico, la flora y vegetación de estos medios es muy especial y de gran interés, debido a la capacidad que presentan para desarrollarse en un suelo con características tan particulares y restrictivas (GONZÁLEZ-BERNÁLDEZ, 1990; CONESA & JIMÉNEZ-CÁRCELES, 2007).

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS GENERALES

Atendiendo a todo lo comentado anteriormente, este trabajo se ha centrado en el estudio del género *Sarcocornia*, enmarcándolo dentro del clado *Salicornia/Sarcocornia*, que ha sido igualmente analizado desde el punto de vista morfológico y filogenético. En este estudio, se ha hecho un mayor hincapié en las relaciones filogenéticas entre las especies americanas, europeas y norteafricanas de *Sarcocornia* y se ha ido acotando el área de estudio hasta llegar al análisis morfológico y molecular de las especies europeas y norteafricanas. Así como también, se ha analizado su diversidad genética poblacional, estructuración genética y filogeográfica de las especies *S. fruticosa* y *S. perennis* en la cuenca mediterránea y costa atlántica.

Por tanto, y de acuerdo con los antecedentes expuestos, los objetivos generales planteados en esta Tesis Doctoral son los siguientes:

1. Clarificar la posición filogenética de los géneros *Salicornia* y *Sarcocornia* en el seno de la subfamilia *Salicornioideae* (Capítulo 1).
2. Analizar las relaciones filogenéticas de los táxones del género *Sarcocornia* en América, Europa y Norte de África (Capítulo 2).
3. Realizar un estudio morfológico detallado del género *Sarcocornia* en la cuenca mediterránea y costa atlántica (Capítulo 3).
4. Evaluar la variabilidad genética y la estructura genética espacial de las poblaciones de *S. fruticosa* y *S. perennis* en su distribución por la cuenca mediterránea y costa atlántica (Capítulo 4).



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Capítulo 1.

Relaciones filogenéticas del clado *Salicornia/Sarcocornia*
en el seno de la subfamilia *Salicornioideae*

1. INTRODUCCIÓN

Las plantas que forman parte de la familia *Amaranthaceae*, subfamilia *Salicornioideae* se caracterizan por presentar hojas muy reducidas y suculentas, o tallos articulados con inflorescencias espiciformes que presentan flores sésiles en el interior de artejos fértiles suculentos, y están adaptadas a suelos salinos (KÜHN *et al.*, 1993). En la actualidad, dentro de esta subfamilia se acepta una sola tribu, denominada *Salicornieae*, compuesta por 11 géneros (KADEREIT *et al.*, 2006), que están adaptados a crecer en áreas extremadamente salinas (SHORT & COLMER, 1999; ENGLISH, 2004) e incluso, constituyen comunidades vegetales monoespecíficas en los saladares donde crecen (BRAUN-BLANQUET, 1928, 1933; EIG, 1946; OBERDOFER, 1952; BOLÒS & MOLINER, 1958; TADROS, 1958; WOLF, 1968; BOLÒS *et al.*, 1970; BRULLO & FURNARI, 1976; RIVAS-MARTÍNEZ *et al.*, 1980, 1992; COSTA & BOIRA, 1981; FERNÁNDEZ & SANTOS, 1983; GÉHU *et al.*, 1984a,b; LLORENS, 1986; GÉHU & BIONDI, 1994; ALONSO & DE LA TORRE, 2002; KALIGARIC & SKORNIK, 2006). El modo de vida de estas plantas y la adaptación a su hábitat han producido una convergencia morfológica del cormo entre todos los géneros de esta subfamilia: *Allenrolfea* Kuntze y *Heterostachys* Ung.-Sternb. en América; *Tecticornia* Hook.f. en Australia, Nueva Guinea, Malasia, Pakistán, y en las costas este y oeste de África; *Halopeplis* Bunge ex Ung.-Sternb. en la cuenca mediterránea, Asia central y Sudáfrica; *Kalidium* Moq. y *Halostachys* C.A. Mey. en el sureste de Europa y en el centro y sureste de Asia; *Microcnemum* en España, Turquía, Armenia y noroeste de Irán; *Halocnemum* M. Bieb. en la cuenca mediterránea y en el oeste y suroeste de Asia; *Arthrocnemum* en la cuenca mediterránea, Norteamérica y suroeste de Asia; *Sarcocornia* en latitudes templadas, cálidas o subtropicales de Eurasia, América, África y Australia; y *Salicornia* L. en las regiones boreales, templadas y subtropicales del hemisferio norte y Sudáfrica. Estas plantas salvan el potencial edáfico al que se ven sometidas incorporando solutos disueltos en sus tejidos (SCHULZE *et al.*, 2005; FLOWERS & COLMER, 2008; FLOWERS *et al.*, 2010).

Los caracteres diagnósticos utilizados para diferenciar los distintos géneros son confusos e incluso poco estables, pues muchas de las especies presentan una elevada variabilidad fenotípica (SHEPHERD *et al.*, 2005a; KADEREIT *et al.*, 2006). Dicha variabilidad, dificulta la identificación de los táxones, incluso a nivel genérico. Por

ejemplo, en el género *Salicornia*, descrito por LINNEO (1753), la especie *Salicornia fruticosa* (L.) L., fue reubicada en el seno del género *Arthrocnemum* (MOQUIN-TANDON, 1840) y más recientemente en *Sarcocornia* (SCOTT, 1977).

El género *Sarcocornia* fue descrito por SCOTT (1977), al realizar una revisión en la familia *Salicorniaceae* J. Agardh (*Caryophyllales* Benth. & Hook.), en la que delimitaba los géneros *Arthrocnemum*, *Salicornia* y *Sarcocornia* atendiendo al hábito, a la presencia o ausencia de perisperma en las semillas y a la disposición de las flores en las espigas floríferas. De este modo, el género *Salicornia* quedaba representado por plantas anuales, con flores de distinto tamaño dispuestas en triángulo y con semillas membranosas cubiertas de pelos y sin perisperma; *Sarcocornia* incluiría arbustos con las flores de igual tamaño, y con semillas sin perisperma, cubiertas de papilas o pelos; y por último, *Arthrocnemum* conformaría un género con especies arbustivas, en el que las flores de igual medida son exertas, con semillas glabras y brillantes que presentan abundante perisperma. Esta separación ha sido adoptada por numerosos autores (e.g. WILSON, 1980, 1984; VALDÉS *et al.*, 1987a,b; CASTROVIEJO, 1990; STACE, 1991; O'CALLAGHAN, 1992; TAN, 1997; BOULOS, 1999; DAVY *et al.*, 2001; BALL, 2003; JEANMONOD & GAMISANS, 2007; CABELLO, 2011). Otros autores, sin embargo, han abogado por la utilización del género *Salicornia*, donde se incluirían todas las especies perennes de *Sarcocornia*, ya que señalan que la separación de ambos géneros no está suficientemente justificada (MEIKLE, 1985; FREITAG, 1989, 2000; KÜHN *et al.*, 1993; GIUSTI, 1997; LÓPEZ GONZÁLEZ, 1997; JUDD & FERGUSON, 1999).

Desde el punto de vista molecular, las relaciones entre los géneros de la subfamilia *Salicornioideae* han sido estudiadas previamente por diversos autores (PAPINI *et al.*, 2004; SHEPHERD *et al.* 2004, 2005a; KADEREIT *et al.* 2005a, 2006, 2007). PAPINI *et al.* (2004) analizaron las relaciones entre el género *Salicornia* y distintos géneros perennes entre los que se encontraban *Sarcocornia*, *Arthrocnemum* y *Halocnemum*. El resultado obtenido del análisis de la región ITS, mostró como las especies del género *Salicornia* formaban un clado monofilético (100% BS), hermano del clado conformado por las especies *Sarcocornia perennis*, *Sarcocornia fruticosa* y *Arthrocnemum macrostachyum* (Moric.) K. Koch. SHEPHERD *et al.* (2004, 2005a) analizaron morfológica y molecularmente los miembros australianos de la subfamilia *Salicornioideae*. En su estudio, también incluyeron

especies de *Sarcocornia* no australianas. Atendiendo a la región analizada, la posición del clado monofilético de *Salicornia* cambiaba. Con ITS, el clado monofilético de *Salicornia* era hermano del clado conformado por las especies australianas del género *Sarcocornia*, siendo todo este grupo a su vez, hermano del clado compuesto por la especie *S. fruticosa*. Por otra parte, el análisis realizado de la región plastidial *trnL* mostraba una ubicación diferente del clado *Salicornia*, que estaba más relacionado con las especies *S. fruticosa* y *Sarcocornia pacifica* (Standl.) A.J. Scott que con las australianas. KADEREIT *et al.* (2005a, 2006, 2007) estudiaron las regiones ribosómico-nucleares ITS y ETS, y el espaciador plastidial *atp-rbcL* en el clado *Salicornia/Sarcocornia*. Como resultado obtuvieron tres grupos: por una parte el representado por algunas de las especies americanas y euroasiáticas del género *Sarcocornia*; en segundo lugar, el clado conformado por las especies del género *Salicornia*; y por último, el constituido por las especies sudafricanas y australianas del género *Sarcocornia*. Sin embargo, los datos moleculares eran contradictorios con respecto a la posición de *Salicornia*. Con ETS, *Salicornia* formaba un clado hermano del comprendido por el género *Sarcocornia* en Norteamérica y Eurasia; en su árbol de ITS, se originaba a partir del clado de *Sarcocornia* de Sudáfrica y Australia; y por último, con la región *atp-rbcL* era grupo hermano del clado americano/europeo del género *Sarcocornia*. KADEREIT *et al.* (2007) aducen la posición cambiante del clado del género *Salicornia* a un posible artefacto debido al fenómeno causado por la presencia de ramas largas, junto con ramas cortas en la base del clado *Salicornia/Sarcocornia*. Por último, MURAKEÖZY *et al.* (2007) realizaron un estudio sobre la diversidad genética de la tribu *Salicornieae* de especies nativas de las costas atlánticas de Francia. En su estudio, se centraron principalmente en las especies del género *Salicornia*, aunque también incluyeron especies de otros géneros. Derivado de su análisis empleando las regiones ITS, *matK* y *trnL-F*, junto con los marcadores moleculares RAPD (“*Random Amplified Polymorphic DNA*”), se observa como *Salicornia* forma un clado monofilético, que en el caso de la región ITS es hermano de dos especies de *Sarcocornia* de Sudáfrica y Australia. Sin embargo, en el resto de regiones no aparecen todas las especies incluidas en el análisis de ITS, por lo que realmente no se puede apreciar si esta relación se mantiene o por el contrario, y como sucede en otros estudios (SHEPHERD *et al.* 2004, 2005a; KADEREIT *et al.* 2006, 2007), al cambiar la región de

ADN analizada, *Salicornia* queda más relacionado con las especies de *Sarcocornia* de Europa, Norte de África y América.

Cabe reseñar que a toda esta complejidad taxonómica y molecular, se le une la presencia de fenómenos hibridativos (CASTROVIEJO & LAGO, 1992; FIGUEROA *et al.*, 2003; SHEPHERD & YAN, 2003; DAVY *et al.*, 2006), y como consecuencia, la aparición de plantas poliploides (MAUDE, 1939; CASTRO & FONTES, 1946; HAMBLER, 1954, 1955; BALL, 1957; DALBY, 1962; CONTANDRIOPOULOS, 1968; NILSSON & LASSEN, 1971; LABADIE, 1976; CASTROVIEJO & COELLO, 1980; GRANT, 1981; SÁNCHEZ-MONGE & JOUVE, 1989; CASTROVIEJO, 1990; CASTROVIEJO & LAGO, 1992; SHEPHERD & YAN, 2003).

2. OBJETIVOS

El presente trabajo se centra en el estudio del grupo de las especies perennes que actualmente se recogen bajo el género *Sarcocornia*, con la inclusión de táxones procedentes de toda su distribución geográfica. La dificultad a la hora de trabajar con este grupo de plantas, que en muchos casos presenta una ausencia de estructuración genética y una baja variación genética, hace necesario un estudio en profundidad del grupo. Así, los objetivos de este capítulo son:

- Clarificar las relaciones filogenéticas entre los componentes del clado *Salicornia/Sarcocornia* en el seno de la subfamilia *Salicornioideae* mediante un estudio molecular y morfológico.
- Analizar la problemática filogenética y sistemática asociada a la relación entre los géneros *Salicornia* y *Sarcocornia*.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Material vegetal

Se han analizado 105 muestras pertenecientes a los géneros *Sarcocornia*, *Salicornia*, *Arthrocnemum*, *Halocnemum*, *Microcnemum* y *Tecticornia*, siendo estos cuatro últimos elegidos como grupo externo. Del género *Sarcocornia*, se han estudiado un total de 63 especímenes, que representan 21 especies de las aproximadamente 26 que hay descritas. En el caso de *Salicornia*, se han incluido 42 muestras pertenecientes a 30 especies,

coincidiendo con el número aproximado de especies que se aceptan actualmente. Para el grupo externo, el género *Tecticornia* aparece representado por tres especies, *Arthrocnemum* por dos especies, mientras que los géneros *Halocnemum* y *Microcnemum*, por una especie, respectivamente. De algunas especies [*Sarcocornia perennis*, *Sarcocornia natalensis* (Bunge ex Ung.-Sternb.) A.J. Scott, *Microcnemum coralloides* (Loscos & Pardo) Font Quer y *Tecticornia indica* (Willd.) K.A. Sheph. & Paul G. Wilson] se han incluido táxones infraespecíficos (subespecies) que se reconocen en la actualidad. Los táxones estudiados aparecen en el apéndice 1 con la información sobre su procedencia geográfica y la referencia de acceso al GenBank, en caso de incluir secuencias de otros autores.

3.2. Extracción de ADN, amplificación y secuenciación

El ADN genómico total se ha extraído de material fresco o desecado en gel de sílice (CHASE & HILL, 1991), siguiendo el método modificado 2×CTAB (DOYLE & DOYLE, 1987). El ADN total se ha purificado mediante el uso de minicolumnas de purificación de Ultraclean® PCR Clean-Up Kit (MOBIO) siguiendo el protocolo del fabricante. El ADN total se ha depositado en el banco de ADN de la Universidad de Alicante.

Se ha realizado la amplificación (PCR, “*Polymerase Chain Reaction*”) de dos regiones de ADN ribosómico-nuclear (ADNr): ITS (“*Internal Transcribed Spacer*”) y ETS (“*External Transcribed Spacer*”). Para ITS, se utilizaron los iniciadores (“*primers*”) ITS18 e ITS26 (KÄS & WINK, 1997). La amplificación de ETS se realizó usando los iniciadores ETS1 y ETS18 (KADEREIT *et al.*, 2007). Para ambas regiones, las amplificaciones se realizaron siguiendo el siguiente protocolo: 22 µl de ABgene PCR Mastermix (1.25 U Thermoprime Plus DNA polimerasa; 75 mM Tris-HCl, 20 mM (NH₄)₂SO₄; 2.5 mM MgCl₂; 0.01% Tween^w 20; 0.2 mM de cada dNTP); 0.5 µl de albúmina de suero bovino (BSA; 0.4%); 0.5 µl de cada iniciador; y aproximadamente 50 ng de muestra de ADN. Estas amplificaciones se realizaron en un termociclador GeneAmp®PCR System 9700 (PE Biosystems, Inc.). Para ITS, se utilizó el siguiente programa: 2 minutos a 94°C, seguidos de 30 ciclos a 94°C durante 30 segundos, 45°C durante 30 segundos, 72°C durante 1 minuto, y una extensión final de 72°C durante 4 minutos. Para ETS, el programa utilizado fue: 4 minutos a 95°C, seguidos de 30 ciclos a

95°C durante 30 segundos, 55°C durante 45 segundos, 72°C durante 2 minutos y 30 segundos, 55°C durante 80 segundos y una extensión final de 72°C durante 4 minutos. Los productos de PCR se purificaron mediante el uso de minicolumnas de purificación de Ultraclean® PCR Clean-Up Kit (MOBIO) siguiendo el protocolo del fabricante.

Las secuencias se han obtenido empleando los mismos iniciadores señalados anteriormente. Con el uso del programa SEQUENCHER v. 4.8 (Gene Codes Corp.), se editaron las secuencias. La obtención de la matriz final se ha conseguido con el programa PAUP v. 4.0b10 para Macintosh (SWOFFORD, 2002). Además, se utilizó el programa GBLOCKS v. 0.91 (CASTRESANA, 2000; TALAVERA & CASTRESANA, 2007) con el fin de mejorar los alineamientos, eliminando las regiones ambiguas. Los parámetros utilizados fueron: “*Minimum Number of Sequences for a Conserved Position*” y “*Minimum Number of Sequences for a Flank Position*”: la mitad del número de secuencias en cada caso; “*Minimum Number of Contiguous Nonconserved Positions*”: 5; “*Maximum Number of Contiguous Nonconserved Positions*”: 10; “*Minimum Length of a Block*”: 5, “*Allowed Gap Positions*”: “*With Half*”. La matriz obtenida inicialmente con PAUP y posteriormente, con el uso de GBLOCKS, fue analizada con los parámetros indicados en el apartado 3.3 del capítulo 1.

Cabe señalar que no todas las secuencias utilizadas en este capítulo son originales (Apéndice 1), puesto que algunas de ellas proceden de los trabajos previos de SHEPHERD *et al.* (2005a) y KADEREIT *et al.* (2006, 2007). Por ello, el número de muestras finalmente analizadas en las dos regiones, y en la combinación de ambas, ha variado atendiendo a la disponibilidad de las secuencias procedentes de GenBank. En el análisis de ETS, se han incluido un total de 92 muestras, mientras que en ITS, el número de muestras analizadas ha sido de 71. Finalmente, en el análisis conjunto de ambas regiones, la matriz conjunta se ha tenido que reducir a tan solo 34 muestras, entre las que no se ha podido incluir muestras australianas de *Sarcocornia*.

3.3. Análisis Molecular

Los análisis heurísticos de Máxima Parsimonia (MP) se han realizando con los programas PAUP v. 4.0b10 para Macintosh (SWOFFORD, 2002) y TNT v. 1.1 (GOLOBOFF *et al.*, 2003–2005), con los estados de caracteres no ordenados y los

cambios entre estados igualmente probables (criterio de parsimonia de Fitch) (FITCH, 1971). Los gaps se han codificado como una quinta base. En la búsqueda de los árboles de mayor parsimonia, la matriz fue analizada con 1000 réplicas con la opción de adición de táxones al azar (“*Random Taxon Addition*”) y empleando la opción “*Tree-Bisection-Reconnection*” (TBR) en la reorganización de las ramas (SWOFFORD *et al.*, 1996). El apoyo de los clados obtenidos se ha examinado con el método de “*bootstrap*” (BS; FELSENSTEIN, 1985), con 2000 réplicas, con las opciones adición de secuencias simple (“*Simple addition sequence*”) y TBR. Los clados con valores de BS comprendidos entre 50 y 74% se consideran débilmente apoyados, 75-89% moderadamente apoyados y entre 90 y 100% fuertemente apoyados (MARTÍNEZ-AZORÍN *et al.*, 2011). Los índices de consistencia (CI) y de retención (RI) se calcularon excluyendo los caracteres no informativos.

Los análisis de Inferencia Bayesiana (IB) se calcularon usando MRBAYES v. 3.1.2 (HUELSENBECK & RONQUIST, 2001; RONQUIST & HUELSENBECK, 2003). Previamente, se determinaron los modelos de evolución más afines a los datos utilizando el criterio AIC (“*Akaike Information Criterion*”) (POSADA & CRANDALL, 1998; POSADA & BUCKLEY, 2004), implementados con el programa JMODELTEST v. 0.1.1. (POSADA, 2008). Con este análisis Bayesiano, se han formado 3000000 de generaciones, guardando una de cada 200, y se han excluido entre 8000 y 14000 árboles (“*burnin*”) para evitar aquellos árboles que pudiesen haber estado muestreados antes de la convergencia de las cadenas de Markov. En este caso, el apoyo de las ramas se ha evaluado mediante la probabilidad posterior (PP), considerando ésta significativa en las ramas que presenten un valor igual o superior a 0.95.

3.4. Caracterización morfológica

Se han estudiado caracteres tanto vegetativos como reproductivos de cinco géneros incluidos en la subfamilia *Salicornioideae* representados por un total de 25 especies (Tabla 1.1, Apéndice 2). La matriz morfológica obtenida se ha basado en caracteres estudiados a partir de material fresco, de herbario, así como también, de datos bibliográficos en el caso de no disponer de material vegetal. Este ha sido el caso de las especies *Tecticornia indica*, *Tecticornia australasica* (Moq.) Paul G. Wilson, *Sarcocornia xerophila* (Toelken) A.J. Scott, *Salicornia borysthenica* Tzvelev, *Salicornia procumbens* Sm.,

Salicornia pojarkovae Semenova, *Salicornia pachystachya* Bunge ex Ung.-Sternb., *Salicornia meyeriana* Moss y *Salicornia perennans* Willd., obteniendo la información de sus caracteres estudiados de diversos trabajos (TÖLKEN, 1967; O'CALLAGHAN, 1992; TZVELEV, 1996; DATSON, 2002; SHEPHERD & WILSON, 2007; STEFFEN *et al.*, 2010; DURETO & MORRIS, 2011). Por otra parte, hay que comentar que muchas de las observaciones realizadas, se han complementado con información procedente de la bibliografía (MAIRE & QUÉZEL, 1962; QUÉZEL & SANTA, 1963; ZOHARY, 1966; CASTROVIEJO & COELLO, 1980; LAUSI, 1982; MEIKLE, 1985; VALDÉS *et al.*, 1987b; BOLÒS & VIGO, 1990; CASTROVIEJO, 1990; STACE, 1991; CASTROVIEJO & LAGO, 1992; BALL, 1993; BALL & AKEROYD, 1993; GAMISANS & JEANMONOD, 1993; RIVAS-MARTÍNEZ & HERRERA, 1996; BOULOS, 1999; AIZPURU *et al.*, 2000; FREITAG, 2000; DAVY *et al.*, 2001; LAHONDÈRE, 2004; DAVY *et al.*, 2006; JEANMONOD & GAMISANS, 2007; ALONSO & CRESPO, 2008; KADEREIT & YAPRAK, 2008; CABELLO, 2011; FREITAG, 2011).

Se han seleccionado un total de 48 caracteres morfológicos (Tabla 1.1). Los caracteres macromorfológicos (Tabla 1.1, caracteres 1-6, 9-23, 29-33 y 36) se han examinado tanto *in situ* en el campo, como usando una lupa binocular Olympus SZX12, con micrómetro incorporado. Los caracteres micromorfológicos relacionados con aspectos de la testa de la semilla, el polen y la superficie de las hojas (Tabla 1.1, caracteres 8, 34, 35, 37-40 y 45) se han analizado con el uso de un microscopio electrónico de barrido (MEB, JEOL 840), así como también, para el caso concreto del polen, con un microscopio óptico Olympus SX 212 con cámara adaptada. El resto de caracteres (Tabla 1.1, caracteres 7, 24-28, 41-44 y 46-48), se han obtenido a partir de datos exclusivamente bibliográficos (TÖLKEN, 1967; CASTROVIEJO & COELLO, 1980; CONNOR, 1984; CASTROVIEJO, 1990; KADEREIT *et al.*, 2003; SHEPHERD *et al.*, 2005a,b; FERNÁNDEZ-ILLESCAS *et al.*, 2011).

La evolución en los patrones fenotípicos se evaluó mediante el mapeo de los caracteres sobre el árbol consenso obtenido de la combinación de las regiones nucleares ITS y ETS, usando el análisis de Inferencia Bayesiana. Para ello, se empleó el programa MESQUITE v. 2.74 (MADDISON & MADDISON, 2010), por el que se estableció una reconstrucción de los cambios en los estados de carácter mediante la implementación

de la función “*Reconstruct Ancestral States*” y empleando los algoritmos de Máxima Parsimonia (utilizando la opción de caracteres desordenados) y de Máxima Verosimilitud (con la opción de “*current probably*”).

Tabla 1.1. Caracteres y estados de carácter utilizados en el rastreo morfológico.

Longevidad de la planta y hábito:	
1.	Longevidad de la planta; 0 = anual. 1 = perenne.
2.	Hábito; 0 = erecto. 1 = cespitoso. 2 = postrado. 3 = pulvinado.
3.	Presencia de tallos radicantes; 0 = si. 1 = no.
Características de las hojas:	
4.	Filotaxis; 0 = opuesta. 1 = alterna.
5.	Ápice de las hojas; 0 = agudo. 1 = obtuso.
6.	Quilla en los artejos; 0 = ausente. 1 = claramente distinguible. 2 = poco distinguible.
7.	Presencia de esclereidas en empalizada; 0 = presentes. 1 =ausentes.
8.	Tipo de estoma; 0 = expuesto. 1 = hundido.
Características de las inflorescencias:	
9.	Fusión (por parejas) de las brácteas; 0 = soldadas. 1 = libres.
10.	Inflorescencia; 0 = ramificada. 1 = no ramificada o poco ramificada.
11.	Longitud de la espiga terminal (mm); 0 = < 10. 1 = 10-50. 2 = > 50.
12.	Número de artejos fértiles; 0 = ≤ 13. 1 = > 13.
13.	Longitud de los artejos fértiles (mm); 0 = ≤ 4. 1 = > 4.
14.	Anchura de los artejos fértiles (mm); 0 = ≤ 4. 1 = > 4.
Características de las flores:	
15.	Exerción de las flores; 0 = si. 1 = no.
16.	Número de flores; 0 = ≤ 3. 1 = > 3.
17.	Contacto entre las flores laterales; 0 = no. 1 = si.
18.	Disposición de las flores en el artejo fértil; 0 = en fila. 1 = en triángulo.
19.	Presencia de tabique de separación entre las flores; 0 = si. 1 = no.
20.	Número de piezas del perianto; 0 = 4. 1 = < 4.
21.	Textura del perianto; 0 = membranosa. 1 = carnosa.
22.	Número de estambres; 0 = ≤ 1. 1 = > 1.
23.	Longitud de las anteras (mm); 0 = ≤ 0.5. 1 = > 0.5.
24.	Tipo de especies atendiendo a la sexualidad de las flores: 0 = ginomonoica. 1 = andromonoica. 2 = hermafrodita [Este estado se ha usado en especies en las que no hay evidencia de otro tipo de flor, ya que por definición las flores de estas plantas son hermafroditas]. 3 = ginodioica. 4 = dioica.
25.	Maduración diferencial de las anteras y el estigma (dicogamia); 0 = si. 1 = no.
26.	Tipo de dicogamia; 0 = flores proteroginas. 1 = flores proterandras.
Características de las semillas:	
27.	Tipo de embrión; 0 = conduplicado. 1 = curvado.
28.	Perisperma en las semillas; 0 = presente. 1 = ausente.
29.	Textura del pericarpo; 0 = membranosa. 1 = leñosa.
30.	Semilla rodeada totalmente por el pericarpo; 0 = no. 1 = si.

Tabla 1.1 (Continuación). Caracteres y estados de carácter utilizados en el rastreo morfológico.

31.	Adherencia del pericarpo a la semilla; 0 = libre. 1 = parcialmente adherido.
32.	Fusión del pericarpo al perianto maduro; 0 = soldado. 1 = libre.
33.	Orientación de la semilla relativa al eje del tallo; 0 = vertical. 1 = horizontal.
34.	Longitud de la semilla (mm); 0 = < 1. 1 = 1-1.5. 2 = >1.5.
35.	Anchura de la semilla (mm); 0 = < 1. 1 = ≥ 1.
36.	Color de la semilla; 0 = marrón. 1 = negro. 2 = verde.
37.	Tipo de tricoma en la semilla; 0 = papila. 1 = pelo. Tipo de ornamentación del indumento de la semilla; 0 = pequeñas protuberancias redondeadas dispuestas en filas longitudinales separadas entre sí por células no elongadas [tipo 1]. 1 = superficie mamilar [tipo 2]. 2 = papilas o pelos [tipo 3].
38.	Disposición de los tricomas en la semilla; 0 = adpresos. 1 = patentes.
40.	Longitud de los tricomas (µm); 0 = ≤ 100. 1 = > 100.
41.	Presencia de lípidos; 0 = no. 1 = si.
42.	Tipo de cuerpos proteicos; 0 = pequeños y densamente empaquetados. 1 = otro tipo.
43.	Presencia de granos de almidón en los cuerpos proteicos; 0 = si. 1 = no.
44.	Presencia de granos de almidón en las células del citoplasma; 0 = si. 1 = no.
Características polínicas:	
45.	Tipo polínico; 0 = pantoporado apolar. 1 = otro tipo.
Características metabólicas:	
46.	Metabolismo fotosintético; 0 = C ₃ . 1 = C ₄ .
Características cromosómicas:	
47.	Número basal de cromosomas; 0 = 9. 1 = otro número.
48.	Niveles de ploidía; 0 = 2x. 1 = 4x. 2 = 6x. 3 = 8x. 4 = 3x.

4. RESULTADOS

El análisis de la matriz, usando el programa GBLOCKS v. 0.91, mostró el mismo resultado que con la matriz previa a su aplicación, tanto en ITS como en ETS; por ello, los resultados que se muestran, se refieren al estudio de las matrices sin haber aplicado GBLOCKS v. 0.91.

4.1. Análisis ITS

La matriz de ITS incluye 582 caracteres, de los cuales 37 fueron variables y 156 (26.8%) fueron filogenéticamente informativos. Se obtuvo un total de 288 árboles (406 pasos; CI=0.648; RI=0.910). El análisis Bayesiano se realizó utilizando el modelo evolutivo TIM2+G. Los análisis de Máxima Parsimonia y Bayesiano aportan resultados similares; solo se muestra el árbol basado en Máxima Parsimonia (Figura 1.1).

Las especies de los géneros *Sarcocornia* y *Salicornia* forman un grupo monofilético fuertemente apoyado (100% BS; 1.00 PP), donde se pueden diferenciar dos clados

monofiléticos, denominados a y b, respectivamente (Figura 1.1). El “clado a” está constituido por las especies americanas, europeas y norteafricanas del género *Sarcocornia* (56% BS, 0.89 PP), mientras que el “clado b” está conformado por las especies de Sudáfrica y Australia de este mismo género, junto con todos los representantes del género *Salicornia* (51% BS, 0.57 PP).

Dentro de estos dos cladogramas, se pueden observar, a su vez, diferentes grupos monofiléticos bien apoyados. En el caso del “clado a”, se diferencian dos subclados hermanos, correspondientes a las especies americanas (92% BS; 1.00 PP) y a las europeas y norteafricanas (97% BS; 1.00 PP). En el “clado b”, las especies del género *Salicornia* constituyen un clado monofilético fuertemente apoyado (100% BS; 1.00 PP), que aparece totalmente incluido entre las especies de *Sarcocornia*, siendo un grupo hermano de las especies australianas de *Sarcocornia*. Sin embargo, en MP es hermano de las especies *S. blackiana* (Ulbr.) A.J. Scott, *S. quinqueflora* (Bunge ex Ung.-Sternb.) A.J. Scott y *S. globosa* Paul G. Wilson con un apoyo del 60% BS, mientras que en IB, es hermano de *S. blackiana* y *S. quinqueflora* (1.00 PP), puesto que *S. globosa* forma un subclado más externo junto con otro representante de *S. quinqueflora* (1.00 PP). Las especies sudafricanas de *Sarcocornia* no conforman un único grupo monofilético, sino que aparecen distribuidas en cuatro ramas: la primera de ellas con las especies *S. natalensis* y *S. littorea* (Moss) A.J. Scott (100% BS; 1.00 PP), que sería la rama más externa de todo el “clado b”; consecutivamente aparecen las especies *S. natalensis*, *S. decumbens* (Toelken) A.J. Scott, *S. pillansii* (Moss) A.J. Scott, *S. mossiana* (Toelken) A.J. Scott y *S. terminalis* (Toelken) A.J. Scott constituyendo un clado monofilético bien apoyado (87% BS; 1.00 PP), aunque las relaciones entre estas especies no aparecen resueltas, salvo *S. natalensis* (50) y *S. decumbens* (45) que forman un clado (99% BS; 1.00 PP); la tercera rama la conforma la especie *S. capensis* (Moss) A.J. Scott (0.61 PP); y, por último, aparece *S. xerophila* como una rama hermana del clado que reúne a las *Salicornias* y *Sarcocornias* australianas, aunque esta posición solo aparece apoyada en el análisis Bayesiano (0.96 PP).

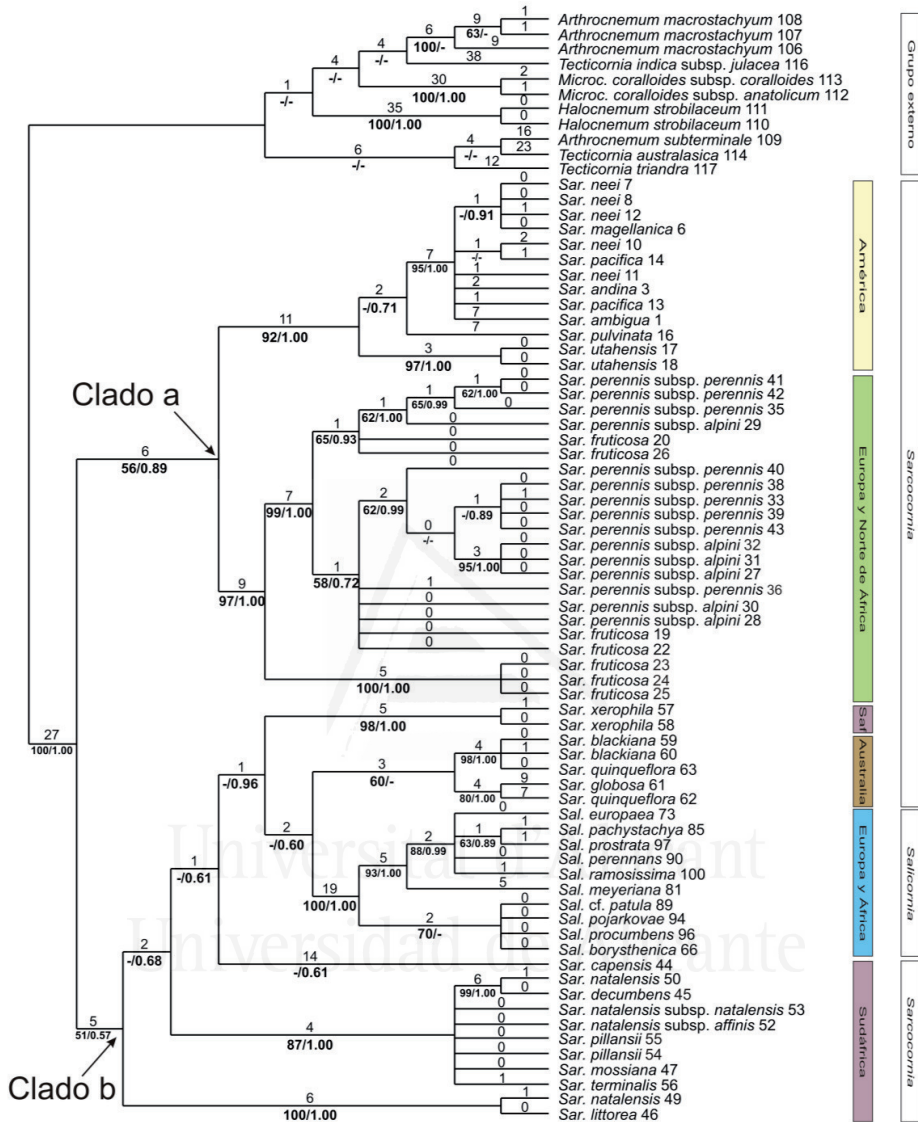


Figura 1.1. Uno de los 288 árboles más parsimoniosos encontrados en el análisis de ITS (longitud del árbol=406 pasos; CI=0.648; RI=0.910). Las longitudes obtenidas en los árboles con pesos iguales (Fitch) se muestran en la parte superior de las ramas. En la parte inferior de las ramas se muestran primero los valores de “bootstrap”, seguidos de las probabilidades posteriores. Un guión (-) denota un clado que presenta un apoyo < 50 en el correspondiente análisis filogenético. Las abreviaturas hacen referencia a: *Microc.* (*Microcnemum*), *Sar.* (*Sarcocornia*), *Sal.* (*Salicornia*) y *Saf* (Sudáfrica). La codificación que aparece junto a los ejemplares estudiados, aparece en el apéndice 1.

4.2. Análisis ETS

La matriz incluye 421 caracteres, de los cuales 141 (33.5%) fueron filogenéticamente informativos y 49 (11.6%) correspondían a caracteres variables. Se obtuvieron 9420 árboles (352 pasos; CI=0.730; RI=0.962). El modelo evolutivo utilizado en el análisis Bayesiano fue GTR+I+G. Los análisis de MP e IB aportan resultados similares, por lo que los resultados se explican sobre el árbol de Máxima Parsimonia (Figura 1.2).

Se pueden diferenciar dos clados monofiléticos denominados a y b, respectivamente (Figura 1.2). El “clado a” está constituido por un primer grupo monofilético formado por las especies europeas, norteafricanas y americanas del género *Sarcocornia* (60% BS; 0.81 PP). Dentro de este grupo, y de forma semejante a lo que sucede con ITS, se aprecia una organización interna geográfica, donde las especies europeas y norteafricanas (100% BS; 1.00 PP), y las americanas (100% BS; 1.00 PP) son dos grupos monofiléticos hermanos, respectivamente. El segundo grupo del “clado a” corresponde a un grupo monofilético donde aparecen todas las especies analizadas del género *Salicornia* (100% BS; 1.00 PP). No obstante, se ha de indicar que el “clado a” solo presenta apoyo con el análisis Bayesiano (0.83 PP). En el análisis de Máxima Parsimonia, aparecen tres clados monofiléticos hermanos que se corresponden con las especies europeas, norteafricanas y americanas de *Sarcocornia* (60% BS), las especies sudafricanas y australianas de *Sarcocornia* (88% BS) y por último, las especies del género *Salicornia* (100% BS).

En relación con el “clado b”, éste está conformado por las especies sudafricanas y australianas del género *Sarcocornia* (88% BS; 1.00 PP), donde las relaciones filogenéticas no aparecen resueltas, y los subclados obtenidos no corresponden a un claro patrón geográfico.

4.3. Análisis conjunto ITS+ETS

El análisis conjunto de los dos grupos de datos moleculares (ITS y ETS) generó una matriz que incluye 1016 caracteres, de los que 117 fueron variables y 223 informativos (11.5% y 21.9%, respectivamente). Tras el análisis cladístico, se obtuvo un total de 4 árboles (611 pasos; CI=0.722 y RI=0.886). El análisis Bayesiano se realizó utilizando el modelo evolutivo TIM2+G. Ambos análisis aportan resultados similares, y los resultados se exponen sobre el análisis de Máxima Parsimonia (Figura 1.3).

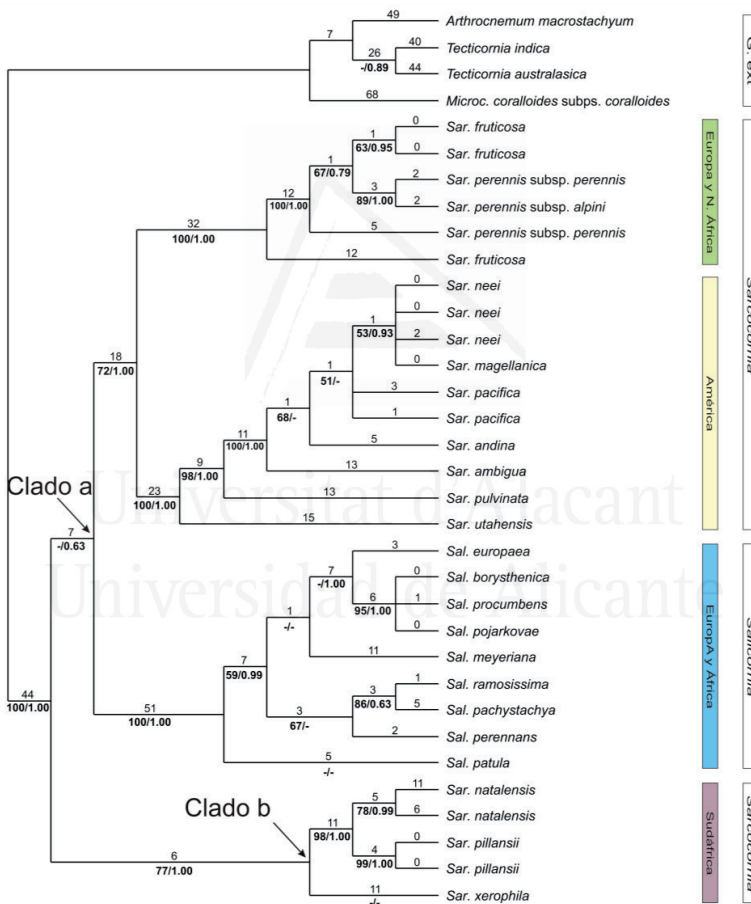


Figura 1.3. Uno de los 4 árboles más parsimoniosos encontrados en el análisis conjunto de ITS y ETS (longitud del árbol=611 pasos; CI=0.722; RI=0.886). Las longitudes obtenidas en los árboles con pesos iguales (Fitch) se muestran en la parte superior de las ramas. En la parte inferior de las ramas se muestran primero los valores de "bootstrap", seguidos de las probabilidades posteriores. Un guión (-) denota un clado que presenta un apoyo < 50 en el correspondiente análisis filogenético. Las abreviaturas hacen referencia a: *Microc.* (*Microcnemum*), *Sar.* (*Sarcocornia*), *Sal.* (*Salicornia*), *G. ext* (Grupo externo) y *N.* (Norte).

Como en análisis anteriores, se pueden diferenciar dos clados que se han denominado a y b, respectivamente (Figura 1.3). El “clado a” está constituido por un grupo monofilético con las especies del género *Salicornia* (100% BS; 1.00 PP), que es hermano del grupo formado por las especies americanas, europeas y norteafricanas del género *Sarcocornia* (72% BS; 1.00 PP). Como en los análisis anteriores, las especies europeas y norteafricanas (100% BS; 1.00 PP) y las especies americanas de *Sarcocornia* (100% BS; 1.00 PP) forman grupos monofiléticos, respectivamente. En el caso del “clado b”, lo conforman las especies sudafricanas del género *Sarcocornia* (77% BS; 1.00 PP). La separación entre dos clados (a y b) únicamente está apoyada en el análisis Bayesiano (0.63 PP). En MP, aparecen tres clados, tal y como ocurría en ETS (Figura 1.2). Los tres clados se corresponden con las especies europeas, norteafricanas y americanas de *Sarcocornia* (72% BS), las especies sudafricanas de *Sarcocornia* (77% BS) y las especies del género *Salicornia* (100% BS).

4.4. Evolución de los caracteres morfológicos

El estudio de los 48 caracteres, en las especies presentes en el árbol obtenido de la combinación de las regiones ITS y ETS, muestra la existencia de una gran variabilidad morfológica (Apéndice 2). Cabe indicar que el uso de Máxima Parsimonia y Máxima Verosimilitud en la reconstrucción de caracteres ancestrales han producido resultados congruentes, mostrando únicamente los árboles obtenidos con el método de Máxima Parsimonia. Los resultados obtenidos se van a exponer atendiendo a cuatro subdivisiones en las que se englobarían:

- Caracteres morfológicos que permiten la identificación del clado *Salicornia/Sarcocornia* (Tabla 1.1, caracteres 27, 28 y 38).
- Caracteres morfológicos en los que se ha basado la separación de los géneros *Salicornia* y *Sarcocornia* (Tabla 1.1, caracteres 1, 17 y 18).
- Caracteres morfológicos comunes a *Salicornia* y *Sarcocornia* sin valor diferencial (Tabla 1.1, caracteres 2-4, 5, 6, 8, 10-14, 16, 22-26, 34-37, 39-40, 47 y 48).
- Caracteres morfológicos exclusivos de ciertos táxones del grupo externo (Tabla 1.1, caracteres 9, 15, 19-21, 29-33 y 46).

Cabe indicar que los caracteres 7, 41-45 no aparecen incluidos en ninguno de los anteriores apartados, bien debido a la ausencia de datos, o bien por la falta de resolución.

4.4.1. Caracteres morfológicos que permiten la identificación del clado *Salicornia/Sarcocornia*

Características de la semilla: tipo de embrión (carácter 27), perisperma en las semillas (carácter 28) y tipo de ornamentación del indumento (carácter 38)

La presencia de semillas con embrión conduplicado, la ausencia de perisperma y tener una ornamentación del indumento tipo 3 –presencia de papilas o pelos– (Tabla 1.1), son tres características comunes a las especies de los géneros *Sarcocornia* y *Salicornia*, y que permiten diferenciar ambos géneros de los componentes del grupo externo: *Arthrocnemum*, *Microcnemum* y *Tecticornia* (Figura 1.4A). Tales caracteres pueden considerarse simplesiomórficos para *Salicornia* y *Sarcocornia*.

4.4.2. Caracteres morfológicos en los que se ha basado la separación de los géneros *Salicornia* y *Sarcocornia*

Longevidad de la planta y hábito: longevidad de la planta (carácter 1)

En el interior del clado conformado por los géneros *Sarcocornia* y *Salicornia*, aparecen los dos estados de carácter, estando *Sarcocornia* caracterizada por incluir las especies perennes, y *Salicornia* las plantas anuales. La posición filogenética de ambos táxones parece indicar que la perennidad dentro del grupo de estudio fue anterior a la aparición de especies anuales.

Características de las flores: contacto entre las flores laterales (carácter 17) y disposición de las flores en el artejo fértil (carácter 18)

La presencia de flores dispuestas en forma de triángulo (carácter 18), junto con la existencia de contacto entre las flores laterales (carácter 17) serían dos caracteres apomórficos compartidos por todas las especies del género *Salicornia* (Figura 1.4B), ya que en el género *Sarcocornia*, las flores se encuentran dispuestas en fila, y no hay contacto entre las flores externas. Tal y como se observa en la figura 1.4B, estos dos

caracteres (flores dispuestas en fila, sin que exista contacto entre las flores externas) serían plesiomórficos, compartiéndolos con el ancestro común a ambos géneros y a la mayor parte de los táxones del grupo externo.

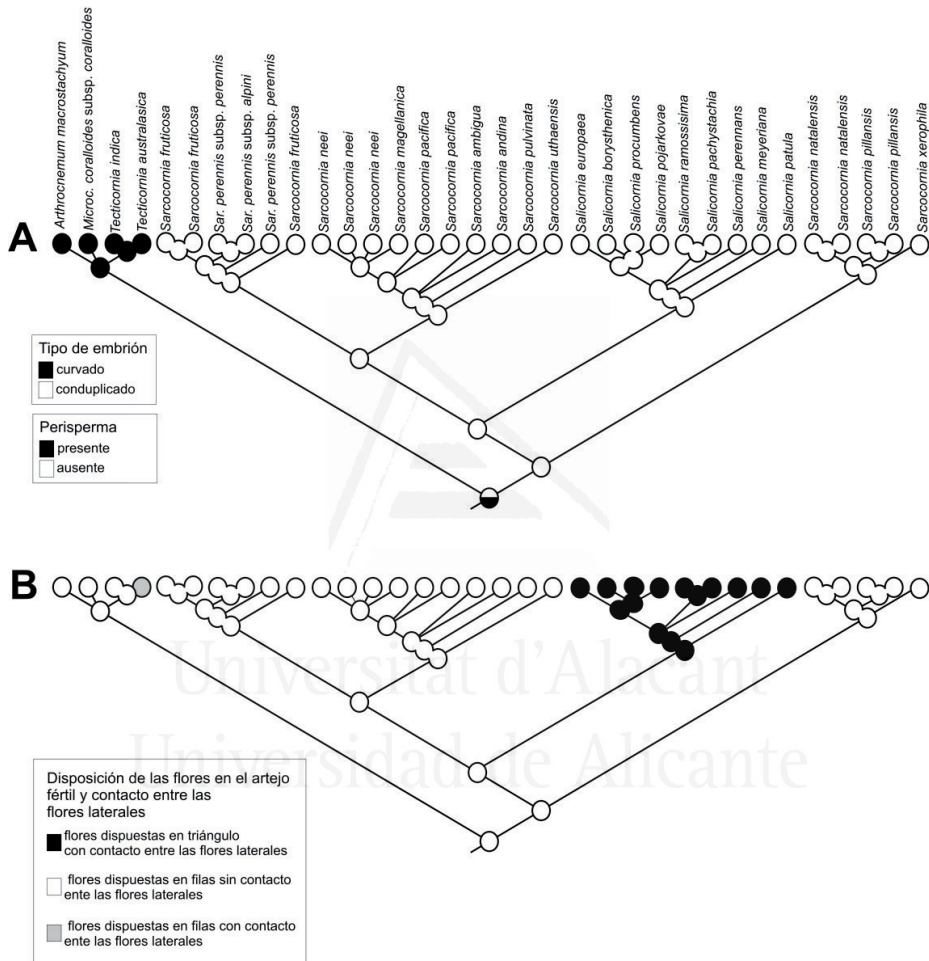


Figura 1.4. Estados de carácter para los táxones estudiados, mapeados sobre el árbol consenso obtenido de la combinación de las regiones nucleares ITS y ETS. Los estados de carácter ancestrales se han derivado de un modelo cuyos parámetros se han optimizado usando Máxima Parsimonia –asumiendo la opción de caracteres desordenados–, implementado en MESQUITE 2.74 (MADDISON & MADDISON, 2010). Los caracteres correspondientes se han codificado atendiendo a la tabla 1.1. A. Tipo de embrión (carácter 27) y perisperma en las semillas (carácter 28). B. Contacto entre las flores laterales (carácter 17) y disposición de las flores en el artojo fértil (carácter 18). Las abreviaturas hacen referencia a: *Microc.* (*Microcnemum*), *Sar.* (*Sarcocornia*).

4.4.3. Caracteres morfológicos comunes a los géneros *Salicornia* y *Sarcocornia* sin valor diferencial

Longevidad de la planta y hábito: tipo de hábito (carácter 2) y presencia de tallos radicantes (carácter 3)

Tener un hábito erecto (carácter 2) y ausencia de tallos radicantes (carácter 3) son caracteres plesiomórficos dominantes en el grupo de plantas estudiado, y tanto el género *Sarcocornia* como *Salicornia* los presentan (Figura 1.5A). Aparecen, en menor medida, otros caracteres morfológicos apomórficos en este clado, como son el hábito postrado, cespitoso o pulvinado (carácter 2) y la presencia de tallos radicantes (carácter 3); éste último relacionado con el tipo de hábito postrado (Figura 1.5A). Todos los caracteres mencionados aparecen en diferentes especies de los géneros *Salicornia* y *Sarcocornia*, sin que ninguno de ellos caracterice un grupo monofilético o a uno de los dos géneros estudiados.

Características de las hojas: filotaxis (carácter 4), ápice de las hojas (carácter 5), quilla en los artejos (carácter 6) y tipo de estoma (carácter 8)

La presencia de hojas opuestas (carácter 4) es un carácter plesiomórfico de todas las especies estudiadas. Los caracteres relacionados con el ápice de las hojas y la quilla (caracteres 5 y 6) son más variables, presentando distintos estados de carácter compartidos por los géneros *Sarcocornia* y *Salicornia*. Este es el caso de la presencia de hojas con ápice agudo (carácter 5), que es un carácter dominante para las especies de *Salicornia*, pero en el seno del género *Sarcocornia* el ápice puede ser tanto agudo como obtuso. La quilla de los artejos y su distinción (carácter 6) suele ser mayormente ausente o poco distinguible para ambos géneros, sin que exista un patrón taxonómico claro. A nivel micromorfológico, los tipos estomáticos (carácter 8) aparecen nuevamente entremezclados entre las especies de estos dos géneros. No obstante, ha resultado ser importante para la identificación taxonómica de las especies europeas y norteafricanas *Sarcocornia perennis* y *S. fruticosa*, como se explicará con detalle en el capítulo 3.

Características de las inflorescencias: ramificación de la inflorescencia (carácter 10), longitud de la espiga terminal (carácter 11), número de artejos fértiles (carácter 12), longitud de los artejos fértiles (carácter 13) y anchura de los artejos fértiles (carácter 14)

La presencia de inflorescencias ramificadas (carácter 10) es un carácter dominante en las especies estudiadas, tratándose de un carácter plesiomórfico del grupo. Tanto *Sarcocornia* como *Salicornia* lo comparten, aunque en el género *Sarcocornia* hay ciertas excepciones, como las especies americanas *S. andina* (Phil.) Freitag, M.A. Alonso & M.B. Crespo o *S. pulvinata* (R.E. Fr.) A.J. Scott, o la especie euro-peanoafricana *S. perennis*. Los caracteres relacionados con la longitud de la espiga terminal (carácter 11), el número de artejos fértiles (carácter 12) y el tamaño de los artejos fértiles (caracteres 13 y 14) no permiten hacer distinciones entre grupos de plantas, ya que los géneros estudiados comparten los distintos estados identificados.

Características de las flores: número de flores (carácter 16), número de estambres (carácter 22), longitud de las anteras (carácter 23), tipo de especies atendiendo a la sexualidad de las flores (carácter 24), maduración diferencial de las anteras y estigma (carácter 25) y tipo de dicogamia (carácter 26)

Existe un predominio de cimbras trifloras (carácter 16), siendo éste un carácter plesiomórfico, que no se mantiene en algunas especies del grupo externo (*Tecticornia indica* y *T. australasica*), o en el caso de la especie *S. fruticosa* donde en casos aislados aparecen cimbras con cuatro flores. El número de estambres (carácter 22) presenta dos estados de carácter, que aparecen reflejados en el ancestro común, aunque flores con más de un estambre sería el carácter dominante entre las especies estudiadas. Las anteras con una longitud superior a 0.5 mm es un carácter plesiomórfico que aparece en todos los clados. Sin embargo, dentro del clado constituido por las especies del género *Salicornia*, también aparecen especies que presentan anteras con longitudes inferiores a 0.5 mm, compartiendo este carácter apomórfico con la especie *Microcnemum coralloides*.

El tipo de especies atendiendo a la sexualidad de las flores (carácter 24, Figura 1.5B) presenta cinco estados de carácter, de los cuales, las flores hermafroditas son la estrategia dominante, apareciendo este carácter en todos los clados. El género *Sarcocornia* presenta aún así tres estados de carácter (flores ginomonoicas, hermafroditas

y ginodioicas), y el género *Salicornia* dos (flores andromonoicas y hermafroditas), de los cuales, el carácter flores andromonoicas es exclusivo del género *Salicornia* presentándolo tan solo una especie dentro del análisis realizado (*Salicornia europaea* L.), frente a *Sarcocornia* que presenta de manera exclusiva flores ginodioicas. Tales estados de carácter (flores ginodioicas y andromonoicas) serían apomorfías.

Los caracteres maduración diferencial de las anteras y el estigma (carácter 25) y tipo de dicogamia (carácter 26) se encuentran íntimamente relacionados. Atendiendo a los resultados obtenidos, la presencia de flores dicógamas dentro del clado *Salicornia/Sarcocornia* ha sido la estrategia que se ha mantenido desde la aparición del ancestro común a ambos géneros, aunque no se dispone de datos específicos para el grupo de las especies americanas de *Sarcocornia*. El ancestro común presenta los dos estados de carácter en igual proporción para el tipo de dicogamia (carácter 26). Ante estos resultados, no se puede saber cuál ha sido la estrategia dominante de tipo de dicogamia (flores proteroginas o proterandras) en *Sarcocornia* y *Salicornia*.

Características de las semillas: longitud de la semilla (carácter 34), anchura de la semilla (carácter 35), color de la semilla (carácter 36), tipo de tricoma (carácter 37), disposición de los tricomas en la semilla (carácter 39) y longitud de los tricomas (carácter 40)

Los caracteres que se encontrarían en las semillas del ancestro de los géneros *Sarcocornia* y *Salicornia* serían semillas de un tamaño comprendido entre 1 y 1.5 mm de longitud (carácter 34) y con una anchura inferior a 1 mm (carácter 35), de color marrón (carácter 36) y que podrían presentar papilas o pelos (carácter 37, Figura 1.5C), pudiendo ser adpresos o patentes (carácter 39) con una longitud menor o igual a 100 μm (carácter 40), o por el contrario, tener otro tipo de indumento, sin papilas o pelos (Figura 1.5C). Todos estos caracteres no proporcionan variabilidad entre *Salicornia* y *Sarcocornia*, ya que en todos los casos, ambos géneros comparten algún estado de carácter. Por lo que no son caracteres útiles para su separación.



Figura 1.5. Estados de carácter para los táxones estudiados, mapeados sobre el árbol consenso obtenido de la combinación de las regiones nucleares ITS y ETS. Los estados de carácter ancestrales se han derivado de un modelo cuyos parámetros se han optimizado usando Máxima Parsimonia –asumiendo la opción de caracteres desordenados–, implementado en MESQUITE 2.74 (MADDISON & MADDISON, 2010). Los caracteres correspondientes se han codificado atendiendo a la tabla 1.1. A. Hábito (carácter 1). B. Tipo de especies atendiendo a la sexualidad de las flores (carácter 24). C Tipo de tricoma (carácter 37). Las abreviaturas hacen referencia a: *Microc.* (*Microcnemum*), *Sar.* (*Sarcocornia*).

Características cromosómicas: número basal de cromosomas (carácter 47) y niveles de ploidía (carácter 48)

Todas las especies estudiadas del clado *Sarcocornia/Salicornia* presentan el mismo número cromosómico basal ($x=9$); tan solo dentro del grupo externo la especie *Arthrocnemum macrostachyum* presenta una dotación cromosómica diferente ($x=18$). La presencia de distintos niveles de ploidía (e.g. diploide, triploide, tetraploide, hexaploide y octoploide) define al clado *Sarcocornia/Salicornia*, compartiendo el nivel diploide y el tetraploide.

4.4.4. Caracteres morfológicos exclusivos de ciertos táxones del grupo externo

Características de las inflorescencias: fusión (por parejas) de las brácteas (carácter 9)

La presencia de brácteas soldadas es un carácter plesiomórfico para los géneros *Salicornia*, *Sarcocornia*, *Arthrocnemum* y *Microcnemum*. Dentro del género *Tecticornia* aparecen los dos estados de carácter, como puede observarse en las especies *T. indica* y *T. australasica* (Apéndice 2), siendo la última de ellas, la que presenta el carácter apomórfico de hojas libres dentro de las especies estudiadas.

Características de las flores: ejerción de las flores (carácter 15), presencia de tabique de separación entre las flores (carácter 19), número de piezas del perianto (carácter 20) y textura del perianto (carácter 21)

El carácter flores exertas (carácter 15) es una autoapomorfía de la especie *A. macrostachyum*, ya que el resto de especies estudiadas tanto en el grupo externo como en el clado *Sarcocornia/Salicornia*, presentan flores no exertas. La ausencia de un tabique de separación entre las flores (carácter 19) también es una apomorfía de *A. macrostachyum*, aunque faltaría confirmar si también la presentan las especies *Tecticornia indica* y *T. australasica*. Respecto al número de piezas del perianto (carácter 20), únicamente *T. indica* y *T. australasica* presentan un número inferior a cuatro, tratándose por lo tanto de una apomorfía asociada a este género. Por último, la presencia de textura membranosa en el perianto (carácter 21) aparece tanto en *T. australasica* como en *Microcnemum coralloides*,

tratándose de otro carácter apomórfico dentro del grupo externo, puesto que el resto de especies estudiadas presentan una textura carnosa.

Características de las semillas: textura del pericarpo (carácter 29), semilla rodeada totalmente por el pericarpo (carácter 30), adherencia del pericarpo a la semilla (carácter 31), fusión del pericarpo al perianto maduro (carácter 32) y orientación de la semilla relativa al eje del tallo (carácter 33)

Del grupo externo, el género que presenta mayor número de apomorfías, en relación con las características de la semilla, es *Tecticornia*. Por una parte, *T. indica* se caracteriza por tener un pericarpo leñoso (carácter 29) que rodea totalmente a la semilla (carácter 30). Por otra parte, las semillas de *T. australasica* son las únicas que tienen una orientación horizontal (carácter 33). En relación con la adherencia del pericarpo a la semilla (carácter 31), es parcial en *T. australasica*, y el pericarpo no está fusionado al perianto maduro (carácter 32). Cabe señalar que *M. coralloides* comparte con *T. australasica* la presencia del pericarpo libre en relación con el perianto maduro (carácter 32).

Características metabólicas: metabolismo fotosintético (carácter 46)

La presencia de metabolismo fotosintético C₄ (carácter 46) es un carácter apomórfico que aparece únicamente en la especie *T. indica*, ya que el resto de especies estudiadas presentan un metabolismo C₃, que es el que se encuentra presente en el ancestro común a los géneros *Salicornia* y *Sarcocornia*.

5. DISCUSIÓN

5.1. Relaciones filogenéticas del clado *Salicornia/Sarcocornia* en el seno de la subfamilia *Salicornioideae*

En relación con los géneros que constituyen la subfamilia *Salicornioideae*, el clado *Salicornia/Sarcocornia* presenta una identidad propia, tanto desde el punto de vista molecular como morfológico, frente al resto de los géneros estudiados de la subfamilia (Figuras 1.1, 1.2 y 1.3). Otros autores han analizado con mayor detalle las relaciones entre todos los componentes de la subfamilia *Salicornioideae* (KADEREIT *et al.*, 2006), o han tenido en cuenta tan solo los géneros australianos (SHEPHERD *et al.*, 2004, 2005a).

En ambos casos, estos autores han puesto de manifiesto la separación entre el clado *Salicornia/Sarcocornia* y el resto de especies pertenecientes a distintos géneros de la subfamilia (*Allenrolfea*, *Arthrocnemum*, *Halocnemum*, *Halopeplis*, *Halostachys*, *Heterostachys*, *Kalidium*, *Microcnemum* y *Tecticornia*).

Los análisis moleculares realizados con las regiones nucleares ITS y ETS confirman la monofilia del grupo constituido por los géneros *Salicornia* y *Sarcocornia* (Figuras 1.1, 1.2 y 1.3), coincidiendo con los resultados obtenidos en trabajos previos (SCHÜTZE *et al.*, 2003; SHEPHERD *et al.*, 2004, 2005a; KADEREIT *et al.*, 2006, 2007; MURAKEÖZY *et al.*, 2007). Sin embargo, es en el interior de dicho clado, donde las relaciones entre ambos géneros no llegaron a clarificarse con los trabajos antes citados. A través de los resultados aquí obtenidos, se puede comprobar la posición cambiante del clado monofilético del género *Salicornia*, el cual atendiendo a la región analizada, se encuentra más relacionado con el grupo sudafricano-australiano del género *Sarcocornia* (ITS, Figura 1.1) o por el contrario, con el grupo europeo, norteafricano y americano del género *Sarcocornia*, en el caso de ETS y del análisis nuclear combinado (Figuras 1.2 y 1.3, respectivamente). Este mismo hecho queda reflejado en los resultados obtenidos por KADEREIT *et al.* (2006, 2007) para las regiones ITS, ETS y *atpB-rbcL*, así como también, por SHEPHERD *et al.* (2004, 2005a) con las regiones ITS y *trnL*. En ambos trabajos, el clado *Salicornia* aparece relacionado con las especies sudafricanas y australianas del género *Sarcocornia* cuando se analiza la región ITS, mientras que para el resto de regiones, se encuentra más relacionado con el grupo europeo, norteafricano y americano. El caso del género *Sarcocornia* es distinto, ya que en ninguno de los análisis aquí realizados, constituye un grupo monofilético (Figuras 1.1, 1.2 y 1.3), coincidiendo plenamente con lo aportado por SHEPHERD *et al.* (2004, 2005a), KADEREIT *et al.* (2006, 2007) y MURAKEÖZY *et al.* (2007).

Desde el punto de vista morfológico, a través del rastreo de caracteres realizado (Tabla 1.1), se ha visto que existen caracteres que permiten separar los géneros *Salicornia* y *Sarcocornia* del resto de los componentes de la subfamilia. Se trata de caracteres morfológicos relacionados con las semillas (Figura 1.4A), en donde los géneros *Arthrocnemum*, *Halocnemum*, *Microcnemum* y *Tecticornia* presentan semillas con embrión curvado, abundante perisperma y un tipo de ornamentación del indumento de la

exotesta de tipo 1 y 2. Mientras que la presencia de embrión conduplicado, ausencia de perisperma o presencia de trazas de éste (SHEPHERD *et al.*, 2005a) y semillas con pelos o papilas en su exotesta es propio de *Sarcocornia*/*Salicornia*. Estos mismos caracteres son los que comentan SHEPHERD *et al.* (2005a) y KADEREIT *et al.* (2006) en su rastreo morfológico para identificar el clado *Salicornia*/*Sarcocornia* frente al resto de géneros de la subfamilia. Además, atendiendo al trabajo de KADEREIT *et al.* (2006), existen síndromes de caracteres que permiten diferenciar a nivel individual los distintos géneros que componen la subfamilia.

5.2. Relaciones filogenéticas y sistemática del grupo *Salicornia*/*Sarcocornia*: implicaciones taxonómicas

El grupo *Salicornia*/*Sarcocornia* presenta una identidad molecular y morfológica, al conformar un clado monofilético que presenta caracteres morfológicos propios en relación con el resto de géneros de la subfamilia *Salicornioideae*. Sin embargo, tal y como se ha dicho en el apartado 5.1. de este capítulo, estos dos géneros no constituyen dos grupos monofiléticos: el género *Sarcocornia* es parafilético en relación con el grupo monofilético *Salicornia* (Figuras 1.1, 1.2 y 1.3).

Desde un punto de vista morfológico, el número de caracteres que permite diferenciar a estos dos géneros es muy reducido. SCOTT (1977) propone, por primera vez, la separación de estos dos géneros atendiendo al hecho de ser plantas anuales o perennes y a la posición relativa de las flores en el artejo fértil. A pesar de ello, muchos autores (CASTROVIEJO & COELLO, 1980; WILSON, 1980, 1984; CONNOR, 1984; VALDÉS *et al.*, 1987a,b; CASTROVIEJO, 1990; STACE, 1991; CASTROVIEJO & LAGO, 1992; O'CALLAGHAN, 1992; TAN, 1997; BOULOS, 1999; DAVY *et al.*, 2001; BALL, 2003; KADEREIT *et al.*, 2003, 2005a, 2006, 2007; SHEPHERD *et al.*, 2004, 2005a,b; JEANMONOD & GAMISANS, 2007; MURAKEÖZY *et al.*, 2007; STEFFEN *et al.*, 2009, 2010; CABELLO, 2011; FUENTE *et al.*, 2011) han aceptado la clasificación realizada por SCOTT (1977). El carácter anual o perenne, no parece tener validez por sí mismo para la separación de dos géneros en el seno de la familia *Amaranthaceae*. Existen numerosos ejemplos de géneros en esta familia que presentan táxones anuales y perennes (e.g. *Atriplex* L., *Beta* L., *Camphorosma* L., *Chenopodium* L., *Patellifolia* A.J. Scott, Ford-Lloyd & J.T. Williams, *Salsola* L., *Suaeda* Forssk. ex J.F. Gmel), y no se ha empleado este tipo de carácter para

separarlos en géneros diferentes. Además, en la propia subfamilia *Salicornioideae*, los géneros *Tecticornia* y *Halopeplis* incluyen tanto especies anuales como perennes (WILSON, 1972; KADEREIT *et al.*, 2006; SHEPHERD & WILSON, 2007). Y en el género *Salicornia*, hay especies que presentan formas perennantes, tal es el caso de la especie eurasiática *S. perennans*. Con respecto a la posición relativa de las flores, SCOTT (1977) señala que las flores en *Sarcocornia* estarían más o menos alineadas y en *Salicornia* formando un triángulo, con una flor central claramente por encima de las laterales. Sin embargo, tal y como comenta LÓPEZ GONZÁLEZ (1997), en el caso de plantas con flores solitarias como *Salicornia uniflora* Toelken y *S. pusilla* J. Woods (SHEPHERD & WILSON, 2007), este carácter no se puede observar. Además, pierde gran parte de su valor taxonómico cuando se comprueba que la especie australiana *Sarcocornia blackiana*, presenta las flores centrales de la cima normalmente en dos filas (WILSON, 1980). Son varios los autores (BALL, 1964; LAUSI, 1982; MEIKLE, 1985; FREITAG 1989, 2000; BALL & AKEROYD, 1993; KÜHN *et al.*, 1993; GIUSTI, 1997; LÓPEZ GONZÁLEZ, 1997; JUDD & FERGUSON, 1999), que tampoco aceptaron la propuesta de SCOTT (1977); aunque KADEREIT *et al.* (2006) indican que este carácter sí presenta un elevado valor taxonómico.

Sin embargo, son más numerosos los caracteres morfológicos comunes a los dos géneros, que aquellos propuestos por SCOTT (1977) que han sido utilizados tradicionalmente para separarlos. El rastreo morfológico aquí realizado ha mostrado que caracteres relacionados con la longevidad de la planta, el hábito, las hojas, las inflorescencias, las flores, las semillas y el número cromosómico, tienen estados compartidos por los dos géneros. En relación con el hábito, a pesar de ser un carácter diagnóstico entre las especies americanas y sudafricanas del género *Sarcocornia* (ALONSO & CRESPO, 2008; STEFFEN *et al.*, 2009, 2010), no lo es para discernir entre *Salicornia* y *Sarcocornia*. Parece ser, que el hábito erecto junto con la ausencia de tallos radicales, se fijaron de manera temprana en la evolución de ambos géneros, identificándose como una condición ancestral para ellos (Figura 1.5A). Sin embargo, algunas especies desarrollaron la presencia de un hábito postrado con tallos radicales como *Sarcocornia perennis* o *S. magellanica* (Phil.) M.A. Alonso & M.B. Crespo, o solamente un hábito postrado como *S. natalensis*.

La filotaxis de las brácteas es opuesta para todos los géneros presentes en el estudio, tratándose por tanto de un carácter plesiomórfico en la filogenia realizada. A pesar de ello, otros géneros de la subfamilia *Salicornioideae* no incluidos en el análisis (*Allenrolfea*, *Halopeplis*, *Heterostachys* y *Kalidium*), presentan una filotaxis de brácteas alternas. Por lo que se puede decir que la presencia de brácteas opuestas, no es un carácter exclusivo de la subfamilia, sino que sirve para diferenciar entre géneros, no siendo éste el caso de *Salicornia* y *Sarcocornia*. Hay que destacar, que este carácter se encuentra dentro del desarrollo de las hojas, y que al igual que en las flores, es un proceso regulado genética y hormonalmente (COEN & MEYEROWITZ, 1991; SMITH & HAKE, 1992), y fijado de manera temprana en la ontogenia de las hojas (KUHLEMEIER, 2007). Igualmente, el tipo estomático aparece tempranamente en el desarrollo de las hojas (GAY & HURD, 1975), y de nuevo, *Salicornia* y *Sarcocornia* comparten los dos estados de este carácter morfológico. Así, *Salicornia ramosissima* J. Woods y *S. meyeriana* presentan estomas expuestos como *Sarcocornia perennis* o *S. neei*, mientras que por ejemplo *Salicornia uniflora*, *Sarcocornia fruticosa* y *S. pacifica* presentan estomas hundidos (O'CALLAGHAN, 1992; GUILLÓ *et al.*, 2012a).

De entre los caracteres estudiados relacionados con las flores, aquellos que tratan la sexualidad de las flores y las estrategias para evitar la autopolinización, han sido previamente estudiados para las especies australianas de la subfamilia *Salicornioideae* (WILSON, 1980; SHEPHERD *et al.*, 2005a; SHEPHERD & WILSON, 2007). El hermafroditismo se presenta como aquel carácter que se fijó inicialmente en el ancestro común de las plantas estudiadas, apareciendo después el resto de estados descritos, que dieron lugar a una sexualidad floral muy variable. De hecho, un mismo género como *Sarcocornia* puede presentar hasta tres estados de carácter (flores ginomonoicas, hermafroditas y ginodioicas), que además, alguno de ellos (estado de hermafroditismo) está compartido con *Salicornia* (Figura 1.5B). El hecho que estas plantas sean anemófilas ha favorecido el desarrollo de distintas estrategias para prevenir la autogamia (FERNÁNDEZ-ILLESCAS *et al.*, 2011), como es la maduración diferencial de las anteras y del estigma. Según FERNÁNDEZ-ILLESCAS *et al.* (2011) dentro del género *Sarcocornia*, *S. perennis* y *S. fruticosa* no son dicógamas, aún así, especies americanas y sudafricanas sí lo son, compartiendo con *Salicornia* este carácter, que aparece como plesiomórfico. A

pesar que el tipo de dicogamia pueda parecer un carácter para separar *Salicornia* de *Sarcocornia*, otras especies de *Sarcocornia* no incluidas en el análisis como *S. mossiana*, también tienen flores proterandras (TÖLKEN, 1967), no siendo por lo tanto, este estado exclusivo del género *Salicornia*.

Los caracteres seminales no han dado suficiente resolución para poder distinguir entre los dos géneros, tal y como ocurre a nivel específico dentro del género *Sarcocornia* (SHEPHERD *et al.*, 2005b; ALONSO & CRESPO, 2008; STEFFEN *et al.*, 2010; GUILLÓ *et al.*, 2012a). Ambos géneros comparten los caracteres plesiomórficos en cuanto a tamaño, coloración y características relacionadas con el indumento de la exotesta de las semillas. A parte de los caracteres antes mencionados, se debería profundizar en el estudio anatómico de la semilla, ya que caracteres como presencia de lípidos, de cuerpos proteicos y de granos de almidón en la semilla, podrían aportar nuevos datos en relación con la diferenciación de los géneros *Salicornia* y *Sarcocornia*.

El carácter tipo polínico no aporta ninguna información taxonómica a nivel genérico, ya que es el mismo para todos los géneros de la subfamilia *Salicornioideae* (VALDÉS *et al.*, 1987a; FERNÁNDEZ-ILLESCAS *et al.*, 2010), aunque se han descrito algunos caracteres variables en cuanto al diámetro del grano, el tamaño del poro o la ornamentación (MUDIE *et al.*, 2005), pero sin significado taxonómico (FERNÁNDEZ-ILLESCAS *et al.*, 2010).

En relación con el número basal cromosómico, los dos géneros presentan una dotación cromosómica básica de $x=9$. Tanto *Salicornia* como *Sarcocornia* se caracterizan por tener diversos niveles de ploidía, formando un gran complejo de especies poliploides, donde el rango de variación fenotípica dificulta el establecimiento de límites taxonómicos. Dentro del género *Salicornia* se han descrito especies diploides y tetraploides (CASTRO & FONTES, 1946; CONTANDRIOPOULOS, 1968; LAUSI, 1969; CASTROVIEJO & COELLO, 1980; HERRERA-GALLASTEGUI *et al.*, 1989; RUNEMARK, 1996), aunque también se encontró una forma triploide de la especie *S. veneta* Pignatti & Lausi en Italia (CRISTOFOLINI & CHIAPELLA, 1970), y recientemente se ha descrito la especie *S. altaica* Lomon. como decaploide (LOMONOSOVA, 2005). Además, en el género *Sarcocornia* la poliploidización es evidente, con especies que van desde diploides hasta octoploides ($2n=18, 27, 36, 54, 72$) (CASTRO & FONTES, 1946;

CONTANDRIOPOULOS, 1968; NILSSON & LASSEN, 1971; CASTROVIEJO & COELLO, 1980; CASTROVIEJO & LAGO, 1992; LAGO & CASTROVIEJO, 1993), e incluso, se han descrito tres híbridos con las siguientes dotaciones cromosómicas $2n=45$, 54 y 72 (CASTROVIEJO & LAGO, 1992).

En comparación con otros géneros que forman parte de la subfamilia *Salicornioideae*, los géneros *Salicornia* y *Sarcocornia* no tienen características morfológicas propias. La utilización de caracteres vegetativos y florales tales como la filotaxis de las hojas y las brácteas, la fusión o no de las brácteas, el tipo de perianto o de pericarpo y el tipo de embrión, permiten diferenciar fácilmente entre *Allenrolfea*, *Arthrocnemum*, *Haloecnemum*, *Halopeplis*, *Halostachys*, *Heterostachys*, *Kalidium* y *Microcnemum*; sin embargo, estos mismos caracteres no se pueden utilizar entre *Salicornia* y *Sarcocornia*. Desde un punto de vista filogenético, mantener independientes los géneros *Sarcocornia* y *Salicornia* estaría reflejando, respectivamente, el reconocimiento de un grupo parafilético y monofilético, como ha sido aceptado por KADEREIT *et al.* (2006, 2007).

Los resultados obtenidos muestran la necesidad de realizar nuevos análisis. Por una parte, un estudio morfológico en el que se analicen otro tipo de caracteres, tales como características anatómicas e histoquímicas, que proporcionen nuevos resultados para el grupo de estudio. Y por otra parte, nuevos análisis moleculares utilizando regiones diferentes, o incluso, técnicas moleculares distintas. A la espera de dichos resultados, se han planteado diferentes hipótesis en relación con la organización taxonómica más viable en el grupo *Salicornia/Sarcocornia*. Se han barajado tres posibilidades diferentes: la opción 1 reconocería un único género con cuatro subgéneros; la opción 2 reconocería cuatro géneros; y la opción 3 reconocería dos géneros.

Opción 1: Esta opción requeriría la inclusión de todas las especies del clado *Salicornia/Sarcocornia* en un único género. Esta propuesta taxonómica estaría en consonancia con las recientes propuestas realizadas en el seno de la subfamilia *Salicornioideae* por SHEPHERD & WILSON (2007). Estos autores realizaron una reorganización taxonómica de los géneros australianos *Halosarcia* Paul G. Wilson, *Pachycornia* Hook.f., *Sclerostegia* Paul G. Wilson, *Tegicornia* Paul G. Wilson y *Tecticornia*, incluyéndolos todos ellos en el seno del género *Tecticornia*. De forma similar a los

resultados aquí obtenidos para *Salicornia/Sarcocornia*, SHEPHERD & WILSON (2007) demuestran una escasa diferenciación genética en el reconocimiento de estos géneros, al no conformar grupos monofiléticos (con la excepción de *Tecticornia*), y ponen de manifiesto una carencia de caracteres morfológicos claros y consistentes, que permitan distinguir entre diferentes géneros.

Si esta fuera la opción elegida, la denominación taxonómica a nivel de género correspondería a *Salicornia*, atendiendo al Código Internacional de Nomenclatura (MCNEILL *et al.*, 2006). Además, cabe indicar que la mayor parte de las especies reconocidas hoy en día en *Sarcocornia* fueron descritas inicialmente en el seno del género *Salicornia*, lo que apuntaría a una mayor simplicidad y estabilidad nomenclatural. Esta opción estaría en consonancia con las últimas clasificaciones filogenéticas que señalan el reconocimiento formal de grupos taxonómicos basados en clados monofiléticos (STEVENS, 2001 en adelante; APG III, 2009; CHASE & REVEAL, 2009; HUMPHREYS & LONDER, 2009), así como también, con el reconocimiento de táxones correspondientes a grupos monofiléticos que presentan un respaldo morfológico, tal y como algunos autores están realizando para diferentes grupos de angiospermas (e.g. GALBANY-CASALS *et al.*, 2010; MARTÍNEZ-AZORÍN *et al.*, 2011; FEIST *et al.*, 2012).

En el seno de este género, *Salicornia*, se podría proponer una clasificación subgenérica, atendiendo principalmente a un criterio monofilético y geográfico. En los análisis filogenéticos se pueden observar, cuatro grupos monofiléticos dentro del clado *Salicornia/Sarcocornia*. Además las especies perennes se agrupan atendiendo a su distribución geográfica, distinguiéndose un clado americano, un clado europeo-norteafricano y un clado sudafricano-australiano, y por último, estaría el clado constituido por todas las especies anuales. De esta manera, cada uno de los clados monofiléticos comentados podrían constituir un subgénero diferente. Esta reorganización infragenérica se encontraría en concordancia con las clasificaciones realizadas en otros géneros de la familia *Amarantaceae* como *Amaranthus* L. (MOSYAKIN & ROBERTSON, 1996) o *Suaeda* (SCHÜTZE *et al.*, 2003).

Opción 2: Esta opción supondría dividir el clado *Salicornia/Sarcocornia* en cuatro géneros, enfatizando el reconocimiento de grupos monofiléticos. Los cuatro géneros se corresponderían con los cuatro subgéneros descritos en la opción 1. Sin embargo, esta

opción no parece ser muy viable ya que no existirían suficientes características morfológicas que permitieran diferenciar entre estos cuatro géneros.

Opción 3: Esta opción reconocería los dos géneros existentes en la actualidad, aceptando la separación tradicional en *Salicornia* y *Sarcocornia*, tal y como hacen SHEPHERD *et al.* (2004, 2005a), KADEREIT *et al.* (2006, 2007) y MURAKEÖZY *et al.* (2007). Esta opción estaría en consonancia con HÖRANDL & STUESSY (2010) que apoyan el reconocimiento de grupos taxonómicos atendiendo a clados parafiléticos. La disposición de las flores en el artejo fértil sería el único carácter morfológico que apoyaría esta separación en dos géneros, tratándose de un carácter con un mayor significado taxonómico que el hecho de tratarse de plantas anuales o perennes.

De las tres opciones planteadas, el reconocimiento de cuatro géneros sería la opción menos viable, ya que como se ha dicho, la ausencia de caracteres morfológicos no apoyaría esta separación. En cuanto a las opciones 1 y 3, se ha decidido reconocer los géneros *Salicornia* y *Sarcocornia* como entidades taxonómicas independientes (opción 3), tal y como hacen otros autores (SHEPHERD *et al.*, 2004, 2005a; KADEREIT *et al.*, 2006, 2007; MURAKEÖZY *et al.*, 2007). No obstante, es posible que futuros estudios muestren la existencia de algún nuevo carácter estable, que junto con la disposición de las flores en el artejo fértil apoyen la separación de ambos géneros, o por el contrario, apoyen la ausencia de diferencias entre ellos, y por tanto, sea necesario realizar una reclasificación taxonómica, como la planteada en la opción 1.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Capítulo 2.

Relaciones filogenéticas, diversificación y biogeografía
del género *Sarcocornia* en América, Europa y Norte de
África

1. INTRODUCCIÓN

El estudio de las especies del género *Sarcocornia* en el continente americano comenzó fruto de las grandes expediciones del siglo XVIII. El primer autor que describió una especie fue MICHAUX (1803) con material procedente de las costas de Carolina, y lo hizo en el seno del género *Salicornia*, con la denominación de *Salicornia ambigua* [= *Sarcocornia ambigua* (Michx.) M.A. Alonso & M.B. Crespo]. A partir de esta primera descripción, hubo muchas otras en todo el continente americano (LAGASCA, 1817; KUNTH, 1818; MOQUIN-TANDON, 1840; LORENTZ & NIEDERLEIN, 1881; PHILIPPI, 1891, 1895). Cabe señalar que se llegaron a proponer hasta 18 táxones, atendiendo a formas morfológicas diferentes. Sirva de ejemplo el caso de la expedición a Río Negro (Argentina), que se realizó a finales del siglo XIX (LORENTZ & NIEDERLEIN, 1881), donde se llegaron a describir tres táxones de *Salicornia* en una misma localidad: *S. corticosa* var. *nachtigalii* Niederl., *S. doeringii* Lor. & Niederl. y *S. bergii* Lor. & Niederl.; comprobándose, posteriormente, que todos ellos eran la misma especie, e incluso esa misma especie ya había sido descrita con anterioridad como *Salicornia neei* Lag. (LAGASCA, 1817) y *S. peruviana* Kunth (KUNTH en VON HUMBOLDT *et al.*, 1818). En consecuencia, algunas de las especies sudamericanas de este género se han citado hasta con ocho nombres diferentes. La controversia definitiva llegó de la mano de SCOTT (1977), cuando publicó la descripción del género *Sarcocornia*. En su trabajo, este autor sinonimizó la mayor parte de las especies perennes americanas a los dos táxones descritos de Europa: *Sarcocornia fruticosa* y *Sarcocornia perennis*. En el último trabajo de revisión taxonómica y nomenclatural de los táxones de *Sarcocornia* sudamericanos realizado por ALONSO & CRESPO (2008), se ha aceptado la existencia de solo cinco especies: *S. ambigua* (Michx.) M.A. Alonso & M.B. Crespo; *S. andina* (Phil.) Freitag, M.A. Alonso & M.B. Crespo; *S. magellanica* (Phil.) M.A. Alonso & M.B. Crespo; *S. neei* (Lag.) M.A. Alonso & M.B. Crespo y *S. pulvinata* (R.E.Fr.) A.J. Scott. En el caso de Norteamérica, se reconocen tres especies: *S. ambigua*, *S. pacifica* (Standl.) A.J. Scott y *S. utabensis* (Tidestr.) A.J. Scott, que, en ocasiones, son igualmente confundidas con las especies *S. fruticosa* y *S. perennis* (BALL, 2003; ALONSO & CRESPO, 2008). Por último, se quiere indicar que a finales del siglo XIX, PARISH (1898) describió la especie *Salicornia*

subterminalis Parish para el oeste de Norteamérica. Sin embargo, STANDLEY (1914) la combinó en el seno del género *Arthrocnemum*, como *A. subterminale* (Parish) Standl.

En Europa y Norte de África, se acepta ampliamente la existencia de dos especies del género *Sarcocornia*: *S. fruticosa* y *S. perennis* (SCOTT, 1977; CASTROVIEJO & COELLO, 1980; GREUTER *et al.*, 1984; VALDÉS *et al.*, 1987a,b; CASTROVIEJO, 1990; STACE, 1991; AIZPURU *et al.*, 1999; VALDÉS *et al.*, 2002; JEANMONOD & GAMISANS, 2007; DAVY *et al.*, 2006; SÁNCHEZ-GÓMEZ & GUERRA, 2007), ambas descritas por primera vez bajo el género *Salicornia*, por lo que en algunos trabajos aparecen denominadas de esta forma (MAIRE & QUÉZEL, 1962; QUÉZEL & SANTA, 1963; MEIKLE, 1985; FREITAG, 2000; COSTE, 2007) o *Arthrocnemum* (AELLEN *et al.*, 1967; LAUSI, 1982; BOLÒS & VIGO, 1990; BALL, 1993). De ellas, también se han descrito numerosas subespecies y variedades, que en la mayoría de los casos han respondido a meros cambios en la morfología por causas fundamentalmente ecológicas (QUÉZEL & SANTA, 1963; CASTROVIEJO & COELLO, 1980; RIVAS-MARTÍNEZ, 1988; CASTROVIEJO & LAGO, 1992; LÓPEZ GONZÁLEZ, 1997; LAHONDÈRE, 2004).

En el marco de la península ibérica, CASTROVIEJO & COELLO (1980) publicaron una síntesis taxonómica y cariológica en la que confirmaron la presencia de tres táxones: *S. fruticosa*, *S. perennis* subsp. *perennis* y *S. perennis* subsp. *alpini*. El criterio utilizado para diferenciar entre estos táxones fue únicamente morfológico, basado en la presencia de porte arbustivo y tallos no enraizantes en *S. fruticosa*, frente a tallos enraizantes y decumbentes en *S. perennis*. En el seno de la especie *S. perennis*, estos autores identifican la subespecie típica por sus tallos enraizantes débiles, mientras que son rígidos y tortuosos en *S. perennis* subsp. *alpini*. Este tratamiento taxonómico lo han utilizado diversos autores (VALDÉS *et al.*, 1987a,b, 2002; CASTROVIEJO, 1990; REDONDO, 2004; DAVY *et al.*, 2006; SÁNCHEZ-GÓMEZ & GUERRA, 2007; CABELLO, 2011), aunque *S. perennis* subsp. *alpini* también ha sido considerada con el rango específico, como *S. alpini* (Lag.) Rivas Mart. (RIVAS-MARTÍNEZ, 1988; CASTROVIEJO & LAGO, 1992; MATEO & CRESPO, 2009). Recientemente, se ha descrito una nueva especie denominada *Sarcocornia hispanica* para el sureste ibérico (FUENTE *et al.*, 2011). La distinción de este taxon, respecto a los anteriores, se ha basado en caracteres

morfológicos relacionados con el hábito, la forma del ápice de las hojas, el tipo de pericarpo, la forma de las semillas y su tipo de ornamentación (FUENTE *et al.*, 2011).

Tanto del continente americano, como del europeo y del Norte de África, los estudios realizados sobre este grupo de plantas han sido mayoritariamente morfológicos, aunque también hay algunos estudios basados en herramientas moleculares. La mayor parte de ellos han sido incluidos en análisis filogenéticos generales sobre la subfamilia *Salicornioideae* (PAPINI *et al.*, 2004; SHEPHERD *et al.*, 2004, 2005a; KADEREIT *et al.*, 2005a, 2006, 2007; MURAKEÖZY *et al.*, 2007), siendo escasos los trabajos filogenéticos enfocados específicamente sobre estos táxones. Existen trabajos más específicos llevados a cabo por LUQUE *et al.* (1995) y FIGUEROA *et al.* (2003). Estos autores han realizado estudios poblacionales mediante el uso de RAPD (“*Random Amplified Polymorphic DNA*”) en el suroeste de la península ibérica. LUQUE *et al.* (1995) pusieron de manifiesto una considerable variación genética, con una clara diferenciación entre los géneros *Sarcocornia*, *Salicornia* y *Arthrocnemum*. FIGUEROA *et al.* (2003), utilizaron los RAPD para caracterizar las especies del género *Sarcocornia* y para identificar sus posibles híbridos.

2. OBJETIVOS

Atendiendo a los antecedentes expuestos, hasta el momento no se ha realizado un estudio filogenético detallado de los táxones del género *Sarcocornia* en América, Europa y Norte de África, que sirva de base para establecer las relaciones taxonómicas propuestas basadas únicamente en caracteres morfológicos. Por estos motivos, se plantearon los siguientes objetivos:

- Estudiar detalladamente las relaciones filogenéticas entre las especies americanas, europeas y norteafricanas del género *Sarcocornia*.
- Clarificar las relaciones filogenéticas entre las especies americanas del género *Sarcocornia*.
- Analizar las relaciones filogenéticas entre los táxones de distribución europeo-norteafricana.
- Interpretar la diversificación y biogeografía del género *Sarcocornia* en su distribución americana y europeo-norteafricana.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Estudio filogenético de los táxones de distribución americana, europea y norteafricana

3.1.1. Material vegetal

Se han analizado 44 muestras pertenecientes a los géneros *Sarcocornia*, *Arthrocnemum* y *Halocnemum* (Apéndice 1). Como grupo externo, se seleccionaron tres táxones de los dos últimos géneros (*A. macrostachyum*, *A. subterminale* y *H. strobilaceum* M. Bieb.), incluyendo en el análisis dos ejemplares de *A. macrostachyum*, uno de *A. subterminale* y dos de *H. strobilaceum*. Del género *Sarcocornia*, se han estudiado un total de 39 especímenes que representan 12 especies distribuidas por el continente americano, territorios europeo-norteafricanos y sudafricanos.

3.1.2. Extracción de ADN, amplificación y secuenciación

El ADN genómico total se ha extraído de material fresco o procedente de material desecado en gel de sílice (CHASE & HILL, 1991) siguiendo el método modificado 2×CTAB (DOYLE & DOYLE, 1987). El ADN total se purificó mediante el uso de minicolumnas de purificación de Ultraclean® PCR Clean-Up Kit (MOBIO) siguiendo el protocolo del fabricante. El ADN total se ha depositado en el banco de ADN de la Universidad de Alicante.

Se ha realizado la amplificación de cinco regiones de ADN, dos nucleares y tres plastidiales. Las dos regiones pertenecientes al ADN nuclear fueron ITS y el gen de copia baja fitocromo C (*PHYC*). Para ITS, se utilizaron los iniciadores ITS18 e ITS26 (KAS & WINK, 1997). La amplificación de *PHYC* se realizó usando los iniciadores PhyCDO y PhyCDLE (MATHEWS *et al.*, 1995). Los productos de la amplificación de *PHYC* se clonaron mediante el vector pGEM®-T Easy (Promega GmbH, Mannheim, Germany). A partir de las secuencias clonadas, se diseñaron nuevos iniciadores denominados PHYC-Sar F [5'-ATAAGCTTGCAGTAAGGCC-3'] y PHYC-Sar R [5'-AAGAAGATCTTGGGTGCATC-3'], permitiendo secuenciar directamente un fragmento de aproximadamente 900 pares de bases. Dicho fragmento se encuentra en

el primer exón del gen *PHYC* comenzando a partir de las 677 pares de bases y continuando en dirección 5'-3'.

En el caso del ADN plastidial, las tres regiones empleadas fueron el espaciador intergénico *rpl32-trnL^(UAG)*, el espaciador intergénico *trnQ^(UUG)-rps16* y el intrón *rps16*. La región *rpl32-trnL^(UAG)* se amplificó utilizando los iniciadores rpl32F y trnL^(UAG) (SHAW *et al.*, 2007). La amplificación de *trnQ^(UUG)-rps16* se realizó con los iniciadores trnQ^(UUG) y rps16×1 (SHAW *et al.*, 2007). Y, por último, *rps16* se amplificó con los iniciadores rps16 5'exon y rps16 3'exon (DOWNIE & KATZ-DOWNIE, 1999).

Para todas las regiones nucleares y plastidiales, las amplificaciones se realizaron siguiendo el protocolo: 22 µl de ABgene PCR Mastermix (1.25 U Thermoprime Plus DNA polymerase; 75 mM Tris-HCl, 20 mM (NH₄)₂SO₄; 2.5 mM MgCl₂; 0.01% Tween^w 20; 0.2 mM de cada dNTP); 0.5 µl de albúmina de suero bovino (BSA; 0.4%); 0.5 µl de cada iniciador; y aproximadamente 50 ng de muestra de ADN. Estas amplificaciones se realizaron en un termociclador GeneAmp®PCR System 9700 (PE Biosystems, Inc.). Para ITS, se utilizó el siguiente programa: 2 minutos a 94°C, seguidos de 30 ciclos a 94°C durante 30 segundos, 45°C durante 30 segundos, 72°C durante 1 minuto, y una extensión final de 72°C durante 4 minutos. Para *PHYC*, el programa usado fue 3 minutos a 94°C, seguido de 32 ciclos a 94°C durante 1 minuto, 52°C durante 1 minuto, 72°C durante 1 minuto, y una extensión final de 7 minutos a 72°C. Las regiones *rpl32-trnL^(UAG)* y *trnQ^(UUG)-rps16* compartieron el mismo programa: 1 minuto a 96°C, seguido de 30 ciclos a 94°C durante 1 minuto, 52°C durante 2 minutos, 72°C durante 2 minutos, y una extensión final de 10 minutos a 72°C. Para *rps16*, se utilizó el siguiente programa: 30 segundos a 94°C, seguido de 35 ciclos a 94°C durante 1 minuto, 50°C durante 1 minuto, 72°C durante 1 minuto, y una extensión final de 10 minutos a 72°C. Los productos de PCR se purificaron mediante el uso de minicolumnas de purificación de Ultraclean® PCR Clean-Up Kit (MOBIO), siguiendo el protocolo del fabricante.

Las secuencias se han obtenido empleando los mismos iniciadores señalados anteriormente y han sido editadas con el programa SEQUENCHER v 4.8 (Gene Codes Corp.). Se utilizó el programa GBLOCKS v. 0.91 (CASTRESANA, 2000; TALAVERA & CASTRESANA, 2007) con el fin de mejorar los alineamientos, eliminando las regiones ambiguas. Los parámetros utilizados fueron: “*Minimum Number of Sequences for a Conserved*

Position” y “*Minimum Number of Sequences for a Flank Position*”: la mitad del número de secuencias en cada caso; “*Minimum Number of Contiguous Nonconserved Positions*”: 5; “*Maximum Number of Contiguous Nonconserved Positions*”: 10; “*Minimum Length of a Block*”: 5; “*Allowed Gap Positions*”: “*With Half*”. La obtención de la matriz final se ha conseguido mediante el programa PAUP v. 4.0b10 para Macintosh (SWOFFORD, 2000).

3.1.3. Análisis molecular

Los análisis heurísticos de Máxima Parsimonia (MP) se han realizado con los programas PAUP v. 4.0b10 para Macintosh (SWOFFORD, 2000) y TNT v. 1.1 (GOLOBOFF *et al.*, 2003–2005), con los estados de caracteres no ordenados y los cambios entre estados igualmente probables (criterio de parsimonia de Fitch) (FITCH, 1971). Las gaps se han codificado como una quinta base. En la búsqueda de los árboles de mayor parsimonia, la matriz fue analizada con 1000 réplicas con la opción de adición de táxones al azar (“*Random Taxon Addition*”) y empleando la opción “*Tree-Bisection-Reconnection*” (TBR) en la reorganización de las ramas (SWOFFORD *et al.*, 1996). El apoyo de los clados obtenidos se ha examinado con el método de “*bootstrap*” (BS, FELSENSTEIN, 1985), con 2000 réplicas, adición de secuencias simple y con el proceso de reordenación de las ramas TBR. Los clados con valores de BS comprendidos entre 50-74% se consideran débilmente apoyados, 75-89% moderadamente apoyados y entre 90-100% fuertemente apoyados (MARTÍNEZ-AZORÍN *et al.*, 2011). Los índices de consistencia (CI) y de retención (RI) se calcularon excluyendo los caracteres no informativos.

Los análisis de Inferencia Bayesiana (IB) se calcularon utilizando MRBAYES v. 3.1.2 (HUELSENBECK & RONQUIST, 2001; RONQUIST & HUELSENBECK, 2003). Previamente, se determinaron los modelos de evolución más afines a los datos utilizando el criterio AIC (“*Akaike Information Criterion*”) (POSADA & CRANDALL, 1998; POSADA & BUCKLEY, 2004), implementados con el programa JMODELTEST v. 0.1.1. (POSADA, 2008). Con este análisis Bayesiano, se han formado 3000000 de generaciones, guardando una de cada 200, y se han excluido entre 4500 y 13000 árboles (“*burnin*”) para evitar aquéllos que pudiesen haber estado muestreados antes de la convergencia de las cadenas de Markov. En este caso, el apoyo de las ramas se ha evaluado mediante la

probabilidad posterior (PP), considerando ésta significativa en las ramas que presenten un valor igual o superior a 0.95.

3.2. Estudio de los táxones de distribución europeo-norteafricana con la técnica AFLP

3.2.1. Material vegetal y extracción de ADN

Se han analizado un total de 53 muestras (23 de *S. fruticosa* y 30 de *S. perennis*, de las que siete corresponden a localidades en las que se ha citado tradicionalmente *S. perennis* subsp. *alpini*). Las 53 muestras analizadas pertenecen a ocho poblaciones. Para *S. fruticosa*, se han incluido muestras de Cordovilla (COR; Albacete, España), Delta del Ebro (EBR; Tarragona, España) y Playa de Sancti Petri (PET; Cádiz, España). Para *S. perennis* subsp. *perennis*, se estudiaron muestras de las poblaciones de Órzola (ORZ; Lanzarote, España), Arekmane (ARE; Nador, Marruecos), Chichester (CHC; West Itchenor, Reino Unido) y Estuario de Aposelemis (APO; Creta, Grecia), y para *S. perennis* subsp. *alpini*, el material vegetal procedía de la población de Laguna de las Yeguas (YEG; Ciudad Real, España). El número de individuos por población varió de tres a 16 muestras. El ADN genómico total se ha extraído siguiendo el protocolo descrito en el apartado 3.1.2.

3.2.2. Técnica AFLP

Se ha seguido el protocolo de AFLP™ Plant Mapping Protocol (Applied Biosystems), teniendo en cuenta que el género *Sarcocornia* se caracteriza por poseer un genoma de pequeño tamaño (KOCE *et al.*, 2008), por lo que los iniciadores selectivos fueron modificados, tal y como sugiere FAY *et al.* (2005). Los iniciadores EcoR1 presentan solo dos bases, mientras que el resto de reactivos y rangos de temperaturas de las amplificaciones siguieron el protocolo original. Se realizaron pruebas con 25 combinaciones de iniciadores diferentes, de los que las combinaciones EcoR1-AC + MseI-CAC (marcador azul) y EcoR1-AA + MseI-CAC (marcador verde) mostraron bandas claramente distinguibles. La separación de los fragmentos marcados con fluorescencia procedentes de las amplificaciones selectivas, se realizó mediante

electroforesis en gel desnaturalizante de poliacrilamida al 5.0 % usando un secuenciador automático ABI PRISM 3700 (Applied Biosystems, Inc.).

3.2.3. Análisis de los datos

El análisis de los fragmentos se realizó con el programa GENEMAPPER v. 4.0 (Applied Biosystems). Aquellos fragmentos con tamaños comprendidos entre 50 y 500 pares de bases se codificaron como presente (1) o ausente (0), constituyendo una matriz binaria.

Para obtener una estimación de la singularidad de cada taxon, se calculó el número de alelos privados (N_{pal}) utilizando el programa AFLP-SURV (VEKEMANS, 2002). Se construyó un árbol de “Neighbor-Joining” (NJ) (SAITOU & NEI, 1987) basado en la medida de la distancia de NEI & LI (1979), utilizando el programa PAUP v. 4.0b10 para Macintosh (SWOFFORD, 2000) con el objetivo de detectar una estructuración geográfica de la variación genética. El apoyo de los clados fue evaluado con el método de “bootstrap” (BS; FELSENSTEIN, 1985), con 5000 réplicas. Se realizó un análisis de coordenadas principales (PCOA) basado en la matriz binaria, utilizando el programa GENEALLEX v. 6.4 (PEAKALL & SMOUSE, 2006), con la distancia de SMOUSE & PEAKALL (1999). Asimismo, se determinó la estructuración genética utilizando un análisis bayesiano con BAPS v. 5.4 (CORANDER *et al.*, 2004). En primer lugar se llevó a cabo un análisis de “mixture” utilizando la opción de “Clustering of individuals”, donde se seleccionaron valores de K (número de grupos) comprendidos entre dos y nueve, repitiendo cada valor de K diez veces. En segundo lugar, se utilizaron los resultados del análisis de “mixture” para realizar un análisis de “admixture” (CORANDER & MARTINEN, 2006). Los parámetros usados en este segundo análisis fueron: (1) tamaño mínimo de las poblaciones: tres individuos; (2) 100 interacciones para estimar los coeficientes de “admixture” de los individuos; (3) 200 simulaciones en los individuos referenciados de cada población; (4) 10 interacciones para estimar los coeficientes de “admixture” en los individuos referenciados. Por último, se realizó un análisis molecular de la varianza (AMOVA), usando el programa ARLEQUIN v. 3.1 (EXCOFFIER *et al.*, 2005), donde se comparó la variación genética entre táxones.

4. RESULTADOS

4.1. Estudio filogenético de los táxones de distribución americana, europea y norteafricana

Los datos referentes a las matrices analizadas, los índices de consistencia y retención y los modelos evolutivos obtenidos en cada caso, aparecen en la tabla 2.1. El análisis de las matrices obtenidas usando el programa GBLOCKS v. 0.91 dio el mismo resultado que el análisis de las matrices previo a la aplicación de GBLOCKS v. 0.91, por lo que los resultados que se muestran se refieren al estudio de las matrices sin haber utilizado dicho programa. Puesto que los análisis de Máxima Parsimonia e Inferencia Bayesiana aportan resultados similares, únicamente se presenta en cada caso, el árbol basado en el análisis de Máxima Parsimonia.

Tabla 2.1. Principales características y resultados de las secuencias analizadas para las diferentes regiones estudiadas: N° táxones (Número de táxones), L. matriz (pb) [Longitud de matriz (pares de bases)], C. inf. (Caracteres informativos), N° árboles m. pars. (Número de árboles más parsimoniosos), N° pasos (Número de pasos), CI (Índice de consistencia), RI (Índice de retención), Modelo evol. (Modelo evolutivo). La región *rpl32^(UAG)-trnL* aparece como *rpl32-trnL* y *trnQ^(UUG)-5'rps16* como *trnQ-rps16*. Únicamente la última fila se corresponde con los resultados del análisis de Inferencia Bayesiana, el resto son de Máxima Parsimonia.

	ITS (1)	<i>rpl32-trnL</i> (2)	<i>trnQ-rps16</i> (3)	<i>rps16</i> (4)	<i>PHYC</i> (5)	2+3+4	1+2+3+4
N° táxones	44	44	44	44	44	44	44
L. matriz (pb)	691	923	683	913	913	2519	3210
C. inf.	118	67	53	50	95	170	288
N° árboles m. pars.	674	12	3720	1190	20	12	1212
N° pasos	250	102	92	79	195	277	555
CI	0.788	0.931	0.891	0.949	0.779	0.910	0.807
RI	0.932	0.980	0.964	0.980	0.912	0.970	0.934
Modelo evol.	TIM2+I+G	GTR+G	TVM+G	TVM+G	GTR+I+G	Cada región su modelo	Cada región su modelo

4.1.1. Análisis de la región ITS

Los resultados obtenidos en la región ITS son coincidentes con los obtenidos en el capítulo 1, donde se pueden diferenciar dos clados monofiléticos a los que se ha denominado a y b, respectivamente (Figura 2.1). El “clado a” está constituido por las especies americanas, europeas y norteafricanas del género *Sarcocornia* (89% BS, 1.00 PP), mientras que el “clado b” está conformado por las especies del género *Sarcocornia* de Sudáfrica.

Dentro del “clado a”, se diferencian dos grupos monofiléticos fuertemente apoyados, correspondientes a las especies americanas (subclado a1; 98% BS; 1.00 PP), y a las europeas y norteafricanas (subclado a2; 99% BS; 1.00 PP).

En el “subclado a1”, no se observa ni un patrón geográfico ni ecológico (Figura 2.1). Así, la especie *S. utabensis* aparece como rama externa a todo el clado americano, seguida de *S. pulvinata*. El resto de especies conforman un clado fuertemente apoyado (95% BS; 1.00 PP) dentro del cual, la posición filogenética de *S. andina* y *S. ambigua* está sin resolver. Las especies *S. neei*, *S. pacifica* y *S. magellanica* forman un clado monofilético débilmente apoyado solo por IB (0.51 PP). En MP, las relaciones entre *S. pacifica* y las poblaciones chilenas de *S. neei* 10 y 11 (Copiapó y Chiloé, respectivamente) junto con *S. andina* y *S. ambigua* están sin resolver. El resto de ejemplares de Argentina y Perú de *S. neei* (7, 8 y 12) junto con la especie *S. magellanica* constituyen un clado monofilético (51% BS; 0.96 PP).

En relación con el “subclado a2”, se diferencian dos grupos monofiléticos (Figura 2.1). El primero de ellos está constituido por tres ejemplares de la especie *S. fruticosa* de las poblaciones italianas de San Giovanni de Sinnis (23), Laguna di Orbetello (24) y Treporti (25), que presenta un fuerte apoyo (99% BS; 1.00 PP), siendo un clado hermano del resto de ejemplares estudiados de *S. fruticosa* y *S. perennis* (98% BS; 1.00 PP). En el interior de este último grupo, la mayor parte de las relaciones entre los ejemplares de ambos táxones no aparecen resueltas. Atendiendo al análisis bayesiano, se forman dos grupos en los que ambas especies están entremezcladas. En primer lugar y con un apoyo de 0.84 PP, aparece un clado conformado por ejemplares de ambas especies procedentes de diversas poblaciones atlánticas. En su interior, únicamente las muestras de *S. perennis* forman un grupo monofilético (70% BS; 1.00 PP), ya que los

ejemplares de *S. fruticosa* aparecen sin resolver. En el segundo grupo (0.78 PP), la mayor parte de las poblaciones de *S. perennis* que lo conforman (Aveiro, 40; Laguna de Peña Hueca, 32; Isla Mayor, 31; Caridad, 27; Estuario de Aposelemis, 38; La Macta, 33; Capo Feto, 39 y Monastir, 43), aparecen formando un grupo monofilético tanto en MP como en IB (58% BS; 0.97 PP). Por el contrario, el resto de muestras de *S. fruticosa* y *S. perennis* aparecen consecutivamente como ramas hermanas al clado de *S. perennis*, careciendo muchas de ellas de apoyo.

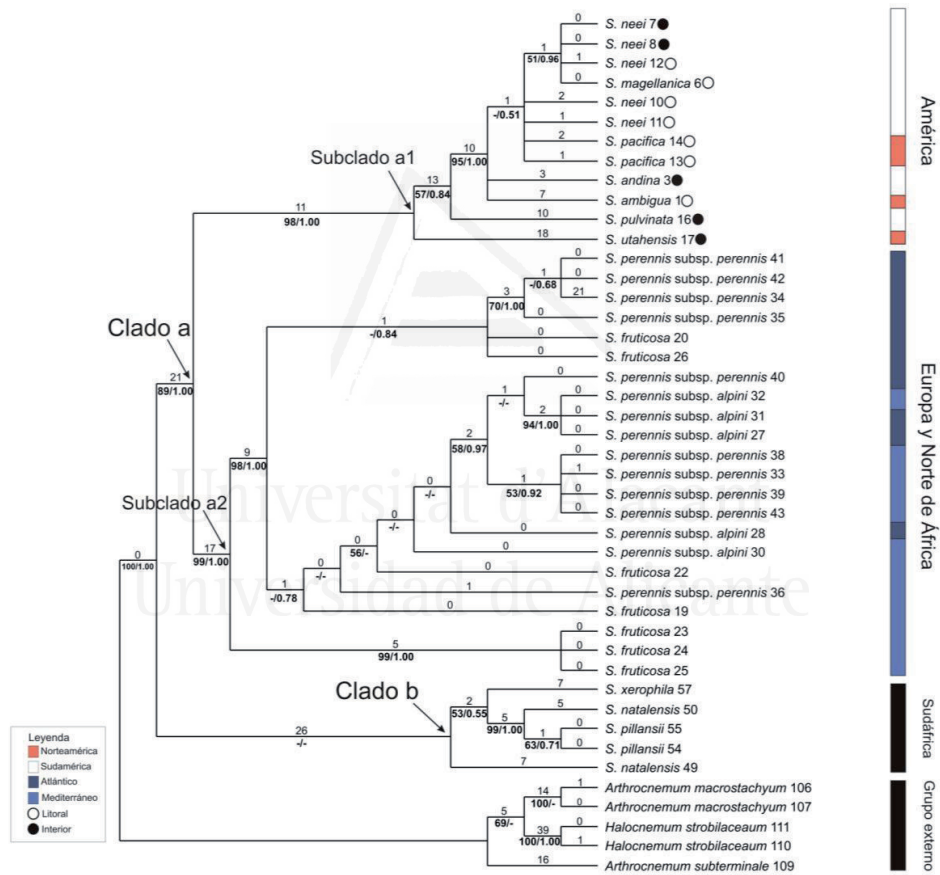


Figura 2.1. Uno de los 674 árboles más parsimoniosos encontrados en el análisis de ITS (longitud del árbol=250 pasos; CI=0.788; RI=0.932). Las longitudes obtenidas en los árboles con pesos iguales (Fitch) se muestran en la parte superior de las ramas. En la parte inferior de las ramas se muestran primero los valores de “bootstrap”, seguidos de las probabilidades posteriores. Un guión (-) denota un clado que presenta un apoyo < 50 en el correspondiente análisis filogenético. Las abreviaturas hacen referencia a *S.* (*Sarcocornia*). La codificación que aparece junto a los ejemplares estudiados, aparece en el apéndice 1.

En el caso del análisis MP, las relaciones de este “subclado a2” son diferentes. En lugar de aparecer únicamente los dos grupos monofiléticos antes descritos, la mayor parte de las relaciones filogenéticas aparecen sin resolver. No obstante se puede observar la presencia de pequeños grupos monofiléticos. El primer clado (70% BS) está constituido únicamente por ejemplares de la subespecie típica de *S. perennis* procedentes de poblaciones atlánticas de Reino Unido (41 y 42) y España (34 y 35). El segundo clado engloba a la mayor parte de las muestras estudiadas, aunque presenta un apoyo muy débil (56% BS). Dentro de este clado, se observa un grupo monofilético conformado por la gran mayoría de ejemplares de las dos subespecies de *S. perennis* de las poblaciones de Aveiro (40), Laguna de Peña Hueca (32), Isla Mayor (31), Caridad (27), Estuario de Aposelemis (38), La Macta (33), Capo Feto (39) y Monastir (43) (58% BS). El resto de ejemplares de *S. perennis* y *S. fruticosa* de las poblaciones de Bonanza (28), Torroella de Montgrí (30), Es Trenc (22), Arles (36) y Agua Amarga (19) aparecen como ramas hermanas al clado mencionado de *S. perennis*, aunque carecen de apoyo por lo que sus relaciones filogenéticas aparecen mayormente colapsadas.

4.1.2. Análisis PHYC

El estudio de PHYC (Figura 2.2) ha dado lugar a un árbol de topología no coincidente con los resultados previos de ITS (Figura 2.1). Por un lado, se puede observar la existencia de un clado conformado por especies tanto americanas como europeas y norteafricanas (*S. neei*, *S. magellanica*, *S. perennis* y *S. fruticosa*), con un fuerte apoyo en ambos análisis (100% BS; 1.00 PP). Por el otro lado, el resto de las muestras analizadas aparecen formando un único grupo monofilético (72% BS; 1.00 PP), donde se aprecian relaciones filogenéticas similares a las indicadas en el análisis de ITS, aunque la posición de algunos táxones y de las poblaciones analizadas es diferente.

Dentro del “clado a” (83% BS, 0.95 PP), se pueden distinguir dos grupos monofiléticos denominados subclados a1 y a2, respectivamente. El “subclado a1” está formado por todas las especies americanas, con la presencia de un único ejemplar de *S. fruticosa* (Agua Amarga, 19) como la rama externa al clado monofilético de las especies americanas (87%BS; 0.99 PP). Dentro del clado de las especies americanas, se aprecia una posición filogenética diferente para *S. neei* (Copiapó, 10), *S. andina* y *S. pulvinata* frente al indicado en ITS. Para la primera de ellas, ésta presenta una posición externa a

todo el clado americano, mientras que *S. andina* y *S. pulvinata* aparecen totalmente embebidas en un clado monofilético formado por *S. neei*, *S. pacifica* y *S. ambigua*, que solo presenta un débil apoyo con IB (0.58 PP).

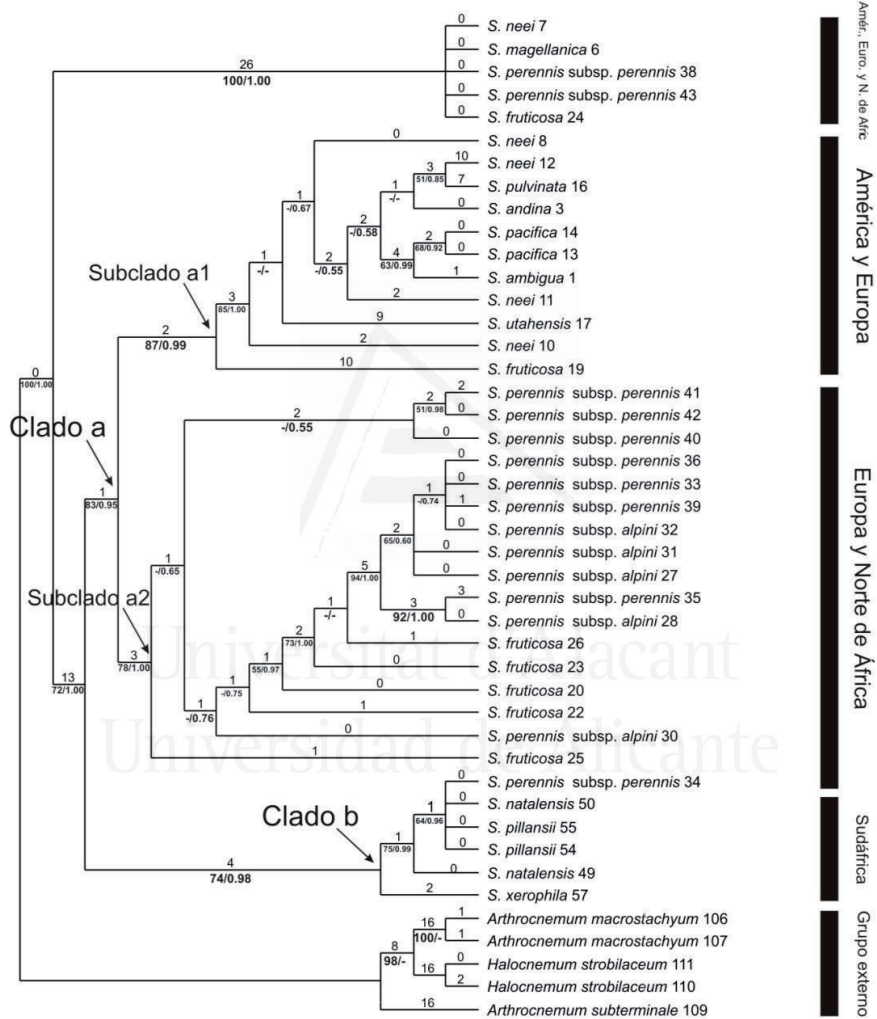


Figura 2.2. Uno de los 20 árboles más parsimoniosos encontrados en el análisis de *PHYC* (longitud del árbol=195 pasos; CI=0.779; RI=0.912). Las longitudes obtenidas en los árboles con pesos iguales (Fitch) se muestran en la parte superior de las ramas. En la parte inferior de las ramas se muestran primero los valores de “*bootstrap*”, seguidos de las probabilidades posteriores. Un guión (-) denota un clado que presenta un apoyo < 50 en el correspondiente análisis filogenético. Las abreviaturas hacen referencia a: S. (*Sarcocornia*), Amér. (América), Euro. (Europa), N. (Norte), Afric. (África) y la codificación que aparece junto a los ejemplares estudiados, aparece en el apéndice 1.

El “subclado a2” está conformado únicamente por las especies *S. fruticosa* y *S. perennis* (78% BS; 1.00 PP), que presenta como rama más externa a la población italiana de Treporti de *S. fruticosa* (25). En su interior, se observan dos subclados principales, cuya presencia está apoyada únicamente con el análisis IB (0.55 y 0.76 PP; respectivamente). El primero de ellos está formado por dos ejemplares de *S. perennis* subsp. *perennis* de Reino Unido (41 y 42) (51% BS; 0.98 PP), junto con el representante de la misma subespecie de la población portuguesa de Aveiro (40). El segundo de ellos agrupa al resto de las poblaciones de *S. perennis* y *S. fruticosa* (0.76 PP). Cabe indicar que dentro de este clado, la mayor parte de las poblaciones de ambas subespecies de *S. perennis* aparecen entremezcladas formando un grupo monofilético tanto en MP como en IB (94% BS; 1.00 PP). Por el contrario, las muestras de *S. fruticosa* aparecen consecutivamente como ramas hermanas al clado de *S. perennis*, sin formar entre ellas, un grupo monofilético.

Conviene destacar la presencia de un ejemplar de *S. perennis* (34) dentro del “clado b” (74% BS, 0.98 PP). Este ejemplar europeo queda inmerso dentro de un clado constituido únicamente por especies sudafricanas de *Sarcocornia*, formando parte de un grupo (64% BS; 0.96 PP) junto con *S. pillansii* y un ejemplar de *S. natalensis*.

4.1.3. Análisis conjunto del plasto: regiones *rpl32-trnL*^(UAG), *trnQ*^(UUG)-*rps16* y *rps16*

Se presenta el árbol resultante del análisis conjunto de las tres regiones plastidiales (Figura 2.3), ya que el resultado es el mismo que el obtenido del estudio por separado de cada una de las regiones. La topología del árbol obtenido es coincidente con los resultados previos de ITS (Figura 2.1), salvo algunas excepciones. En términos generales, se mantiene la existencia de dos clados principales denominados a y b, respectivamente. El “clado a” (100% BS; 1.00 PP) corresponde a las especies americanas y euroasiáticas y el “clado b” (67% BS) a las especies sudafricanas. Así mismo, dentro del “clado a” se puede reconocer la separación de dos subclados monofiléticos denominados a1 (100% BS) en el que se representan todas las especies americanas y a2 (100% BS; 1.00 PP) donde se engloban las europeo-norteafricanas.

En relación con el “subclado a1” (100% BS), la posición de las ramas basales del clado americano varía según el análisis realizado. En MP, *S. utabensis* constituye la rama más externa, seguida del grupo monofilético formado por *S. andina* y *S. pulvinata* (99% BS). Sin embargo, en IB, la rama más externa se corresponde con el clado monofilético *S. andina* y *S. pulvinata* (1.00 PP), seguido de *S. utabensis* (0.63 PP) (el cambio de posición de estas dos ramas no viene reflejado en el árbol de la figura 2.3). Con respecto al resto de especies, todas ellas forman un clado monofilético fuertemente apoyado por ambos análisis (94% BS; 1.00 PP), pero en el que la posición de la especie *S. magellanica* varía atendiendo al análisis realizado. En MP, se distinguen tres líneas evolutivas cuyas relaciones filogenéticas no están resueltas. La primera de ellas está conformada por un clado constituido por *S. neei* (7, 8 y 12) (69% BS), la segunda por un clado formado por *S. neei* (10 y 11), *S. pacifica* (13 y 14) y *S. ambigua* (1) (59% BS) y por último, la tercera rama está constituida solo por *S. magellanica*. Por el contrario, en IB la especie *S. magellanica* forma parte de un clado monofilético junto a la especie *S. neei* (muestras 7, 8 y 12) (0.61 PP), donde aparece como rama externa (posición no mostrada en la figura 2.3). Aparte de *S. magellanica*, el resto de especies americanas aparecen agrupadas en dos clados monofiléticos. El primero (69% BS; 0.98 PP) está conformado por tres ejemplares de *S. neei* de Argentina (7 y 8) y Perú (12), mientras que el segundo (59% BS; 0.96 PP) agrupa el resto de especies, apareciendo el ejemplar de *S. neei* de Copiapó (10) como la rama más externa del clado, en cuyo interior se forma a su vez, otro grupo monofilético (66% BS; 0.91 PP) constituido por las especies *S. ambigua*, *S. neei* (11) y *S. pacifica* (13 y 14).

El “subclado a2” (100% BS; 1.00 PP) muestra la mayor parte de las posiciones filogenéticas sin resolver de las especies europeo-norteafricanas. Únicamente se observa la existencia de dos clados monofiléticos. El primero de ellos (66% BS; 0.94 PP), está constituido por diversos ejemplares de *S. fruticosa* y de ambas subespecies de *S. perennis*, donde se observa nuevamente la aparición de ramas colapsadas, y solo dos de ellas conforman grupos monofiléticos (54% BS; 0.97 PP y 62% BS; 0.98PP) sin patrón geográfico. El segundo de los clados monofiléticos (63% BS; 0.99 PP), lo conforman únicamente dos ejemplares de *S. fruticosa* de Agua Amarga (19) y San Giovanni de Sinnis (23).

Dentro del “clado b”, formado por especies sudafricanas, llama la atención la presencia de la subespecie europea *S. perennis* subsp. *perennis* (34), que se encuentra embebida en el interior de un clado fuertemente apoyado (100% BS; 1.00 PP), formado por la especie *S. natalensis*.

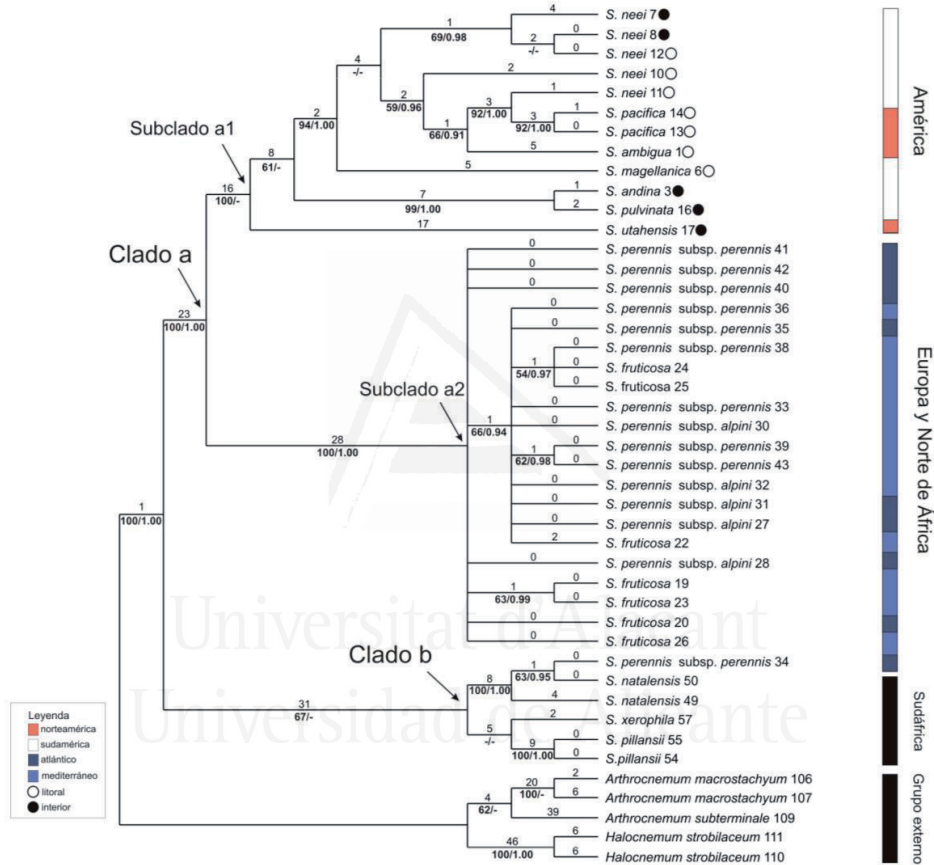


Figura 2.3. Uno de los 12 árboles más parsimoniosos encontrados en el análisis conjunto de *rp/32-trnL*^(UAG), *trnQ*^(UUG)-*rps16* y *rps16* (longitud del árbol=277 pasos; CI=0.910; RI=0.970). Las longitudes obtenidas en los árboles con pesos iguales (Fitch) se muestran en la parte superior de las ramas. En la parte inferior de las ramas se muestran primero los valores de “bootstrap”, seguidos de las probabilidades posteriores. Las abreviaturas hacen referencia a: *S.* (*Sarcocornia*). Un guión (-) denota un clado que presenta un apoyo < 50 en el correspondiente análisis filogenético. La codificación que aparece junto a los ejemplares estudiados, aparece en el apéndice 1.

4.1.4. Análisis conjunto de la región nuclear ITS y regiones plastidiales

Coincidiendo con los anteriores análisis de ITS y del plasto (Figuras 2.1 y 2.3), se pueden diferenciar los clados a y b (100% BS; 1.00 PP y 83% BS, respectivamente) (Figura 2.4), y los subclados a1 y a2 (100% BS; 1.00 PP, en ambos casos) dentro del “clado a”.

Dentro del “subclado a1”, *S. utabensis* constituye la rama más externa del grupo. El resto de muestras forman un grupo monofilético que presenta un apoyo de 86% BS y 1.00 PP. Las especies *S. pulvinata* y *S. andina* no forman un grupo monofilético como ocurría en el plasto (Figura 2.3), sino que constituyen dos ramas hermanas consecutivas al clado constituido por *S. neei*, *S. magellanica*, *S. pacifica* y *S. ambigua* (98% BS; 1.00 PP). Las relaciones en el interior de este último clado son coincidentes con las del plasto (Figura 2.3), apareciendo la especie *S. magellanica* como hermana del grupo monofilético constituido por *S. neei* de Argentina (7 y 8) y Perú (12) (69% BS; 0.99 PP). Al igual que en análisis anteriores, no existe un claro patrón geográfico en este “subclado a1”.

El “subclado a2” (100% BS; 1.00 PP) coincide con el resultado obtenido en ITS (Figura 2.1). Se pueden diferenciar dos grupos monofiléticos (100% BS; 1.00 PP, en ambos casos). El primero de ellos está conformado solo por tres muestras italianas de *S. fruticosa* (23, 24 y 25), mientras que en el segundo de ellos, se agrupan el resto de los ejemplares analizados de las especies *S. fruticosa* y *S. perennis*. Dentro de este último clado, los dos grupos monofiléticos que se forman, están apoyados por los dos análisis realizados (56% BS; 0.92 PP y 56% BS; 0.94 PP, respectivamente). El primero de ellos está formado por la subespecie típica de *S. perennis* y la especie *S. fruticosa* de poblaciones únicamente atlánticas (poblaciones 41, 42, 35, 20 y 26). En segundo lugar, se observa un clado de gran tamaño conformado por el resto de ejemplares de ambas especies estudiadas (56% BS; 0.94 PP), muchas de estas muestras aparecen entremezcladas, sin que se aprecie un claro patrón taxonómico, ecológico o geográfico.

Tal y como ocurre con el análisis plastidial, el mismo ejemplar de *S. perennis* subsp. *perennis* (34) aparece formando parte del “clado b”, que engloba a todas las especies sudafricanas. De nuevo, este ejemplar europeo aparece incluido en el interior del clado conformado por la especie *S. natalensis* (85% BS; 1.00 PP).

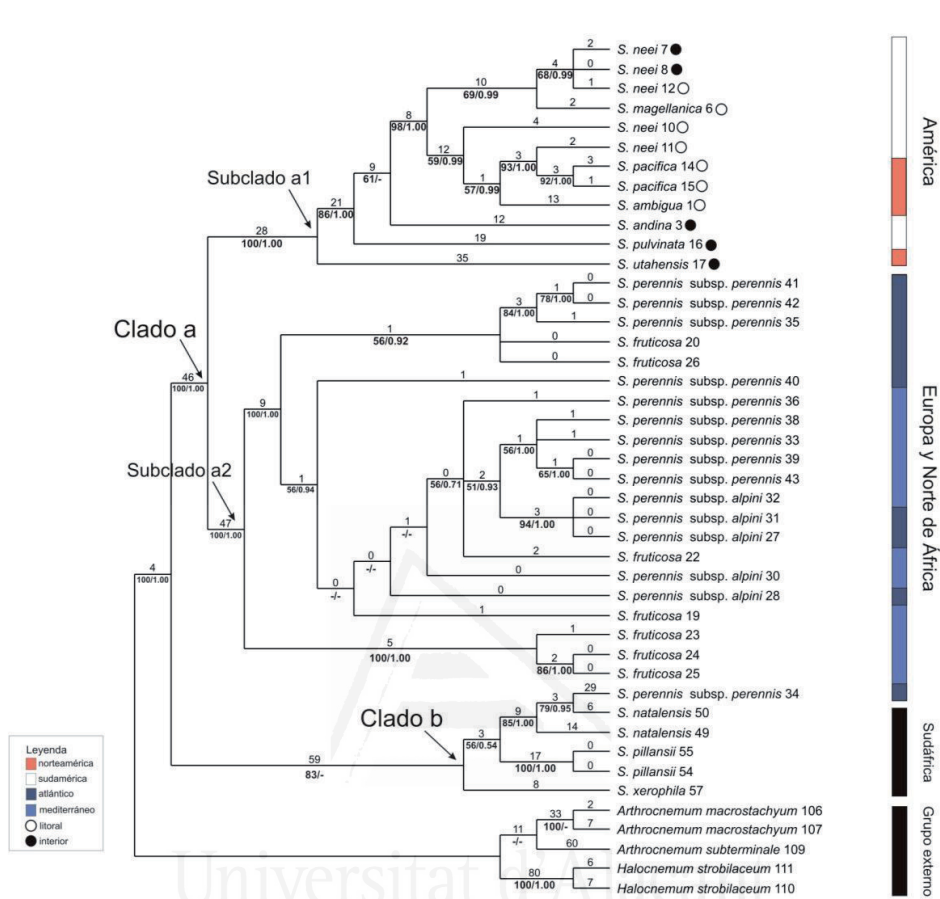


Figura 2.4. Uno de los 1212 árboles más parsimoniosos encontrados en el análisis conjunto de ITS y de las regiones plastidiales (longitud del árbol=555 pasos; CI=0.807; RI=0.934). Las longitudes obtenidas en los árboles con pesos iguales (Fitch) se muestran en la parte superior de las ramas. En la parte inferior de las ramas se muestran primero los valores de “bootstrap”, seguidos de las probabilidades posteriores. Un guión (-) denota un clado que presenta un apoyo < 50 en el correspondiente análisis filogenético. Las abreviaturas hacen referencia a: *S.* (*Sarcocornia*) La codificación que aparece junto a los ejemplares estudiados, aparece en el apéndice 1.

4.2. Estudio de los táxones de distribución europea-norteafricana con la técnica AFLP

El árbol de NJ muestra una separación muy clara entre dos grupos (Figura 2.5), que se corresponderían con las especies *S. fruticosa* y *S. perennis* con un apoyo de 100% BS en cada uno de los grupos. En el grupo *S. fruticosa* se diferencian tres grupos correspondientes con las poblaciones de PET, EBR y COR, que en el caso de COR está dividida en dos subgrupos (con apoyos de 80%, 94%, 98 y 91% BS,

respectivamente). En el grupo de *S. perennis*, se pueden distinguir dos grupos claros. El primero de ellos está constituido únicamente por los ejemplares de la población del Mediterráneo oriental, APO (61% BS). El segundo grupo lo conforman los ejemplares del resto de poblaciones de *S. perennis* analizadas de ARE, CHC y YEG (95% BS), sin que se aprecie un patrón geográfico claro. Cabe destacar que los ejemplares de la población YEG, que se corresponden con *S. perennis* subsp. *alpini*, aparecen embebidos dentro de este grupo.

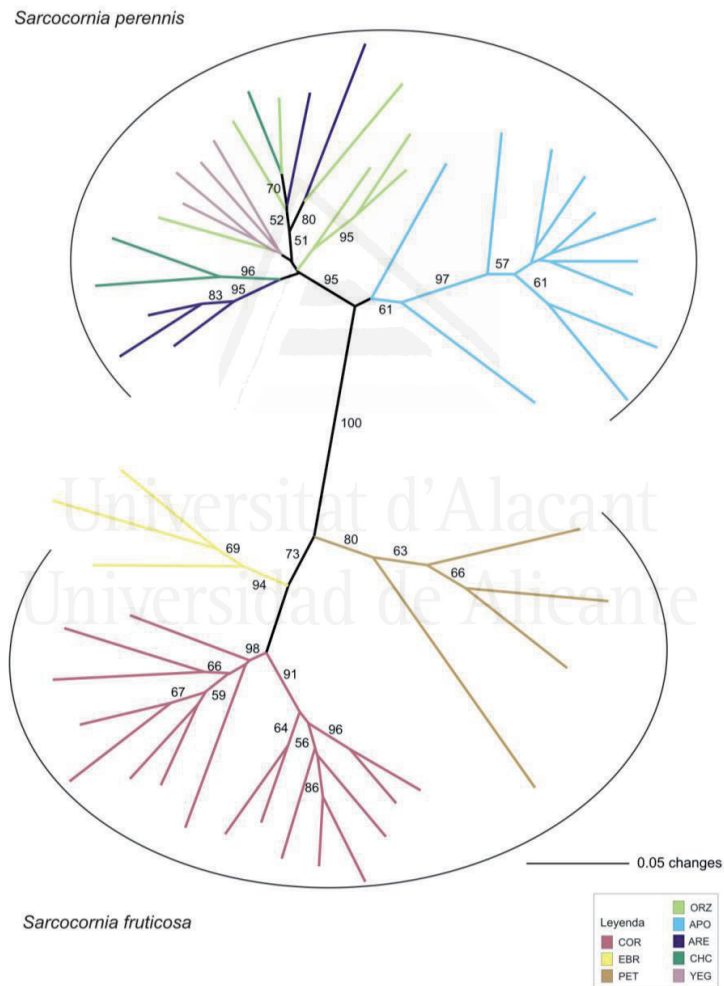


Figura 2.5. Árbol NJ sin enraizar para las ocho poblaciones estudiadas de *Sarcocornia fruticosa* y *Sarcocornia perennis* basado en la distancia de NEI & LI (1979). En las ramas se indica el apoyo BS. Las abreviaturas de las poblaciones aparecen indicadas en el apartado 3.2.1 de este capítulo.

El análisis de coordenadas principales (PCOA) muestra una notable estructuración en dos grupos (Figura 2.6), en donde los dos primeros ejes explican el 81.72% de toda la variabilidad genética. Las poblaciones de COR, EBR y PET constituyen el primer grupo, y las de ORZ, ARE, CHC, APO y YEG, el segundo. Tales grupos se corresponderían con *S. fruticosa* y *S. perennis*, respectivamente. Conviene señalar que la población YEG correspondiente a la subespecie *S. perennis* subsp. *alpini* aparece totalmente entremezclada entre el resto de las poblaciones de *S. perennis* subsp. *perennis* (Figura 2.6).

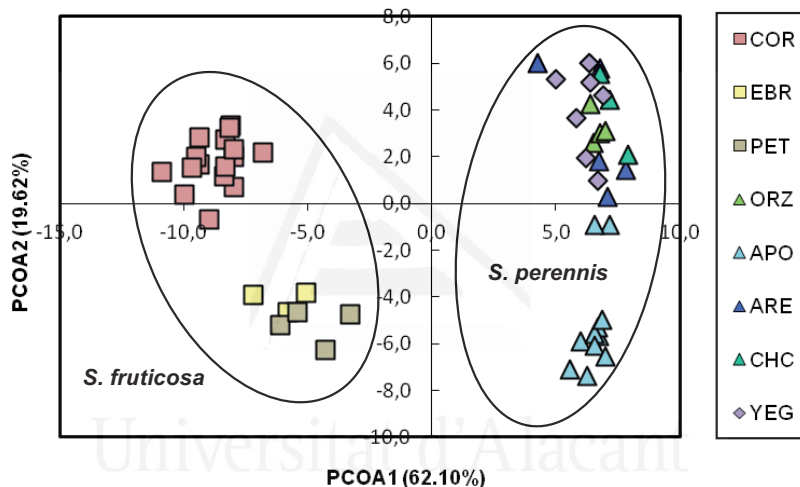


Figura 2.6. PCOA usando los fenotipos de los AFLP estudiados. Las muestras analizadas están representadas por un símbolo de acuerdo al taxon estudiado. La proporción de varianza total aparece junto al eje correspondiente. Las abreviaturas de las poblaciones aparecen en el apartado 3.2.1 de este capítulo.

Los resultados obtenidos tanto con NJ como con PCOA están apoyados con BAPS, donde se vuelve a observar una separación clara entre los dos grupos ya identificados, sin que exista introgresión entre ellos. No obstante, este análisis bayesiano identifica la presencia de cuatro grupos ($K=4$; *Log-marginal likelihood*: -4967.0576), correspondiéndose dos de ellos a *S. fruticosa* y los otros dos a *S. perennis* (Figura 2.7). De los dos grupos asociados a *S. fruticosa*, el primero de ellos está conformado únicamente por los ejemplares de la población del interior de la península ibérica COR, y el segundo con los individuos de las poblaciones litorales de EBR y PET. En *S. perennis*, el primer grupo está constituido por los ejemplares de las poblaciones de CF, YEG, ARE y CHC;

y el segundo, únicamente por los individuos de APO, en donde se puede ver que existe cierta mezcla con el anterior grupo de *S. perennis*.

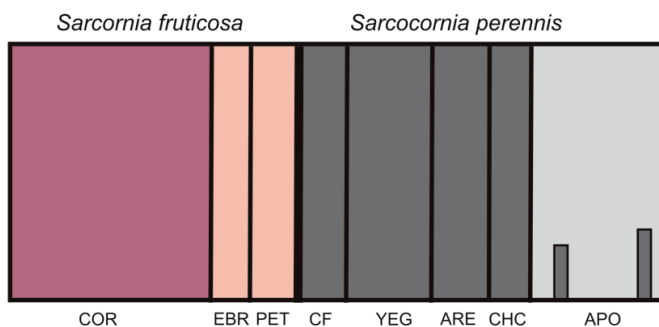


Figura 2.7. Resultado del análisis con BAPS de *Sarcocornia fruticosa* y *Sarcocornia perennis*. Los individuos están representados por barras verticales del mismo color que el grupo al que pertenecen. El grupo 1 (color granate: individuos de COR) y grupo 2 (color rosa: individuos de EBR y PET) corresponden a *S. fruticosa*, y el grupo 3 (color gris oscuro: individuos de CF, YEG, ARE y CHC) y grupo 4 (color gris claro: individuos de APO) a *S. perennis*. Las abreviaturas de las poblaciones aparecen en el apartado 3.2.1 de este capítulo.

El número de alelos privados es elevado en cada uno de los grupos analizados que corresponderían a los táxones *S. fruticosa* y *S. perennis* (Tabla 2.2). Es importante señalar que, la población de YEG, tratada tradicionalmente como *S. perennis* subsp. *alpini*, tan solo muestra un alelo privado de los 26 que posee en total *S. perennis*. Los resultados del AMOVA señalan un porcentaje de variación muy semejante entre táxones y dentro de los táxones (Tabla 2.3), siendo estos valores significativos ($P < 0.001$).

Tabla 2.2. Número de alelos privados (Npal) en *Sarcocornia fruticosa* y *Sarcocornia perennis*. Las abreviaturas de las poblaciones aparecen indicadas en el apartado 3.2.1 de este capítulo.

Especie	Poblaciones	Npal	Especie	Poblaciones	Npal	Poblaciones	Npal
<i>S. fruticosa</i>	COR	5	<i>S. perennis</i>	YEG	1	CHC	1
	EBR	4		ORZ	5		
	PET	18		APO	16		
	Total	27		ARE	3	Total	26

Tabla 2.3. Análisis de la varianza (AMOVA) de las poblaciones de *Sarcocornia fruticosa* y *Sarcocornia perennis* basado en AFLP.

Fuente de la variación	df	Suma de los cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación
Entre táxones	1	622.007	22.84596	45.70
Dentro de táxones	51	1384.635	27.15970	54.30
Total	52	2006.642	49.99566	100.00

5. DISCUSIÓN

5.1. Relaciones filogenéticas entre las especies americanas y las especies europeas y norteafricanas en el género *Sarcocornia*

El estudio de las especies del género *Sarcocornia* no resulta una tarea fácil; su cormo adaptado a un modo de vida extremo ha provocado una convergencia morfológica en las especies descritas (KÜHN *et al.*, 1993). Tal es el caso de las especies distribuidas en América, Europa y el Norte de África. De hecho, desde la descripción de *Salicornia ambigua* (MICHAUX, 1803), han sido muchos los táxones descritos y utilizados en el continente americano –unos 18 táxones– (MICHAUX, 1803; LAGASCA, 1817; KUNTH, 1818; SCHULTES, 1822; DIETRICH, 1831; MEYEN, 1834; MOQUINTANDON, 1840; UNGERN-STERNBERG, 1866; LORENTZ & NIEDERLEIN, 1881; PHILIPPI, 1891, 1895; SPEGAZZINI, 1902; FRIES, 1905; REICHE, 1911; TILDESTROM, 1913; STANDLEY, 1914; ULBRICH, 1934; SORIANO, 1947; SCOTT, 1977; GIUSTI, 1984, 1997), lo que ha generado una gran confusión taxonómica. Incluso, se han llegado a citar especies europeas en el continente americano (UNGERN-STERNBERG, 1866; WATSON, 1874; PHILIPPI, 1895; SPEGAZZINI, 1902; WEBERBAUER, 1911; ULBRICH, 1934; SORIANO, 1947; LEÓN & ALAIN, 1951; WIGGINS & PORTER, 1971; SCOTT 1977; WIGGINS, 1980; FERREYRA, 1983; GIUSTI, 1984, 1997; BRAKO & ZARUCCHI, 1993; KAHN *et al.*, 1993; BORHIDI, 1996; CANO *et al.*, 1998; MOSTACERO *et al.*, 2002; BALL, 2003; HOKCHE *et al.*, 2008). Recientemente, ALONSO & CRESPO (2008) realizaron una revisión taxonómica y nomenclatural del género *Sarcocornia* en Sudamérica, aceptando la existencia de tan solo cinco táxones, entre los que no se incluyen las especies europeas *S. perennis* y *S. fruticosa*. A través del estudio morfológico, estos autores encuentran caracteres que hacen posible la distinción entre las especies sudamericanas, así como entre éstas y las europeas y norteafricanas. Por ejemplo, utilizan características

relacionadas con el hábito, la presencia de tallos enraizantes, las inflorescencias y las semillas para distinguir entre parejas de especies como *S. ambigua* y *S. perennis*, o como *S. neei* y *S. fruticosa*, que se habían tratado como meros sinónimos por diversos autores (ULBRICH, 1934; SCOTT 1977; DAVY *et al.*, 2006). En el caso de Norteamérica, BALL (2003) cita la presencia de tres especies del género *Sarcocornia*: *S. pacifica*, *S. utahensis* y *S. perennis*. Advirtiéndose de nuevo controversias, ya que este autor comenta la dificultad a la hora de diferenciar entre *S. pacifica* y *S. perennis*.

Los resultados del estudio filogenético realizado confirman lo dicho por ALONSO & CRESPO (2008), y refuerzan los datos preliminares obtenidos por JUAN *et al.* (2007) y KADEREIT *et al.* (2006, 2007), con respecto a la ausencia de táxones europeos del género *Sarcocornia* en el continente americano. Con todas las regiones empleadas (a excepción de PHYC), se pone de manifiesto una clara separación filogenética entre las especies americanas y las europeo-norteafricanas, al conformar ambas dos clados monofiléticos (Figuras 2.1, 2.3 y 2.4) con apoyos muy elevados, con independencia del análisis realizado (98-100% BS; 1.00 PP). Así pues, tanto desde un punto de vista molecular como morfológico, se puede afirmar la existencia de una clara separación taxonómica entre las especies americanas y las europeas y norteafricanas, pudiéndose afirmar que en el continente americano no están presentes los táxones *S. perennis* y *S. fruticosa*.

Sin embargo, este resultado no se ve claramente reflejado con el análisis de la región nuclear PHYC (Figura 2.2). En este caso, ciertas muestras de *S. fruticosa* y *S. perennis* subsp. *perennis* aparecen entremezcladas con muestras americanas. Este hecho puede observarse tanto en el clado conformado únicamente por estas especies americanas (presente en todas las regiones analizadas bajo la denominación de “subclado a”), como en un clado monofilético originado solo con esta región. Una posible explicación para la formación de estos clados puede estar basada en la presencia de copias parálogas que originen clados no congruentes. Tal y como comentan SMALL *et al.* (2004), ésta es una de las principales desventajas de trabajar con genes de copia baja. De esta manera, y una vez identificado el problema, se optó por repetir nuevamente el protocolo de clonación con aquellas muestras que presentaban una posición no congruente con el resto de las regiones analizadas. Los diferentes clones

obtenidos se secuenciaron con el objetivo de encontrar más de una copia. Sin embargo, con los resultados obtenidos en dichas secuenciaciones, no se pudo diferenciar entre distintas copias para la región amplificada de *PHYC*. Por este motivo, los resultados basados en *PHYC* han de tomarse de manera orientativa, y no se pueden utilizar actualmente para basar las decisiones sobre las relaciones filogenéticas en este grupo de plantas. Por el momento, se queda a la espera de conseguir la misma copia de la región amplificada del exón para todas las muestras incluidas en el estudio.

5.2. Relaciones filogenéticas entre las especies europeas y norteafricanas de *Sarcocornia*

La ausencia de organización taxonómica en el clado formado por las especies europeas y norteafricanas de *Sarcocornia*, aparece reflejada en las distintas regiones analizadas (Figuras 2.1, 2.3 y 2.4). Por una parte, no se observa una diferenciación filogenética clara entre las especies *S. fruticosa* y *S. perennis*. Además, las dos subespecies descritas para *S. perennis* tampoco constituyen clados monofiléticos separados, sino que aparecen embebidas en el seno del género *Sarcocornia* entremezcladas tanto con *S. fruticosa*, como con la subespecie típica de *S. perennis*. Por otra parte, se podría estar observando la formación de clados que corresponderían más bien a una estructuración geográfica. Tanto con el análisis de ITS, como con el análisis molecular conjunto, se observa una cierta tendencia a separar las poblaciones atlánticas de las mediterráneas (Figuras 2.1 y 2.4). La formación del clado constituido únicamente por ejemplares de poblaciones atlánticas distribuidas desde Lanzarote hasta el Reino Unido, sería un ejemplo de ello.

El hecho de observar una ausencia de estructuración filogenética podría estar reflejando una evolución no jerárquica de estas plantas. SHEPHERD *et al.* (2005a) observaron este mismo hecho entre las especies endémicas de la subfamilia *Salicornioideae* en Australia. En el caso de Europa y Norte de África, esta falta de estructuración podría deberse al hecho de que este género se encuentre actualmente en proceso de diversificación, por lo que todavía no se podrían observar relaciones filogenéticas claras. Recientemente, se ha realizado una afirmación similar a la hipótesis aquí planteada para el grupo de plantas australianas de la tribu *Camphorosmeae* Moq. perteneciente a la familia *Amaranthaceae* (CABRERA *et al.*, 2009).

Los fenómenos hibridativos entre especies podrían estar también contribuyendo a esta falta de diferenciación filogenética. Tal y como otros autores ya han comentado (FIGUEROA *et al.*, 2003; SHEPHERD *et al.*, 2003, 2005a; KADEREIT *et al.*, 2006), la hibridación es muy frecuente dentro de la subfamilia *Salicornioideae*. La presencia de polinización anemógama en estas plantas estaría favoreciendo el flujo genético, y la reducción en la variación genética entre táxones (SHEPHERD *et al.*, 2005a). CASTROVIEJO & LAGO (1992) señalan la existencia de individuos híbridos en *Sarcocornia* para la península ibérica atendiendo a su dotación cromosómica. En el caso de las especies sudafricanas de *Sarcocornia* se ha visto que los fenómenos hibridativos son muy comunes (TÖLKEN, 1967; O'CALLAGHAN, 1992; STEFFEN *et al.*, 2010), existiendo una clave de identificación de estos híbridos en el trabajo de TÖLKEN (1967). Los fenómenos de hibridación han sido una de las fuerzas que han moldeado algunas de las especies típicas de saladares (BALL & TUTIN, 1959; DALBY, 1962, 1975; TÖLKEN, 1967; CONTANDRIOPOULOS, 1968; HEKMAT-SHOAR, 1978; CASTROVIEJO & COELLO, 1980; WILSON, 1980; WOLF & JEFFERIES, 1987; CASTROVIEJO & LAGO, 1992; O'CALLAGHAN, 1992; FIGUEROA *et al.*, 2003; SHEPHERD & YAN, 2003; SHEPHERD *et al.*, 2005a; DAVY *et al.*, 2006; KADEREIT *et al.*, 2006; STEFFEN, 2006; STEFFEN *et al.*, 2010). Relacionado con la hibridación, se encuentra el fenómeno de la ploidización, muy común también en la subfamilia *Salicornioideae* (SHEPHERD & YAN, 2003; SHEPHERD *et al.*, 2005a), provocando en muchos casos, el solapamiento de caracteres morfológicos, aunque también puede favorecer la colonización de territorios nuevos, y la posterior diversificación de estas especies, puesto que se pueden producir fenotipos variables que puedan tolerar un rango mayor de ambientes (STEBBINS, 1971; LYNCH, 1984).

De este modo, las especies reconocidas del género *Sarcocornia* europeas y norteafricanas podrían estar mostrando la presencia de un gran flujo genético entre las distintas poblaciones que estaría contribuyendo al éxito de estas plantas en los ambientes extremos en los que crecen, y también podrían estar reflejando la existencia de un “*pool*” genético relativamente reciente, que todavía no se habría diferenciado. Sin embargo, no es posible identificar clados monofiléticos que agrupen a cada uno de los táxones estudiados. Por lo que el uso de las herramientas filogenéticas con las regiones

empleadas no permite diferenciar entre las dos especies descritas para Europa y Norte de África, así como tampoco, entre *S. perennis* subsp. *perennis* y *S. perennis* subsp. *alpini*.

El uso de una herramienta molecular diferente –AFLP–, sí que ha permitido confirmar desde el punto de vista molecular, la presencia de dos especies en el clado del género *Sarcocornia* europeo y norteafricano. A pesar de tratarse de resultados basados en un número reducido de poblaciones mediterráneas y atlánticas, los datos obtenidos apoyan el uso de AFLP como una herramienta útil para la diferenciación genética a nivel taxonómico (MARTÍNEZ-ORTEGA *et al.*, 2004; KOOPMAN, 2005; KOOPMAN *et al.*, 2007; BOG *et al.*, 2010). De esta manera, la existencia de *S. fruticosa* y *S. perennis* queda confirmada, a la espera de los resultados obtenidos en el capítulo 3, que caractericen desde un punto de vista morfológico ambas especies. En relación con las dos subespecies de *S. perennis*, los resultados obtenidos apuntan hacia el reconocimiento de una única entidad taxonómica. Esta última afirmación, no se encuentra en consonancia con algunos autores que tras haber realizado un estudio molecular con la técnica de RAPD, reconocen la existencia de dos subespecies en el seno de *S. perennis* (DAVY *et al.*, 2006).

5.2.1. Un caso de introgresión en la península ibérica

En los resultados obtenidos con los análisis de las regiones nucleares, y plastidiales, como con el análisis molecular conjunto, se puede observar la posición cambiante de un ejemplar de la especie *S. perennis* de Ría de Villaviciosa (34). En el análisis de la región nuclear de ITS aparece junto a las especies de *Sarcocornia* europeas y norteafricanas, mientras que en los análisis plastidiales forma parte del clado sudafricano de *Sarcocornia* apareciendo siempre junto con la especie *S. natalensis*. Puesto que el ADN plastidial en angiospermas se hereda únicamente por vía materna y el ADN ribosómico-nuclear es biparental (SANG, 2002; PLEINES *et al.*, 2009), para el caso aquí descrito, la planta masculina procedería de la población española de la Ría de Villaviciosa (Asturias), mientras que la femenina sería sudafricana.

De esta forma, la situación planteada podría explicarse mediante la llegada a la península ibérica de la especie sudafricana *S. natalensis*, con la que *S. perennis* aparece en los cladogramas. *S. natalensis* presenta una distribución costera que va desde el sur de

Mozambique hasta Namibia (STEFFEN *et al.*, 2010), por lo que una posible hipótesis acerca de cómo llegó esta planta hasta la península ibérica, sería vía marítima mediante la acción del hombre. Se sabe que las semillas y las inflorescencias de especies muy cercanas: *Salicornia pusilla* y *S. dolichostachya*, pueden flotar durante varios meses (DALBY, 1963; HILTON, 1975 en DAVY *et al.*, 2001); además, ciertas aves acuáticas (e.g. limícolas, anátidas) se alimentan de ellas (DAVY *et al.*, 2001), siendo la Ría de Villaviciosa un enclave de vital importancia para las comunidades de aves acuáticas migradoras e invernantes (ARCE, 2010); y también, se ha descrito el transporte de polen de *S. quinqueflora* mediante abejas (*Apis mellifera* L.) (ADAM *et al.*, 1987). De todas las posibilidades, la opción más plausible, sería la de una llegada por vía antrópica, posiblemente a través de barcos que hiciesen una ruta pasando por estos dos puntos geográficos.

Por una parte, Sudáfrica ha tenido una larga historia de ocupación colonial por parte de Gran Bretaña durante el siglo XIX (BISSIO, 1977), siendo la expoliación de los recursos mineros uno de los principales promotores de las acciones colonizadoras (ADLER *et al.*, 2007). Los viajes hacia tierras coloniales, tal vez, sean una posible explicación a la llegada de *S. natalensis* al norte de España. Por otra parte, hay que comentar que Asturias también ha tenido una gran tradición minera (PARRONDO, 2002), y tal vez, éste sea el vínculo entre ambas ubicaciones, aunque no se puede demostrar que haya sido la vía de entrada de la especie sudafricana. Lo que sí es cierto, es que tanto Sudáfrica como Asturias han sido explotaciones auríferas durante mucho tiempo, por lo que pudo existir alguna interacción entre ambos sitios. De cualquier forma, ha existido un fenómeno de introgresión en esta población asturiana, y muy probablemente la llegada de la especie sudafricana a España tuvo que producirse de forma antrópica.

5.3. Relaciones filogenéticas entre las especies americanas de *Sarcocornia*

El estudio filogenético ha mostrado la formación de un clado conformado por las especies americanas, que es bastante similar en todos los análisis aquí realizados (Figuras 2.1, 2.3 y 2.4). En el estudio combinado de ITS y regiones plastidiales (Figura 2.4), se puede apreciar una tendencia a separar aquellas especies que presentan una

distribución litoral de las que crecen en el interior del continente americano. En el primer grupo, se encontrarían las especies *S. ambigua*, *S. magellanica*, *S. neei* y *S. pacifica*, y en el segundo, las especies *S. andina*, *S. pulvinata*, *S. utabensis* y *S. neei*. Hay que indicar que *S. neei* es la única especie que se distribuye tanto por territorios litorales (costa Pacífica desde Perú hasta Chile), como por áreas del interior del continente, en zonas bajas ubicadas principalmente en Argentina (ALONSO & CRESPO, 2008). De esta manera, se diferencia un clado monofilético, que se corresponde con las especies costeras (a excepción de dos ejemplares de *S. neei* que también crecen en zonas de interior), y un segundo grupo constituido por las ramas más externas del clado americano, donde se encuentran aquellos táxones que crecen en áreas de interior a mayor altitud (ALONSO & CRESPO, 2008). Este patrón ecológico se puede observar también en los resultados previos de KADEREIT *et al.* (2006, 2007), aunque en su propuesta filogenética no incluyeron todas las especies americanas, como *S. pulvinata* y *S. magellanica*. Desde un punto de vista biogeográfico, la especie *S. utabensis* aparece en todos los análisis realizados como la rama más externa del clado americano (Figuras 2.1, 2.3 y 2.4 de este capítulo; KADEREIT *et al.*, 2006, 2007). Estos resultados estarían apuntando hacia que *S. utabensis* fue la primera especie en colonizar el continente americano, produciéndose posteriormente un proceso de diversificación que se vería favorecido por el desarrollo de estas plantas en hábitats costeros como se verá con mayor detalle en el apartado 5.4 de este capítulo.

En relación con las tres especies que crecen en áreas del interior y a grandes altitudes, los resultados filogenéticos apoyarían el reconocimiento de los tres táxones aceptados (*S. andina*, *S. pulvinata* y *S. utabensis*). Cada uno constituye una línea filogenética en los análisis realizados, con la excepción del análisis del plasto, donde *S. andina* y *S. pulvinata* conforman un clado monofilético. Morfológicamente, se trata de tres táxones fácilmente reconocibles (BALL, 2003; KADEREIT *et al.*, 2006; ALONSO & CRESPO, 2008). Todos ellos crecen en hábitats caracterizados por bajas temperaturas, a las que hacen frente con hábitos pulvinados o cespitosos como en *S. pulvinata* y *S. andina*, respectivamente, o con la presencia de fuertes tallos leñosos y radicantes como en *S. utabensis* (BALL, 2003; KADEREIT *et al.*, 2006). También, se han descrito caracteres micromorfológicos distintivos en relación con las semillas, que presentan pelos

adpresos en *S. andina* y papilas en *S. pulvinata* y *S. utabensis* (BALL, 2003; KADEREIT *et al.*, 2006). De esta manera, tanto los resultados moleculares obtenidos, como los morfológicos (BALL, 2003; KADEREIT *et al.*, 2006; ALONSO & CRESPO, 2008) confirmarían la identidad taxonómica de estas tres especies. Esta afirmación se ve también apoyada por la distribución restringida que presentan *S. andina* y *S. pulvinata*. Ambas especies son endemismos que crecen a más de 2000 m de altitud, formando parte de lagunas endorreicas o de grandes extensiones de suelos salinos en Argentina, Bolivia, Chile y Perú (ALONSO & CRESPO, 2008). En el caso de *S. utabensis*, su distribución se limita al Gran Lago Salado (Utah) a 1300 m de altitud (KOWALEWSKA & COHEN, 1998), aunque también se ha citado en Méjico, Nuevo Méjico y Tejas (BALL, 2003).

En relación con el grupo de especies costeras, las relaciones filogenéticas no se encuentran resueltas, ya que ninguna de las especies descritas conforma un grupo monofilético o una línea monofilética en los análisis realizados. Por ejemplo, la especie *S. magellanica* se encuentra íntimamente relacionada con *S. neei* en los análisis de ITS y en el análisis molecular conjunto, mientras que en el análisis de las regiones plastidiales constituye una rama externa al grupo de *S. neei*. La posición de *S. ambigua* también varía según el análisis realizado. En el análisis plastidial y conjunto aparece embebida dentro del grupo de especies costeras, y en ITS constituye una rama hermana de *S. andina* y del clado de las especies costeras. Por último, *S. neei* y *S. pacifica* muestran una relación filogenética muy cercana que se mantiene en todos los análisis realizados. De esta manera, y desde un punto de vista filogenético, el grupo constituido por las especies *S. magellanica*, *S. ambigua*, *S. neei* y *S. pacifica* no presenta resolución, por lo que no apoyaría en principio, la organización taxonómica aceptada actualmente. Sin embargo, atendiendo a la morfología, sí se reconoce la existencia de estos cuatro táxones a nivel específico (BALL, 2003; ALONSO & CRESPO, 2008). Ante esta situación, sería conveniente ampliar el estudio filogenético a nuevas regiones nucleares y plastidiales, que ofrezcan una mayor resolución. No obstante, otra opción plausible sería utilizar otras herramientas moleculares, como los AFLP, a la vista de los datos obtenidos para este género en Europa y Norte de África.

5.4. Biogeografía del género *Sarcocornia* en América, Europa y Norte de África

La historia biogeográfica de *Sarcocornia* en América, Europa y Norte de África no puede explicarse sin tener en cuenta al resto de especies que conforman este género, así como también al género *Salicornia*, al que se encuentra íntimamente unido, tal y como se ha demostrado en el capítulo 1.

La distribución de los géneros *Sarcocornia* y *Salicornia* a lo largo de costas, saladares de interior y regiones áridas alrededor del mundo es indicativa de la habilidad de los géneros que componen la subfamilia *Salicornioideae* a dispersarse entre lugares muy distantes (SHEPHERD *et al.*, 2004; 2005a; KADEREIT *et al.*, 2005a, 2006, 2007). Algunos trabajos han propuesto diversas hipótesis sobre la biogeografía y diversificación de este grupo de plantas a lo largo de toda su área de distribución (SHMIDA, 1985; AKHANI *et al.*, 1997; SHEPHERD *et al.*, 2004; 2005a; KADEREIT *et al.*, 2005a, 2006, 2007). Los datos más antiguos relacionados con el clado *Salicornia/Sarcocornia* son de dos fósiles del Cretácico Superior ubicados entre los pisos Santoniano y Maastrichtiano [entre 85.8 y 70.6 Millones de años (Ma)] (SHEPHERD *et al.*, 2004; KADEREIT *et al.*, 2005a; CEVALLOS-FERRIZ *et al.*, 2008). Se trata de polen encontrado en Canadá de la especie *Polyporina cribaria* perteneciente a la familia *Chenopodiaceae* (SRIVASTAVA, 1969), y de semillas encontradas al sur de Suecia pertenecientes a la familia *Amaranthaceae* (COLLINSON *et al.*, 1993). Respecto al registro de las semillas, existen dudas sobre su validez, ya que según COLLINSON *et al.* (1993) sería necesario realizar una descripción completa que apoyase este registro, que no se encuentra publicado.

Recientemente, se ha indicado que la subfamilia *Salicornioideae* se habría originado después de la ruptura de Gondwana (hace aproximadamente 180 Ma) (KADEREIT *et al.*, 2003). Este dato estaría en concordancia con AKHANI *et al.* (1997), quienes comentan que algunas tribus de la tradicional familia *Chenopodiaceae*, que actualmente corresponderían a la familia *Amaranthaceae* (APG III, 2009), estuvieron distribuidas en el supercontinente Gondwana (BOBROV, 1965; CAROLIN, 1982). El siguiente dato cronológico sobre la subfamilia *Salicornioideae* está relacionado con su separación de la subfamilia *Suaedoideae*, con la que tiene una relación parafilética

(KADEREIT *et al.*, 2003). Se ha estimado que dicha separación ocurrió a finales del Eoceno/principios del Oligoceno (38.2-28.7 Ma), por lo que se estima que la mayoría de los grandes linajes de la subfamilia *Salicornioideae* se habrían originado entre finales del Oligoceno y mediados del Mioceno (26.0-14.6 Ma) (KADEREIT *et al.*, 2006). SHMIDA (1985) comentó un origen más reciente para la familia *Chenopodiaceae*, comprendido entre el Mioceno y el Plioceno (23-1.8 Ma). Sin embargo, AKHANI *et al.* (1996) no aceptaron esta datación, puesto que la mayoría de los grupos pertenecientes a la familia *Chenopodiaceae*, como *Salicornioideae*, *Chenopodieae*, *Camphorosmeae*, *Beteae*, *Polycnemeae*, *Sclerolaeneae*, presentan un metabolismo fotosintético C₃ en su distribución en el Nuevo Mundo y Australia (CAROLIN *et al.*, 1975). Por tanto, su aparición tendría que haber sido anterior, puesto que el metabolismo C₃ apareció antes que el C₄ (AKHANI *et al.*, 1997). Como consecuencia, la aparición del posible ancestro del clado *Salicornia/Sarcocornia* debería de encontrarse en algún momento comprendido entre finales del Oligoceno y mediados del Mioceno (26.0-14.6 Ma), y la diversificación del clado *Salicornia/Sarcocornia* a mediados del Mioceno (14.4-9.4 Ma) (KADEREIT *et al.*, 2006).

Coincidiendo con KADEREIT *et al.* (2006), los datos obtenidos apuntan a que en primer lugar se produjo la aparición del género *Sarcocornia*, y posteriormente, de *Salicornia* (Figuras 1.1, 1.2 y 1.3). Este último, probablemente, se separó de *Sarcocornia* en algún momento comprendido entre mediados y finales del Mioceno (9.4-5.3 Ma), aunque sus linajes no comenzaron a diversificarse hasta principios del Pleistoceno (2.5-1.4 Ma) (KADEREIT *et al.*, 2006, 2007). En relación con el lugar donde apareció *Salicornia*, KADEREIT *et al.* (2007), comentan un origen del género en Eurasia, puesto que la primera rama en diversificarse atendiendo a sus resultados, se corresponde con el grupo de “*Salicornia crassa*”, que se distribuye por Eurasia. Esta misma relación es la que se presenta en la figura 1.2. Sin embargo, con los resultados obtenidos en el capítulo 1 (Figuras 1.1, 1.2 y 1.3), no es posible afirmar a partir de qué grupo de plantas del género *Sarcocornia* se produjo la diversificación de *Salicornia*, puesto que según la región analizada, la posición del clado *Salicornia* cambia. Esta posición cambiante del clado de *Salicornia* aparece también reflejada en otros trabajos (SHEPHERD *et al.*, 2004; KADEREIT *et al.*, 2006, 2007).

El origen y diversificación del género *Sarcocornia* también ha sido motivo de análisis (SHEPHERD *et al.*, 2004; 2005a; KADEREIT *et al.*, 2005a, 2006, 2007). Para KADEREIT *et al.* (2006), el origen de este género se encuentra en Eurasia, puesto que la subfamilia *Salicornioideae* debió de aparecer en algún lugar de Eurasia, a lo largo del margen norte del mar Tetis. Esta hipótesis se basa en dos argumentos: por una parte, la mayoría de los linajes que aparecieron inicialmente (incluyendo *Kalidium*, linaje *Halocnemum/Halostachys* y *Halopeplis*) se encuentran distribuidos en Eurasia; y por otra parte, las primeras ramas en diversificarse en la subfamilia *Suaedoideae* (*Bienertia* Bunge, *Suaeda* sect. *Schanginia* Volken, *Borszczowia*, *Schoberia*, *Physophora* y *Suaeda* subgen. *Suaeda*) se encuentran igualmente restringidas a Eurasia (SCHÜTZE *et al.*, 2003). Hace unos 7.5-6.6 Ma, *Sarcocornia* habría llegado desde el área mediterránea al continente americano mediante dispersión por larga distancia (KADEREIT *et al.*, 2006). Esta procedencia mediterránea se explicaría por la relación cercana que existe entre el grupo de *Sarcocornia* europeo y norteafricano, con el americano en los cladogramas presentados con independencia de la región empleada (Figuras 1.1, 1.2, 1.3, 2.1, 2.3 y 2.4), y que se encuentra en concordancia con KADEREIT *et al.* (2006).

Dentro del continente americano, *Sarcocornia* ha colonizado mayoritariamente los hábitats costeros (KADEREIT *et al.*, 2006; ALONSO & CRESPO, 2008), aunque también ha llegado hasta zonas del interior, tal es el caso de las especies *S. utabensis*, *S. andina*, *S. neei* y *S. pulvinata*. Puesto que en los análisis realizados, la rama más externa del clado constituido por las especies americanas de *Sarcocornia* es *S. utabensis*, todo parece indicar que ésta fue la primera especie en diversificarse en América, exactamente en la zona del Gran Lago Salado (Utah, Estados Unidos). Este origen de diversificación dentro del continente americano no parece improbable. DAVIS & MOUTOUX (1998) comprobaron la presencia de polen de la familia *Amaranthaceae* (expresado en su trabajo como polen de *Chenopodiaceae-Amaranthus*) en la zona del Gran Lago Salado durante los períodos del Terciario (65-2.6 Ma) y del Cuaternario (2.6 Ma), corroborando la posible presencia del ancestro del clado americano en Utah, lugar donde fue descrita *S. utabensis* (TILDESTROM, 1913). Durante el Mioceno (23-5.3 Ma), el porcentaje de polen de la familia *Amaranthaceae* fue en aumento, hasta convertirse en dominante junto con el de *Artemisia* L. y otras compuestas durante el Plioceno (5.3-2.6 Ma) y principios del

Pleistoceno (2.6 Ma), que son las épocas en las que se formó la vegetación desértica en esta zona (DAVIS & MOUTOUX, 1998). La dispersión del género hacia el resto de áreas en las que crece actualmente, podría explicarse mediante dispersión por larga distancia. Se ha comprobado que semillas del género *Salicornia* son capaces de flotar durante varios meses y luego establecerse en hábitats adecuados (DALBY, 1963; PETCH & SWANN, 1968; HILTON, 1975; SMITH, 1985; DAVY *et al.*, 2001). Además, en el continente americano, durante el período de tiempo comprendido entre el Mioceno y mediados del Plioceno (23-4 Ma) no se había producido todavía la formación ni del istmo de Panamá ni del istmo de Tehuanpec (Méjico), lo que pudo favorecer la dispersión de muchos organismos entre las dos Américas (COATES & OBANDO, 1996; BARRIER *et al.*, 1998; GRAHAM, 2010; JOHNSON & WECKSTEIN, 2011; SYMMANK *et al.*, 2011; CORREA-METRIO *et al.*, 2012). De este modo, tanto por el océano Pacífico, como por el Atlántico, pudo producirse la dispersión de *Sarcocornia*, llegando a las costas pacíficas (*S. pacifica*, *S. neei*, *S. magellanica*) y a las atlánticas (*S. ambigua*, *S. magellanica*). La llegada hasta los Andes, como también, a las tierras bajas del interior, principalmente de Argentina, donde crece actualmente *S. neei*, pudo verse favorecida por la situación en la que se encontraba Sudamérica a mediados del Mioceno (13-11 Ma). Durante esta época, el continente no estaba totalmente emergido, sino que existían varios mares (Paranaense, Pebas y Amazónico), que separaban el Macizo de Brasilia, el Macizo de Guyana, los Proto-Andes y la Patagonia (ANTONELLI *et al.*, 2009).

La llegada de las especies *S. andina* y *S. pulvinata* a los Andes supone que estas especies se encontraban en estos territorios antes que la cordillera se elevase. El origen de los Andes está claramente relacionado con la subducción de la placa de Nazca bajo el borde occidental de América del Sur (99.6-70.6 Ma) (SEYFRIED *et al.*, 1998; RAMOS, 1999; FOLGUERA *et al.*, 2002). El Altiplano, que es la zona en la que crecen estas especies, es parte de la cadena andina, y por lo tanto, su origen es el resultado de procesos asociados con la subducción similar a los que se conocen en otras regiones de los Andes (CHARRIER & MUÑOZ, 1997). La superficie altiplánica se habría formado primero por erosión de un relieve preexistente, y segundo, por el relleno de depósitos sedimentarios y volcánicos. Dicha aparición se habría producido en una región deprimida y elongada, probablemente endorreica, desarrollada entre la cordillera

oriental y la cordillera occidental volcánica entre finales del Oligoceno y principios del Mioceno (24 Ma), además del alzamiento provocado por el sistema de fallas inversas convergentes al oeste del borde occidental del Altiplano (entre 16 y 4 Ma) (HÉRAIL *et al.*, 1990; SEMPERE *et al.*, 1990; ALLMENDINGER *et al.*, 1997; CHARRIER & MUÑOZ, 1997).

En relación con el género *Sarcocornia* en la zona europea y norteafricana, la ausencia de estructuración genética en los árboles filogenéticos, podría estar indicando que dentro de este grupo de plantas, no hubiese finalizado el proceso de diferenciación genética, frente a las especies americanas que sí muestran una mayor estructuración genética, sobre todo en el caso de las especies que crecen en el interior del continente. De hecho, no se observan clados monofiléticos constituidos por los táxones descritos para Europa y Norte de África, aunque el resultado de los AFLP muestra que sí existe una separación en dos especies. La radiación del género *Sarcocornia*, tuvo lugar durante el Mioceno, separándose de *Salicornia* a finales de este período (9.4-5.3 Ma) (KADEREIT *et al.* 2006). Esta radiación desde la región Euroasiática, donde se encontraban los ancestros de estos linajes (KADEREIT *et al.* 2006), pudo verse favorecida por un aumento en la aridez regional, durante el cual, el mar Mediterráneo se convirtió en un saladar (KOVAR-EDER *et al.*, 2008). La llegada del género *Sarcocornia* al área mediterránea occidental y costa atlántica de Europa, parece ser que tuvo lugar en, al menos, dos momentos de colonización independientes. Atendiendo a los resultados (Figuras 2.1 y 2.4), se puede observar que, por una parte, se produjo la llegada del género a la región italiana (Cerdeña, Grosseto, Venecia), representada por un clado fuertemente apoyado, que siempre aparece como una rama externa basal del clado europeo-norteafricano, y por otra parte, al resto de áreas geográficas en las que se distribuye el género *Sarcocornia*. Dentro del clado constituido por la mayor parte de las poblaciones de *S. fruticosa* y *S. perennis*, se observan tendencias geográficas, no taxonómicas. Este hecho estaría favorecido por la predominante presencia de estas especies en hábitats costeros, y su notable adaptación a dispersarse tanto en ambientes acuáticos, como a través de aves acuáticas migratorias (WILSON, 1980, 1984; HORTAS, 1997; GREEN *et al.*, 2002). No obstante, no hay que olvidar la crisis de salinidad del Messinense (5.95-5.33 Ma; HSÜ, 1972; BERTOLANI-MARCHETTI, 1985; WEIJERMARS, 1988; KRIJGSMAN, 2002) y las

condiciones climáticas durante el último periodo glaciario (100000-10000 años; KADEREIT *et al.*, 2005b). Con todo ello, parece que las corrientes marinas podrían haber intervenido también en la estructuración geográfica de estas plantas (BOND *et al.*, 2005; KADEREIT *et al.*, 2005a). Un ejemplo de ello sería el clado constituido únicamente por poblaciones atlánticas (Chichester, Morston, Playa de Sancti Petri, Órzola y Larache), tanto de *S. perennis* como de *S. fruticosa* (Figuras 2.1 y 2.4). Si todos los ejemplares atlánticos estudiados se encontrasen en un único clado monofilético, se podría hablar de una diferenciación genética posiblemente causada por el estrecho de Gibraltar. De hecho, son numerosos los casos de especies vegetales litorales que apoyarían esta separación genética y geográfica (e.g. *Cakile maritima* Scop., *Eryngium maritimum* L., *Halimione portulacoides* (L.) Aellen y *Salsola kali* L., KADEREIT *et al.*, 2005b). Otro punto a considerar es la división en dos cuencas del área mediterránea a partir de Sicilia, que ha sido reconocida tanto para organismos terrestres como marinos (MARKGRAF, 1934; RIKLI, 1946; ZOHARY, 1973; BORSA *et al.*, 1997; GARIBALDI & CADDY, 1998; BIANCHI & MORRI, 2000). Esta separación se ve representada en un clado formado por *S. perennis* con las poblaciones más orientales de la cuenca mediterránea (Estuario de Aposelemis, Capo Feto y Monastir) (Figuras 2.1 y 2.4). Las poblaciones del Mediterráneo occidental aparecen tanto conformando clados, como es el caso de las poblaciones atlánticas comentadas, o constituyendo ramas hermanas de estos clados, sin formar un grupo monofilético (Figuras 2.1 y 2.4). La formación del clado de poblaciones orientales podría estar relacionada con el hecho de que la isla de Sicilia formó parte de un puente de tierra entre las placas africanas y eurasiática durante el Terciario, que desapareció a finales del Mioceno-principios del Plioceno (6-4 Ma) (PFENNINGER *et al.*, 2010; LO PRESTI & OBERPRIELER, 2011). Posteriormente, la desecación del Mediterráneo durante la crisis de salinidad del Messiniense (HSÜ, 1972; KRIJGSMAN, 2002), y la apertura del estrecho de Gibraltar, con la consecuente reinundación del mar Mediterráneo (hace aproximadamente 5.33 Ma; HSÜ, 1972; KRIJGSMAN, 2002; RYAN, 2009), provocó que las placas africanas y euroasiáticas permanecieran separadas (WALLMANN *et al.*, 1988; GIRAUDI, 2004; CASSAR *et al.*, 2008). Ambos eventos, pudieron facilitar la dispersión de esta planta, y explicar su distribución a lo largo del mar Mediterráneo, a los cuales siguieron la expansión de la vegetación xero-heliofítica durante el Cuaternario (11000 años) (CARRIÓN *et al.*, 2000).



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Capítulo 3.

Estudio morfológico del género *Sarcocornia* en la
cuenca mediterránea y costa atlántica

1. INTRODUCCIÓN

El estudio morfológico del género *Sarcocornia* en su distribución mediterránea y atlántica ha sido abordado desde el siglo XVII. Varios autores prelinneanos se centraron en los táxones del grupo *Salicornia-Sarcocornia*, por lo que han sido muchos los polinomios que se han utilizado para designar los táxones de este agregado (BAUHIN, 1623; MAGNOL, 1676; TOURNEFORT, 1703; SAUVAGES, 1751). De las dos especies actualmente aceptadas, *S. perennis* ha sido la más variable en cuanto al número de nombres que ha recibido, utilizándose durante mucho tiempo el nombre de *Salicornia radicans* Sm. (SMITH, 1807). De hecho, en algunas obras recientes se sigue utilizando esta nomenclatura (COSTE, 2007). En el caso de *S. fruticosa*, el nombre asignado inicialmente por Linneo (LINNEO, 1762) es el que ha permanecido hasta la actualidad sin muchas variaciones.

LINNEO (1753) utilizó el nombre de *Salicornia*, tomado de TOURNEFORT (1703) para designar varias especies de este género. LINNEO (1753) describe *S. europaea* L. con dos variedades: *S. europaea* var. *herbacea* L., en la que se encontraban las especies anuales [*Salicornia annua* (SAUVAGES, 1751)] y *S. europaea* var. *fruticosa* L., para las especies perennes [*Kali geniculatum majus* (BAUHIN, 1623); *Salicornia sempervirens* (SAUVAGES, 1751)]. En la segunda edición de la obra *Species Plantarum*, LINNEO (1762) subió el rango de *S. europaea* var. *fruticosa* al de especie, tratándola como *S. fruticosa* (L.) L., incluyendo en ella como sinónimos los táxones de SAUVAGES (1751) y BAUHIN (1623). De forma paralela, GOUAN (1762) describió una variedad perenne en *S. europaea* var. *perenne* Gouan, que se correspondía con *Kali geniculatum maius sempervirens* de MAGNOL (1676), *Salicornia geniculata sempervirens* Tourn. (TOURNEFORT, 1703) y *Salicornia sempervirens* Sauv. ex Steud. (SAUVAGES, 1751), tratándose, por lo tanto, de la misma especie descrita por LINNEO (1762). Asimismo, WILLDENOW (1797) describió *Salicornia fruticosa* Willd. junto con otras especies de *Salicornia*. LAGASCA (1817) también describió *Salicornia anceps* Lag., una especie muy parecida a *Salicornia fruticosa* (L.) L., que sinonimizó a *Salicornia fruticosa* Willd., también empleada por PERSOON (1805). De las tres variedades que TENORE (1831) describió dentro de *Salicornia fruticosa*, α *glaucescens* Ten. podría coincidir con *S. fruticosa*, atendiendo a la descripción dada por este autor. Por último, MOQUINTANDON (1840) realizó la primera monografía de la familia *Chenopodiaceae*, donde

incluyó algunos táxones perennes de *Salicornia* en el nuevo género *Arthrocnemum*, y en el caso de *S. fruticosa* lo hizo como *Arthrocnemum fruticosum* (L.) Moq., ampliando su distribución a “*In maritimis Europae et Africae septentrionales*”.

En relación con *Sarcocornia perennis*, la primera publicación del binomio *Salicornia perennis*, se debe a MILLER (1768), quien recogió las descripciones y comentarios de RAY (1696, 1724). El nombre asignado por MILLER (1768) se corresponde con el tipo del género *Sarcocornia* asignado por SCOTT (1977) (GUILLÓ *et al.*, 2011). Esta especie ha tenido varios nombres en uso. El primero de ellos fue *Salicornia herbacea* β asignado por SMITH (1800) a una especie anual. Posteriormente, SMITH (1807) la describió como *Salicornia radicans* Sm., dándole el carácter perenne a la especie anteriormente referida. TENORE (1831) describió diferentes variedades dentro de *Salicornia fruticosa*, una de ellas (β *humilis* Ten.), coincide con la descripción de *S. perennis*. Posteriormente, DUVAL-JOUVE (1868) la sinonimizó a su *Salicornia sarmentosa* Duval-Jouve. Este último autor añadió a la sinonimia de *S. sarmentosa* “an *S. radicans* Smith (non auct. Gall.)?” indicando una posible afinidad a *S. perennis*. Sin embargo, DUVAL-JOUVE (1868) describió su nueva especie de manera muy detallada, facilitando de este modo su identificación con *S. perennis* (GUILLÓ *et al.*, 2011). MOQUIN-TANDON (1840) no hizo ninguna mención a *S. perennis*, aunque la especie descrita como *Arthrocnemum fruticosum* var. *radicans* (Sm.) Moq., coincide con ésta. Cabe señalar que la separación de los táxones perennes de *Salicornia* realizada por MOQUIN-TANDON (1840) fue adoptada por UNGERN-STERNBERG (1866), aunque realizando algunos cambios. WOODS (1851) describió la especie *Salicornia lignosa* Woods, que es considerada un sinónimo de *S. perennis* atendiendo a características de la testa de la semilla (GUILLÓ *et al.*, 2011).

Más recientemente, en el siglo XX, el estudio morfológico de las especies de *Sarcocornia* en la cuenca mediterránea y costas atlánticas se ha llevado a cabo por muchos autores, formando parte en la mayoría de las ocasiones de Floras (COUTINHO, 1939; MAIRE & QUÉZEL, 1962; QUÉZEL & SANTA, 1963; ZOHARY, 1966; BALL, 1967, 1993; LAUSI, 1982; MEIKLE, 1985; VALDÉS *et al.*, 1987b, 2002; BOLÒS & VIGO, 1990; CASTROVIEJO, 1990; STACE, 1991; TAN, 1997; AIZPURU *et al.*, 1999; BOULOS, 1999; FREITAG, 2000; COSTE, 2007; JEANMONOD & GAMISANS, 2007; SÁNCHEZ-GÓMEZ & GUERRA, 2007; FIELDING & TURLAND, 2008; MATEO & CRESPO, 2009; CABELLO,

2011), de artículos (CASTROVIEJO & COELLO, 1980; RIVAS-MARTÍNEZ, 1988; CASTROVIEJO & LAGO, 1992; DAVY *et al.*, 2006; FUENTE *et al.*, 2011; GUILLÓ *et al.*, 2011, 2012a,b) o de Tesis Doctorales (REDONDO, 2004). En todos ellos, se acepta la presencia de una o dos especies, que son *S. fruticosa* y *S. perennis*, que atendiendo al criterio taxonómico seguido, aparecen tratadas en distintos niveles jerárquicos (e.g. especie, variedad). El trabajo que acepta un mayor número de táxones es *Flora Iberica* (CASTROVIEJO, 1990), con la presencia de un nuevo taxon, que ha sido considerado como subespecie de *S. perennis* con la denominación de *S. perennis* subsp. *alpini* (Lag.) Castrov. (CASTROVIEJO & COELLO, 1980; VALDÉS *et al.*, 1987b; CASTROVIEJO, 1990; REDONDO, 2004; COSTA *et al.*, 2009) o como especie, *S. alpini* (RIVAS-MARTÍNEZ, 1988; CASTROVIEJO & LAGO, 1992; AIZPURU *et al.*, 1999; VALDÉS *et al.*, 2002; DAVY *et al.*, 2006; SÁNCHEZ-GÓMEZ & GUERRA, 2007; MATEO & CRESPO, 2009; CABELLO, 2011; FUENTE *et al.*, 2011). Este taxon, también, se ha citado dentro de la cuenca mediterránea en Marruecos (VALDÉS *et al.*, 2002; MOLERO & MONTSERRAT, 2006) e Italia (BIONDI *et al.*, 2010). Además, también se cuenta en la bibliografía con las descripciones de *Sarcocornia fruticosa* var. *deflexa* C. Lahondère & Gamisans (LAHONDÈRE & GAMISANS, 1988; GÉHU & BIONDI, 1994; LAHONDÈRE, 2004) y *S. hispanica* Fuente, Rufo & Sánchez Mata (FUENTE *et al.*, 2011), esta última especie descrita recientemente para el territorio de la península ibérica.

La presencia de una gran plasticidad fenotípica dentro del género *Sarcocornia* en su área de distribución mediterránea y atlántica, junto con la formación de complejos poliploides (CASTROVIEJO & COELLO, 1980; CASTROVIEJO & LAGO, 1992; SHEPHERD & YAN, 2003), hacen que el estudio taxonómico de este grupo de plantas sea muy complicado. De hecho, son varios los autores que han puesto de manifiesto la dificultad a la hora de diferenciar entre las especies *S. fruticosa* y *S. perennis* (LAUSI, 1982; BOLÒS & VIGO, 1990; BALL, 1993). También, se ha puesto en tela de juicio la existencia de las dos subespecies en *S. perennis* por falta de caracteres morfológicos que permitan diferenciarlas y por la ausencia de un patrón geográfico y ecológico (LÓPEZ GONZÁLEZ, 1997). Por otra parte, la propuesta de *S. hispanica* como nueva especie para la península ibérica, ha suscitado la problemática de la distribución del género *Sarcocornia* en la península ibérica, ya que el área de distribución de esta nueva especie (FUENTE *et*

al., 2011) es plenamente coincidente con lo citado para *S. fruticosa* por otros autores (ÁLVAREZ ROGEL, 1997; ALONSO & DE LA TORRE, 2002; SALAZAR *et al.*, 2002; LENDÍNEZ *et al.*, 2011). Además del hecho que morfológicamente, el taxon más cercano a *S. hispanica* es *S. fruticosa*, tal y como se deriva de la diagnosis de la nueva especie.

Toda esta problemática relacionada con la diferenciación entre los distintos táxones descritos de *Sarcocornia* en el área de la cuenca mediterránea y costas atlánticas, pone de manifiesto la dificultad para trabajar con estas plantas.

El tratamiento taxonómico que han recibido las plantas del género *Sarcocornia* estudiadas en este capítulo, en relación con caracteres morfológicos, ha sido diverso. Los géneros empleados para designar a estas plantas han sido *Salicornia* (COUTINHO, 1939; MAIRE & QUÉZEL, 1962; QUÉZEL & SANTA, 1963; MEIKLE, 1985; FREITAG, 2000; COSTE, 2007), *Arthrocnemum* (ZOHARY, 1966; LAUSI, 1982; BOLÒS & VIGO, 1990; BALL, 1967, 1993) y *Sarcocornia* (CASTROVIEJO & COELLO, 1980; VALDÉS *et al.*, 1987a,b, 2002; CASTROVIEJO, 1990; STACE, 1991; CASTROVIEJO & LAGO, 1992; TAN, 1997; BOULOS, 1999; AIZPURU, *et al.*, 1999; REDONDO, 2004; DAVY *et al.*, 2006; JEANMONOD & GAMISANS, 2007; SÁNCHEZ-GÓMEZ & GUERRA, 2007; FIELDING & TURLAND, 2008; MATEO & CRESPO, 2009; CABELLO, 2011; FUENTE *et al.*, 2011). Esta variabilidad taxonómica refleja la elevada complejidad que presentan estas plantas a la hora de realizar un estudio morfológico. En la actualidad, el conjunto de caracteres que permiten identificar el género *Sarcocornia* diferenciándolo de *Salicornia* y *Arthrocnemum* son: el carácter perenne y la presencia de todas las flores al mismo nivel en el artejo fértil, que distinguen *Sarcocornia* de *Salicornia* y la presencia de semillas con tricomas y sin perisperma que diferencian *Sarcocornia* de *Arthrocnemum*.

2. OBJETIVOS

El presente capítulo se ha centrado en el estudio morfológico de las plantas del género *Sarcocornia* en su distribución mediterránea y atlántica, como también en las implicaciones en su taxonomía. Por ello, los objetivos que se plantearon fueron:

- Realizar una caracterización morfológica de las poblaciones del género *Sarcocornia* distribuidas por la cuenca mediterránea y costa atlántica.
- Aclarar la identidad taxonómica de los táxones del género *Sarcocornia* en el área mediterránea y atlántica.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio morfológico se ha realizado sobre un total de 63 localidades distribuidas por la cuenca mediterránea y litoral atlántico. En cada una de estas localidades, puede haber entre una y nueve poblaciones de *Sarcocornia* (Apéndice 3, Figura 3.1), entre las que también se encuentran las poblaciones estudiadas en el capítulo 2. Con el fin de realizar el análisis morfológico de manera objetiva, las muestras se estudiaron *a priori* como una única entidad taxonómica. De este modo, se analizaron cada uno de los caracteres a nivel poblacional, por lo que la exposición de los resultados hace referencia a grupos morfológicos o morfotipos.

3.1. Obtención y estudio del material vegetal

El material vegetal utilizado proviene de dos fuentes. Por una parte, se han realizado observaciones en poblaciones naturales de diferentes localidades (Apéndice 3), aunque el muestreo más sistemático se ha realizado en la cuenca mediterránea occidental (Figura 3.1). El material recolectado ha sido procesado e incluido en el herbario oficial de la Universidad de Alicante (ABH). Por otra parte, se han revisado alrededor de 800 pliegos procedentes de los siguientes herbarios: de la Universidad de Alicante (ABH), Ginebra (G), Jardín Botánico Nacional de Santo Domingo (JSBD), Royal Botanic Gardens, Kew (K), la Plata (LP), Real Jardín Botánico de Madrid (MA), Facultad de Farmacia de Madrid (MAF), Jardín Botánico de Missouri (MO), Museo Nacional de Historia Natural de Chile (SGO), Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima (USM), Florida (USF), Utah (UTC), Jardín Botánico de Valencia (VAL), Museo de Historia Natural de Viena (W) (acrónimos de acuerdo con THIERS, 2012).

Las medidas morfológicas se han tomado de manera diferente, dependiendo de si se trataba de caracteres macroscópicos o microscópicos. El estudio de los caracteres macroscópicos vegetativos y reproductivos procede tanto de observaciones realizadas en campo como en pliegos de herbario. Se han estudiado aquellos caracteres morfológicos utilizados tradicionalmente en los trabajos florísticos y tratamientos taxonómicos del género y géneros afines (MAIRE & QUÉZEL, 1962; QUÉZEL & SANTA, 1963; FERGUSON, 1964; TÖLKEN, 1967; CASTROVIEJO & COELLO, 1980; LAUSI, 1982; MEIKLE, 1985; CASTROVIEJO, 1990; CASTROVIEJO & LAGO, 1992; O'CALLAGHAN,

1992; FREITAG, 2000; SHEPHERD *et al.*, 2005a,b; DAVY *et al.*, 2006; ALONSO & CRESPO, 2008; STEFFEN *et al.*, 2009, 2010), también, se ha ampliado el estudio sobre otros caracteres no empleados habitualmente para este grupo de plantas. Algunos de los caracteres han supuesto la realización de recuentos o el uso de una regla milimetrada (ver detalles en los apartados 3.2.2 y 3.2.3 de este capítulo), estas mediciones y recuentos se han realizado empleando una lupa binocular Olympus SZX12 con micrómetro incorporado.

En el caso de los caracteres micromorfológicos, el material vegetal utilizado procede de material prensado, que ha sido estudiado usando un microscopio óptico (Olympus SX 212) con cámara adaptada y la técnica de microscopía electrónica de barrido (MEB). De esta manera, ha sido posible estudiar el material sin la necesidad de tratarlo de ninguna manera especial ni para su conservación, ni para su pertinente observación con esta técnica. El montaje de las muestras se ha realizado directamente sobre el portaobjetos especial del Microscopio Electrónico de Barrido (MEB, JEOL 840), al que queda fijado con la ayuda de un adhesivo conductor. Tras su metalización con una fina capa de oro, las muestras están preparadas para su estudio. Con este método la conservación de las muestras sólo precisa de almacenamiento en un desecador o en un recipiente hermético sin humedad. Las medidas realizadas se expresan en intervalos, indicándose primero el dato correspondiente a la media mínima y en segundo lugar, el de la máxima. Cuando se nombran las poblaciones en el texto, se indica el nombre de la población o municipio junto con la sigla identificativa, que aparece recogida en el apéndice 3 y en la figura 3.1.

3.2. Caracteres macromorfológicos

3.2.1. Hábito y ramas vegetativas

El hábito se ha determinado siempre en campo, a través del estudio de plantas vivas, pues es una característica que es imposible estudiar adecuadamente a partir de material de herbario. Se ha medido la altura de la planta, expresada en centímetros, se ha valorado la posición de las ramas principales en referencia al suelo y la presencia de tallos enraizantes. Además, se ha observado la presencia o ausencia de raíces adventicias.

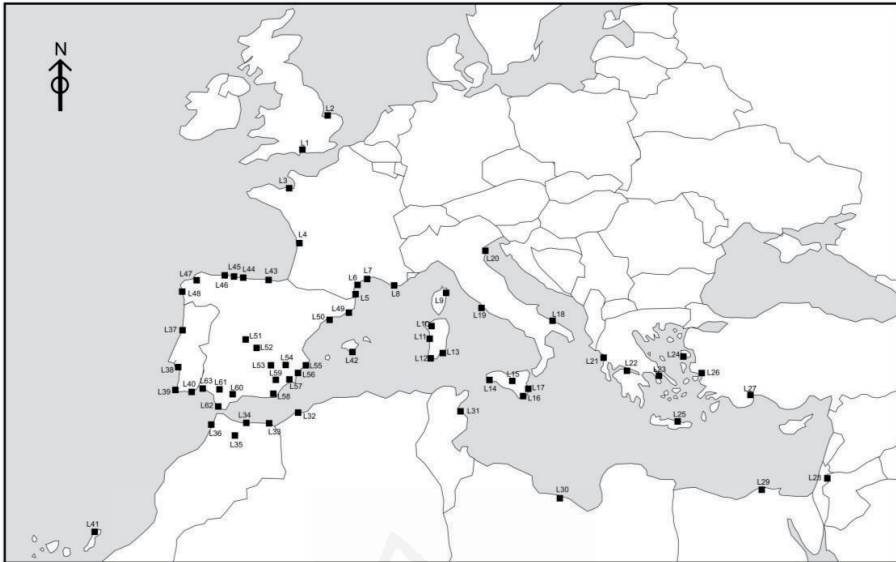


Figura 3.1. Distribución de las localidades estudiadas. El nombre de cada localidad (L) aparece en el apéndice 3.

3.2.2. Hojas vegetativas

La observación de las hojas vegetativas se ha realizado tanto en material fresco como de pliego. Se ha utilizado el término “artejo” para designar la superficie foliar que cubre todo el entrenudo. El tamaño de los artejos (longitud \times anchura) expresado en milímetros, se ha medido con una regla milimetrada sobre cinco artejos escogidos de cada pliego, estudiando entre uno y cinco pliegos de cada localidad. La forma, ápice, presencia de quilla y coloración de los artejos también han sido estudiados.

3.2.3. Caracteres reproductivos

El estudio de las inflorescencias ha consistido en la medición del tamaño de las espigas (longitud \times anchura), entendiéndose por inflorescencia aquellas espigas que presentan cimas sésiles de 3 flores, formando inflorescencias tanto laterales como terminales. También, se ha contabilizado por recuento directo el número de espigas laterales por rama, número de artejos estériles bajo las espigas laterales y el número de flores por cima. Éstas están incrustadas en la parte inferior de un artejo fértil. En los artejos fértiles de las espigas terminales, se ha medido, con una regla milimetrada la distancia desde la parte superior de la flor central de la cima hasta la parte superior del

artejo. De las flores, se ha observado el número y morfología del estigma, el número de estambres y la longitud de las anteras. Por último, se ha estudiado el tipo de fruto y su relación con el perianto, atendiendo a las indicaciones de SHEPHERD *et al.* (2005b). Todas las medidas y observaciones se han realizado en un número de pliegos comprendido entre uno y cinco de cada localidad. Las medidas realizadas de longitud y anchura se han expresado en milímetros.

3.3. Caracteres micromorfológicos

3.3.1. Características de los estomas

Se ha estudiado la superficie foliar de 452 individuos usando pliegos de herbario, que presentan una distribución por la cuenca mediterránea y por la costa atlántica (Figura 3.1).

a. Morfología estomática

La morfología estomática se ha observado en la zona del envés foliar central para cada artejo estéril sobre fotografías del MEB realizadas a 1500 aumentos. Siguiendo la metodología aplicada por DELF (1911), la zona elegida para su observación ha sido la que se encuentra entre los niveles C y D, correspondiéndose justo con la zona central, donde la morfología de los estomas se mantiene estable (Figura 3.2).

Con el fin de corroborar que el procedimiento seguido en la preparación de las muestras para su observación con el MEB, no altera la morfología de las células anexas, se han recolectado en campo muestras frescas, sobre las que se ha procedido a su estudio con la técnica del desprendimiento de cutícula (ROSS & PAWLINA, 2007). Ésta se ha teñido con azul de anilina específico para lípidos, y por tanto, membranas. Las cutículas se han observado en un microscopio óptico con cámara adaptada (Olympus SX 212) a 40 aumentos. Las imágenes observadas se han fotografiado para su mejor estudio. La terminología seguida en la tipología estomática está basada en las obras de METCALFE & CHALK (1979) y CUTLER *et al.* (2008).

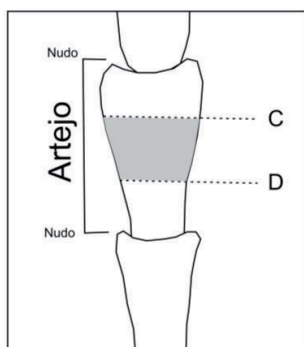


Figura 3.2. Localización de la zona de estudio en el artejo. Modificado de DELF (1911).

b. Densidad estomática y análisis estadístico

La densidad estomática (DE), número de estomas por mm^2 (LALLANA & LALLANA, 2004), se calculó sobre conteos realizados en fotografías electrónicas (MEB) realizadas a 100 aumentos. Se han contado 20 superficies de 0.28 mm^2 de un total de 36 individuos procedentes de 27 poblaciones: Chichester (L1), Carretera de Saintes-Maries-de-la-Mer (L7), Manade Raynaud (L7), San Giovanni de Sinnis (L11), Santa Giusta (L11), San Antioco (L13), Capo Feto (L16), Laguna di Orbetello (L19), Kalloni (L24), Estuario de Aposelemis (L25), Monastir (L31), Bahía de Alhoceima (L34), Aljezur (L40), Es Trenc (L42), Ría de Villaviciosa (L46), Torroella de Montgrí (L49), Delta del Ebro (L50), Laguna de Peña Hueca (L51), Laguna de las Yeguas (L52), Cordovilla (L53), Agua Amarga (L56), Isla Mayor (L61), antigua Laguna de Val de Ojo (L61), Bonanza (L62), Caridad (L62), Trebujena (L62) y Vía de servicio de San Fernando (L62).

Las variables cuantitativas se procesaron estadísticamente mediante el análisis de la varianza. Para ello, se ha empleado la prueba *Levene* para contrastar la hipótesis de homogeneidad de la varianza. Para comprobar en donde difieren las medias, se ha utilizado un contraste de medias por procedimientos de comparación múltiple, siendo este contraste la prueba de GAMES-HOWELL (1976) (SALAS *et al.*, 2001; LALLANA & LALLANA, 2004; PARÉS-MARTÍNEZ *et al.*, 2004). Estos análisis se han realizado con los programas estadísticos SPSS v. 15 y R v. 2.14.0 (R Development Core Team, 2011).

c. Células epidérmicas

El estudio de la forma y tipo de células epidérmicas se ha realizado sobre fotografías electrónicas (MEB) tomadas a 370 aumentos.

3.3.2. Características del polen

Se ha estudiado el polen de un total de 12 individuos a lo largo del área de estudio. En la preparación de las muestras, se han tomado las anteras, separándolas en un portaobjetos y con la ayuda de unas pinzas y de una aguja enmangada se han abierto totalmente, dejando salir todo el polen. La nomenclatura utilizada se ha basado en estudios previos realizados sobre polen del mismo género o de géneros cercanos a *Sarcocornia* (GÓMEZ FERRERAS & PEDROL, 1987; VALDÉS *et al.*, 1987a; BORSCH, 1998; SILVA & SANTOS, 1999; FERNÁNDEZ-ILLESCAS *et al.*, 2010). Para corroborar que el procedimiento seguido en la preparación de las muestras de polen con el MEB, no alteró la morfología de los granos, éstos se estudiaron también con el microscopio óptico a 40 aumentos. El diámetro del polen se midió en cuatro fotografías de microscopía electrónica (MEB) a 2500 aumentos de cada individuo, en donde cada fotografía presentaba un grano de polen. El diámetro de las aberturas se midió sobre estas mismas imágenes, midiendo en este caso cinco aberturas en cada una de las fotografías.

3.3.3. Características de las semillas

Para este estudio se han utilizado semillas, en su mayoría maduras, procedentes de 35 poblaciones naturales distribuidas por la cuenca mediterránea y la costa atlántica: Chichester (L1), Morston (L2), Les Capitelles (L6), Carretera de Saintes-Maries-de-la-Mer (L7), Saladar próximo a Stintino (L10), San Giovanni de Sinnis (L11), Torre de la Sal (L19), Laguna di Orbetello (L19), Porto Baselegue (L20), Grado (L20), Marano (L20), Treporti (L20), Estuario de Aposelemis (L25), La Macta (L32), Arekmane (L33), Larache (L36), Carrasqueira (L38), Ludo (L39), Es Trenc (L42), Murueta (L43), Torroella de Montgrí (L49), Delta del Ebro (L50), Laguna de Peña Hueca (L51), Laguna de las Yeguas (L52), Laguna del camino de Villafranca (L52), Cordovilla (L53), Saladar de Requena (L54), Lagunas de Bon Matí (L56), Playa del Carabasí (L56), Salinas del Braç del Port (L56), San Pedro del Pinatar (L57), La Almadraba de Moteleva (L58),

Isla Mayor (L61), Playa de Sancti Petri (L62) y Cartaya (L63). Las medidas que a continuación se detallan se han realizado siempre tomando 3 semillas por cada población.

La nomenclatura utilizada en todos los caracteres estudiados relativos a las semillas se ha basado en estudios previos de la testa de las semillas de la subfamilia *Salicornioideae* (SHEPHERD *et al.*, 2005b), del género *Sarcocornia* (ALONSO & CRESPO, 2008) y en el Diccionario Botánico (FONT QUER, 1989).

a. Tamaño de las semillas

Se ha medido el tamaño de las semillas (longitud \times anchura), expresado en milímetros, a partir de fotografías de microscopía electrónica realizadas a 55 aumentos.

b. Indumento de la exotesta

El análisis de la exotesta se ha realizado sobre fotografías de microscopía electrónica (MEB) tomadas a 500 aumentos. Para cada una de las semillas, se ha analizado la exotesta de entre 2 y 6 superficies, en donde los caracteres estudiados han sido: forma y longitud del tricoma, anchura de la base, distribución y densidad de los tricomas en la semilla, disposición de los tricomas y tipo de células epidérmicas. Todas las medidas se han expresado en micrómetros.

b.1. Forma del tricoma

La definición de tricoma seguida para el estudio de este carácter ha sido la aportada por FONT QUER (1989). Se ha estudiado la superficie de las semillas en fotografías de microscopía electrónica realizadas a 500 aumentos.

b.2. Longitud del tricoma y anchura de su base

Sobre fotografías del MEB, tomadas a 500 aumentos, se han realizado medidas de la longitud del tricoma y de la anchura de la base de éstos, expresándolas en micrómetros. Se han tomado entre 5 y 15 medidas de cuatro superficies distintas.

b.3. Densidad de tricomas (tricomas/mm²)

El cálculo de la densidad de tricomas se ha realizado sobre las mismas fotografías que en el apartado b.2. De cada semilla, se han contado 5 superficies de un área de 0.49 mm². Los datos se han transformado para obtener la densidad por mm².

b.4. Distribución de los tricomas en la semilla

La disposición de los tricomas y su distribución en la superficie de la semilla son características a tener en cuenta en el estudio micromorfológico. La observación de estas características se ha realizado sobre fotografías del MEB tomadas a 500 aumentos.

b.5. Disposición de los tricomas

Se estudió la disposición de los tricomas respecto a la superficie de la semilla, diferenciando entre tricomas patentes y adpresos. Este carácter se observó principalmente en el borde la semilla, usando las mismas imágenes que en el apartado anterior.

3.3.4. Nivel de ploidía

La observación de cromosomas somáticos en células meristemáticas de las raíces se realizó en plantas de las poblaciones de Les Capitelles (L6), Carrasqueira (L38), Es Trenc (L42), Cordovilla (L53), Salinas del Braç del Port (L56), Torrelamata (L56) y San Pedro del Pinatar (L57). Las raíces se obtuvieron de semillas germinadas. Con el objetivo de acumular células meristemáticas en metafase con una morfología de cromosomas fiable, la raíces se incubaron en 2 ml de agua destilada, que se sumergieron en hielo a una temperatura aproximada de 0.5°C durante 24 horas (pre-tratamiento de hielo). Tras ello, las raíces se fijaron en una mezcla recién hecha de 3:1 de etanol 96%_{v/v} y ácido acético glacial (denominado fluido de Farmer modificado) a temperatura ambiente durante dos días. El líquido de fijación se reemplazó por 3 ml de etanol 70%_{v/v}, manteniendo el material vegetal a -20°C hasta su utilización.

Una vez fijado, el material vegetal se transfirió a una placa petri con 15 ml de agua destilada, colocándola en un agitador a temperatura ambiente durante aproximadamente 10 minutos. A continuación, se realizó la hidrólisis en 5 ml de HCl 1 M a 60°C durante 8 minutos, seguida de la reacción de tinción en 2 ml de reactivo

Schiff a temperatura ambiente durante 30 minutos como mínimo (FEULGEN & RÖSSENBECK, 1924). Las raíces que presentaban su ápice de color lila se diseccionaron con ayuda de un bisturí, y se colocaron en un portaobjetos, donde se realizó el “*squash*” con una gota de 1.25%_{v/v} de orceína propiónica.

Los cromosomas se observaron utilizando un microscopio Axioplan 2 (Carl Zeiss, Göttingen, Germany), realizando fotografías con una cámara SPOT RT (Diagnostic Instruments, Inc., Sterling Heights, MI, USA) y usando el software SPOT ST v. 4.0.4 (Diagnostic Instruments).

3.4. Rastreo morfológico

A través del rastreo morfológico, se combinaron los resultados moleculares de ITS obtenidos en el capítulo 2 (Figura 2.1), con los caracteres morfológicos más relevantes de este capítulo. Puesto que toda la metodología referente a los análisis moleculares está explicada en el capítulo 2, en el presente apartado únicamente se comentan las técnicas y análisis que permiten llevar a cabo el rastreo morfológico.

Tras haber realizado el estudio de los caracteres mencionados en los apartados 3.2 y 3.3 de este capítulo, se ha construido una matriz de datos basada en observaciones realizadas en material fresco y en pliegos de herbario (Apéndice 4). También se ha realizado el rastreo morfológico sobre el resto de especies de *Sarcocornia* que aparecen en el análisis de ITS y sobre las especies del grupo externo. Por ello, parte de los datos morfológicos provienen de la bibliografía (TÖLKEN, 1967; O'CALLAGHAN, 1992; SHEPHERD *et al.*, 2005a, 2005b; ALONSO & CRESPO, 2008; STEFFEN *et al.*, 2010).

La evolución en los patrones fenotípicos se evaluó mediante el mapeo de dichos caracteres sobre el árbol consenso obtenido de la región ITS, usando el análisis de Inferencia Bayesiana. El programa MESQUITE v. 2.74 (MADDISON & MADDISON, 2010) se usó en la reconstrucción de los cambios en los estados de carácter mediante implementación de la función “*Reconstruct Ancestral States*” y utilizando algoritmos de Máxima Parsimonia (con la asunción de caracteres desordenados) y Máxima Verosimilitud (con la opción de “*current probably*” activada).

4. RESULTADOS

4.1. Caracteres macromorfológicos

4.1.1. Hábito y ramas vegetativas

El hábito que presentan estas plantas está íntimamente relacionado con las condiciones ecológicas en las que se desarrollan. Atendiendo a la influencia marina, se pueden distinguir tres situaciones que llevan asociadas diferentes tipos de hábitos.

Algunas poblaciones del género *Sarcocornia* se desarrollan bajo una influencia de las mareas, tal es el caso de las plantas estudiadas en las poblaciones de Chichester (L1) y Morston (L2) en el Reino Unido, y de Ría de Villaviciosa (L46), Isla de la Toja (L48), Marisma de Carregal (L48) y desembocadura del río Umia (L48) en la península ibérica. En estas poblaciones, las mareas provocan que estas plantas pasen mucho tiempo sumergidas, por lo que presentan un hábito postrado característico (Figura 3.3A), de hasta 20 cm de altura. Suelen formar grandes extensiones, a modo de céspedes, en donde las ramas son rastreras y los tallos enraizantes, siendo muy difícil la identificación de individuos aislados (Figura 3.3B).

En la cuenca mediterránea, donde las oscilaciones en el nivel del mar no son tan acusadas como en las costas atlánticas y las plantas no pasan periodos tan largos sumergidas como en el caso anterior, se pueden distinguir tres biotipos: el postrado-enraizante, coincidente con el caso descrito en el párrafo anterior; un biotipo que presenta ramas erectas y tallos enraizantes; y por último, plantas con ramas erectas y sin tallos enraizantes.

En las poblaciones de Porto Baselegue (L20) y Arekmane (L33) (Figura 3.3C) crecen los tres biotipos, apareciendo el biotipo postrado-enraizante siempre en contacto directo con el agua del mar, y conforme la influencia de ésta es menos directa, aparece el segundo biotipo, que se caracteriza por presentar ramas erectas que pueden alcanzar 80 cm de altura, en donde los tallos son rígidos, ramificados y enraizantes, pudiendo diferenciar individuos distintos. El tercer biotipo presenta ramas siempre erectas, que llegan a alcanzar 100(180) cm de altura. Se trata de plantas con tallos robustos, ramificados y no enraizantes; aunque en algunos casos, los tallos pueden llegar al suelo

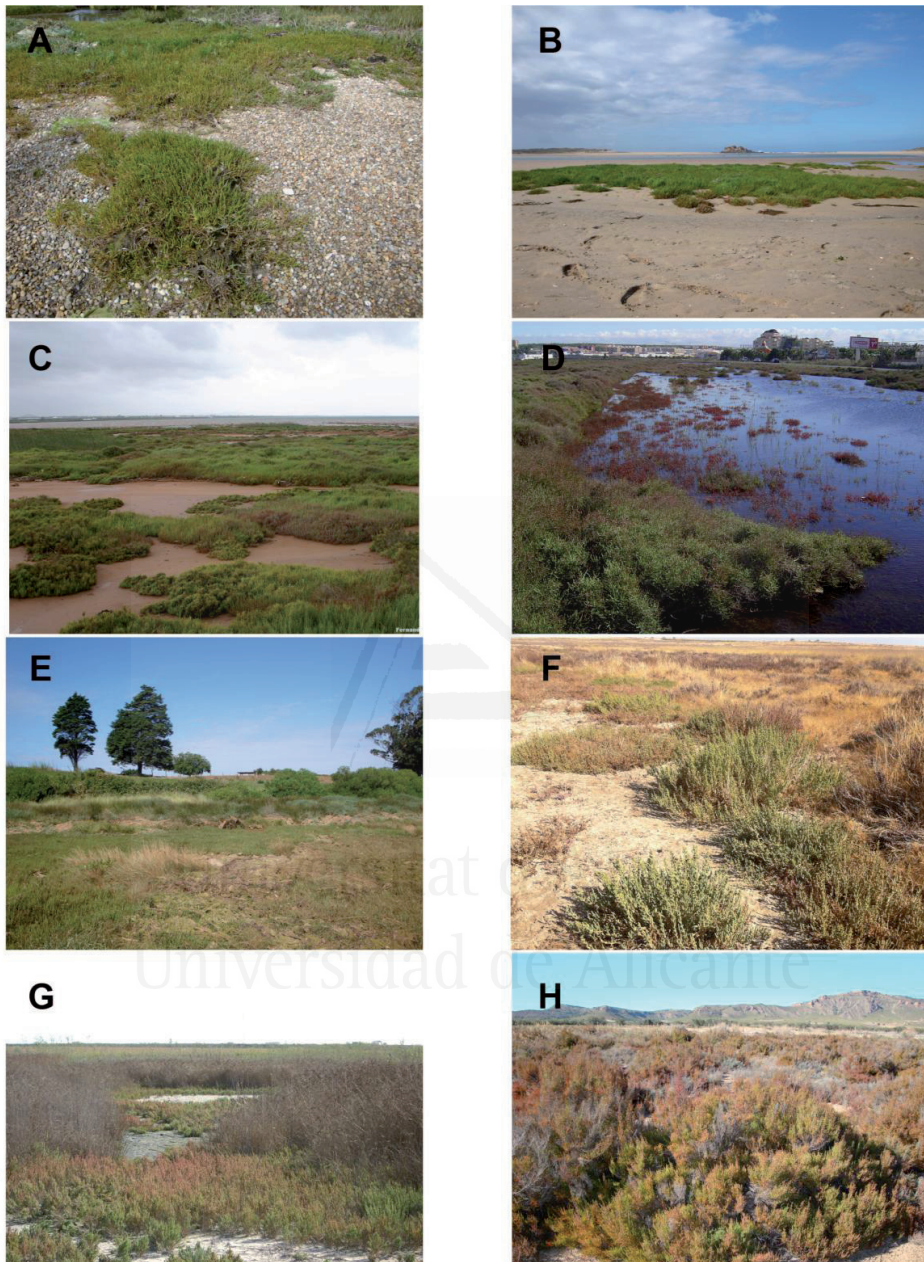


Figura 3.3. Hábito y ramas vegetativas. A. Hábito postrado-enraizante, Isla de la Toja (L48). B. Césped formado por el biotipo postrado-enraizante, Marisma de Carregal (L48). C. Individuos con los tres biotipos, Arekmane (L33). D. Biotipo erecto-no enraizante al borde de laguna, Salinas del Braç del Port (L56). E. Biotipo postrado-enraizante en primer plano y biotipo erecto-no enraizante al fondo, Marina de Cudeyo (L44). F. Ejemplares con biotipo erecto-enraizante, Laguna de Peña Hueca (L51). G. Biotipo erecto-enraizante, Isla Mayor (L61). H. Biotipo erecto-no enraizante, Agramón (L53).

y aparecer enterrados. En las poblaciones de Porto Baselegue (L20) y Arekmane (L33), este último biotipo es el que tiene menos relación con el agua, aunque en otras poblaciones de saladares costeros como Stagno di Cagliari (L12), San Antioco (L13), Agua Amarga (L56), Salinas del Braç del Port (L56), Lagunas de Bon Matí (L56), Torrelamata (L56), San Pedro del Pinatar (L57) o Es Trenc (L42) aparece de manera abundante, creciendo alrededor de las lagunas que se forman (Figura 3.3D). En la población de Marina de Cudeyo (L44), conviven el biotipo postrado y enraizante, con el erecto y no enraizante (Figura 3.3E), apareciendo en primer lugar y en contacto directo con el mar, el biotipo postrado-enraizante y más alejado del mar el erecto y no enraizante.

Fuera de la influencia marina, en los saladares de interior, aparecen dos de los biotipos comentados: el erecto-enraizante y el erecto-no enraizante. El primero se ha estudiado en las poblaciones de Laguna Larga (L51), Laguna de Peña Hueca (L51), Laguna de Tírez (L51), Laguna del camino de Villafranca (L52), Laguna de las Yeguas (L52), antigua Laguna de Val de Ojo (L61), e Isla Mayor (L61) (Figura 3.3F,G). El segundo de ellos se ha encontrado en las poblaciones de Les Capitelles (L6), Marano (L20), Cordovilla (L53), Agramón (L53) y Saladar de Requena (L54) (Figura 3.3H).

4.1.2. Hojas vegetativas

a. Tamaño de los artejos

Se ha observado que existe una tendencia a aparecer artejos de mayor tamaño ($3.0-20.0 \times 1.5-5.0$ mm), sobre todo en cuanto a la anchura, en las poblaciones de Chichester (L1), Morston (L2), Arekmane (L33), Faro (L39), Marina de Cudeyo (L44), Astillero (L44), Betanzos (L49), Ría de la Rabia (L47), Ría de Villaviciosa (L48), Isla de la Toja (L48), Marisma de Carregal (L48) y desembocadura del río Umia (L48). Sin embargo, cuando estas medidas se comparan con las del resto de poblaciones ($2.0-20.0 \times 1.5-3.0$ mm), se puede observar que existe un solapamiento entre ellas, no siendo éste un buen carácter en la diferenciación de los táxones que conforman el género *Sarcocornia* en su distribución europea y norteafricana. Por lo tanto se establece un único rango para el tamaño de los artejos de $2.0-20.0 \times 1.5-5.0$ mm.

b. Coloración de los artejos

Derivado de las observaciones realizadas en campo, no se puede atribuir una única coloración a una población determinada. Se ha visto que dentro de una misma población, al mismo tiempo, se pueden observar coloraciones que abarcan diferentes tonos rojizos y verdes. Además, esta variación parece cambiar a lo largo del año, coincidiendo en el caso de las poblaciones visitadas, el período de la floración con una coloración mayoritariamente verdosa.

c. Forma y ápices de los artejos

Otros caracteres relacionados con las estructuras vegetativas de estas plantas son la forma y ápices de los artejos (Figura 3.4, Tabla 3.1). La forma de éstos suele ser obcónica, asemejando la forma de un “barril”, observándose en su borde las láminas foliares reducidas a escamas hialinas.

En las hojas más jóvenes (en los artejos de ramas desarrolladas durante el año), se ha observado que existen ejemplares en donde los ápices de las hojas suelen ser agudos o incluso, en ocasiones puntiagudos, y por tanto, se puede ver mejor que los artejos son ligeramente aquillados. Tal es el caso de los ejemplares estudiados de las poblaciones de Estuario de Aposelemis (L25), Monastir (L32), Marisma de Carregal (L48), Laguna de Peña Hueca (L51), Laguna de Tírez (L51), Laguna del camino de Villafranca (L52), Laguna de las Yeguas (L52) e Isla Mayor (L61) (Figura 3.4A). Por otro lado, otras plantas suelen presentar artejos con bordes más redondeados, de ápice obtuso y la forma “en barril” es más evidente. En este caso, los artejos ligeramente aquillados son más difíciles de observar (Figura 3.4B).

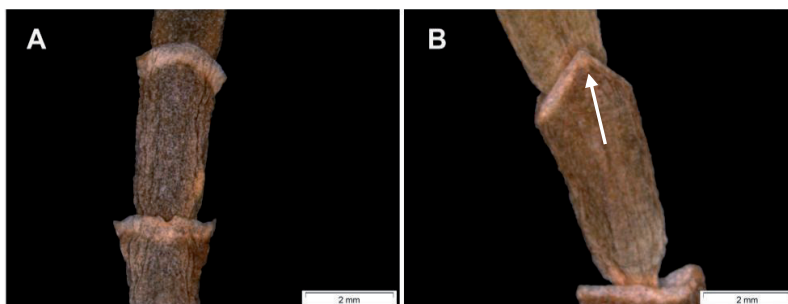


Figura 3.4. Ápice de los artejos vegetativos. A. Ápice obtuso, ejemplar de Es Trenc (L42). B. Ápice agudo, ejemplar de Monastir (L32). La flecha señala la quilla.

Tabla 3.1. Resumen de los caracteres estudiados del hábito, ramas y hojas vegetativas. Abreviaturas: L.: Longitud; A.: Anchura.

Carácter		Resultados
Hábito	Hábito	- Postrado-enraizante, hasta 20 cm de altura
	y ramas vegetativas	- Erecto-enraizante, hasta 80 cm de altura
		- Erecto-no enraizante, hasta 180 cm de altura
Hojas vegetativas	Tamaño de los artejos (L×A mm)	- 2.0-20.0 × 1.5-5.0
	Forma de los artejos	- Obcónica
	Ápice de los artejos	- Obtuso
		- Agudo (puntiagudo)
	Presencia de quilla	- Ausente
- Poco distinguible		
- Claramente distinguible		

4.1.3. Caracteres reproductivos

a. Medidas de las espigas

Las medidas de la anchura de las espigas pueden aportar datos favorables en la diferenciación de poblaciones en *Sarcocornia*, puesto que las medidas de las longitudes tanto en la inflorescencia terminal como en las laterales, se mantienen siempre dentro del rango 5.0-60.0(90.0) mm. La anchura muestra una ligera tendencia a ser algo mayor en algunas poblaciones, llegando a alcanzar medidas de hasta 5.0 mm [e.g. Chichester (L1), Morston (L2), Marina de Cudeyo (L44), Astillero (L44), Ría de la Rabia (L45), Ría de Villaviciosa (L46), Betanzos (L47), Isla de la Toja (L48), Marisma de Carregal (L50), desembocadura del río Umia (L48)], en cambio, otras poblaciones presentan anchuras que suelen encontrarse en un rango de 2.0-4.0 mm [e.g. Es Trenc (L42), Torroella de Montgrí (L49), Laguna de Peña Hueca (L51), Laguna de Tírez (L51), Agramón (L53), Cordovilla (L53), Agua Amarga (L56) e Isla Mayor (L61)].

b. Número de espigas laterales

Se han estudiado poblaciones en donde el número mínimo de espigas laterales puede llegar a ser muy bajo (2) o incluso no presentar [e.g. Isla de la Toja (L48), Marisma de Carregal (L48) y desembocadura del río Umia (L48)] (Figura 3.5A), frente a otras poblaciones donde el número mínimo es algo mayor a 10 [e.g. Capo Feto (L16), Arekmane (L33), Laguna de Peña Hueca (L51), Agramón (L53) y Vía de servicio de San

Fernando (L62)] (Figura 3.5B). A pesar de observar esta diferencia en tales poblaciones, la pauta general es presentar un número de espigas laterales que puede variar entre 0 y 40, ya que los rangos en todas las poblaciones son amplios y solapados.

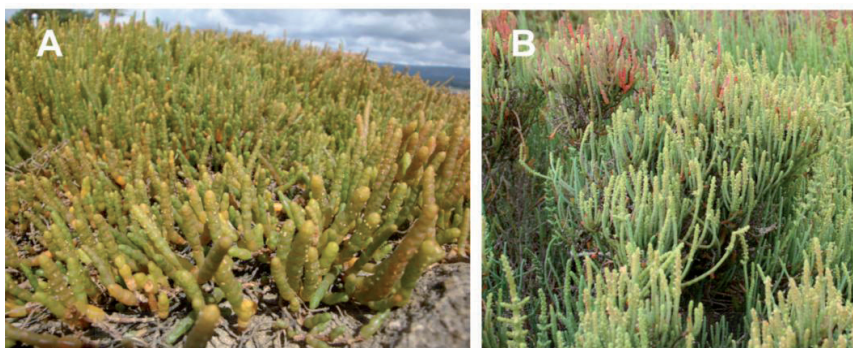


Figura 3.5. Número de inflorescencias laterales. A. Sin inflorescencias laterales, únicamente terminales, Isla de la Toja (L48). B. Ejemplar con inflorescencias laterales, Arekmane (L33).

Cabe señalar que existe un rasgo común en las inflorescencias laterales, y es que suelen ser sentadas, es decir, los artejos fértiles se encuentran directamente sobre la rama, aunque las inflorescencias más basales suelen presentar un número variable de artejos estériles, entre 1-11.

Algunas de las poblaciones estudiadas han mostrado características llamativas en el análisis de las inflorescencias, tal es el caso de los individuos estudiados en la población de Porto Baselegue (L20). Éstos presentan espigas de gran longitud (alcanzando 90 mm), y artejos fértiles “abombados”, que llegan a presentar una forma casi esférica, cuando lo normal es que presenten una forma obcónica.

c. Cimas

Las plantas del género *Sarcocornia* presentan cimas trifloras que aparecen en la parte inferior del artejo fértil. Las flores están separadas unas de otras a través de un tabique que es muy aparente una vez que el fruto se ha desprendido en la madurez. De todo el material estudiado, el único caso en donde se han observado cimas con 4 flores se corresponde con ejemplares recogidos en la localidad de Bonanza (L62) (Cádiz, España).

Otra característica a tener en cuenta es observar si la flor central alcanza el extremo superior del artejo fértil. Atendiendo al estudio realizado, se ha visto que normalmente en los artejos iniciales de la inflorescencia, la flor central no alcanza la parte superior del artejo, apareciendo una distancia que puede variar entre 0.5-3.5 mm. Conforme se alcanza la parte apical de la espiga, la distancia entre la flor central y la parte superior del artejo suele disminuir (0.5 mm). Las poblaciones en las que se ha observado que la flor central no llega a la parte superior del artejo son Es Trenc (L42), Agramón (L53), Cordovilla (L53) y Agua Amarga (L56) (Figura 3.6A). La tendencia a alcanzar el extremo superior del artejo se ha visto en las poblaciones de Capo Feto (L16), Isla de la Toja (L48), Marisma de Carregal (L48), desembocadura de río Umia (L48) y Laguna de Peña Hueca (L51) (Figura 3.6B).

d. Flores

Las flores son poco vistosas. El estigma suele ser bífido, aunque en ocasiones es trifido, y siempre plumoso. Las poblaciones en las que se ha observado el estigma trifido han sido: Carretera de Pozallo a Pachino (L16), Isla de la Toja (L48) y Laguna de Peña Hueca (L51). Todas las flores tienen 2 estambres, con anteras que presentan una longitud de alrededor de 1.0 mm (Tabla 3.2).

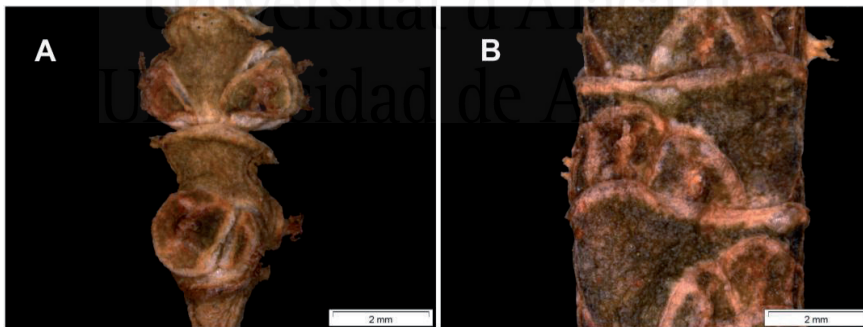


Figura 3.6. Cimas trifloras en las que se aprecia la distancia de la flor central al extremo superior del artejo fértil. A. La flor central no alcanza la parte superior del artejo fértil, Es Trenc (L42). B La flor central alcanza la parte superior del artejo fértil, desembocadura del río Umia (L48).

Tabla 3.2. Resumen de los caracteres estudiados relativos a la inflorescencia, flores y fruto. Abreviaturas: L.: Longitud; A.: Anchura.

	Carácter	Resultados
Inflorescencias	Tamaño de las inflorescencias (L×A mm)	- 5.0-60.0(90.0) × (1.5)2.0-4.0(5.0)
	Nº de Inflorescencias laterales	- 0-40
	Presencia de artejos estériles en las inflorescencias laterales	- Normalmente en las basales (1-11)
	Cimas	- 3(4) flores
	Disposición de la flor central respecto al artejo fértil	- Alcanza la parte superior del artejo - No alcanza la parte superior del artejo
Flor	Estigmas	- Bífido y plumoso (rara vez trífido)
	Estambres	- 2, anteras de 1.0 mm de longitud
Fruto	Tipo de fruto	- Utrículo
	Relación del pericarpo y el perianto	- El pericarpo queda adherido al perianto carnoso

e. Tipo de fruto y relación con el perianto

El fruto observado en las poblaciones estudiadas, es un fruto monospermo y dehiscente. Siguiendo la definición de FONT QUER (1989) se correspondería con un fruto en utrículo (Tabla 3.2).

En relación con la disposición del pericarpo respecto el perianto, se ha observado que en todos los casos el perianto se vuelve carnoso en la madurez y el pericarpo queda adherido al perianto.

4.2. Caracteres micromorfológicos

4.2.1. Características de los estomas

a. Morfología estomática

El tipo estomático presente en las plantas de *Sarcocornia* estudiadas es paracítico, caracterizado por la disposición de dos células anexas respecto a las oclusivas (Figura 3.7). Se han observado dos morfotipos de estomas atendiendo a la disposición vertical

de las células oclusivas frente a las células anexas y epidérmicas (Tabla 3.3), que se han denominado:

- Estomas con morfotipo 1: las células oclusivas se sitúan en un nivel diferente, apareciendo hundidas frente al resto de las células epidérmicas y anexas (Figura 3.7A,C).
- Estomas con morfotipo 2: las células oclusivas están al mismo nivel que el resto de las células (Figura 3.7B,D).

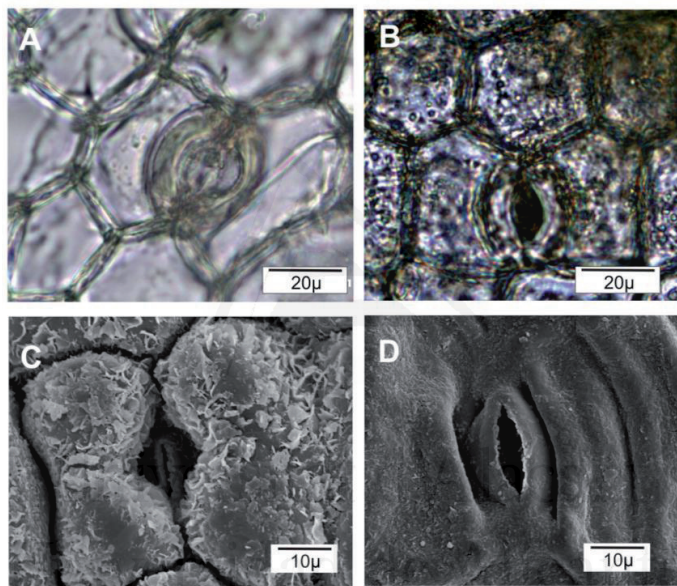


Figura 3.7. Estomas paracíticos. A. Morfotipo 1 [Agua Amarga (L56)]. B. Morfotipo 2 [Laguna Larga (L51)] (observados con microscopía óptica) C. Morfotipo 1 [Agramón (L53)]. D. Morfotipo 2 [Torroella de Montgrí (L49)] (observados con MEB).

b. Densidad estomática

Tanto las plantas que tienen estomas con el morfotipo 1 (Figura 3.8A), como las de morfotipo 2 (Figura 3.8B), presentan un valor medio en la densidad estomática similar (96.9 y 80.1 estomas/mm², respectivamente). Sin embargo, la media es ligeramente superior en las plantas que tienen estomas con el morfotipo 1, siendo estas diferencias significativas ($p < 0.001$). Cuando se compararon las densidades estomáticas

entre los individuos de las poblaciones, sin tener en cuenta el morfotipo estomático al que pertenecían, las diferencias, en este caso, no fueron significativas.

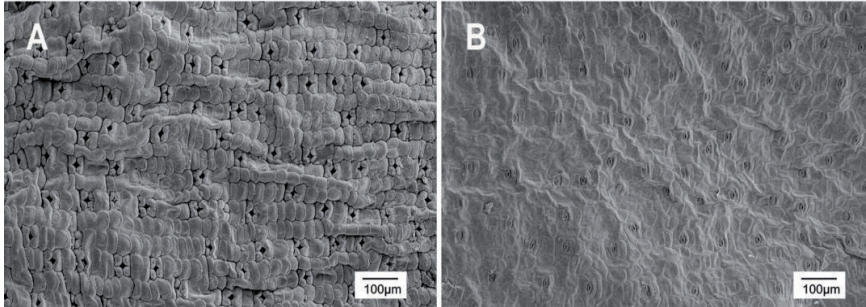


Figura 3.8. Aspecto general de la densidad estomática. A. Estomas con morfotipo 1, San Pedro del Pinatar (L57). B. Estomas con morfotipo 2, Torroella de Montgrí (L41).

c. Células epidérmicas

Las células epidérmicas presentan una morfología poligonal que es común a todas las poblaciones estudiadas (Tabla 3.3). Sin embargo, se ha observado que la superficie de las células es reticulada en ciertas poblaciones, como Capo Feto (L16), Puglia (L18), Agios Andreas (L22), Estuario de Aposelemis (L25), La Macta (L32), Arekmane (L33), Ría de Villaviciosa (L46), Torroella de Montgrí (L49), Laguna Larga (L51), Laguna de Peña Hueca (L51), Bonanza (L62), Caridad (L62) y Trebujena (L62) (Figura 3.9A), frente al resto de poblaciones donde es lisa (Figura 3.9B). Las células con superficie reticulada siempre coinciden con los estomas que tienen el morfotipo 2, éstos pueden presentar tanto células con superficie lisa como reticulada (Figura 3.9). En los estomas con morfotipo 1 únicamente se han observado células con superficie lisa.

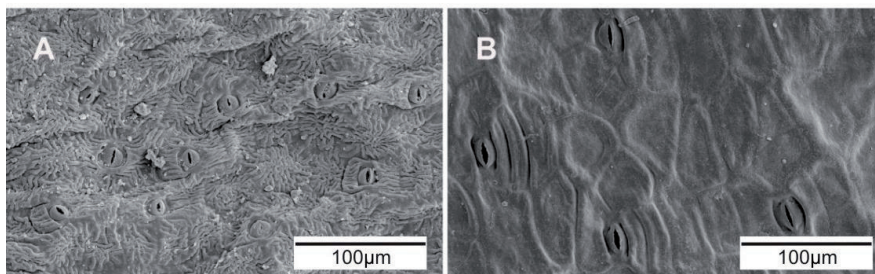


Figura 3.9. Tipos de células epidérmicas. A. Estomas con morfotipo 2 y células con superficie reticulada, Laguna Larga (L51). B. Estomas con morfotipo 2 y células con superficie lisa, Torroella de Montgrí (L49).

Tabla 3.3. Resumen de los caracteres estudiados relativos a los estomas, polen y semillas. Abreviaturas: L.: Longitud; A.: Anchura.

		Carácter	Resultados
Estomas	Morfotipo	-	1: hundido - 2: expuesto
	Densidad estomática media	-	80.1 estomas/mm ² - 96.9 estomas/mm ²
	Tipo de células epidérmicas que los acompañan	-	Poligonal y lisa - Poligonal y reticulada
Polen	Diámetro polen (µm)	-	17.30-31.80
	Diámetro aberturas (µm)	-	0.90-3.90
	Tamaño (L × A mm)	-	0.63-1.10(1.50) × 0.41-1.02
Semillas	Indumento de la exotesta	Forma del tricoma	- Papila-mamelón - Tricoma simple de morfología cónica - Tricoma simple largo, en ocasiones de morfología ganchuda
		L. tricoma (µm)	- 12.31-100(106.67) - 26.15-144.62
		Anchura de la base tricoma (µm)	- 10.80-27.70 - 29.20-61.50
	Densidad tricomas	- Baja (14-38 tricomas/mm ²) - Media (20-51 tricomas/mm ²) - Elevada (38-83 tricomas/mm ²)	
	Disposición tricoma	- Patente - Adpreso	
	Tipo de ornamentación	- Tipo a - Tipo b - Tipo c	

4.2.2. Características del polen

El polen de las poblaciones estudiadas es polipantoporado, apolar, con simetría radial, de tamaño mediano ($D=17.30-31.80 \mu\text{m}$) y de superficie equinulada y punteada con perforaciones muy pequeñas y diferenciadas. Las aberturas en la superficie son simples de tipo poro y muy numerosas, con un diámetro que varía entre 0.90 y $3.90 \mu\text{m}$ (Figura 3.10, Tabla 3.3).

El estudio del polen ha mostrado que las medidas del diámetro y el análisis de las aberturas son caracteres que se mantienen constantes en estas plantas, no presentando tendencias de ningún tipo. De modo que se puede hablar de un solo tipo de polen.

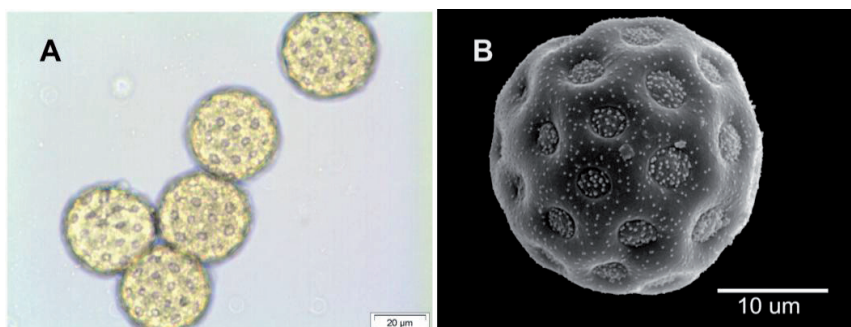


Figura 3.10. Polen de la población de Bonanza (L62). A. Fotografía de microscopía óptica. B. Fotografía de microscopía electrónica de barrido.

4.2.3. Características de las semillas

Las semillas muestran una ligera variabilidad en su forma que va de ovada a orbiculada. La orientación de éstas, respecto a la posición en el ovario, es vertical, y su coloración es marrón. Cada semilla aparece parcialmente incluida dentro de la estructura formada por el pericarpo y el perianto. La parte de la semilla, que está adherida al pericarpo-perianto, presenta sobre su testa restos del pericarpo difíciles de desprender. La parte que no está incluida en dicha estructura, queda desprotegida, y por lo tanto, puede observarse directamente la testa.

a. Tamaño de las semillas

Los tamaños de las semillas tienen un rango de $0.63-1.10(1.50) \times 0.41-1.02$ mm. Sin embargo, se han observado poblaciones que se caracterizan por presentar semillas en las que la longitud mínima varía entre $0.93-1.35$ mm [Laguna di Orbetello (L19), Porto Baselegue (L20), Grado (L20), Marano (L20), Treporti (L20), Estuario de Aposelemis (L25), Arekmane (L33), Larache (L36), Ludo (L39), Es Trenc (L42), Murueta (L43), Torroella de Montgrí (L49), Delta del Ebro (L50), Lagunas de Bon Matí (L56), Salinas del Braç del Port (L56) y Playa de Sacti Petri (L62)] (Figura 3.11).

En la tabla 3.4 se muestran las medidas de estas poblaciones, en las que el rango en el que se encuentran los valores mínimos de longitud, se corresponde con los valores de longitud máxima del resto de poblaciones estudiadas (rango de longitud general: $0.63-1.10$ mm). En el caso de existir varias poblaciones para una misma localidad, se muestra únicamente aquella población en la que el rango ha sido mayor.

Tabla 3.4. Poblaciones caracterizadas por presentar tamaños de semilla grandes debido a su longitud mínima. El código de la localidad a la que pertenecen aparece entre paréntesis. Los valores de longitud (L) y anchura (A) se muestran en mm.

Semillas grandes			
Poblaciones			Medidas (L × A)
País	Provincia	Localidad/Municipio	
Italia	Grosseto	Laguna di Orbetello (L19)	0.93-1.15 × 0.67-0.87
	Venecia	Treporti (L20)	1.31-1.50 × 0.94-1.02
Marruecos	Nador	Arekmane (L35)	0.93-1.20 × 0.51-0.64
	Tánger-Tetuán	Larache (L38)	1.13-1.41 × 0.69-0.91
Grecia	Creta	Estuario de Aposelemis (L25)	1.00-1.09 × 0.57-0.72
Portugal	Algarve	Ludo (L39)	1.12-1.16 × 0.75-0.77
España	Mallorca	Es Trenc (L42)	1.16-1.31 × 0.74-0.84
	Vizcaya	Murueta (L43)	1.17-1.40 × 0.93-1.13
	Gerona	Torroella de Montgrí (L49)	1.07-1.13 × 0.80-0.85
	Tarragona	Delta del Ebro (L50)	1.01-1.07 × 0.65-0.89
	Alicante	Lagunas de Bon Matí (L56)	1.35-1.37 × 0.78-0.83
	Cádiz	Playa de Sancti Petri (L62)	1.38-1.45 × 0.83-0.98

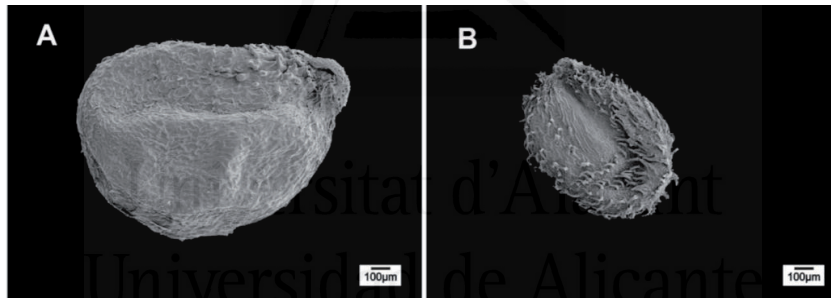


Figura 3.11. Tamaño de las semillas. A. Semilla con la longitud mínima fuera del rango normal [Treporti (L20)]. B. Semilla con la longitud mínima dentro del rango normal [Isla Mayor (L61)].

b. Indumento de la exotesta

b.1. Forma del tricoma

Atendiendo a la definición de tricoma dado por FONT QUER (1989), en las semillas estudiadas aparecen tres tipos: el primero de ellos se puede definir como papilas o mamelones (Figura 3.12B), en donde el tricoma está reducido a una excrescencia de la membrana de las células epidérmicas, a modo de abultamiento poco pronunciado. El segundo tipo es un tricoma simple con morfología cónica (Figura

3.12D), y el tercer tipo también es un tricoma simple, largo y en ocasiones ganchudo. (Figura 3.12F).

b.2. Longitud y anchura de la base del tricoma

Se ha observado que atendiendo a la longitud del tricoma se diferencian dos grupos de semillas (Tabla 3.3): las de pelos o tricomas largos con una longitud que puede alcanzar hasta los 144.62 μm ; y las de tricomas cortos con longitudes que como máximo alcanzan 100.00(106.67) μm . Esta diferenciación se encuentra asociada también a la medida de la base del tricoma. Por una parte, se ha observado que existen tricomas cuya base no es demasiado ancha (10.80-27.70 μm), y por otra parte, existen tricomas que presentan una morfología cónica, en donde la anchura de la base es mayor (29.20-61.50 μm). Ambas características, usadas conjuntamente, permiten hacer distinciones entre los diferentes tipos de semillas.

b.3. Densidad de tricomas

El número de tricomas por mm^2 parece ser un carácter útil que permite diferenciar entre tres grupos de semillas: semillas con una densidad elevada de tricomas, con 38-83 tricomas/ mm^2 ; semillas con una densidad media con 20-51 tricomas/ mm^2 y semillas con una densidad menor con 14-38 tricomas/ mm^2 (Tabla 3.3).

b.4. Distribución de los tricomas en la semilla

De modo general, se ha observado que los tricomas no suelen distribuirse homogéneamente por toda la semilla, sino más bien aparecen con mayor densidad en los bordes de ésta y disminuyen hacia su zona central. En algunas zonas de la testa llega incluso a desaparecer el indumento, visualizándose únicamente la morfología de las células epidérmicas. Hay que señalar que estas células no presentan ninguna diferenciación ni entre los distintos grupos de semillas, ni entre las poblaciones analizadas.

b.5. Disposición de los tricomas

La diferenciación entre tricomas patentes y adpresos, principalmente en el borde de la semilla, sirve de ayuda en la distinción de los diferentes tipos de semillas, ya que se

ha observado una tendencia a presentar pelos adpresos y patentes en grupos diferentes de semillas. Como consecuencia de ello, y tras haber estudiado las diferentes características del indumento de la exotesta, se pueden diferenciar tres tipos de morfologías con diferencias en la ornamentación (Tabla 3.3) a las que se ha denominado:

Ornamentación tipo a: suele presentar papilas o mamelones distribuidos principalmente por el borde de la semilla, apareciendo la mayor cantidad de mamelones en la zona opuesta al micrópilo (Figura 3.12A,B). Los mamelones presentan una morfología redondeada en la parte superior, con una longitud comprendida entre 12.31 y 67.57 μm y una anchura de la base de 29.20 a 61.50 μm . La densidad de este tipo de tricomas en la semilla no es muy elevada, apareciendo la densidad en un rango de 14 a 38 tricomas/ mm^2 .

Ornamentación tipo b: presenta tricomas rectos y patentes de longitud comprendida entre 15.38 y 100.00(106.67) μm que suelen aparecer distribuidos por el borde de la semilla, aunque en la parte central de ésta pueden aparecer también, siempre en número reducido (Figura 3.12C,D). La anchura de la base de estos tricomas está comprendida entre 30.80 y 53.80 μm . La densidad de estos tricomas patentes es de 20-51 tricomas/ mm^2 .

Ornamentación tipo c: representada por tricomas finos y adpresos que suelen terminar con el ápice curvado, llegando en muchos casos y sobre todo en la zona de la semilla opuesta al micrópilo, a parecer verdaderos garfios (Figura 3.12E,F). En el centro de ésta, los tricomas son más pequeños y la curvatura del ápice no se encuentra desarrollada. La longitud de estos tricomas curvados abarca el rango de 26.15 a 144.62 μm y la anchura de la base va de 10.80 a 27.70 μm . Como puede observarse, los tricomas presentes en el tipo de ornamentación c son los que presentan una mayor longitud y también una anchura de la base menor. Por otra parte, atendiendo a su densidad, son también los que aparecen en mayor número en la superficie de la semilla con 38-83 tricomas/ mm^2 .

Hay que comentar que en ocasiones, en las ornamentaciones tipo b y tipo c pueden aparecer tricomas bífidos (Figura 3.13). Por otra parte, la presencia de mamelones puede aparecer también en semillas que presentan tricomas cortos y

patentes (ornamentación tipo b), pero nunca aparecen en semillas con ornamentación tipo c.

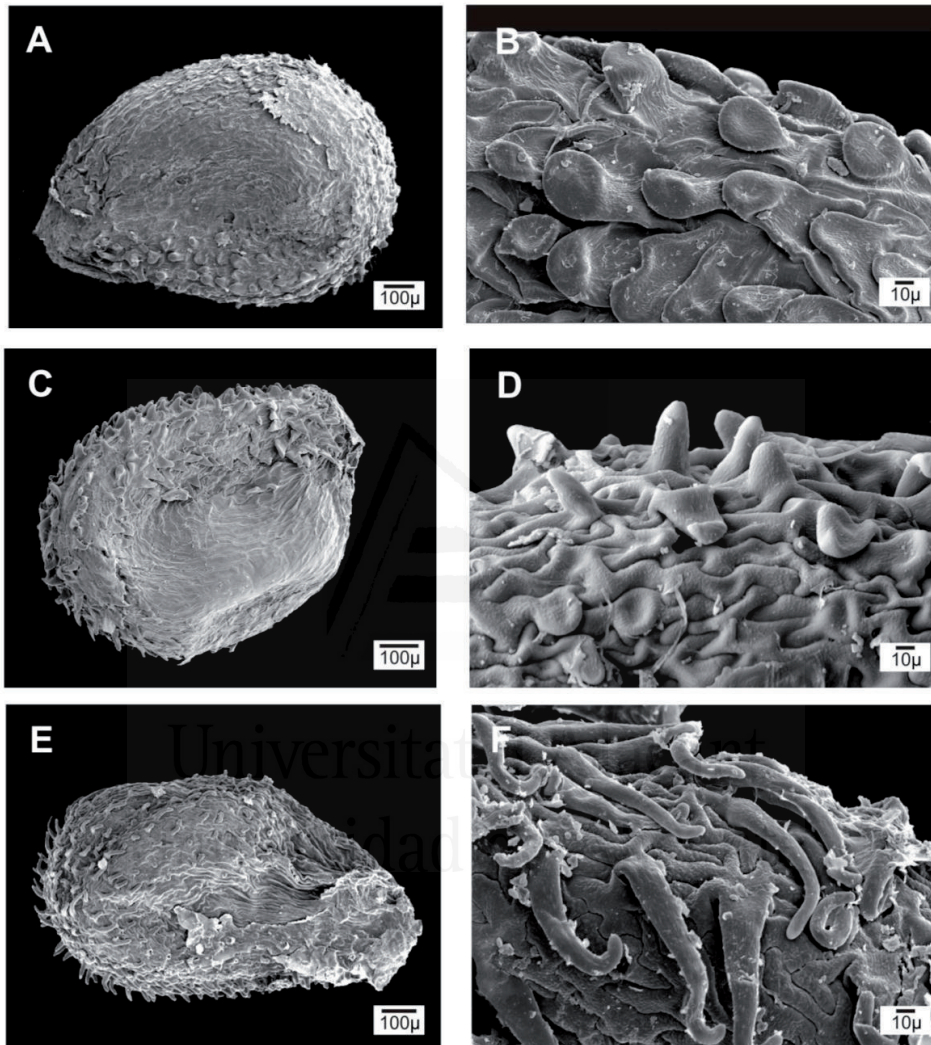


Figura 3.12. Morfología de los tricomas y ornamentación de los tipos de testa. Tipos de tricomas: B. Papilas/Mamelones. D. Pelos cónicos. F. Pelos largos en ocasiones ganchudos. Tipos de ornamentaciones: A y B Tipo a [A. San Pedro del Pinatar (L57); B. Cordovilla (L53)]; C y D Tipo b [C. Les Capitelles (L6); D. Salinas del Braç del Port (L56)]; E y F Tipo c [E. Estuario de Aposelemis (L25); F. Laguna de las Yeguas (L52)].

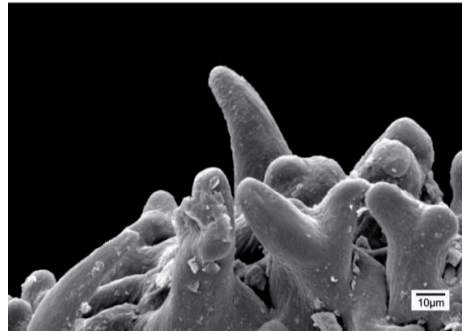


Figura 3.13. Tricomos bífidos en la ornamentación de tipo c. Arekmane (L33).

4.2.4. Nivel de ploidía

El número cromosómico básico del género *Sarcocornia* es $x=9$. Únicamente se pudo contabilizar el número de cromosomas de las poblaciones españolas de Salinas del Braç del Port (L56) y Torrelamata (L56), en donde se pudo comprobar un nivel hexaploide ($2n=54$) (Figura 3.14).

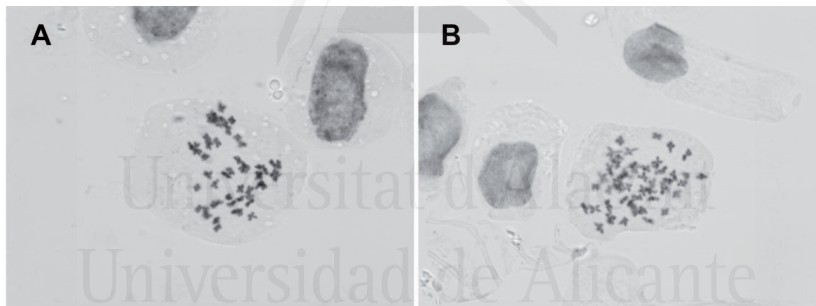


Figura 3.14. Células en metafase de las poblaciones de *Sarcocornia* de A. Salinas del Braç del Port (L56); B. Torrelamata (L56).

4.3. Rastreo morfológico

El estudio morfológico ha permitido identificar aquellos caracteres que son útiles a la hora de diferenciar entre distintos grupos de plantas dentro del género (Apéndice 4). De esta manera, se ha realizado el rastreo morfológico con los 16 caracteres que se recogen en la tabla 3.5.

Los resultados obtenidos del rastreo morfológico se exponen atendiendo a dos subdivisiones:

- Caracteres que permiten la identificación de grupos morfológicos (Tabla 3.5, caracteres 1-3, 5, 7 y 11-16).
- Caracteres que no permiten la identificación de grupos morfológicos (Tabla 3.5, caracteres 4, 6 y 8-10).

Tabla 3.5. Caracteres y estados de carácter utilizados en el rastreo morfológico.

Longevidad de la planta y hábito:	
1.	Hábito; 0 = erecto. 1 = cespitoso. 2 = postrado. 3 = pulvinado.
2.	Presencia de tallos radicales; 0 = si. 1 = no.
Características de las hojas:	
3.	Ápice de las hojas; 0 = agudo. 1 = obtuso.
4.	Quilla en los artejos; 0 = ausente. 1 = claramente distinguible. 2 = poco distinguible.
5.	Tipo de estoma; 0 = hundido (morfortipo 1). 1 = expuesto (morfortipo 2).
Características de las inflorescencias:	
6.	Longitud de la espiga terminal (mm); 0 = < 10. 1 = 10-50. 2 = > 50.
7.	Disposición de la flor central respecto al artejo fértil; 0 = alcanza la parte superior del artejo. 1 = no alcanza la parte superior del artejo.
Características de las semillas:	
8.	Longitud de la semilla (mm); 0 = < 1. 1 = 1-1.5. 2 = >1.5.
9.	Anchura de la semilla (mm); 0 = < 1. 1 = ≥ 1.
10.	Presencia de tricomas; 0 = si. 1 = no.
11.	Tipo de tricoma en la semilla; 0 = papila. 1 = pelo cónico. 2 =papila y tricoma simple de morfología cónica. 3 = tricoma simple largo, en ocasiones de morfología ganchuda.
12.	Longitud de los tricomas (µm); 0 = ≤ 100. 1 = > 100.
13.	Medida de la base del tricoma (µm); 0 = ≤ 28. 1 = > 28.
14.	Disposición de los tricomas; 0 = adpresos. 1 = patentes.
15.	Densidad de los tricomas; 0 = ≤ 55 tricomas/mm ² . 1 = > 55 tricomas/mm ² .
16.	Tipo de ornamentación del indumento de la semilla; 0 = tipo a. 1 = tipo b. 2 = tipo c. 3 = otros tipos.

4.3.1. Caracteres que permiten la identificación de grupos morfológicos

Longevidad de la planta y hábito: tipo de hábito (carácter 1) y presencia de tallos radicales (carácter 2)

La presencia de un hábito erecto (carácter 1) y la ausencia de tallos radicales (carácter 2, Figura 3.15A) son caracteres plesiomórficos para las plantas del clado constituido por el género *Sarcocornia* en Europa y Norte de África. La aparición de tallos

radicantes suele estar asociada con el tipo de hábito postrado, aunque dentro del grupo de plantas estudiado, también aparece asociada con el hábito erecto (Apéndice 4). Por este motivo, en relación con la presencia de tallos radicantes, hay que decir que es un carácter útil para distinguir entre grupos de plantas, ya que permite diferenciar entre dos tipos morfológicos, aunque en el árbol mostrado aparecen entremezclados en los distintos clados (Figura 3.15A).

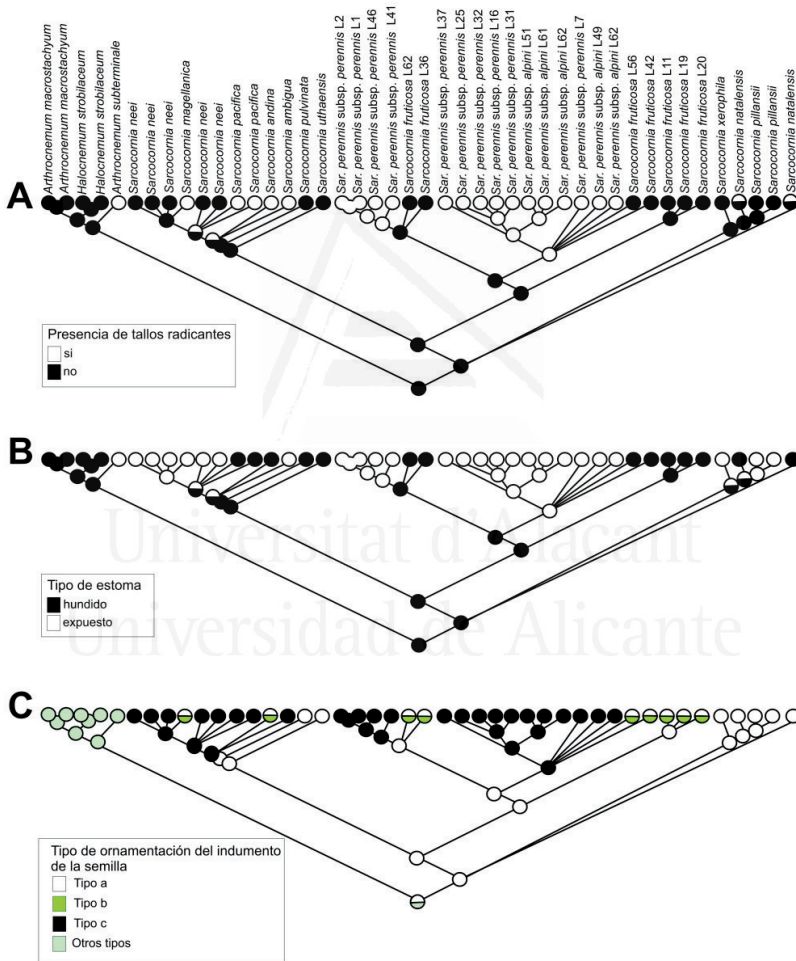


Figura 3.15. Estados de carácter para los táxones estudiados, mapeados sobre el árbol consenso obtenido de la región nuclear ITS. Los estados de carácter ancestrales se han derivado de un modelo cuyos parámetros se han optimizado usando Máxima Parsimonia –asumiendo la opción de caracteres desordenados–, implementado en MESQUITE v. 2.74 (MADDISON & MADDISON, 2010). Los caracteres correspondientes se han codificado atendiendo a la tabla 3.5. A. Presencia de tallos radicantes (carácter 2). B. Tipo de estoma (carácter 5). C. Tipo de ornamentación del indumento de la semilla (carácter 16).

Características de las hojas: ápice de las hojas (carácter 3), tipo de estoma (carácter 5)

El tipo de ápice (carácter 3) y el morfotipo de los estomas (carácter 5, Figura 3.15B) permiten diferenciar dos grupos, que son coincidentes con los del apartado anterior. Este último carácter podría presentar un elevado valor taxonómico, ya que permite diferenciar fácilmente dos morfotipos estomáticos asociados a dos grupos de plantas (Figura 3.15B). En el caso del tipo de ápice (carácter 3), a veces, su identificación puede ser dudosa si el material de estudio no se encuentra en buen estado.

Características de las inflorescencias: disposición de la flor central respecto al artejo fértil (carácter 7)

En las inflorescencias, la disposición de la flor central respecto al artejo fértil (carácter 7) permite diferenciar dos grupos de plantas asociados a la observación de dos tendencias: plantas en las que la flor central alcanza el extremo superior del artejo fértil y plantas en las que no lo alcanza.

Características de la semilla: tipo de tricoma (carácter 11), longitud de los tricomas (carácter 12), medida de la base del tricoma (carácter 13), disposición de los tricomas (carácter 14), densidad de los tricomas (carácter 15) y tipo de ornamentación del indumento (carácter 16)

Los caracteres de la exotesta de la semilla son de gran utilidad en el estudio de este grupo de plantas. De manera similar al estudio del tipo de estoma (carácter 5), los caracteres micromorfológicos de la semilla (11, 12, 13, 14, 15 y 16) muestran una elevada importancia. Se trata de caracteres que permiten diferenciar dos tipos de plantas. Por una parte, las que presentan semillas con pelos de longitudes mayores de 100 μm (caracteres 11 y 12), que tienen unas medidas de la base del pelo $\leq 28 \mu\text{m}$ (carácter 13), siendo por lo general adpresos (carácter 14) y que presentan unas densidades que suelen ser ≤ 55 pelos/ mm^2 . Por otra parte, plantas cuyas semillas pueden tener papilas, o papilas y pelos cónicos patentes (caracteres 11 y 14), de longitudes inferiores a 100 μm , con una medida de la base de los tricomas que suele ser mayor de 28 μm (carácter 13), y que tienen unas densidades > 55 tricomas/ mm^2 . En

relación con el tipo de ornamentación del indumento (carácter 16), se distinguen tres tipos de ornamentaciones, pudiendo aparecer dos de los tipos (a y b) en el mismo grupo de plantas (Figura 3.15C).

4.3.2. Caracteres que no permiten la identificación de grupos morfológicos

Características de las hojas: quilla en los artejos (carácter 4)

La presencia de quilla en las hojas (carácter 4) ha mostrado para casi todos los ejemplares estudiados dos estados de carácter: ausente o poco distinguible, que son los que presentaría el ancestro, a excepción de aquellos ejemplares en los que se ha observado claramente la quilla. Por lo que no es un carácter útil a la hora de diferenciar entre distintos grupos de plantas. Además, en muchos casos la observación de la quilla es muy difícil.

Características de las inflorescencias: longitud de la espiga terminal (carácter 6)

La longitud de la inflorescencia terminal (carácter 6) presenta el mismo rango de valores para todos los ejemplares estudiados en el clado (Figura 3.16). Por lo que este carácter no permite realizar una diferenciación entre grupos de plantas.

Características de las semillas: longitud de la semilla (carácter 8), anchura de la semilla (carácter 9) y presencia de tricomas (carácter 10)

Los rangos establecidos para la longitud y anchura de las semillas (caracteres 8 y 9, respectivamente) son comunes a todos los ejemplares estudiados, no pudiendo identificar distintos grupos de plantas en relación con el tamaño de las semillas.

La presencia o ausencia de tricomas en las semillas (carácter 10) tampoco muestra resolución dentro del grupo de estudio, ya que las plantas estudiadas presentan siempre tricomas en sus semillas.

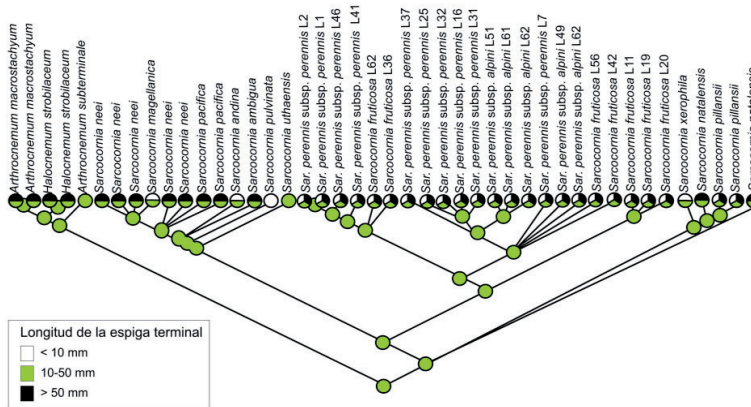


Figura 3.16. Estados de carácter para los táxones estudiados, mapeados sobre el árbol consenso obtenido de la región nuclear ITS. Los estados de carácter ancestrales se han derivado de un modelo cuyos parámetros se han optimizado usando Máxima Parsimonia –asumiendo la opción de caracteres desordenados–, implementado en MESQUITE v. 2.74 (MADDISON & MADDISON, 2010). El carácter correspondiente se ha codificado atendiendo a la tabla 3.5. Longitud de la espiga terminal (carácter 6).

4.3.3. Relevancia taxonómica de los caracteres estudiados

Una vez estudiados los distintos caracteres del rastreo morfológico, se diferencian dos grupos de plantas sobre todo en relación con los caracteres micromorfológicos (Figura 3.15).

En el primer grupo, se encuentran aquellas plantas que presentan un hábito erecto, sin presencia de tallos radicantes, en las que el ápice de las hojas suele ser obtuso y la flor central de la cima no suele alcanzar el extremo superior del artejo fértil. Micromorfológicamente, sus semillas pueden presentar dos tipos de indumentos para la exotesta: indumento tipo a y b; y los estomas son del morfotipo 1. Este grupo de plantas se correspondería con la especie cuya descripción coincide con *Sarcocornia fruticosa*.

El segundo grupo de plantas presenta un hábito postrado o erecto con tallos radicantes, siendo el ápice de las hojas normalmente agudo y la flor central de la cima suele llegar al extremo superior del artejo fértil. Desde el punto de vista micromorfológico, la exotesta de las semillas sólo presenta un tipo de ornamentación (tipo c) y los estomas son del morfotipo 2. Este segundo grupo coincide con la especie aceptada actualmente como *Sarcocornia perennis*.

5. DISCUSIÓN

El estudio realizado refleja que *S. fruticosa* y *S. perennis* se pueden diferenciar en relación con caracteres macro y micromorfológicos, aunque es cierto, que estos últimos proporcionan una mayor resolución taxonómica, ya que los caracteres macromorfológicos no son completamente fiables. Muchos de los caracteres utilizados en las distintas Floras, para la separación de las diferentes especies citadas en este género, presentan esta problemática. El caso del hábito ha sido muy utilizado (QUÉZEL & SANTA, 1963; LAUSI, 1982; MEIKLE, 1985; BOLÒS & VIGO, 1990; CASTROVIEJO, 1990; BALL, 1993; TAN, 1997; AIZPURU, *et al.*, 1999; BOULOS, 1999; FREITAG, 2000; DAVY *et al.*, 2006; COSTE, 2007; JEANMONOD & GAMISANS, 2007; SÁNCHEZ-GÓMEZ & GUERRA, 2007; MATEO & CRESPO, 2009), aunque en ocasiones este carácter puede llevar a confusión, ya que dependiendo del hábitat de la especie, cuando los tallos llegan al suelo, éstos se hacen enraizantes. Atendiendo al estudio realizado, se puede hablar de rangos amplios, y se ha optado por identificar tres morfotipos: erecto-no enraizante, donde los tallos son generalmente erectos o decumbentes y muy ramificados, que se correspondería con *S. fruticosa*; y los morfotipos postrado-enraizante y erecto-enraizante que aparecerían en la especie *S. perennis*. Otros autores como CASTROVIEJO & COELLO (1980), LAUSI (1982), VALDÉS *et al.* (1987b, 2002), BOLÒS & VIGO (1990), CASTROVIEJO (1990), STACE (1991), CASTROVIEJO & LAGO (1992), BALL (1993), BOULOS (1999), FREITAG (2000), JEANMONOD & GAMISANS (2007) y CABELLO (2011) apuntan, al igual que ha sido confirmado en este estudio, a la presencia o ausencia de estas ramas radicantes como uno de los caracteres distintivos entre las dos especies. No obstante, de manera puntual *S. fruticosa* puede mostrar tallos que en contacto con el suelo producen raíces adventicias, como también lo han indicado BOLÒS & VIGO (1990).

Otros caracteres relacionados con el hábito que se han utilizado, han sido la altura y el diámetro de las plantas, el tamaño y forma de los artejos de las ramas, el ápice de las hojas y la coloración de las plantas.

La altura máxima señalada para *S. fruticosa* en este estudio de 100(180) cm supera la indicada en los datos bibliográficos. CASTROVIEJO (1990) describe *S. fruticosa* con un rango comprendido entre 50-150 cm, para CABELLO (2011) es de 100(150) cm, y hasta

100 m en los trabajos de MAIRE & QUÉZEL (1962), ZOHARY (1966), BALL (1967a, 1993), VALDÉS *et al.* (1987b), COSTE (2007) y JEANMONOD & GAMISANS (2007). MEIKLE (1985) aporta alturas inferiores comprendidas entre 20 y 50 cm y COUTINHO (1939) entre 30 y 80 cm. En el caso de *S. perennis*, el morfotipo erecto-enraizante alcanza una altura máxima de 80 cm mientras que el postrado-enraizante es de 20 cm. En el primer caso, la medida coincide con las que CASTROVIEJO (1990) y CABELLO (2011) indican para *S. perennis* subsp. *alpini*, mientras que VALDÉS *et al.* (1987b) aportan una altura máxima de 50 cm para esta subespecie. En el segundo caso, ZOHARY (1966), VALDÉS *et al.* (1987b), BOLÒS & VIGO (1990) y CASTROVIEJO (1990) presentan el mismo dato para este morfotipo. Sin embargo, otros autores aportan medidas que pueden alcanzar 25 ó 30 cm (STACE, 1991; BOULOS, 1999; AIZPURU, *et al.*, 1999; DAVY *et al.*, 2006), 50 cm (TAN, 1997; FREITAG, 2000) y 60 cm (COUTINHO, 1939). Algunos autores (MAIRE & QUÉZEL, 1962; FREITAG, 2000; LAHONDÈRE, 2004) han empleado el diámetro de la planta para describir la especie *S. perennis*, aportando diámetros de hasta 2 m. En el presente estudio no se han realizado medidas de diámetro, sin embargo, se ha observado que en el caso del biotipo postrado-enraizante de *S. perennis*, ejemplares de las poblaciones de Chichester (L1), Morston (L2), Arekmane (L33), Faro (L39), Marina de Cudeyo (L44), Astillero (L44), Ría de la Rabia (L45), Ría de Villaviciosa (L46), Betanzos (L47), Isla de la Toja (L48), desembocadura del río Umia (L48) y Marisma de Carregal (L48) llegan a formar verdaderos tapices donde es difícil diferenciar entre distintos individuos.

Respecto al tamaño de los artejos en las ramas vegetativas, no se ha observado una tendencia que posibilite distinguir entre diferentes especies ya que existe un rango general en el cual se incluyen *S. fruticosa* y *S. perennis*. Este resultado estaría en desacuerdo con lo propuesto por BOLÒS & VIGO (1990), quienes comentan la presencia de artejos con una mayor longitud en *S. perennis* que en *S. fruticosa*, siendo éstos más delgados también. Este hecho comentado por BOLÒS & VIGO (1990), podría deberse a la acumulación de agua junto con solutos disueltos (SCHÜTZE *et al.*, 2003) por parte de aquellas poblaciones de *S. perennis* que se encontrasen en contacto directo con el agua del mar. Las medidas resultantes de tamaño de los artejos en este trabajo coinciden en gran parte con las aportadas por otros autores como MAIRE & QUÉZEL

(1962), BOULOS (1999) y DAVY *et al.* (2006). En relación con la forma de estos artejos, se puede observar que la forma de los artejos es obcónica en las dos especies. El ápice de los artejos es un carácter utilizado por varios autores en la descripción de especies del género *Sarcocornia* (MAIRE & QUÉZEL, 1962; CASTROVIEJO, 1990; FREITAG, 2000; DAVY *et al.*, 2006; ALONSO & CRESPO, 2008; STEFFEN *et al.*, 2009, 2010), en donde la presencia o ausencia de la quilla y el hecho de tener un borde redondeado o agudo es importante con fines taxonómicos. La tendencia observada es que *S. fruticosa* presente ápices más bien obtusos, en los que la observación de la quilla es difícil, mientras que *S. perennis* presenta ápices agudos, que pueden llegar a ser puntiagudos en algunas poblaciones, donde la quilla se observa con mayor facilidad. Los datos obtenidos coinciden con BOLÒS & VIGO (1990), FREITAG (2000) y DAVY *et al.* (2006). Sin embargo, CASTROVIEJO (1990) y CABELLO (2011) comentan la presencia de ápices puntiagudos para *S. fruticosa* y agudos en *S. perennis*.

Para finalizar hay que comentar la coloración. Se trata de un carácter cualitativo que ha sido ampliamente utilizado en la diferenciación de los distintos táxones aceptados en el género *Sarcocornia*. Muchos autores han utilizado la diferenciación entre una coloración verde glauca en *S. fruticosa* y un color verde-amarillento que puede llegar a ser rojo en *S. perennis* (MEIKLE, 1985; STACE, 1991; BALL, 1993; BOULOS, 1999; FREITAG, 2000; DAVY *et al.*, 2006; JEANMONOD & GAMISANS, 2007). Resulta llamativo el caso de VALDÉS *et al.* (1987b) que diferencian entre dos subespecies en *S. perennis*, las cuales también difieren en cuanto a la coloración (verde intenso frente a verde amarillento o púrpura). Sin embargo, puede que sea el carácter más variable de todos, no siendo posible utilizarlo con los ejemplares de herbario. En las observaciones realizadas en campo, se ha visto toda esta variabilidad de colores en las poblaciones estudiadas, por lo que se trata de un carácter muy subjetivo y muy difícil de usar en la diferenciación de las especies. Además, se ha observado la coloración rojiza en todas las poblaciones. Ésta se debe a la presencia de betalaínas, un pigmento presente en el orden *Caryophyllales* (CLEMENT *et al.*, 1994; BROCKINGTON *et al.*, 2011), que atendiendo a la época del año aparece en mayor o menor medida.

Las características relacionadas con las estructuras reproductivas también se han usado para diferenciar entre estas especies: la medida de la espiga terminal, el número

de inflorescencias laterales, el número de artejos estériles bajo las inflorescencias laterales y los caracteres relacionados con las cimas (número de flores y disposición de la flor central respecto el artejo fértil), con las flores (estigma, número de estambres y longitud de las anteras) y el tipo de fruto.

La medida de la espiga terminal es un carácter que no presenta suficiente resolución. Los intervalos aquí obtenidos para ambas especies coinciden con la mayoría de los datos aportados para este carácter (MAIRE & QUÉZEL, 1962; QUÉZEL & SANTA, 1963; MEIKLE, 1985; VALDÉS *et al.*, 1987b; CASTROVIEJO, 1990; STACE, 1991; FREITAG, 2000; DAVY *et al.*, 2006). COSTE (2007) presenta valores de longitud inferiores a los mostrados en este capítulo tanto para *S. fruticosa* (3-5 mm) como para *S. perennis* (3-4 mm).

La presencia de inflorescencias laterales ha sido menos discutida. De hecho, MAIRE & QUÉZEL (1962), CASTROVIEJO (1990) y COSTE (2007) no aportan ningún dato referente a su número, pero sí lo hacen en relación con las medidas de estas inflorescencias laterales. En el presente estudio, sí se ha estudiado su número y el número de artejos estériles que presentan, resultando en un único rango para ambos caracteres compartidos por las dos especies. VALDÉS *et al.* (1987b) son los únicos que comentan el número de artejos estériles, aportando un rango de 1 a 5, que se encuentra dentro del rango presentado en este estudio.

Los caracteres relacionados con la descripción de las cimas han sido más estudiados. Por una parte, la descripción de cimas constituidas por tres flores aparece en la mayoría de los trabajos (MAIRE & QUÉZEL, 1962; QUÉZEL & SANTA, 1963; MEIKLE, 1985; BOLÒS & VIGO, 1990; CASTROVIEJO, 1990; BALL, 1993; BOULOS, 1999; COSTE, 2007), aunque en algunos de ellos el rango aparece ampliado hasta 5 (MAIRE & QUÉZEL, 1962; VALDÉS *et al.*, 1987b), e incluso hasta 12 (BOULOS, 1999). En el muestreo realizado, se han encontrado varios individuos de *S. fruticosa* de la localidad de Bonanza (L62) con cuatro flores. La presencia de cimas con más de tres flores, se presenta en otras especies del género como *S. decumbens* que tiene entre 3 y 7 flores por cima (STEFFEN *et al.*, 2010) y *S. quinqueflora* con un rango de (3)5(9) flores por cima (DURETO & MORRIS, 2011).

La disposición de la flor central respecto al artejo fértil se ha utilizado para separar ambas especies. En el estudio realizado, se ha visto que existe una tendencia en *S. perennis* a alcanzar el extremo superior del artejo, que no suele presentar *S. fruticosa*, aunque esto no siempre se cumple. VALDÉS *et al.* (1987b), BOLÒS & VIGO (1990), BALL (1993) y BOULOS (1999) describen esta misma tendencia. Hay que tener en cuenta que el carácter relacionado con la disposición de la flor central no se cumple en los artejos más basales de la espiga, donde la flor central nunca o casi nunca llega hasta el extremo superior del artejo, y conforme se va acercando hacia la parte superior de la espiga, es cuando la flor alcanza tal punto.

Respecto a las características del estigma, los estambres y las anteras, se ha descrito que los estigmas suelen ser bífidos, aunque en ocasiones pueden ser trífidos (MEIKLE, 1985; VALDÉS *et al.*, 1987b; BOLÒS & VIGO, 1990; CASTROVIEJO, 1990; STACE, 1991; DAVY *et al.*, 2006; CABELLO, 2011) o que normalmente son trífidos y raramente aparecen dos (MAIRE & QUÉZEL, 1962; ZOHARY, 1966; BOULOS, 1999). Se ha observado que lo común en ambas especies, es la presencia de estigmas bífidos y plumosos, sin embargo, en algunos individuos de la población atlántica de Isla de la Toja (L48), y de ciertas poblaciones mediterráneas [Carretera de Pozallo a Pachino (L16) y Laguna de Peña Hueca (L51)] se ha encontrado la presencia de estigmas trífidos. Respecto al número de estambres, se ha observado que el número es dos en ambas especies. Este dato coincide con VALDÉS *et al.* (1987b), CASTROVIEJO (1990) y CABELLO (2011). Sin embargo, TAN (1997) aporta el dato de un solo estambre para *S. fruticosa*. En cuanto a la longitud de las anteras, se ha observado que es la misma para las dos especies (1 mm). Este dato coincide con algunas de las medidas aportadas por otros autores. MEIKLE (1985) y TAN (1997) dan este mismo dato para *S. fruticosa*, mientras que VALDÉS *et al.* (1987b) lo amplían hasta 1.5 mm en *S. fruticosa* y lo mantienen en 1.0 mm para *S. perennis*, y STACE (1991) también lo amplía a 1.5 mm, pero en este caso para *S. perennis*.

En relación con el tipo de fruto que presentan estas plantas, la mayoría de las obras no lo describen (MAIRE & QUÉZEL, 1962; QUÉZEL & SANTA, 1963; VALDÉS *et al.*, 1987b; BOLÒS & VIGO, 1990; STACE, 1991; BALL, 1993; TAN, 1997; AIZPURU *et al.*, 1999; BOULOS, 1999; FREITAG, 2000; DAVY *et al.*, 2006; COSTE, 2007; JEANMONOD &

GAMISANS, 2007; CABELLO, 2011). Únicamente MEIKLE (1985), CASTROVIEJO (1990) y FUENTE *et al.* (2011) hacen referencia al fruto. CASTROVIEJO (1990) y FUENTE *et al.* (2011) comentan que se trata de un fruto en aquenio, mientras que para MEIKLE (1985) se trata de un fruto en utrículo. Tras haber estudiado el fruto y consultado las definiciones de ambos tipos de fruto (FONT QUER, 1989), se concluye que se trata de un fruto en utrículo para ambas especies. La relación entre el pericarpo-perianto y la semilla se ha utilizado en el estudio de la subfamilia *Salicornioideae* (SHEPHERD *et al.*, 2005b) y en la descripción de especies del género *Sarcocornia* (FUENTE *et al.*, 2011). Los resultados obtenidos en este capítulo coinciden con lo dicho por SHEPHERD *et al.* (2005b), observándose en *S. fruticosa* y *S. perennis* el pericarpo-perianto fusionados con la semilla, que queda parcialmente incluida dentro de esta estructura.

Los caracteres micromorfológicos son los que, sin duda, permiten diferenciar las dos especies que conforman el género *Sarcocornia* en su distribución europea-norteafricana. Se trata concretamente de caracteres sobre la morfología seminal y estomática. Los resultados obtenidos con el primero de ellos, coinciden con lo indicado por ALONSO & CRESPO (2008) para diferenciar las distintas especies de *Sarcocornia* en Sudamérica, con STEFFEN *et al.* (2009, 2010) para separar las especies sudafricanas, y con SHEPHERD *et al.* (2005b) que utilizaron este mismo carácter dentro de la subfamilia *Salicornioideae*. En relación con la morfología estomática, el uso de este carácter se remonta a DUVAL-JOUVEL (1868) quien ofreció una clave dicotómica basada en la disposición de las células epidérmicas alrededor de los estomas. Posteriormente, MAIRE & QUÉZEL (1962) hicieron alusión al distinto contorno de los estomas entre las especies *Salicornia perennis* y *Salicornia arabica*. Más recientemente, REDONDO (2004) y DAVY *et al.* (2006) comentaron la existencia de estomas de tipo paracítico, aunque no usaron este carácter con un enfoque taxonómico, sino más bien, como información aportada para un mayor conocimiento de las especies.

El estudio de los estomas permite diferenciar entre las dos especies. Ambas especies, como ya se ha comentado anteriormente, tienen una forma de vida semejante, unas adaptaciones a la salinidad muy parecidas y comparten el mismo hábitat, incluso conviven. También se ha comprobado que en especies que viven sumergidas temporalmente por efecto de las mareas, presentan el mismo tipo de estomas tanto en

la parte aérea como en la zona sumergida. Por tanto, se puede concluir que el morfotipo estomático es un carácter estable y propio para cada uno de los táxones estudiados y que puede servir como carácter taxonómico para la identificación de las especies aquí estudiadas, *S. fruticosa* y *S. perennis*. Sobre todo, cabe destacar que el hecho que sea un carácter vegetativo, permite ser observado en cualquier tipo de material (fresco y de herbario). Se demuestra así lo dicho por GAY & HURD (1975) en relación con los estomas que aparecen de manera muy temprana en el desarrollo de las hojas. Además, hay que comentar que muchos autores tratan la existencia de densidades bajas de estomas hundidos como una adaptación de las plantas a zonas áridas (MÜLLER, 1964; LARCHER, 2003), incluso señalan que reducen la transpiración y en hábitats salinos inhiben la absorción (DELF, 1915). Otros autores han usado este carácter para adscribir las especies que los desarrollan a condiciones de vida xérica (HILL, 1998). Incluso se ha publicado, que ciertas condiciones ambientales, hacen variar las áreas foliares y el número de estomas por unidad de área foliar; según esto, las plantas que crecieron en suelos secos y con poca humedad ambiental tienen más estomas hundidos que las que lo hicieron en suelos húmedos y alta humedad ambiental (METCALFE & CHALK, 1979; WILLNER, 1986). Con el fin de comprobar si existía una correlación entre el morfotipo estomático y su densidad en la hoja, se calcularon las densidades estomáticas. El resultado obtenido mostró que no existía una relación entre la presencia de estomas hundidos, su densidad y el desarrollo de estas plantas en ambientes áridos puesto que atendiendo a los resultados obtenidos, *S. perennis* con estomas expuestos, ha mostrado densidades estomáticas inferiores a las de *S. fruticosa*. De esta manera se corroboró lo publicado por JORDAN *et al.* (2008) en la familia *Proteaceae* Juss., donde se contradice lo establecido acerca que la presencia de estomas hundidos son una adaptación a los climas xéricos (MÜLLER, 1964; LARCHER, 2003). También se ha demostrado que el hecho de tener estomas hundidos tampoco supone una gran ventaja en la disminución de la transpiración de éstos (ROTH-NEBELSICK *et al.*, 2009).

El polen, tal y como comentan VALDÉS *et al.* (1987a), presenta las mismas características que las descritas en la familia *Chenopodiaceae*. Atendiendo a los resultados de este trabajo, las dos especies estudiadas presentan un único tipo de polen, coincidiendo con lo dicho por VALDÉS *et al.* (1987a). En su trabajo presentaron datos

concretos para *S. fruticosa*, *S. perennis* subsp. *perennis* y *S. perennis* subsp. *alpini*, los cuales se encuentran dentro del rango aquí presentado.

Las características presentes en las semillas del género *Sarcocornia* incluyen forma ovado-orbiculada, con orientación vertical y coloración marrón. Respecto al tamaño de la semilla, en muchos trabajos se ha utilizado este carácter para diferenciar entre táxones (MAIRE & QUÉZEL, 1962; MEIKLE, 1985; FREITAG, 2000, FUENTE *et al.*, 2011). Sin embargo, con las medidas obtenidas en el presente trabajo, se ha visto que las especies no pueden separarse basándose únicamente en esta característica, ya que los tamaños de las semillas son muy variables y en las dos especies las medidas se encuentran solapadas. El rango de medidas que se presenta para las semillas de *S. perennis* y *S. fruticosa* es de $0.63-1.10(1.50) \times 0.41-1.02$ mm, encontrándose dentro del rango aportado por SHEPHERD *et al.* (2005b) para la longitud de las semillas de la subfamilia *Salicornioideae*. Las medidas aportadas por otros autores (MAIRE & QUÉZEL, 1962; MEIKLE, 1985) aparecen dentro del rango presentado. Por su parte, FREITAG (2000) indica como longitud aproximada de las semillas de *S. perennis* 2 mm. Derivado del estudio del tamaño de las semillas y de los niveles de ploidía presentes en *S. fruticosa* y *S. perennis*, se ha observado que en el caso de *S. fruticosa*, se podría establecer de manera preliminar una relación entre semillas de gran tamaño y el máximo nivel de ploidía que se conoce para esta especie ($2n=72$). Las poblaciones en las que se ha observado esta tendencia han sido Ludo (L39), Es Trenc (L42), Delta del Ebro (L50), Lagunas de Bon Matí (L56) y Salinas del Braç del Port (L56), de acuerdo con los recuentos cromosómicos dados por NILSSON & LASSEN (1971), CASTROVIEJO & COELLO (1980) y CASTROVIEJO & LAGO (1992). Sin embargo, sería necesario comprobar a través de estudios futuros, si esta tendencia observada, se cumple también en el resto de poblaciones de *S. fruticosa*, pudiéndose establecer una relación entre el tamaño de las semillas y su nivel de ploidía. Otros caracteres referentes a las semillas son los relacionados con el indumento de la exotesta. Como ya indicaran ALONSO & CRESPO (2008) en el estudio de las especies de *Sarcocornia* sudamericanas, es muy probable que sea uno de los caracteres más fiables en la identificación taxonómica de este grupo de plantas. Es así como muchos autores hacen referencia siempre a este carácter (MAIRE & QUÉZEL, 1962; MEIKLE, 1985; VALDÉS *et al.*, 1987b; BOLÒS & VIGO, 1990; CASTROVIEJO, 1990; BALL, 1993; BOULOS,

1999; FREITAG, 2000; DAVY *et al.*, 2006; COSTE, 2007; CABELLO, 2011). Atendiendo a los resultados obtenidos, y tras analizar el indumento de la testa, la forma de los tricomas, la longitud y la medida de la base de éstos, la densidad de tricomas, su distribución y disposición por la semilla, se pueden diferenciar tres tipos de ornamentaciones de la exotesta, que se han denominado a, b y c (ver Figura 3.12). Las ornamentaciones a y b se han observado en la especie *S. fruticosa*, y la ornamentación tipo c en *S. perennis*. De forma general, la ornamentación de las semillas de *S. perennis* se ha caracterizado por presentar pelos curvados y ganchudos (MAIRE & QUÉZEL, 1962; ZOHARY, 1966; VALDÉS *et al.*, 1987b; BOLÒS & VIGO, 1990; CASTROVIEJO, 1990; BALL, 1993; BOULOS, 1999), que pueden ser cortos y largos, aunque COSTE (2007) la describe como pubescente. Los resultados obtenidos en este capítulo coinciden con dicha caracterización, permitiendo identificar sin lugar a dudas las semillas de *S. perennis*. En cuanto a *S. fruticosa*, se han realizado diferentes descripciones de la ornamentación. MAIRE & QUÉZEL (1962), ZOHARY (1966), VALDÉS *et al.* (1987b) y BOLÒS & VIGO (1990) comentan que presentan pelos cortos y cónicos, CASTROVIEJO (1990) y CABELLO (2011) añaden la presencia de protuberancias a los pelos cortos y cónicos. MEIKLE (1985), BALL (1993) y BOULOS (1999) hacen alusión a un indumento tuberculado y por último, COSTE (2007) describe la superficie de las semillas como granulada. Los datos obtenidos para *S. fruticosa* en este capítulo son similares a los descritos, con la diferencia que se han definido dos tipos de ornamentación de las semillas para *S. fruticosa*: tipo a (con papilas o mamelones) y tipo b (con tricomas cortos y patentes, que en ocasiones aparecen acompañados de mamelones), que se distinguen perfectamente de la ornamentación de las semillas de *S. perennis* (tipo c).

Atendiendo a los niveles de ploidía, se ha podido verificar la presencia de ejemplares hexaploides ($2n=54$) de *S. fruticosa* en la costa alicantina, exactamente en las poblaciones de Salinas del Braç del Port (L56) y de Torrelamata (L56). Estos datos coinciden con los de CASTRO & FONTES (1946) sobre material portugués, con los de CONTANDRIOPOULOS (1968) y LABADIE (1976) sobre material francés, con los de CASTROVIEJO & COELLO (1980) sobre material español de Alicante, Huelva y Murcia, y con los de PASTOR & VALDÉS (1986) sobre material de Huelva. A parte del nivel cromosómico hexaploide, en *S. fruticosa* se han descrito también ejemplares tetraploides

($2n=36$) y octoploides ($2n=72$) (NILSSON & LASSEN, 1971; CASTROVIEJO & COELLO, 1980; CASTROVIEJO & LAGO, 1992). En relación con *S. perennis*, únicamente se han descrito dos niveles de ploidía: diploide ($2n=18$) y triploide ($2n=27$) (MAUDE, 1939; CASTRO & FONTES, 1946; HANBLER, 1954, 1955; BALL, 1957; DALBY, 1962; CONTANDRIOPOULOS, 1968; CASTROVIEJO & COELLO, 1980; PASTOR & VALDÉS, 1986; CASTROVIEJO & LAGO, 1992), siendo el nivel diploide el más extendido en la península ibérica (CASTROVIEJO & COELLO, 1980). Los resultados cromosómicos obtenidos en este capítulo junto con los datos aportados por otros autores (MAUDE, 1939; CASTRO & FONTES, 1946; HANBLER, 1954, 1955; BALL, 1957; DALBY, 1962; CONTANDRIOPOULOS, 1968; NILSSON & LASSEN, 1971; LABADIE, 1976; CASTROVIEJO & COELLO, 1980; CASTROVIEJO & LAGO, 1992), revelan la presencia de un gran complejo poliploide constituido por las dos especies objeto de estudio. La poliploidía podría explicar la gran variabilidad morfológica observada en *S. fruticosa* y *S. perennis*, ya que ha sido reconocido como un mecanismo que promueve la diversidad fenotípica (SHEPHERD & YAN, 2003).

5.1. La identidad taxonómica de *Sarcocornia perennis* subsp. *alpini*

En relación con la identidad taxonómica de *S. perennis* subsp. *alpini*, se ha podido observar que con los datos morfológicos analizados, no existen suficientes características que permitan identificar dos subespecies en el seno de *S. perennis*. Para cada uno de los táxones propuestos, se debería observar una ocupación geográfica y ecológica bien delimitada, que a su vez estuviese asociada a unas características morfológicas que permitiesen su identificación. CASTROVIEJO & COELLO (1980) presentan la tipificación de *S. perennis* subsp. *alpini* con material procedente de las marismas de Barrameda (MA 29391). En su discusión, aluden a que este taxon, inicialmente descrito por Lagasca, aparece en zonas desecables, al menos de territorios ibéricos, y se distingue morfológicamente de la subespecie tipo por su hábito, ramas y diámetro de las inflorescencias. Desde el punto de vista cariológico, *S. perennis* subsp. *alpini* comparte los niveles diploide y triploide con *S. perennis* subsp. *perennis* (CASTROVIEJO & COELLO, 1980; CASTROVIEJO, 1990; CASTROVIEJO & LAGO, 1992). Son muchos los autores (VALDÉS *et al.*, 1987b; CASTROVIEJO, 1990; CASTROVIEJO & LAGO, 1992; LUQUE *et al.*, 1995; FIGUEROA *et al.*, 2003; DAVY *et al.*, 2006) que han

seguido la separación propuesta por CASTROVIEJO & COELLO (1980). Sin embargo, LÓPEZ GONZÁLEZ (1997) no acepta la separación taxonómica de estas dos subespecies, atendiendo a la variabilidad de los caracteres vegetativos, a la inestabilidad de los medios en los que vive y a la ausencia de una separación geográfica o ecológica entre las dos subespecies.

En relación con los resultados obtenidos, la división de *S. perennis* en dos subespecies no está apoyada ni desde el punto de vista molecular, ni desde el punto de vista morfológico. Los análisis filogenéticos y poblacionales han mostrado que no existe apoyo para el reconocimiento de dos subespecies en el seno de *S. perennis*. De hecho, no existe una diferenciación filogenética entre las dos subespecies, que en ningún caso forman dos clados monofiléticos separados. Además, el estudio de variabilidad poblacional, ha confirmado la ausencia de estructuración genética a nivel subespecífico en *S. perennis*, apareciendo la población del taxon reconocido como *S. perennis* subsp. *alpini* embebida entre el resto de poblaciones de *S. perennis* subsp. *perennis*.

Tal y como ocurre en los resultados moleculares, no se ha encontrado ningún carácter morfológico que apoye la separación de *S. perennis* en dos subespecies. CASTROVIEJO & COELLO (1980) basaron la descripción de *S. perennis* subsp. *alpini* en la presencia de matas leñosas y densas con los tallos tortuosos y las ramas generalmente erguidas y leñosas, así como en la presencia de espigas con un diámetro de 1.5-3.5 mm, y más homogéneamente tubulares. Estas características junto con una altura máxima de 80 cm (CASTROVIEJO, 1990), se han utilizado para diferenciarla de la subespecie típica que puede llegar a alcanzar 20 cm de altura, presenta los tallos generalmente flexibles y flexuosos y el diámetro de las espigas está comprendido entre 2.5 y 4.5 mm (CASTROVIEJO, 1990). Otros autores se han basado en esta descripción para diferenciar las dos subespecies, añadiendo algunos caracteres más, como es el caso de VALDÉS *et al.* (1987b) que hacen referencia al color de las ramas vegetativas. Este autor diferencia entre una coloración verde intensa en *S. perennis* subsp. *alpini* y una coloración verde-amarillenta, amarillenta o púrpura en *S. perennis* subsp. *perennis*.

El estudio aquí realizado de los caracteres vegetativos y reproductivos no ha permitido reconocer diferentes unidades taxonómicas. De las localidades en las que se ha citado tradicionalmente *S. perennis* subsp. *alpini* [En España: Alicante, Albacete,

Almería, Barcelona, Cádiz, Ciudad Real, Castellón, Granada, Huelva, Madrid, Málaga, islas baleares (Cabrera), Pontevedra, Sevilla, Tarragona, Toledo y Valencia. En Portugal: Algarve, Baixo Alentejo, Beira Litoral, Estremadura y Ribatejo. En Marruecos: Beni Snassen, Guercif e Imzorène. En Italia] (CASTROVIEJO, 1990; MOLERO & MONTSERRAT, 2006; BIONDI *et al.*, 2010), se han estudiado muchas poblaciones (Apéndice 3), obteniendo siempre rangos claramente solapados entre las dos subespecies.

Además, en aquellos caracteres micromorfológicos que han tenido relevancia taxonómica en la diferenciación de *S. fruticosa* y *S. perennis* (ornamentación de la testa de las semillas y tipo estomático), tampoco se ha observado diferenciación alguna. En primer lugar, las semillas que pertenecerían a las dos subespecies presentan el mismo tipo de ornamentación (tipo c), y en segundo lugar, los estomas para ambas subespecies también serían del mismo morfotipo (tipo 2).

5.2. Identidad taxonómica de la especie *Sarcocornia hispanica*

FUENTE *et al.* (2011) describieron la especie *S. hispanica* basándose en ciertos caracteres morfológicos, como son la forma de vida o hábito, el ápice de las hojas, el pericarpo, y la forma y ornamentación de las semillas, que permitirían distinguir esta nueva especie del resto de las especies peninsulares. Existe una clara diferenciación morfológica entre *S. hispanica* y *S. perennis*, basada en la presencia en *S. perennis* de un hábito postrado-enraizante o erecto-enraizante, de artejos con ápice agudo o puntiagudo en las hojas jóvenes, y de semillas con una ornamentación caracterizada por tener pelos largos y curvados. Sin embargo, la distinción entre *S. hispanica* y *S. fruticosa* no es tan evidente, existiendo un gran solapamiento entre los caracteres señalados por FUENTE *et al.* (2011).

En cuanto al hábito, muchos autores lo interpretan como un buen carácter para diferenciar entre especies en el género *Sarcocornia* (QUÉZEL & SANTA, 1963; LAUSI, 1982; MEIKLE, 1985; BOLÒS & VIGO, 1990; CASTROVIEJO, 1990; BALL, 1993; TAN, 1997; AIZPURU, *et al.*, 1999; BOULOS, 1999; FREITAG, 2000; DAVY *et al.*, 2006; COSTE, 2007; JEANMONOD & GAMISANS, 2007; SÁNCHEZ-GÓMEZ & GUERRA, 2007; MATEO & CRESPO, 2009), ya que, como se ha comentado, permite distinguir entre especies

postradas y enraizantes como *S. perennis*, frente a erectas y no enraizantes como *S. fruticosa*. En el caso de *S. fruticosa* y *S. hispanica*, ambos táxones son erectos y no enraizantes, por lo que este carácter no sería útil para separar ambas especies.

Otro de los caracteres que indican FUENTE *et al.* (2011) es la forma del ápice de la hoja. Éste es un carácter utilizado por varios autores en la identificación de varias de las especies del género *Sarcocornia* (MAIRE & QUÉZEL, 1962; CASTROVIEJO, 1990; FREITAG, 2000; DAVY *et al.*, 2006; ALONSO & CRESPO, 2008; STEFFEN *et al.*, 2009, 2010). Según los datos aquí obtenidos, se puede observar que *S. fruticosa* muestra una tendencia a presentar ápices obtusos, lo que coincidiría de nuevo con el tipo morfológico propuesto para *S. hispanica*: de ápices que van de subagudos a redondeados (FUENTE *et al.*, 2011).

En relación con la exotesta de la semilla, se trata de un carácter que permite identificar con facilidad las especies *S. perennis* y *S. fruticosa*, como ya se ha puesto de manifiesto en este trabajo y por autores previos (MAIRE & QUÉZEL, 1962; MEIKLE, 1985; VALDÉS *et al.*, 1987b; BOLÒS & VIGO, 1990; CASTROVIEJO, 1990; BALL, 1993; BOULOS, 1999; FREITAG, 2000; DAVY *et al.*, 2006; COSTE, 2007; CABELLO, 2011; GUILLÓ *et al.*, 2012a). La descripción morfológica de la testa de la semilla de *S. fruticosa* coincide con el indumento propuesto por FUENTE *et al.* (2011) para *S. hispanica*.

Relacionado con la semilla, FUENTE *et al.* (2011) hicieron referencia a la fusión entre el pericarpo y la semilla. En su discusión apuntaron hacia la presencia de un pericarpo parcialmente fusionado a la semilla como una característica distintiva de la nueva especie. Sin embargo, en las observaciones realizadas de las semillas y del fruto en el presente estudio, se ha visto que tanto para *S. fruticosa* como para *S. perennis*, el perianto se fusiona al pericarpo y la semilla queda incluida parcialmente en esta estructura, separándose con dificultad. Estos resultados, además, coinciden con los aportados por SHEPHERD *et al.* (2005b) para *S. fruticosa*, por lo que este carácter no puede emplearse para diferenciar esta nueva especie de *S. fruticosa*.

En el estudio de los estomas realizado en el presente trabajo, se han incluido poblaciones en las que crecería *S. hispanica*. Se ha comprobado que dichas poblaciones presentan el mismo morfotipo estomático que *S. fruticosa* (morfotipo 1), donde los estomas aparecen claramente hundidos.

Por último, en cuanto a la citología, FUENTE *et al.* (2011) presentaron un nivel hexaploide para *S. hispanica*, realizando recuentos de las poblaciones de Las Virtudes (Villena, Alicante) y San Felipe Neri (Alicante). Este nivel hexaploide coincide con los datos obtenidos en este capítulo, donde se ha realizado un recuento cromosómico en las poblaciones alicantinas de *S. fruticosa* de Torrelamata (Torrevieja) y Salinas del Braç del Port (Santa Pola). También concuerda con los datos aportados por CASTROVIEJO & COELLO (1980) y PASTOR & VALDÉS (1986) para diversas poblaciones del sureste peninsular y Huelva.

Atendiendo a todo lo dicho, se puede concluir que no existen caracteres morfológicos significativos que permitan aceptar la existencia de dos especies que convivan en el sureste de la península ibérica. Además, las comparaciones morfológicas entre las poblaciones de Las Virtudes (localidad tipo de *S. hispanica*) y las poblaciones de la Camarga (Francia) (localidad tipo de *S. fruticosa*), no aportan diferencias significativas para reconocer dos táxones diferentes, como proponen FUENTE *et al.* (2011). De esta manera, se puede afirmar que no hay motivos para identificar un nuevo taxon en el sureste peninsular y que la especie recientemente descrita como *S. hispanica* sería un mero sinónimo de *Sarcocornia fruticosa*.

5.3. Tratamiento taxonómico del género *Sarcocornia* en Europa y Norte de África

Tras analizar los datos morfológicos y moleculares en su conjunto, se pueden reconocer dos táxones distribuidos en saladares y lagunas salinas de los países ribereños del mediterráneo, y en las costas atlánticas europeas, incluyendo las islas de Lanzarote, Fuerteventura y Gran Canaria, y las costas marroquíes (región Tánger-Tetuán), siendo su distribución más septentrional, las costas de Escocia (FERNÁNDEZ & SANTOS, 1983; GREUTER *et al.*, 1984; DAVY *et al.*, 2006). Estos táxones del género *Sarcocornia* pertenecen a las especies *S. fruticosa* y *S. perennis*.

Los caracteres morfológicos comunes a las dos especies son la presencia de hojas opuestas, soldadas entre sí y con el tallo formando un artejo de morfología obcónica, en cuyo borde se observan las láminas foliares reducidas a escamas hialinas. El tamaño de los artejos es de 2.0-20.0 × 1.5-5.0 mm. Las inflorescencias espiciformes

con un tamaño de 11.0-60.0(90.0) × (1.5)2.0-4.0(5.0) presentan cimas sésiles de 3(4) flores que se encuentran en la axila de cada bráctea, apareciendo dos cimas opuestas en cada artejo fértil. Se pueden diferenciar tanto espigas terminales como laterales, estas últimas son sentadas a excepción de las inflorescencias más basales, en las que se pueden observar entre 1 y 11 artejos estériles. El número de espigas laterales es variable, con un rango comprendido entre 0 y 40. Las flores son hermafroditas reunidas en grupos de 3, apareciendo situadas en la parte inferior de un artejo fértil, y separadas unas de otras por medio de un tabique, muy aparente después de que el utrículo se haya desprendido en la madurez. El perianto formado por la unión de 4 piezas, queda fusionado al pericarpo en la madurez y cada semilla, se encuentra parcialmente incluida en esta estructura. Como consecuencia, cuando se desprenden las semillas, aparecen restos de pericarpo sobre su testa. El estigma es bífido (en ocasiones trífido) y plumoso. Los estambres en número de 2 presentan anteras que miden 1.0 mm de longitud. Los estomas son paracíticos. El polen es polipantoporado, apolar, con simetría radial, de tamaño medio (diámetro de 17.3-31.8 μm) y de superficie equinulada y punteada con aberturas muy pequeñas y diferenciadas (diámetro 0.9-3.9 μm). Las semillas son ovado-orbiculadas, con una orientación vertical, coloración marrón y ausencia de perisperma. El tamaño es de 0.63-1.10(1.50) × 0.41-1.02 μm. El período de floración abarca aproximadamente los meses de mayo a octubre. En cuanto a la fructificación, se ha observado que la producción de semillas puede darse desde julio a diciembre, pudiendo alargarse bastante este período, sin existir una pauta clara.

***Sarcocornia fruticosa* (L.) A.J. Scott in Bot. J. Linn. Soc. 75(4): 367 f1978L**

- ≡ *Salicornia europaea* L. var. *fruticosa* L., *Sp. Pl.*: 3 (1753) (Basionimo)
- ≡ *Salicornia fruticosa* (L.) L., *Sp. Pl.* ed. 2: 5 (1762).
- ≡ *Arthrocnemum fruticosum* (L.) Moq., *Cbenop. Monogr. Enum.*: 111 (1840)
- = *Salicornia europaea* β *perennis* Gouan, *Hortus Monsp.*: 2 (1762)
- = *Salicornia fruticosa* Willd., *Sp. Pl.* 1: 24 (1797)
- = *Salicornia anceps* Lag., *Mem. Pl. Barrill.*: 52 (1817)
- = *Salicornia fruticosa* α *glaucescens* Ten. in Syll. Pl. Fl. Neapol.: 582 (1831)

= *Salicornia fruticosa* β *deflexa* Rouy, *Fl. France* 12: 60 (1910)

= *Sarcocornia fruticosa* var. *deflexa* C. Lahondère & Gamisans in *Candollea* 43(1): 368 (1988)

= *Sarcocornia hispanica* Fuente, Rufo & Sánchez-Mata in *Lazaroa*: 32 (2011)

– *Salicornia arabica* auct. non. L. *Sp. Pl.* 1: 3 (1753)

Lectotypus: Designado por BALL (2007) en JARVIS (ed.) *Order out of Chaos*: 807 (2007): Herb. Burser XVI(2): 22 espécimen de la derecha (UPS).

Este taxon se caracteriza por un hábito representado por arbustos con ramas ramificadas siempre erectas y no enraizantes, pudiendo alcanzar 100(180) cm de altura. Los tallos son erectos, pudiendo ser decumbentes. No presentan tallos radicantes en los nudos, aunque en raras ocasiones las ramas laterales más largas alcanzan el suelo enraizando. Los ápices de las hojas son mayormente obtusos, raramente agudos, sin quilla aparente. Los estomas presentan las células oclusivas situadas a distinto nivel que las células anexas (estomas hundidos, morfotipo 1). Las células epidérmicas vegetativas son de morfología poligonal y de superficie lisa. En las inflorescencias, la flor central de la cima no suele alcanzar el extremo del artejo. Las semillas presentan dos morfotipos distintos en la ornamentación de la exotesta: el denominado tipo a, que presenta papilas o mamelones distribuidos principalmente por el borde de la semilla, apareciendo mayor cantidad de mamelones en la zona opuesta al micrópilo. Los mamelones tienen una morfología redondeada en la parte superior, con una longitud comprendida entre 12.31 y 67.57 μm, y una anchura de la base de 29.20-61.50 μm. La densidad de estos mamelones en la semilla es de 14-38 tricomas/mm². La ornamentación tipo b presenta tricomas cónicos y patentes de longitud comprendida entre 15.38 y 100.00(106.67) μm, que suelen aparecer distribuidos por el borde de la semilla, aunque en la parte central de la misma pueden aparecer también, siempre en número reducido. La anchura de la base de estos tricomas está comprendida entre 30.80-53.80 μm, y la densidad de estos tricomas patentes es de 20-51 tricomas/mm². En esta ornamentación, junto a los tricomas cortos y patentes, en ocasiones aparecen también papilas o mamelones. $2n=36, 54, 72$.

***Sarcocornia perennis* (Mill.) A.J. Scott in Bot. J. Linn. Soc. 75: 367 (1978)**

- ≡ *Salicornia perennis* Mill., *Gard. Dict.* ed. 8, n. 2 (1768) (Basionimo)
- ≡ *Arthrocnemum fruticosum* β *radicans* (Sm.) Moq., *Chenop. Monogr. Enum.*: 112 (1840)
- = *Salicornia herbacea* β Sm., *Fl. Brit.*: 2 (1800)
- = *Salicornia radicans* Sm. in Sowerby & Sm., *Engl. Bot.* 24, tab. 1691 (1807)
- = *Salicornia lignosa* Woods in *Bot. Gaz.* (London) 3: 31 (1851)
- = *Salicornia sarmentosa* Duval-Jouve in *Bull. Soc. Bot. France* 15: 174 (1869)
- = *Salicornia fruticosa* β *humilis* Ten., *Syll. Pl. Fl. Neapol.*: 582 (1831)

Lectotypus: Designado por GUILLÓ *et al.* (2011). *Salicornia radicans*. Isle of Shepey-Kent; c. 1850. Coll.? Dr. B. Thompson Lowne, K [K000450665].

Esta especie se caracteriza por la presencia de dos tipos de hábitos siempre enraizantes. Por una parte el prostrado en donde las ramas principales son rastreras y presentan siempre tallos enraizantes, dando lugar a formaciones extensas a modo de céspedes, en donde es muy difícil diferenciar individuos con una altura máxima de 20 cm. Y por otra parte el erecto, con ramas erectas que llegan a alcanzar hasta 80 cm. Las hojas jóvenes de ramas secundarias presentan los ápices agudos e incluso pueden ser puntiagudos, pudiendo apreciarse en algunos casos que los artejos son ligeramente aquillados. Los estomas presentan las células oclusivas al mismo nivel que las células anexas (estomas expuestos, morfotipo 2). Las células epidérmicas son poligonales, con una superficie que puede ser reticulada o lisa. En las cimas de las espigas existe una tendencia a que la flor central alcance el extremo superior del artejo fértil. Las semillas presentan un morfotipo de ornamentación de la testa tipo caracterizado por presentar tricomas finos que suelen terminar con el ápice curvado, llegando en muchos casos, y sobre todo en la zona de la semilla opuesta al micrópilo, a parecer verdaderos garfios. Por lo común, son adpresos en su distribución por los bordes de la semilla a excepción en el centro de ésta, donde son más pequeños y la curvatura del ápice no se encuentra desarrollada. La longitud de estos tricomas curvados abarca el rango de 26.15-144.62 μm y la anchura de la base va de 10.80 a 27.70 μm. La densidad de estos tricomas es de 38-83 tricomas/mm². 2*n*=18, 27.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Capítulo 4.

Estructuración genética y filogeografía de *Sarcocornia fruticosa* y *Sarcocornia perennis* en la cuenca mediterránea y costa atlántica

1. INTRODUCCIÓN

Las poblaciones naturales de muchas especies vegetales están notablemente influidas por el aislamiento y la fragmentación de los hábitats donde se desarrollan. La propia fragmentación de los ecosistemas puede influir directamente en la comunicación del flujo genético entre las poblaciones. YOUNG *et al.* (1996) apuntaban que las consecuencias directas de la fragmentación del hábitat van ligadas a un cambio de la variabilidad genética, un aumento de la divergencia genética y una reducción del flujo génico; aunque según estos mismos autores, no siempre se cumplían estas premisas. Recientemente, HONNAY & JACQUEMIN (2007) y AGUILAR *et al.* (2008) realizan una nueva revisión sobre los efectos de la fragmentación de los hábitats naturales, comentando la existencia de los siguientes efectos: cambios en los valores de diversidad genética, aumento de la divergencia genética interpoblacional, disminución del flujo genético entre las poblaciones, aumento de procesos de endogamia, aumento de la probabilidad de extinción local, procesos que afectan por igual a plantas comunes y a raras, y por último, la necesidad de conocer la diversidad genética original previa a la fragmentación.

Sin embargo, conviene destacar que en el caso de las dos especies objeto de estudio, *S. fruticosa* y *S. perennis*, crecen en hábitats que ya se encuentran fragmentados por sí mismos. Sus poblaciones naturales se encuentran ligadas únicamente al medio salino (ALONSO & DE LA TORRE, 1999; ÁLVAREZ ROGEL *et al.*, 2001; KADEREIT *et al.*, 2006; ALONSO, 2009; LENDÍNEZ, 2010), y por lo tanto, la fragmentación forma parte intrínseca de su evolución. No obstante, los efectos causados por la fragmentación pueden estar, además, notablemente acrecentados por la acción antrópica (PALOP-ESTEBAN *et al.*, 2011). Las diversas acciones humanas sobre los saladares influyen, entre otros factores, a las vías naturales de flujo génico, estructura espacial y diversidad genética. Muchos de los saladares objeto de estudio representan un refugio de especies animales y vegetales (TORRALVA *et al.*, 2001). Sin embargo, existe en muchos casos una gran presión urbanística y turística que hace que aumente la tasa de desaparición de los humedales costeros, siendo necesaria la conservación de las comunidades vegetales halófilas típicas de saladares, que llevan asociada una gran diversidad de aves, aportándoles su nicho ecológico (CONESA & SCHULIN, 2010).

El estudio de estos hábitats fragmentados puede realizarse desde una perspectiva molecular. Actualmente la distribución geográfica de la diversidad genética dentro de las especies recibe un especial interés y el conocimiento adquirido de tales estudios, ha promovido el entendimiento de patrones intraespecíficos de variación. La interpretación de los patrones encontrados en los estudios filogeográficos se ha de realizar teniendo en cuenta tanto los procesos históricos a los que ha estado sujeta una especie, como la influencia de las características ambientales (MANTEL *et al.*, 2003) y la propia biología (WESTBERG & KADEREIT, 2009). De esta manera, cada vez son más los estudios que combinan el papel de la biología de las especies en los patrones filogeográficos de variación genética, junto con el análisis del sistema de reproducción, la dispersión de las semillas, el rango geográfico de las especies objeto de estudio, relacionando todo ello con los procesos históricos a los que se han encontrado sometidas (PÉREZ-COLLADOS *et al.*, 2006; RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ *et al.*, 2009; WESTBERG & KADEREIT, 2009; JUAN *et al.*, 2012).

Con todo lo dicho, el presente capítulo pretende realizar un estudio comparativo, utilizando herramientas moleculares, de dos especies del mismo género que presentan requerimientos ecológicos similares. De esta manera, se ofrecerá una visión más aproximada de los diferentes procesos de variación genética que pueden estar padeciendo *S. fruticosa* y *S. perennis* en un área de estudio caracterizada por ser una de las regiones más complejas y heterogéneas del mundo desde un punto de vista biogeográfico, la región mediterránea (QUÉZEL, 1985).

2. OBJETIVOS

En este capítulo se propone realizar un trabajo centrado en la diversidad genética y estructura genética espacial de las poblaciones de *S. fruticosa* y *S. perennis* en la cuenca mediterránea y costa atlántica, con la utilización de diversas técnicas moleculares (AFLP y marcadores plastidiales). Los objetivos planteados son los siguientes:

- Evaluar la variabilidad genética poblacional y la estructura genética espacial de *S. fruticosa* y *S. perennis*.
- Identificar si la fragmentación natural de las poblaciones de estas dos especies corresponde a una fragmentación genética.
- Interpretar las vías de flujo génico entre las poblaciones.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Material vegetal y extracción de ADN

El estudio poblacional de *S. fruticosa* y *S. perennis* se ha realizado sobre 353 muestras procedentes de 36 localidades y 47 poblaciones distribuidas en la cuenca del mar Mediterráneo y costa atlántica (Figura 4.1, Tabla 4.1), pudiendo incluir cada localidad entre una y cuatro poblaciones. El ADN genómico total se ha extraído de material fresco o desecado en gel de sílice (CHASE & HILL, 1991), siguiendo el método modificado 2×CTAB (DOYLE & DOYLE, 1987) y se ha resuspendido entre 700 y 1000 µl de tampón TE_{0.1} (10 Mm Tris-HCl, 1 Mm EDTA, pH 8.0). El ADN total se ha purificado mediante el uso de minicolumnas de purificación de Ultraclean® PCR Clean-Up Kit (MOBIO) siguiendo el protocolo del fabricante.

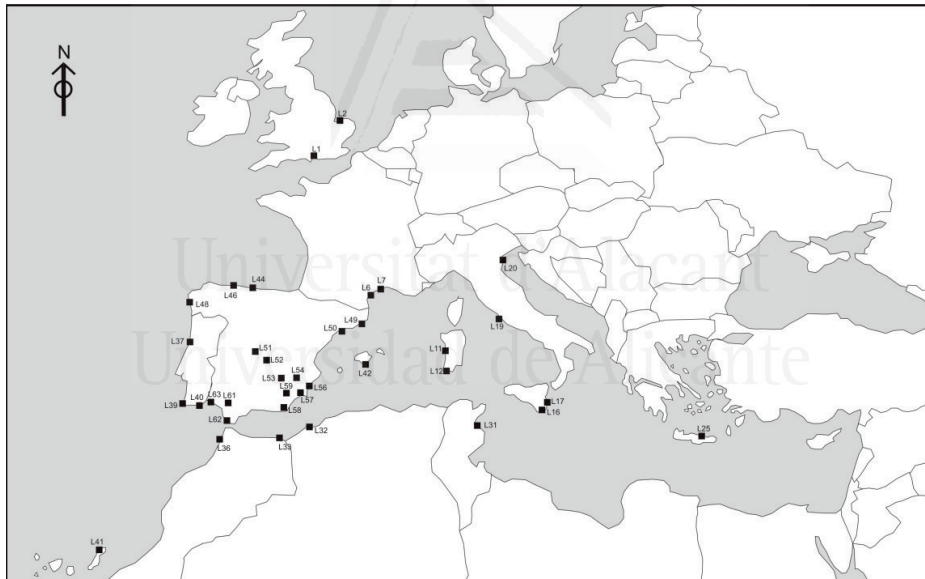


Figura 4.1. Distribución de las localidades estudiadas de *Sarcocornia fruticosa* y *Sarcocornia perennis*. La codificación de las localidades aparece en la tabla 4.1

Tabla 4.1. Localidades estudiadas de *Sarcocornia fruticosa* y *Sarcocornia perennis*, indicando para cada caso el nombre de las poblaciones, las abreviaturas usadas para estas poblaciones (Abrev.), las especies estudiadas (Sp.), diferenciando entre *Sarcocornia fruticosa* (SF) y *Sarcocornia perennis* (SP), el código de las localidades y las coordenadas geográficas. Se especifica el número total de individuos recolectados (Nt), el número total de individuos estudiados con AFLP (Na) y con los marcadores plastidiales (Np).

Pais	Provincia	Población	Abrev.	Sp.	Código Localidad	Coordenadas geográficas	Nt	Na	Np
Reino Unido	West Itchenor	Chichester	CHC	SP	L1	50° 48' 9.2" N 0° 53' 7.6" O	11	3	11
		Morston	MOR	SP	L2	52° 57' 12.1" N 0° 58' 32.0" E	5	–	5
Francia	Aude	Leucate	LEU	SF	L6	42° 49' 50.0" N 3° 1' 28.1" E	2	–	2
		Arles	ARL	SP	L7	43° 40' 52.6" N 4° 38' 03.2" E	2	–	2
	Rhône	Saintes-Maries-de-la-Mer	SMM	SF	L7	43° 29' 19.3" N 4° 22' 21.9" E	7	–	7
		Oristano	ORI	SF	L11	39° 49' 16.3" N 8° 34' 3.6" E	18	–	18
Italia	Cerdeña	Cagliari	CAG	SF	L12	39° 10' 23.6" N 9° 1' 23.4" E	5	–	5
		Capo Feto	CF	SP	L16	37° 40' 39.4" N 12° 29' 38.3" E	6	4	6
	Roma	Siracusa	SIR	SP	L17	37° 14' 74" N 15° 10' 49.4" E	6	–	6
		Orbetello	ORB	SF	L19	42° 26' 56.2" N 11° 13' 57.2" E	10	–	10
Venecia	Bibione	BIB	SP/SF	L20	45° 38' 17.4" N 12° 59' 44.8" E	4	–	4	
		Treporti	TRE	SF	L20	45° 29' 32.3" N 12° 34' 33.8" E	1	–	1
	Lago Venetta	VEN	SF	L20	45° 25' 47.6" N 12° 26' 17.2" E	9	–	9	
		Estuario de Aposelemis	APO	SP	L25	35° 19' 50.0" N 25° 18' 59.8" E	11	11	11
Túnez	Monastir	–	MON	SP	L31	35° 45' 77" N 10° 43' 49" E	2	–	2
Argelia	Orán	La Macia	MAC	SP/SF	L32	35° 47' 8.6" N 0° 7' 24.1" O	10	–	10
		Arekmene	ARE	SP/SF	L33	34° 54' 33.1" N 2° 45' 33.0" O	22	8	22
Marruecos	Tanger-Tétouan	Larache	LAR	SF	L36	35° N 6° O	3	–	3
		Aveiro	AVE	SF	L37	40° N 8° E	5	–	5
		Faro	FAR	SP/SF	L39	37° 2' 57.10" N 7° 45' 17.6" O	7	–	7
Portugal	Aljezur	Aljezur	ALJ	SP/SF	L40	37° 20' 40.4" N 8° 50' 13.3" O	9	–	9
		Órzola	ORZ	SP	L41	29° 12' N 13° 25' O	8	8	8
España	Mallorca	Es Trenc	TRN	SF	L42	39° 10' 2.2" N 2° 25' 12.2" E	6	–	6

Tabla 4.1 (Continuación). Localidades estudiadas de *Sarcocornia fruticosa* y *Sarcocornia perennis*, indicando para cada caso el nombre de las poblaciones, las abreviaturas usadas para estas poblaciones (Abrev.), las especies estudiadas (Sp.), diferenciando entre *Sarcocornia fruticosa* (SF) y *Sarcocornia perennis* (SP), el código de las localidades y las coordenadas geográficas. Se especifica el número total de individuos recolectados (Nt), el número total de individuos estudiados con AFLP (Na) y con los marcadores plastidiales (Np).

Pais	Provincia	Población	Abrev.	Sp.	Código Localidad	Coordenadas geográficas	Nt	Na	Np
España	Cabrera	Ses Rates	SRA	SF	L42	39° 7' 41.3"N 2° 55' 8.5"E	3	-	3
		Na Pobra	NPO	SF	L42	39° 11' 28.5"N 2° 57' 54.9"E	4	-	4
		Na Foradada	NFO	SF	L42	38° 43' 46.0"N 1° 26' 44.7"E	1	-	1
	Cantabria	Marina de Cudeyo	MC	SF	L44	43° 25' 53.1"N 3° 45' 13.3"O	6	-	6
		Astillero	AST	SF	L44	43° 24' 13.7"N 3° 50' 23.2"O	2	-	2
	Asturias	Ría de Villaviciosa	VILL	SP/SF	L46	43° 30' 26.0"N 5° 25' 28.8"O	14	-	14
	La Coruña	Corrubedo	COB	SP	L48	42° 34' 9.8"N 9° 2' 55.4"O	6	-	6
	Gerona	Torroella de Montgrí	TOR	SP/SF	L49	42° 1' 43.9"N 3° 11' 35.8"E	12	-	12
	Tarragona	Delta del Ebro	EBR	SF	L50	40° 41' 5.3"N 0° 50' 46.5"E	10	4	10
	Toledo	Laguna de Peña Hueca	HUE	SP	L51	39° 31' 27.0"N 3° 20' 14.7"O	14	4	14
	Ciudad Real	Laguna de las Yeguas	YEG	SP	L52	39° 24' 58.5"N 3° 15' 20.1"O	10	7	10
	Albacete	Cordovilla	COR	SF	L53	38° 33' 8.9"N 1° 38' 3.6"O	16	16	12
		Villena	AVI	SF	L54	38° 39' 1.8"N 0° 56' 34.8"O	10	-	10
	Alicante	Agua Amarga	AGU	SF	L56	38° 15' 49.9"N 0° 31' 10.8"O	12	-	12
Santa Pola		SAN	SF	L56	38° 11' 5.8"N 0° 37' 30.3"O	9	-	9	
Murcia	San Pedro del Pinatar	PIN	SF	L57	37° 50' 11.0"N 0° 46' 21.6"O	12	-	12	
Almería	Níjar	NIJ	SF	L58	36° 44' 45.9"N 2° 12' 16.8"O	8	-	8	
Granada	Cúllar	CU	SF	L59	37° 38' 38.5"N 2° 35' 10.5"O	10	-	10	
	Lebrija	LEB	SP	L61	36° 56' 43.9"N 6° 0' 46.6"O	6	-	6	
Sevilla	Isla Mayor	MAY	SP	L61	37° 6' 8.8"N 6° 9' 51.4"O	5	-	5	
	Playa de Sancti Petri	PET	SF	L62	36° 23' 30.0"N 6° 12' 45.5"O	9	5	9	
Cádiz	Puerto de Santa María	PUE	SF	L62	36° 37' 35.6"N 6° 14' 15.8"O	2	-	2	
	Ayamonte	AYA	SF	L63	37° 11' 11" 7° 24"O	2	-	2	
Huelva	Marismas del Río Odiel	ODI	SF	L63	37° 10' 21.1"N 6° 56' 19.4"O	3	-	3	

3.2. Análisis de AFLP

Entre todos los ejemplares recolectados, se seleccionaron un total de 81 individuos para estudiar la estructuración genética en *S. fruticosa* (38 muestras) y *S. perennis* (43 muestras). Se trata de un estudio preliminar en donde se ha incluido un número reducido de poblaciones, que pueden contener de tres a 16 individuos. Para *S. fruticosa*, se han incluido muestras de Arekmane (ARE; Nador, Marruecos), Delta del Ebro (EBR; Tarragona, España), Cordovilla (COR; Albacete, España) y Playa de Sancti Petri (PET; Cádiz, España). Para *S. perennis* se estudiaron muestras de las poblaciones de Chichester (CHC; West Itchenor, Reino Unido), Capo Feto (CF; Sicilia, Italia), Estuario de Aposelemis (APO; Creta, Grecia), Arekmane (ARE; Nador, Marruecos), Órzola (ORZ; Lanzarote, España), Laguna de Peña Hueca (HUE; Toledo, España) y Laguna de las Yeguas (YEG; Ciudad Real, España) (Tabla 4.1). El protocolo seguido para realizar las reacciones de restricción-ligación y amplificación de preselecciones fue el de AFLP™ Plant Mapping Protocol (Applied Biosystems). Sin embargo, y debido a que el género *Sarcocornia* posee un genoma de tamaño pequeño (KOCE *et al.*, 2008), los iniciadores selectivos fueron modificados tal y como sugiere FAY *et al.* (2005), donde los iniciadores EcoR1 presentaban tan sólo dos bases. Se realizaron pruebas con 25 combinaciones diferentes de iniciadores selectivos, de los que los iniciadores EcoR1-AC + MseI-CAC (marcador azul) y EcoR1-AA + MseI-CAC (marcador verde) mostraron bandas claramente distinguibles. La separación de los fragmentos marcados con fluorescencia procedentes de las amplificaciones selectivas se realizó mediante electroforesis en gel desnaturizante de poliacrilamida al 5.0% usando un secuenciador automático ABI Prism 3730 (Applied Biosystems, Inc.).

3.3. Marcadores plastidiales

Se secuenciaron y alinearon 48 regiones plastidiales, con el fin de localizar microsatélites o regiones polimórficas de nucleótidos. Para ello se seleccionaron cuatro individuos pertenecientes a dos poblaciones de *S. fruticosa* (AVI y AGU) y a dos poblaciones de *S. perennis* (VILL y CHC), correspondiéndose con dos poblaciones próximas entre sí (AVI y AGU) y lejanas a las anteriores (VILL y CHC). Las regiones plastidiales secuenciadas fueron *rpS12-rpL20*, *psbB-psbF*, *trnT-L*, *psaI-accD*, *rpS14*, *trnK* int, *trnH^(GUG)-psbA*, *trnC-D*, *trnSb-trnFM*, *trnD-T*, *trnLc-trnLFKress*, *trnV^(UAC)-ndbC*,

trnL^(UAG)-*rp132F*, *ndbF-rp132*, *trnQ*^(UUG)-*rps16ex1*, *rpS16*, *psbD-trnT*, *ndbFA*, *ndbJ-trnLE*, *rpoB-trnC*^(GCA), *rpL14-rpL36*, *psbB-psbH*, *petL-psbE*, *psbJ-petA*, *atpI-atpH*, *trnS*^(GCU)-*trnG*^(UUC), *trnG*^(UUC)-*trnS*^(GCU), *trnS*^(GCU)-*trnG*, *trnK*^(UUU)*ex1-rps16ex2*, *psbK-trnS*^(GCU), *atpFex2-atpFex1*, *atpI-rps2*, *rpoC1ex2-rpoC1ex1*, *trnC*^(GCA)-*petN*, *trnE*^(UUC)-*trnT*^(GGU), *psbC-psbZ*, *trnG*^(GCC)-*rps14*, *psaA-ycf3ex3*, *trnF*^(GAA)-*ndbJ*, *trnV*^(UAC)*ex2-trnV*^(UAC)*ex1*, *psaI-ycf4*, *ycf4-cemA*, *petL-psbE*, *psaJ-rp133*, *rp133-rps18*, *petE/G-trnP*^(UGG), *clpPex3-clpPex2*, *clpPex1-psbB* (TABERLET *et al.*, 1991; SMALL *et al.*, 1998; SHAW *et al.*, 2005, 2007; EBERT & PEAKALL, 2009a,b). De todas ellas, sólo ocho regiones (*psbC-psbZ*, *clpPex3-clpPex2*, *petE/G-trnP*^(UGG), *atpI-atpH*, *ndbF-rp132*, *ndbJ-trnLE*, *rpS12-rpL20*, *trnT-L*) presentaron deleciones entre las muestras, que pueden ser usadas como potenciales marcadores moleculares. Estas ocho regiones son las que se amplificaron en un total de 353 individuos pertenecientes a 47 poblaciones (Figura 4.1, Tabla 4.1). Para todas las regiones indicadas, se diseñaron iniciadores nuevos (“*forward*” y “*reverse*”) a excepción de *petE/G-trnP*^(UGG), donde solo fue necesario diseñar el iniciador “*reverse*” (Tabla 4.2). El programa de amplificación para los nuevos marcadores moleculares fue: 5 minutos a 94°C, seguidos de 42 ciclos a 94°C durante 30 segundos, 48°C durante 30 segundos, 72°C durante 30 segundos, y una extensión final de 72°C durante 7 minutos. Las amplificaciones se realizaron en un volumen de reacción de 10 µl conteniendo 7.2 µl de agua destilada ultrapura, 1 µl de 10×NH₄ Bioline Taq Buffer, 0.2 µl 50 mM Bioline MgCl₂, 0.1 µl 10 mM dNTP, 0.1 µl 5 U/µl Taq polimerasa, 0.2 µl iniciador marcado (10pmol/µl), 0.2 µl iniciador no marcado (10pmol/µl) y 0.5 µl de albúmina de suero bovino (BSA; 0.4%). La longitud de los fragmentos se analizó en un secuenciador automático ABI 3100 (Applied Biosystems, Inc.). De los ocho marcadores preseleccionados, seis fueron utilizados en los análisis que se detallan en el apartado 3.4.2 Marcadores (SAR2, SAR4, SAR5, SAR9, SAR10 y SAR11). El resto de marcadores no produjeron la variabilidad esperada o no amplificaron correctamente.

Tabla 4.2. Descripción de las 8 regiones plastidiales seleccionadas, nombre asignado a los 11 marcadores plastidiales, nombre de los iniciadores, secuencia de los iniciadores, la referencia (Ref.) [Or. Original; * EBERT *et al.* (2009b)] y el número de haplotipos (Nh) que generaron. Los marcadores plastidiales marcados en negrita se corresponden con los seis marcadores utilizados en los análisis posteriores.

Regiones plastidiales seleccionadas	Marcadores plastidiales	Nombre iniciador	Secuencia (5'-3')	Ref.	Nh
<i>psbC-psbZ</i>	SAR 1	ANU47-48F	TTCAATGTTTTGAGGTAGG	Or.	-
		ANU47-48R	TAGGTGAGATAGCCGAGCCA	Or.	
<i>petE/G-trnP^(UGG)</i>	SAR 2	PetE/G	GGGGATCAGTTGGATCTTTG	*	3
		ANU81-82R	CCGATGTCGTAGGTTCAAAT	Or.	
<i>clpPex3-clpPex2</i>	SAR 3	ANU89-90F	CCGTTGCTTTATATATTTAT	Or.	2
		ANU89-90R	GTAGTATGAGATGAAGAGTA	Or.	
<i>atpl-atpH</i>	SAR 4	atpl-HF	TATACAAATACCTACAGTCT	Or.	7
		atpl-HR	CACTTATAGGCATTAGATTC	Or.	
<i>ndhF-rpl32</i>	SAR 5	ndhF-rpl32F	CAACTCAGGATCTAATAACT	Or.	3
		ndhF-rpl32R	AGAAAGTAAAGTAAACGTA	Or.	
<i>ndhJ-trnLE</i>	SAR 6	ndhJ-trnLEF	CTAAGAAGTATAGAATGAA	Or.	2
		ndhJ-trnLER	AAGGATGAAAATGGATGAAA	Or.	
<i>rpS12-rpL20</i>	SAR 7	rps12	GTCCGAGGAACATGTACTAGG	Or.	-
		rps12R	TTTCAACACGAGATTCACCT	Or.	
	SAR 8	rps12F	AGGTGAATCTCGTTGTGAAA	Or.	-
		rps121R	TCTTATTGATAACTTGTACA	Or.	
	SAR 9	rps121F	TGTACAAGTTATCAATAAGA	Or.	4
		rps122R	CTTTTTAAACGGTGAGGTCC	Or.	
SAR 10	rpl20F	GGACCTCACCGTTTAAAAAG	Or.	5	
	rpl20R	ATTAATTGTATTAATGTATC	Or.		
<i>trnT-L</i>	SAR 11	trnT-LF	AGTAGAGCTATGAATTTGAA	Or.	2
		trnT-LR	TTAAAGTCTTAAAGAAGGCC	Or.	

3.4. Análisis de los datos

3.4.1. Datos de AFLP

El análisis de los fragmentos se realizó con el programa GENEMAPPER® v. 4.0. (Applied Biosystems). Aquellos fragmentos con tamaños comprendidos entre 50 y 500 pares de bases se codificaron como presente (1) o ausente (0), constituyendo una matriz binaria. Cada una de las especies se analizó por separado, por lo que se elaboraron dos matrices binarias. Se utilizó el software R (R development core team 2011) con el paquete de funciones AFLPDAT (EHRICH, 2006) en la obtención de las matrices para los programas ARLEQUIN v. 3.1 (EXCOFFIER *et al.*, 2005) y BAPS v. 5.4

(CORANDER *et al.*, 2004). Para cada población, se calcularon las frecuencias alélicas usando la aproximación Bayesiana propuesta por ZHIVOTOVSKY (1999), basada en una distribución no uniforme prioritaria de frecuencias no alélicas. Estas frecuencias alélicas se usaron para calcular la diversidad genética para cada población (H_j), la diversidad genética total (H_t), la diferenciación genética entre poblaciones (F_{st}) (LYNCH & MILLIGAN, 1994) y el valor de F_{st} por parejas. El porcentaje de fragmentos polimórficos (P) al nivel 5% se calculó con el programa AFLP-SURV (VEKEMANS, 2002), como también el número de alelos privados (N_{pal}). Debido a que las diferencias en la intensidad de muestreo entre poblaciones podrían sesgar las comparaciones realizadas de diversidad, se ha utilizado el método de rarefacción para calcular la riqueza de bandas (Br) con AFLP-DIV v. 1.0 (COART *et al.*, 2005). El análisis de “Neighbor-Joining” (NJ) (SAITOU & NEI, 1987) se ha basado en la medida de la distancia de NEI & LI (1979), utilizando el programa PAUP v. 4.0b10 para Macintosh (SWOFFORD, 2000). La construcción de un árbol NJ ha tenido como objetivo detectar una posible estructuración geográfica de la variación genética. El apoyo de los clados se ha calculado con el método de “bootstrap” (BS; FELSENSTEIN, 1985), con 5000 réplicas. Asimismo, se realizó un análisis de coordenadas principales (PCOA) con el programa GENALEX v. 6.4 (PEAKALL & SMOUSE, 2006), usando la distancia de SMOUSE & PEAKALL (1999).

Se utilizó el análisis de SAMOVA (“*Spatial Analysis Of Molecular Variance*”) para identificar aquellos grupos de poblaciones que maximicen la proporción de la varianza genética total con el uso del programa SAMOVA v. 1.0 (DUPANLOUP *et al.*, 2002). En SAMOVA, se asumieron diferentes grupos (K): 2-3 para *S. fruticosa* y 2-7 para *S. perennis*. Se determinó la estructuración poblacional de las dos especies usando un análisis bayesiano con BAPS v. 5.4 (CORANDER *et al.*, 2004), realizando un análisis de “mixture” de los individuos utilizando la opción de “Clustering of Individuals”. En el caso de *S. fruticosa*, la simulación se llevó a cabo utilizando valores de K (número máximo de grupos) comprendidos entre 2 y 5. Para *S. perennis*, los valores de K estuvieron entre 2 y 8. En ambos casos, se realizaron diez réplicas de cada valor de K. Los resultados obtenidos en el análisis de “mixture” se utilizaron como datos de entrada para el análisis de “admixture” (CORANDER & MARTTINEN, 2006). Los parámetros usados en este

segundo análisis fueron: (1) tamaño mínimo de las poblaciones: tres individuos; (2) 100 interacciones para estimar los coeficientes de “*admixture*” de los individuos; (3) 200 simulaciones en los individuos referenciados de cada población; (4) 10 interacciones para estimar los coeficientes de “*admixture*” en los individuos referenciados. También se realizó un análisis molecular de la varianza (AMOVA), usando el programa ARLEQUIN v. 3.1 (EXCOFFIER *et al.*, 2005). Este análisis se ha llevado a cabo con cinco y seis estructuras poblacionales, dependiendo de la especie estudiada, sin considerar grupos geográficos, identificando grupos atendiendo a los resultados obtenidos con NJ, PCOA, SAMOVA y BAPS y finalmente, siguiendo diferentes criterios geográficos. En este último caso, y para la especie *S. fruticosa*, se han diferenciado las poblaciones mediterráneas y las atlánticas, mientras que para *S. perennis* se han establecido dos niveles: poblaciones mediterráneas y atlánticas y además, poblaciones litorales mediterráneas, poblaciones continentales mediterráneas y poblaciones atlánticas. Por último, se evaluó si existía correlación entre las distancias genéticas y geográficas entre las poblaciones estudiadas en cada especie. Para ello se realizó la prueba de Mantel (MANTEL, 1967) con 1000 permutaciones, usando el programa ARLEQUIN v. 3.1 (EXCOFFIER *et al.*, 2005).

3.4.2. Marcadores plastidiales

Se construyó una matriz de los haplotipos encontrados en *S. fruticosa* y *S. perennis* mediante la combinación de alelos obtenidos con los marcadores plastidiales que amplificaron correctamente (Tabla 4.3).

Se calculó el número de haplotipos (Nh) y el número de haplotipos privados (Hp) para cada población. La diversidad genética y la riqueza de haplotipos se obtuvieron siguiendo a PETIT *et al.* (1998) con el programa CONTRIB v. 1.02. Para ello, se aplicó el método de rarefacción para corregir las diferencias en tamaños, usando como referencia la población más pequeña en cada especie ($n=4$ en *S. fruticosa*; $n=2$ en *S. perennis*).

Por último, se calcularon los índices G_{st} y N_{st} para inferir una posible existencia de estructura filogeográfica según PONS & PETIT (1996). El índice G_{st} es una medida de diferenciación basada únicamente en las frecuencias alélicas, mientras que el índice

Nst tiene en cuenta las similitudes entre haplotipos (e.g. el número de mutaciones entre haplotipos). Ambos parámetros se compararon usando el programa PERMUT v. 1.0 (PONS & PETIT, 1996), con 5000 permutaciones.

Se realizó una red de haplotipos usando el algoritmo de “Median-Joining” (MJ) (BANDELT *et al.*, 1999), mediante el programa NETWORK v. 4.6.10 (www.fluxus-engineering.com), asignando pesos iguales a todas las variables y con los valores por defecto para el parámetro épsilon (épsilon=0). Tanto para *S. fruticosa* como para *S. perennis*, se introdujo el haplotipo común encontrado en la especie *Halocnemum strobilaceum*, utilizándolo como grupo externo de cada red de haplotipos. Este método permite resolver patrones de haplotipos muy complejos (POSADA & CRANDALL, 2001), utilizando el algoritmo “Median Joining” (MJ).

Cabe señalar que salvo la matriz de los haplotipos encontrados (Tabla 4.3), el resto de análisis se realizó por separado en cada una de las especies.

4. RESULTADOS

4.1. Datos de AFLP

Los resultados de los AFLP se obtuvieron de un total de 64 muestras, ya que algunas de ellas mostraron electroferogramas muy débiles o no llegaron a amplificarse. En el caso de *S. fruticosa*, se analizaron un total de 27 muestras, que generaron una matriz final con 282 caracteres. Para *S. perennis*, se realizaron los análisis incluyendo la población de APO y excluyéndola, puesto que se trata de la única población analizada que pertenece a la cuenca mediterránea oriental. En el primer caso, se analizaron 37 muestras, y en el segundo 26, la matriz final contuvo 242 caracteres cuando se incluía APO y 194 sin incluirla. Los estimadores de diversidad genética para ambas especies aparecen en las tablas 4.4 (*S. fruticosa*) y 4.7 (*S. perennis*). En el caso de la población ARE de *S. fruticosa*, no aparece ningún valor en el cálculo de la riqueza alélica (Br) debido a que esta población está formada por dos individuos y el programa AFLP-DIV v. 1.0 necesita como mínimo tres individuos para realizar el análisis.

Tabla 4.3. Combinación de alelos de los marcadores plastidiales en *Sarcocornia fruticosa* y *Sarcocornia perennis*. La abreviatura Cod. hace referencia a la codificación que reciben los alelos en la tabla 4.10.

Haplotipos	SAR2			SAR4					SAR5				SAR9				SAR10			SAR11			
	183	188	192	Cod.	115	117	122	125	Cod.	200	206	212	Cod.	77	80	84	Cod.	120	124	Cod.	125	146	Cod.
H1	0	1	0	2	0	1	0	0	2	0	1	0	2	1	0	0	1	0	1	2	1	0	1
H2	1	0	0	1	0	0	1	0	3	0	1	0	2	0	1	0	2	1	0	1	1	0	1
H3	0	1	0	2	0	1	0	0	2	0	1	0	2	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1
H4	0	0	1	3	0	0	0	1	4	0	1	0	2	1	0	0	1	0	1	2	0	1	2
H5	0	1	0	2	0	1	0	0	2	0	0	1	3	1	0	0	1	0	1	2	1	0	1
H6	0	0	1	3	0	0	0	1	4	0	1	0	2	1	0	0	1	0	1	2	1	0	1
H7	0	1	0	2	0	0	0	1	4	0	1	0	2	1	0	0	1	0	1	2	1	0	1
H8	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	3	1	0	1	1	0	1
H9	0	1	0	2	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	3	1	0	1	1	0	1
H10	0	1	0	2	1	0	0	0	1	0	1	0	2	0	0	1	3	0	1	2	1	0	1
H11	1	0	0	1	0	0	0	1	4	1	0	0	1	0	0	1	3	1	0	1	1	0	1

Para *S. fruticosa*, de las cuatro poblaciones analizadas, PET fue la población con el mayor valor de diversidad genética, mientras que la población marroquí ARE fue la menos diversa (Tabla 4.4).

Tabla 4.4. Estimadores de diversidad genética de *Sarcocornia fruticosa* (SF). Se indican las poblaciones junto con los códigos de las poblaciones, la proporción de alelos polimórficos (P), la diversidad genética (Hj) con su error estándar (\pm SE), la riqueza de las bandas (Br) y el número de alelos privados (Npal).

Especie	Poblaciones	Códigos poblaciones	P	Hj (\pm SE)	Br	Npal
SF	Cordovilla	COR	65.2	0.22799 (0.01098)	1.337	32
	Delta del Ebro	EBR	63.5	0.28564 (0.01167)	1.415	12
	Playa de Sancti Petri	PET	71.3	0.31880 (0.01117)	1.491	38
	Arekmane	ARE	34.0	0.21084 (0.01206)	–	6

Este patrón es coincidente con el resto de índices calculados. La diversidad genética total (Ht) de esta especie fue de 0.3280 y el valor de la distancia genética (Fst) fue de 0.2031. Al analizar el estadístico de Fst por parejas de poblaciones (Tabla 4.5), se aprecia que el valor más bajo se corresponde con la pareja de poblaciones peninsulares litorales PET-EBR (0.0967). Por el contrario, el valor más elevado coincide con las poblaciones COR-ARE (0.3324), siendo la primera de ellas del interior de la península ibérica (COR) y la segunda de ellas del litoral de Marruecos (ARE).

Tabla 4.5. Índices de Fst por parejas entre las poblaciones de *Sarcocornia fruticosa*. Todos los valores fueron significativos ($P < 0.001$). Las abreviaturas de las poblaciones aparecen en la tabla 4.4.

	COR	EBR	PET	ARE
COR	–			
EBR	0.1585	–		
PET	0.1986	0.0967	–	
ARE	0.3324	0.2600	0.1798	–

El árbol de NJ muestra la formación de dos grupos (Figura 4.2), con un apoyo de 100% BS. El primero de ellos estaría constituido por todos los ejemplares de la población de COR, mientras que dentro del segundo grupo se diferencian a su vez tres grupos. Con un 84% BS, se encontraría un grupo formado por casi todos los ejemplares de EBR (a excepción de un individuo). De igual modo, los ejemplares de la población de PET, a falta de un individuo, formarían un segundo grupo (99% BS). Por último, se encontraría un tercer grupo con un apoyo de 93% BS, que estaría

conformado por los dos integrantes de la población de ARE, junto con otros dos individuos pertenecientes cada uno a las poblaciones de EBR y PET.

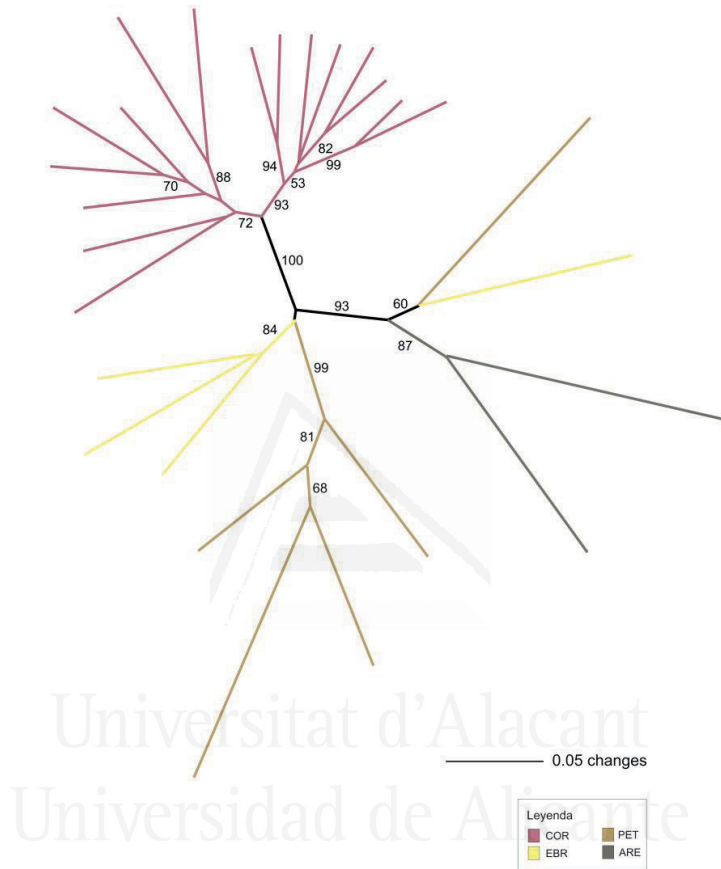


Figura 4.2. Árbol NJ sin enraizar para las cuatro poblaciones estudiadas de *Sarcocornia fruticosa* basado en la distancia de Nei & Li (1979). En las ramas se indica el apoyo BS. Las abreviaturas de las poblaciones aparecen indicadas en la tabla 4.4.

Los resultados obtenidos con el PCOA son coincidentes con los del árbol de NJ. El análisis de coordenadas principales (PCOA) muestra una cierta estructuración geográfica, observándose dos grupos (Figura 4.3), en donde los dos primeros ejes explican el 65.08% de toda la variabilidad genética. En el primer grupo aparecen todas las muestras de la población de COR, mientras que el segundo grupo correspondería al resto de poblaciones. En este segundo grupo, las poblaciones de EBR y PET presentan una tendencia a formar cada una dos grupos constituidos por tres y cuatro ejemplares,

respectivamente. Asimismo, los dos individuos de la población de ARE, junto con un individuo de EBR y PET, constituirían un tercer grupo.

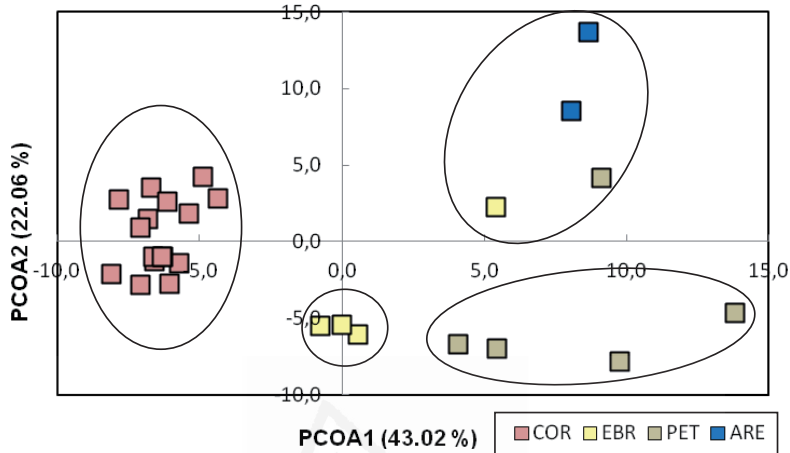


Figura 4.3. PCOA usando los fenotipos de los AFLP estudiados de *Sarcocornia fruticosa*. El color de las muestras analizadas se corresponde con cada una de las poblaciones analizadas. Las abreviaturas de estas poblaciones aparecen en la tabla 4.4. La proporción de varianza total aparece junto al eje correspondiente.

Los resultados de SAMOVA también mostraron que el número óptimo de grupos de poblaciones (K) era dos. Sin embargo, estos resultados no coinciden con los obtenidos con el PCOA o con el árbol de NJ, puesto que en SAMOVA se separa la población de ARE frente al resto de las poblaciones. El análisis bayesiano BAPS reveló que el número de grupos óptimo para *S. fruticosa* era K=3 (*Log marginal likelihood*: -3367.1303). El primer grupo estaría constituido únicamente por la población de COR, mientras que los otros dos grupos estarían formados por varias poblaciones. Por una parte, aparece un grupo constituido por tres ejemplares de la población de EBR y cuatro ejemplares de PET. Por otra parte, el otro grupo lo constituyen los dos ejemplares de la población de ARE, junto con un individuo de EBR y otro individuo de PET. El análisis de “*admixture*” no mostró la existencia de mezcla en ninguno de los 27 individuos analizados (Figura 4.4).

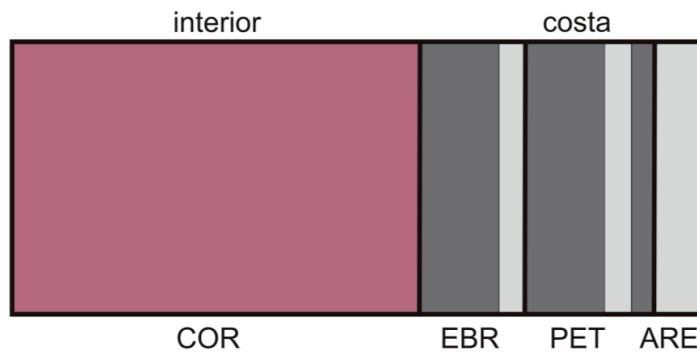


Figura 4.4. Resultado del análisis con BAPS de *Sarcocornia fruticosa*. Los individuos están representados por barras verticales del mismo color que el grupo al que pertenecen. Se distinguen tres grandes grupos: grupo 1 (color granate: individuos de COR), grupo 2 (color gris oscuro: individuos de EBR y PET) y grupo 3 (color gris claro: individuo de EBR, individuo de PET e individuos de ARE). Las abreviaturas de las poblaciones aparecen en la tabla 4.4.

El AMOVA reveló que en todos los análisis realizados el mayor porcentaje de variación se debía a la variación intrapoblacional, mostrando porcentajes comprendidos entre el 58.82% y el 67.65% (Tabla 4.6). El valor de menor variación intrapoblacional se ha obtenido cuando se han agrupado las poblaciones atendiendo a los resultados obtenidos con SAMOVA, mientras que en la agrupación obtenida con BAPS este valor de variación ha sido mayor. El resto de agrupaciones realizadas han mostrado resultados similares (64.77% agrupación como PCOA y 63.95% agrupación según criterio geográfico), como también el AMOVA cuando se ha llevado a cabo sin realizar ningún tipo de agrupación (64.74%).

La prueba de Mantel ha mostrado un coeficiente de correlación negativo ($r=-0.289419$, $P>0.05$), sugiriendo que no existe una correlación significativa entre distancias genéticas y geográficas entre las poblaciones.

Tabla 4.6. Análisis molecular de la varianza (AMOVA) de las poblaciones de *Sarcocornia fruticosa* basado en AFLP. Las abreviaturas de las poblaciones aparecen en la tabla 4.4.

Fuente de la variación	df	Suma de los cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación
Sin agrupar				
Entre poblaciones	3	340.997	15.96340	35.26
Dentro de las poblaciones	23	674.263	29.31576	64.74
Total	26	1015.259	45.27916	100.00
K=2				
Criterio: Resultados de PCOA y NJ (COR / EBR+PET+ ARE)				
Entre grupos	1	182.288	1.79771	3.94
Entre poblaciones dentro de los grupos	2	158.709	14.48491	31.77
Dentro de las poblaciones	23	674.263	29.31576	64.29
Total	26	1015.259	45.59838	100.00
K=2				
Criterio: Resultados de SAMOVA (ARE / COR+PET+ EBR)				
Entre grupos	1	91.179	5.95476	11.95
Entre poblaciones dentro de los grupos	2	249.817	14.57210	29.24
Dentro de las poblaciones	23	674.263	29.31576	58.82
Total	26	1015.259	49.84262	100.00
K=3				
Criterio: Resultados de BAPS (COR / EBR + PET / ARE + EBR + PET)				
Entre poblaciones	2	281.911	14.61168	32.35
Dentro de las poblaciones	24	733.348	30.55618	67.65
Total	26	1015.259	45.16785	100.00
K=2				
Criterio: Geográfico (Atlántico y Mediterráneo) (PET / COR + EBR + ARE)				
Entre grupos	1	137.287	1.20334	2.62
Entre poblaciones dentro de los grupos	2	203.710	15.34486	33.46
Dentro de las poblaciones	23	674.263	29.31576	63.92
Total	26	1015.259	45.86396	100.00

Para *S. perennis*, la diversidad genética total obtenida (H_t) fue de 0.2142. A nivel poblacional, los valores más elevados de diversidad genética se obtuvieron en la población cretense de APO ($H_j = 0.24063$), mientras que la población de Sicilia, CF, mostró los valores más bajos ($H_j = 0.15854$) (Tabla 4.7). El valor de la distancia genética (F_{st}) fue de 0.1477.

Tabla 4.7. Estimadores de diversidad genética de *Sarcocornia perennis* (SP). Se indican las poblaciones junto con los códigos de las poblaciones, la proporción de alelos polimórficos (P), la diversidad genética (Hj) con su error estándar (\pm SE), la riqueza de las bandas (Br) y el número de alelos privados (Npal).

Especie	Poblaciones	Códigos poblaciones	P	Hj (\pm SE)	Br	Npal
SP	Capo Feto	CF	35.5	0.15854 (0.01223)	1.226	4
	Laguna de Peña Hueca	HUE	36.8	0.15980 (0.01235)	1.190	5
	Laguna de las Yeguas	YEG	45.9	0.16901 (0.01153)	1.295	11
	Órzola	ORZ	34.7	0.16414 (0.01288)	1.242	10
	Arekmane	ARE	44.2	0.19827 (0.01160)	1.354	12
	Chichester	CHC	36.0	0.18798 (0.01234)	1.331	3
	Estuario de Aposelemis	APO	68.2	0.24063 (0.01263)	1.321	49

Al realizar el estudio por parejas de poblaciones de Fst, se observó que las parejas de poblaciones coincidentes con CHC-ORZ y CHC-ARE presentaban un valor de cero. Mientras que el valor más elevado coincide con las poblaciones APO-ORZ (0.2701) (Tabla 4.8). Con el objetivo de tener resultados comparativos con la especie *S. fruticosa*, se calcularon los valores de diversidad genética Ht y Fst, y se realizó el estudio por parejas de poblaciones de Fst, sin incluir en los análisis la población de APO. En este caso, los valores de Ht y Fst fueron 0.1907 y 0.0947, respectivamente. Los valores de Fst por parejas de poblaciones, mostraron que el valor más bajo (0) se obtenía en las parejas de poblaciones formadas por CHC-ORZ y CHC-ARE, y que el mayor valor correspondía con las poblaciones ORZ-HUE (0.2333) (datos no mostrados).

El árbol de NJ muestra una separación en dos grupos (Figura 4.5) con un apoyo de 87% BS para el grupo constituido únicamente por los ejemplares de la población cretense de APO. El resto de población incluidas en el análisis (CF, YEG, HUE, ORZ, ARE y CHC) no muestran ningún tipo de estructuración, apareciendo los ejemplares de estas poblaciones entremezclados, no pudiendo observar la formación de grupos coincidentes con alguna de las poblaciones analizadas.

Tabla 4.8. Índices de F_{st} por parejas entre las poblaciones de *Sarcocornia perennis*. Todos los valores fueron significativos ($P < 0.001$). Las abreviaturas de las poblaciones aparecen en la tabla 4.7.

	CF	YEG	HUE	ORZ	ARE	CHC	APO
CF	–						
YEG	0.0598	–					
HUE	0.2012	0.1669	–				
ORZ	0.1150	0.0758	0.2333	–			
ARE	0.0641	0.0081	0.1483	0.624	–		
CHC	0.0573	0.0048	0.1773	0.000	0.0000	–	
APO	0.2338	0.2440	0.2612	0.2701	0.2155	0.2280	–

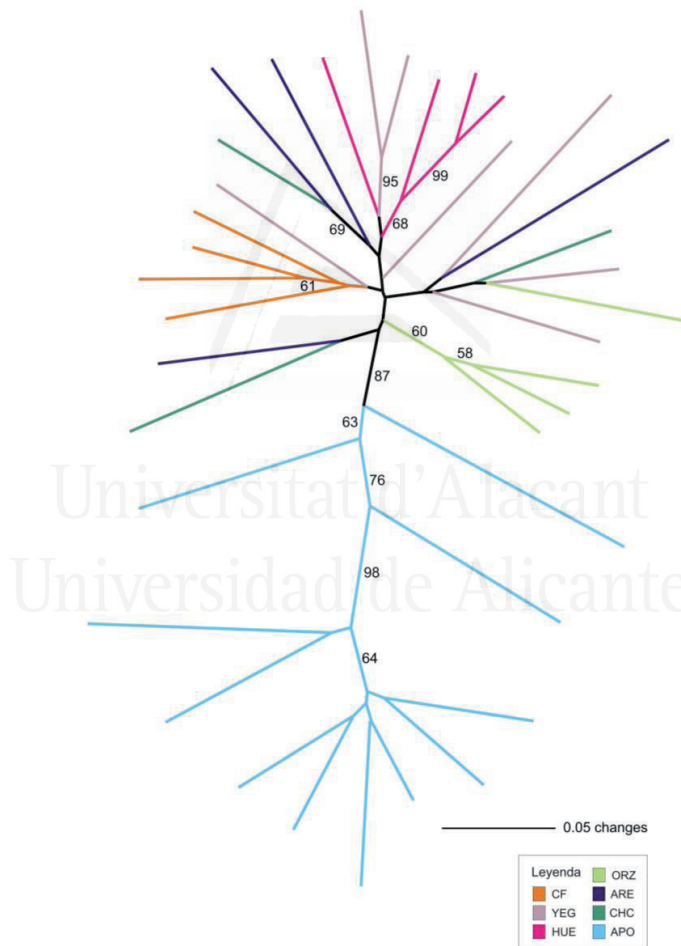


Figura 4.5. Árbol NJ sin enraizar para las siete poblaciones estudiadas de *Sarcocornia perennis* basado en la distancia de Nei & Li (1979). En las ramas se indica el apoyo BS. Las abreviaturas de las poblaciones aparecen indicadas en la tabla 4.7.

En relación con el PCOA, se observa un patrón geográfico entre las poblaciones analizadas, observándose la formación de dos grupos (Figura 4.6), en donde los dos primeros ejes explican el 72.22% de toda la variabilidad genética. Por una parte, se puede diferenciar el grupo formado por los individuos de la población de APO. Por otra parte, el resto de poblaciones incluidas en el análisis conforman el otro grupo, apareciendo entremezcladas. En este segundo grupo, con los datos disponibles, no es posible diferenciar la formación de ningún grupo geográfico (CF, YEG, HUE, ORZ, ARE y CHC).

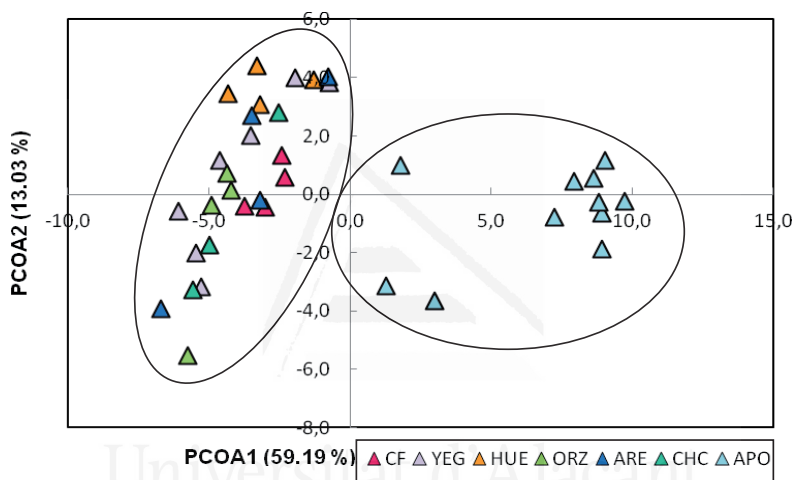


Figura 4.6. PCOA usando los fenotipos de los AFLP estudiados de *Sarcocornia perennis*. El color de las muestras analizadas se corresponde con cada una de las poblaciones analizadas. Las abreviaturas de estas poblaciones aparecen en la tabla 4.7. La proporción de varianza total aparece junto al eje correspondiente.

En SAMOVA, se observa que el número óptimo de grupos de poblaciones (K) ha sido dos. De nuevo, la separación de las poblaciones en dos grupos coincide con la separación de la población cretense de APO, del resto de poblaciones más occidentales. Los resultados obtenidos con BAPS, concuerdan con los anteriores análisis, siendo $K=2$ (*Log marginal likelihood*: -3650.6131). Se observa la formación de un grupo coincidente con los ejemplares de la población de APO, y otro grupo con el resto de poblaciones. El análisis de “*admixture*” ha mostrado que dos individuos de la población de APO presentan mezcla con el otro grupo mediterráneo (Figura 4.7).

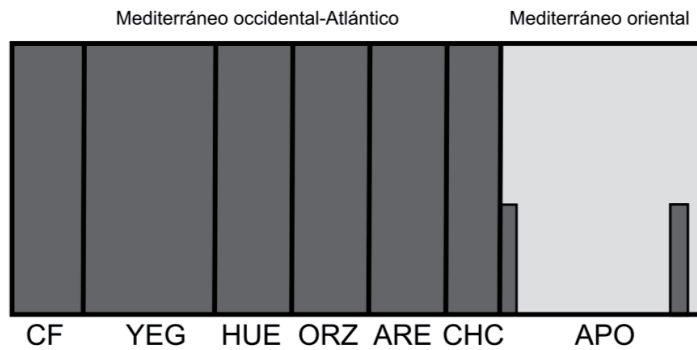


Figura 4.7. Resultado del análisis con BAPS de *Sarcocornia perennis*. Los individuos están representados por barras verticales del mismo color que el grupo al que pertenecen. Se distinguen dos grandes grupos: grupo 1 (color gris oscuro: individuos de CF, YEG, HUE, ORZ, ARE y CHC) y grupo 2 (color gris claro: individuos de APO). Las abreviaturas de las poblaciones aparecen en la tabla 4.7.

Los resultados de AMOVA han mostrado que en todos los análisis realizados, tanto estableciendo diferentes tipos de agrupaciones, como sin realizar agrupaciones de las poblaciones, el mayor porcentaje de variación ocurre dentro de las poblaciones. Este resultado es coincidente con el obtenido para la especie *S. fruticosa*. Sin embargo, los valores obtenidos en *S. perennis* son inferiores, variando entre 59.14% cuando se agrupan las poblaciones atendiendo a los resultados obtenidos con el árbol de NJ, el PCOA, SAMOVA y BAPS, y 70.04% cuando no se realiza ningún tipo de agrupación (Tabla 4.9). En el caso de no incluir la población de APO en los distintos análisis planteados, los valores obtenidos de variación intrapoblacional fueron muy similares para todos los casos, con valores superiores al 80% (datos no mostrados).

La comparación entre las distancias genéticas y geográficas a través de la prueba de Mantel, ha mostrado resultados diferentes dependiendo de si se incluía o no la población de APO. En el primer caso, se ha encontrado una correlación positiva entre las distancias genéticas y las distancias geográficas de *S. perennis*, con un coeficiente de correlación positivo ($r=0.275310$, $P>0.05$). En el segundo caso, el coeficiente de correlación ha sido negativo ($r=-0.075275$, $P>0.05$), sugiriendo que no existe tal correlación. Hay que tener en cuenta, que en ambos casos el nivel de significación (P) obtenido es claramente superior a 0.05, y por tanto, hay que tomar estos resultados con cautela.

Tabla 4.9. Análisis molecular de la varianza (AMOVA) de las poblaciones de *Sarcocornia perennis* basado en AFLP. Las abreviaturas de las poblaciones aparecen en la tabla 4.7.

Fuente de la variación	df	Suma de los cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación
Sin agrupar				
Entre poblaciones	6	443.734	9.98063	29.96
Dentro de las poblaciones	30	699.996	23.33319	70.04
Total	36	1143.730	33.31382	100.00
K=2				
Criterio: Resultados de NJ, PCOA, SAMOVA y BAPS				
(APO / YEG+HUE+ORZ+ARE+CHC+CF)				
Entre grupos	1	249.485	12.47960	31.63
Entre poblaciones dentro de los grupos	5	194.249	3.64109	9.23
Dentro de las poblaciones	30	699.996	23.33319	59.14
Total	36	1143.730	39.45387	100.00
K=2				
Criterio: Geográfico (Atlántico y Mediterráneo)				
(ORZ+CHC / YEG+HUE+ARE+CF+APO)				
Entre grupos	1	84.749	1.92582	5.58
Entre poblaciones dentro de los grupos	5	358.985	9.26230	26.83
Dentro de las poblaciones	30	699.996	699.996	67.59
Total	36	1143.730	34.52131	100.00
K=3				
Criterio: Geográfico (Atlántico, litoral Mediterráneo, continental Mediterráneo)				
(ORZ+CHC / YEG+HUE / ARE+APO)				
Entre grupos	3	344.470	8.48733	24.85
Entre poblaciones dentro de los grupos	3	99.264	2.33752	6.84
Dentro de las poblaciones	30	699.996	23.33319	68.31
Total	36	1143.730	34.15803	100.00

4.2. Marcadores plastidiales

El estudio de marcadores plastidiales se realizó en un total de 353 muestras: 205 de *S. fruticosa* y 148 de *S. perennis*. De los 11 marcadores moleculares seleccionados inicialmente, únicamente se utilizaron seis (Tabla 4.10), ya que los restantes no amplificaron correctamente o no produjeron la variabilidad esperada. Los seis marcadores polimórficos seleccionados mostraron un total de 11 haplotipos diferentes (Tabla 4.10).

El haplotipo más frecuente en *S. fruticosa* y *S. perennis* es H1 (Tabla 4.10). Además, estas especies comparten los haplotipos H3, H4, H5, H6 y H7. *S. fruticosa*

presenta un único haplotipo privado que es H2, mientras que en *S. perennis* el número de haplotipos privados es considerablemente mayor que en *S. fruticosa*, presentando los haplotipos H8, H9, H10 y H11.

Tabla 4.10. Composición alélica de los haplotipos obtenidos para las dos especies estudiadas, *Sarcocornia fruticosa* (SF) y *Sarcocornia perennis* (SP).

Haplotipos	Alelos						Especie
	SAR2	SAR4	SAR5	SAR9	SAR10	SAR11	
H1	2	2	2	1	2	1	SF/SP
H2	1	3	2	2	1	1	SF
H3	2	2	2	1	1	1	SF/SP
H4	3	4	2	1	2	2	SF/SP
H5	2	2	3	1	2	1	SF/SP
H6	3	4	2	1	2	1	SF/SP
H7	2	4	2	1	2	1	SF/SP
H8	1	1	1	3	1	1	SP
H9	2	1	1	3	1	1	SP
H10	2	1	2	3	2	1	SP
H11	1	4	1	3	1	1	SP

Desde un punto de vista geográfico, existen haplotipos exclusivamente atlánticos y mediterráneos (Figura 4.8). En el primer caso, se encuentran los haplotipos: H2 que aparece en la población de ALJ (L40); el haplotipo H7 en la población de FAR (L39); el haplotipo H8 que se encuentra representado en las poblaciones de VILL (L46) y ALJ (L40); el haplotipo H9 en VILL (L46); el haplotipo H10 en COB (L48); y por último, el haplotipo H11 en ALJ (L40). En el caso de los haplotipos exclusivamente mediterráneos, se encuentran: H3 que aparece en las poblaciones de SIR (L17) y ARE (L33); el haplotipo H4 que está representado en las poblaciones de LEU (L6), SMM (L7), AGU (L56), SAN (L56) y PIN (L57); y en último lugar, el haplotipo H6 que únicamente aparece en las poblaciones sardas de ORI (L11) y CAG (L12). En cuanto a los haplotipos H1 y H5 son los únicos que aparecen tanto en el área mediterránea como atlántica.

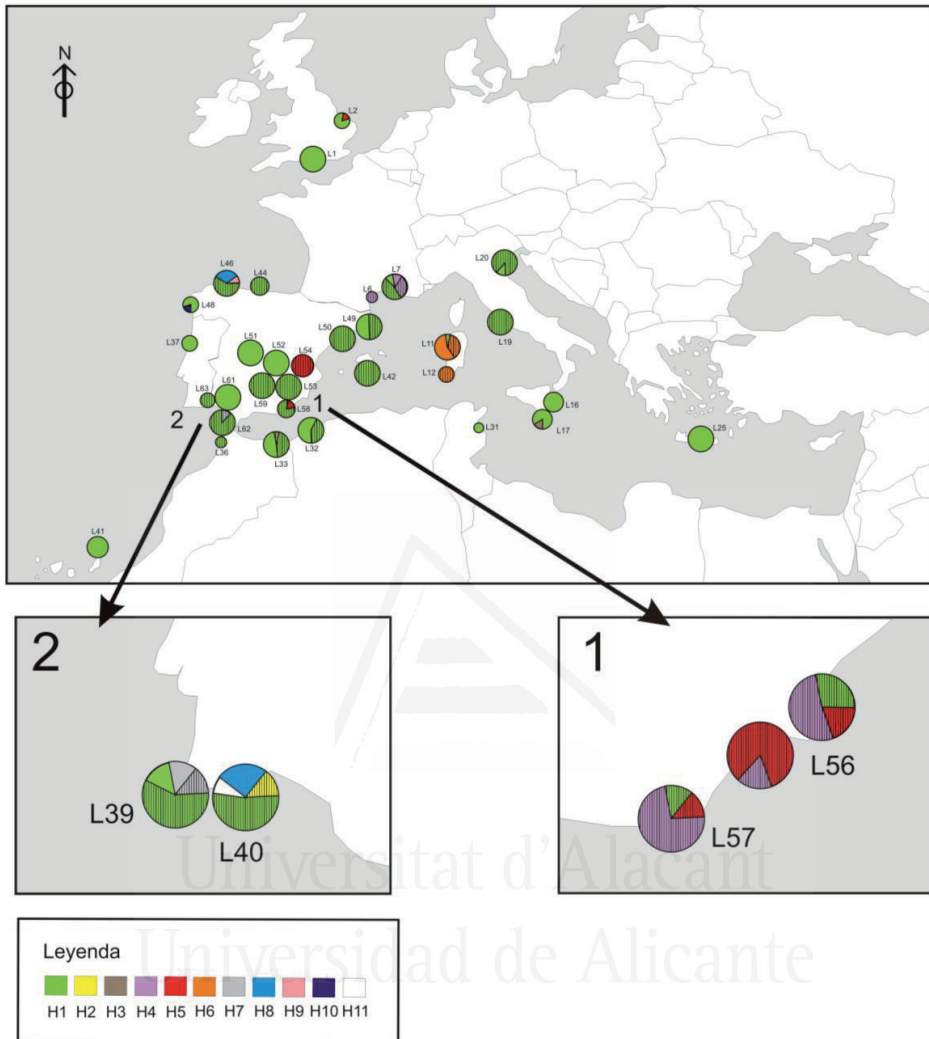


Figura 4.8. Mapa mostrando los haplotipos de *Sarcocornia fruticosa* y *Sarcocornia perennis*. Los códigos de las localidades y las poblaciones aparecen en las tablas 4.11 y 4.12. La trama rayada se corresponde con la especie *S. fruticosa* y la trama lisa con *S. perennis*.

En *S. fruticosa*, el número de haplotipos por población varía entre uno y tres (Tabla 4.11). Las poblaciones más diversas en términos de riqueza de haplotipos fueron AGU y PIN presentando en ambos casos tres haplotipos (H1, H4 y H5). En cambio, aquellas poblaciones que presentaron un solo haplotipo fueron LEU, AMO, ORI, CAG, ORB, BIB, TRE, VEN, MAC, LAR, TRN, SRA, NPO, NFO, MC, AST, VILL, TOR, EBR, COR, AVI, CU, PET, AYA y ODI ($P_b=0.000$).

Los estimadores de divergencia genética en *S. fruticosa* con haplotipos ordenados (Nst) y desordenados (Gst) fueron 0.658 y 0.726 respectivamente, indicando la ausencia de una estructuración genética.

Tabla 4.11. Estimadores de diversidad genética de *Sarcocornia fruticosa* con marcadores plastidiales. Riqueza alélica después de la rarefacción (Pb), número de haplotipos (Nh) y número de haplotipos privados (Hp) y haplotipos presentes en cada población (H). Aquellas poblaciones con Pb=— no han sido analizadas por tener un solo individuo.

Poblaciones de <i>S. fruticosa</i>	Códigos pobl.	Código Loc.	Pb	Nh	Hp	H
Leucate	LEU	L6	0.000	1	0	H4
Aigues Mortes	AMO	L7	—	1	0	H1
Saintes-Maries-de-la-Mer	SMM	L7	0.571	2	0	H1, H4
Oristano	ORI	L11	0.000	1	0	H6
Cagliari	CAG	L12	0.000	1	0	H6
Orbetello	ORB	L19	0.000	1	0	H1
Bibione	BIB	L20	0.000	1	0	H1
Treporti	TRE	L20	—	1	0	H1
Lago Venetta	VEN	L20	0.000	1	0	H1
La Macta	MAC	L32	0.000	1	0	H1
Arekmane	ARE	L33	0.333	2	0	H1, H3
Larache	LAR	L36	0.000	1	0	H1
Faro	FAR	L39	0.250	2	0	H1, H7
Aljezur	ALJ	L40	0.500	2	1	H1, H2
Es Trenc	TRN	L42	0.000	1	0	H1
Ses Rates	SRA	L42	0.000	1	0	H1
Na Pobra	NPO	L42	0.000	1	0	H1
Na Foradada	NFO	L42	—	1	0	H1
Marina de Cudeyo	MC	L44	0.000	1	0	H1
Astillero	AST	L44	0.000	1	0	H1
Ría de Villaviciosa	VILL	L46	0.000	1	0	H1
Torrella de Montgrí	TOR	L49	0.000	1	0	H1
Delta del Ebro	EBR	L50	0.000	1	0	H1
Cordovilla	COR	L53	0.000	1	0	H1
Villena	AVI	L54	0.000	1	0	H5
Agua Amarga	AGU	L56	0.621	3	0	H1, H4, H5
Santa Pola	SAN	L56	0.222	2	0	H4, H5
San Pedro del Pinatar	PIN	L57	0.318	3	0	H1, H4, H5
Níjar	NIJ	L58	0.536	2	0	H1, H5
Cúllar	CU	L59	0.000	1	0	H1
Playa de Sancti Petri	PET	L62	0.000	1	0	H1
Puerto de Santa María	PUE	L62	1.000	2	0	H1, H7
Ayamonte	AYA	L63	0.000	1	0	H1
Marismas del Río Odiel	ODI	L63	0.000	1	0	H1

La red de haplotipos de *S. fruticosa* muestra que el haplotipo más frecuente es H1 (poblaciones AMO, SMM, ORB, BIB, TRE, VEN, MAC, ARE, LAR, FAR, ALJ, TRN, SRA, NPO, NFO, MC, AST, VILL, TOR, EBR, COR, AGU, PIN, NIJ, CU, PET, PUE, AYA y ODI), aunque existen poblaciones que no lo presentan (CAG, AVI y SAN). Se observa que a partir de H1, se diferencian tres grupos de haplotipos en los que no se observa ningún patrón geográfico (Figura 4.9). En primer lugar, aparece el grupo constituido por los haplotipos H7, H6 y H4, que aparecen tanto en poblaciones atlánticas (PUE y FAR en H7) como mediterráneas (CAG, ORI en H6; y AGU, SAN, PIN, SMM y LEU en H4). En el segundo grupo se observa sólo el haplotipo H5, que lo forman poblaciones mediterráneas (AGU, SAN, AVI, PIN y NIJ). Por último, el tercer grupo estaría conformado por el haplotipo H3 que se corresponde con la población mediterránea ARE y el H2 con la población atlántica ALJ. Además, este último grupo presenta más relación con el haplotipo H12, que corresponde con *H. strobilaceum* (grupo externo).

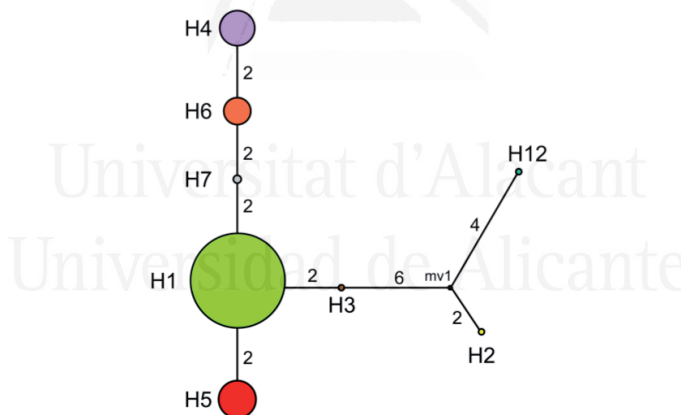


Figura 4.9. Red de haplotipos de ADN plastidial en *Sarcocornia fruticosa*. El tamaño de cada círculo es proporcional a la frecuencia de cada haplotipo. El número de mutaciones que se requieren para explicar la transición entre los haplotipos se indica a lo largo de las líneas de la red, excepto para aquellas conexiones que requieren una sola mutación. Los colores hacen referencia a cada uno de los haplotipos, tal y como aparece en la leyenda de la figura 4.8. El haplotipo H12 hace referencia al haplotipo presente en la especie *Halocnemum strobilaceum* que actúa como grupo externo.

En relación con la especie *S. perennis*, el número de haplotipos por población varía entre uno y dos. Las poblaciones más diversas atendiendo a la riqueza de haplotipos fueron MOR, ARL, ORI, CF, FAR, ALJ, VILL y COB (Tabla 4.12). El resto

de poblaciones con un solo haplotipo fueron CHC, SIR, BIB, APO, MON, MAC, ARE, AVE, ORZ, TOR, HUE, YEG, LEB y MAY ($P_b=0.000$).

Tabla 4.12. Estimadores de diversidad genética de *Sarcocornia perennis* con marcadores plastidiales. Riqueza alélica después de la rarefacción (P_b), número de haplotipos (N_h) y número de haplotipos privados (H_p) y haplotipos presentes en cada población (H). Aquellas poblaciones con $P_b=-$ no han sido analizadas por tener un solo individuo.

Poblaciones de <i>S. perennis</i>	Códigos pobl.	Código Loc.	P_b	N_h	H_p	H
Chichester	CHC	L1	0.000	1	0	H1
Morston	MOR	L2	0.400	2	0	H1, H5
Arles	ARL	L7	1.000	2	0	H1, H4
Oristano	ORI	L11	0.509	2	0	H1, H6
Capo Feto	CF	L16	0.333	2	0	H1, H3
Siracusa	SIR	L17	0.000	1	0	H1
Bibione	BIB	L20	-	1	0	H1
Estuario de Aposelemis	APO	L25	0.000	1	0	H1
Monastir	MON	L31	0.000	1	0	H1
La Macta	MAC	L32	0.000	1	0	H1
Arekmane	ARE	L33	0.000	1	0	H1
Aveiro	AVE	L37	0.000	1	0	H1
Faro	FAR	L49	1.000	2	0	H1, H7
Aljezur	ALJ	L40	0.667	2	2	H8, H11
Órzola	ORZ	L41	0.000	1	0	H1
Ría de Villaviciosa	VILL	L46	0.333	2	1	H8, H9
Corrubedo	COB	L48	0.333	2	1	H1, H10
Torroella de Montgri	TOR	L49	0.000	1	0	H1
Laguna de Peña Hueca	HUE	L51	0.000	1	0	H1
Laguna de las Yeguas	YEG	L52	0.000	1	0	H1
Lebrija	LEB	L61	0.000	1	0	H1
Isla Mayor	MAY	L61	0.000	1	0	H1

Para *S. perennis*, los datos de N_{st} y G_{st} muestran la existencia de una estructuración genética, puesto que N_{st} (0.844) fue mayor que G_{st} (0.588), aunque este resultado no fue significativo.

La red de haplotipos de *S. perennis* mostró que el haplotipo H1 fue el más frecuente (poblaciones CHC, MOR, ARL, ORI, CF, SIR, BIB, APO, MON, MAC, ARE, AVE, FAR, ORZ, COB, TOR, HUE, YEG, LEB, MAY), a partir del cual aparecen tres grupos (Figura 4.10). Dos de estos tres grupos están formados por un solo haplotipo, presente en una sola población en cada caso. Por una parte, el haplotipo

H5 que aparece en la población atlántica de MOR, y por otra parte, el haplotipo H3 que aparece en la población mediterránea de CF. El tercero de estos tres grupos está a su vez subdividido en dos subgrupos. El primero de ellos presenta tres haplotipos tanto de poblaciones atlánticas (FAR en H7) como mediterráneas (ORI en H6; ARL en H4) mientras que el segundo muestra un linaje de haplotipos únicamente atlántico (COB en H10; VILL en H9; VILL y ALJ en H8; ALJ en H11). Este tercer grupo, aparece ligado al haplotipo 12 de *H. strobilaceum* (grupo externo).

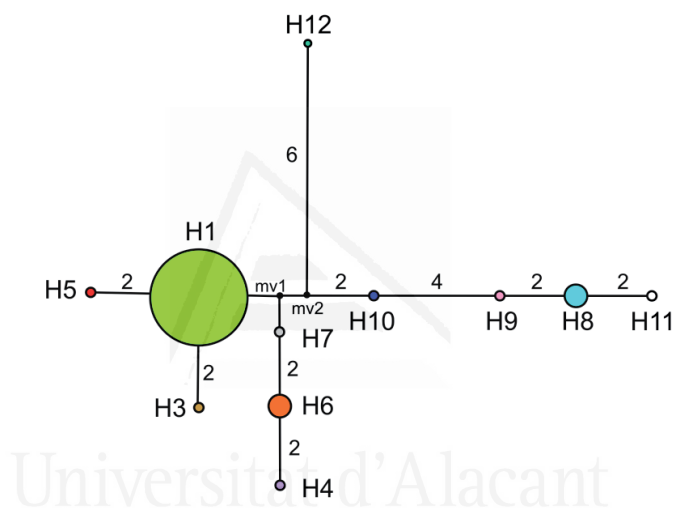


Figura 4.10. Red de haplotipos de ADN plastidial en *Sarcocornia perennis*. El tamaño de cada círculo es proporcional a la frecuencia de cada haplotipo. El número de mutaciones que se requieren para explicar la transición entre los haplotipos se indica a lo largo de las líneas de la red, excepto para aquellas conexiones que requieren una sola mutación. Los colores de los círculos hacen referencia a cada uno de los haplotipos, tal y como aparece en la leyenda de la figura 4.8. El haplotipo H12 hace referencia a la especie *Halocnemum strobilaceum*.

5. DISCUSIÓN

5.1. Diversidad genética y filogeografía

Los factores históricos, ecológicos y demográficos en las plantas son determinantes en los niveles de diversidad genética dentro de las poblaciones y en la estructuración espacial de la diversidad intraespecífica (HAMRICK & GODT, 1996). Un ejemplo de ello son los valores de diversidad genética obtenidos en muchas plantas endémicas, caracterizadas por presentar una diversidad genética baja (AYRES & RYAN,

1999; SEGARRA-MORAGUES & CATALÁN, 2002; LÓPEZ-PUJOL *et al.*, 2003; JUAN *et al.*, 2004; PARK, 2004). Sin embargo, varios estudios han mostrado también valores de diversidad elevados en especies endémicas (RANKER, 1994; ROSSETTO *et al.*, 1995; TORRES *et al.*, 2003; LÓPEZ-PUJOL *et al.*, 2004; XUE *et al.*, 2004; PÉREZ-COLLADOS & CATALÁN, 2006). En el caso de *S. fruticosa* y *S. perennis*, a pesar de no tratarse de plantas endémicas, sí comparten con estas especies su presencia en hábitats siempre fragmentados.

El estudio de la distribución espacial de los haplotipos plastidiales de *S. fruticosa* y *S. perennis* ha mostrado que ambas especies tienen en común varios haplotipos, siendo el haplotipo H1 el más frecuente para las dos. La presencia de haplotipos comunes en especies cercanas ha sido observada en otros grupos de plantas, como en *Anthemis secundiramea* Biv. (LO PRESTI & OBERPRIELER, 2011), el complejo de *Senecio* sect. *Senecio* L. (COMES & ABBOTT, 2001) o el género *Coreopsis* L. (MASON-GAMER *et al.*, 1995). Se podría hablar de dos posibles hipótesis para la presencia de haplotipos compartidos en *S. fruticosa* y *S. perennis*: la evolución reticulada y la distribución de linajes incompleta. En el primer caso, la reticulación implicaría la existencia de procesos de hibridación, introgresión, especiación homoploide y poliploide (ABBOTT, 1992; ARNOLD, 1997; RIESEBERG, 1997, 1998), mientras que la distribución de linajes incompleta supone la persistencia y retención de polimorfismos ancestrales a través de múltiples eventos de especiación (AVISE, 1994, 2000). Ambas explicaciones serían plausibles para *S. fruticosa* y *S. perennis*, puesto que se han descrito híbridos entre ambos táxones (CASTROVIEJO & COELLO, 1980; CASTROVIEJO & LAGO, 1992). Se conoce la existencia de números de ploidía elevados en estas especies e incluso la introgresión entre diferentes táxones de áreas geográficas bien alejadas (ver capítulo 2, apartado 5.2.1), pero los datos obtenidos de AFLP sí han apoyado la clara separación entre *S. fruticosa* y *S. perennis*, sin mostrar la existencia de mezcla genética entre ambas (Figura 2.7). Ante esta situación, es difícil responder cuál de las dos hipótesis es más probable en el escenario planteado, puesto que no es fácil distinguir entre ambos procesos (JOLY *et al.*, 2009). Tal y como ocurre en otros géneros (e.g. *Hordeum* L. en JAKOB & BLATTNER, 2006; *Macaranga* Thouars en BÄNFER *et al.*, 2006; *Luzula* DC. en ZÁVESKÁ & VLČEK, 2010; *Lespedeza* Michx. en XU *et al.*, 2012), los dos procesos son igualmente probables y el planteamiento de éstos

aparece normalmente cuando se observa la existencia de un haplotipo general compartido por varias especies, que suelen ser poliploides, o en el caso de haber incongruencias en los árboles filogenéticos. En estos casos, la presencia de una distribución de linajes incompleta se presenta como opción más posible cuando las especies son relativamente jóvenes (MADDISON, 1997; JOLY *et al.*, 2009), puesto que no ha transcurrido el tiempo suficiente para que se haya producido una pérdida gradual de polimorfismos y una fijación de los alelos (JAKOB & BLATTNER, 2006). En el caso de *S. fruticosa* y *S. perennis*, el género *Salicornia* se separó de *Sarcocornia* hace 9.4-5.3 Ma (KADEREIT *et al.*, 2006). Según estos mismos autores, la radiación de *Sarcocornia* tuvo lugar a finales del Mioceno, por lo que se podría considerar que no se trata de un género muy antiguo, y podría estar afectado por tanto, por una distribución de linajes incompleta. Aunque no se puede descartar la existencia de una evolución reticulada por todo lo dicho anteriormente.

5.1.1. *Sarcocornia fruticosa*

S. fruticosa ha mostrado una diversidad genética elevada ($H_t=0.3280$) frente a *S. perennis* ($H_t=0.2142$) y otras especies arbustivas mediterráneas (LÓPEZ-PUJOL *et al.*, 2003; JUAN *et al.*, 2004; WESTEBERG & KADEREIT, 2009). Estos altos niveles de variabilidad genética pueden interpretarse como una medida indirecta de la capacidad de las plantas para adaptarse a su entorno y amortiguar los cambios estocásticos (ELLESTRAND & ELAM, 1993; PASCHKE *et al.*, 2002; WISE *et al.*, 2002). La elevada diversidad genética en *S. fruticosa* podría deberse al hecho de tener niveles altos de ploidía. La poliploidía puede evitar la erosión genética resultante de los procesos de endogamia y deriva genética (MAHY *et al.*, 2000; PALOP-ESTEBAN *et al.*, 2011). Este mecanismo permite una mayor competencia en la colonización de nuevos hábitats, debido a que las especies pueden mostrar una mayor habilidad de adaptación a situaciones ecológicamente extremas (STEBBINS, 1985; WILLIAMSON & WERTH, 1999; MAHY *et al.*, 2000; HEDRÉN *et al.*, 2001; SHEPHERD & YAN, 2003; BROCHMANN *et al.*, 2004). En *S. fruticosa*, se han descrito niveles tetra, hexa y octoploides, siendo estos dos últimos los más habituales (CASTROVIEJO & COELLO, 1980; CASTROVIEJO, 1990; CASTROVIEJO & LAGO, 1992). La mayor parte de las poblaciones estudiadas presentan un nivel octoploide (CASTROVIEJO & COELLO, 1980; PASTOR & VALDÉS, 1986;

CASTROVIEJO & LAGO, 1992), lo que apoyaría los valores de diversidad obtenidos en cada caso. De todas las poblaciones estudiadas, la población gaditana de PET es la más diversa frente a la marroquí ARE, de la que no hay datos sobre números cromosómicos, y de la que se han analizado tan sólo dos individuos, por lo que los resultados obtenidos deben de tratarse con cierta cautela.

La presencia de valores de diversidad genética bajos en poblaciones de interior respecto a litorales, se ha observado en plantas en las que existe un flujo genético limitado que está asociado con las poblaciones que se desarrollan en las zonas de interior (e.g. *Spergularia media*; PRINZ *et al.*, 2010). La población de interior de COR (Albacete) sería la población ibérica con un valor de diversidad genética menor. Este resultado podría estar relacionado con el hecho de ser la única población que crece en saladares de interior, en relación con el resto que son costeras. Además de esta separación entre poblaciones costeras y de interior, las poblaciones estudiadas estarían mostrando signos de fragmentación. Los análisis de NJ, PCOA y BAPS separan la población de COR frente al resto, que constituyen a su vez diferentes grupos coincidentes mayormente con cada una de las poblaciones. Además, el valor de F_{st} (0.2031) apuntaría hacia la existencia de tal fragmentación poblacional, produciéndose el mayor porcentaje de variabilidad a nivel intrapoblacional, tal y como muestran los distintos AMOVA realizados. Sin embargo, no se puede hablar de una correlación positiva entre distancia geográfica y genética en las poblaciones analizadas, así como tampoco se ha obtenido una clara estructuración filogeográfica atendiendo a datos plastidiales. A pesar de ello, los datos obtenidos estarían mostrando una tendencia preliminar a que cada población funcione de manera independiente.

5.1.2. *Sarcocornia perennis*

El comportamiento mostrado por *S. perennis* difiere notablemente del de *S. fruticosa*. Por una parte, presenta una diversidad genética inferior ($H_t=0.2142$), aunque sigue siendo un valor elevado en relación con los comentados previamente para otras especies que también crecen en hábitats fragmentados (e.g. PALACIOS *et al.*, 1999; LÓPEZ-PUJOL *et al.*, 2003; JUAN *et al.*, 2004). En el caso de *S. perennis*, los niveles de ploidía que se conocen son diploide y triploide (CASTROVIEJO & COELLO, 1980; CASTROVIEJO, 1990; CASTROVIEJO & LAGO, 1992). Este hecho podría explicar los

valores de diversidad más bajos encontrados en *S. perennis*, que estarían en consonancia con una correlación positiva entre los niveles de ploidía y los valores de diversidad genética (SOLTIS & SOLTIS, 1993; HARDY & VEKEMANS, 2001; LÓPEZ-PUJOL *et al.*, 2004). Por otra parte, el valor de F_{st} (0.1477) es también inferior al de *S. fruticosa*, observándose incluso poblaciones entre las que no existe diferenciación genética (CHC-ORZ y CHC-ARE).

Se aprecia una clara separación de las poblaciones atendiendo a la división de la cuenca mediterránea en dos partes: oriental y occidental. Este resultado ha sido obtenido en los distintos análisis realizados (NJ, PCOA, SAMOVA y BAPS) y estaría apoyado por los resultados de la prueba de Mantel y la comparación entre los índices N_{st} y G_{st} (aunque estos dos últimos análisis no han resultado significativos). Esta vicarianza este-oeste a lo largo de la cuenca mediterránea se ha descrito también para otras plantas (e.g. MARKRAF, 1934; RIKLI, 1946; LUMARET *et al.*, 2002, 2005; HAMPE *et al.*, 2003; FADY-WELTERLEN, 2005; KADEREIT *et al.*, 2005b; BESNARD *et al.*, 2007; RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ *et al.*, 2009) y animales (e.g. OOSTERBROEK & ARNTZEN, 1992; BORSA *et al.*, 1997; GARIBALDI & CADDY, 1998; BIANCHI & MORRI, 2000; PETIT *et al.*, 2005), pudiendo interpretarse como una huella genética de dinámicas antiguas (pre-Cuaternario), junto con cambios en la paleogeografía del Tetis-Mediterráneo. En particular, los continuos movimientos de las microplacas y la aparición esporádica de barreras de agua a lo largo del Neógeno podrían haber contribuido, o estar contribuyendo, a la migración y diferenciación dentro de la cuenca (STEININGER & RÖGL, 1984; ROSENBAUM *et al.*, 2002). De este modo, la población cretense de APO se estaría separando del resto de poblaciones, presentando cierto porcentaje de mezcla todavía (tal y como se observa en BAPS).

En el caso de analizar únicamente las poblaciones situadas en la cuenca mediterránea occidental, y atendiendo a los AFLP, no se ha observado una clara correlación entre una fragmentación genética y geográfica, tal y como se pone de manifiesto en los diferentes análisis realizados (PCOA, BAPS, AMOVA, prueba de Mantel). Por tanto, las poblaciones de *S. perennis* se comportarían como una metapoblación. La presencia de una dispersión de las semillas a larga distancia (DAVY *et al.*, 2006; KADEREIT *et al.*, 2006) y de un notable crecimiento vegetativo (DAVY *et al.*,

2006) podrían explicar esta ausencia de fragmentación genética poblacional. Una situación similar ocurre en *Cabystegia soldanella* (L.) Roem. & Schult., una especie perenne que crece en dunas costeras y playas arenosas en Europa, caracterizada por presentar clones con una gran longevidad (ARAFEH & KADAREIT, 2006). Por el contrario, y atendiendo a los datos plastidiales, se aprecia la existencia de una rama exclusivamente atlántica, dentro de la red de haplotipos, lo que estaría indicando la presencia de un patrón filogeográfico en las poblaciones atlánticas de *S. perennis*, mientras que en las mediterráneas no se observa. Esta separación entre la cuenca mediterránea y costas atlánticas ha sido previamente observada en otras especies como *Cakile maritima*, *Cribbium maritimum* L., *Eryngium maritimum*, *Halimione portulacoides* y *Salsola kali*, que mostraron diversos patrones filogeográficos, todos ellos relacionados con una elevada dispersión de sus semillas a través de las corrientes marinas (KADAREIT *et al.*, 2005b).

5.2. Estructuración genética espacial y migración de *Sarcocornia* en el Mediterráneo occidental y costa atlántica

El estudio en paralelo de especies muy cercanas puede ofrecer una visión más aproximada de los diferentes procesos de variación genética, que pueden estar sufriendo dichas especies. En el caso de *S. fruticosa* y *S. perennis*, los resultados que se han obtenido muestran un comportamiento diferente de las dos especies. Las poblaciones de *S. fruticosa* mostrarían una notable diferenciación genética sin existir estructuración filogeográfica, que podría estar indicando un aislamiento genético de sus poblaciones. Mientras que en *S. perennis*, las poblaciones se comportarían todas ellas como una única metapoblación, existiendo un elevado flujo genético entre ellas, y observándose ciertos patrones filogeográficos. Tales resultados podrían estar indicando que las características biológicas (e.g. dispersión de semillas, tipo de reproducción) tendrían una mayor influencia en la variabilidad genética, que la propia fragmentación y aislamiento de los saladares. Según esto, la especie *S. perennis* frente a *S. fruticosa*, presentaría una mayor dispersión de sus propágulos, posibilitando una colonización más eficaz de nuevos nichos.

5.2.1. Germinación y dispersión de semillas

S. fruticosa y *S. perennis* a pesar de tratarse de dos especies euhalófitas (STROGONOV & KABANOZ, 1967) que conviven en algunos saladares, presentan algunas diferencias que estarían relacionadas con su localización dentro de la zonación de los saladares y marismas salinas. Dicha ubicación podría afectar a la germinación, dispersión de sus semillas y tipo de crecimiento, presentando adaptaciones muy especializadas en cada caso (PICKART, 1988; NAVARRO & GUITIÁN, 2003).

S. fruticosa aparece tanto en saladares costeros como de interior. En el caso de los primeros, suele encontrarse en los niveles más elevados del saladar, no estando expuesta a inundaciones continuadas (CASTROVIEJO & COELLO, 1980; REDONDO *et al.*, 2004), mientras que en los segundos, tiene que hacer frente a largos períodos de desecación de las lagunas, sobre todo durante los períodos de sequía (ALONSO, 2009). *S. perennis* se encuentra en las zonas bajas de los saladares costeros, estando sujeta en muchas ocasiones a inmersiones prolongadas y a bajos potenciales redox de los sedimentos (FIGUEROA *et al.*, 2003; DAVY *et al.*, 2006), además, crece en saladares de interior (CASTROVIEJO & COELLO, 1980; CASTROVIEJO, 1990). Ambas especies han desarrollado mecanismos que les permiten crecer en tales situaciones. En el caso de *S. fruticosa*, la germinación de las semillas se puede dar en condiciones de hipersalinidad (REDONDO *et al.*, 2004), una situación a la que se encuentra continuamente expuesta, ya que la concentración de salinidad en los suelos donde crece suele ser bastante elevada (ÁLVAREZ ROGEL *et al.*, 2000). La germinación de las semillas en *S. perennis*, en cambio, se ve inhibida ante elevadas concentraciones de salinidad, germinando en tales casos cuando ésta disminuye (CHAPMAN, 1974; REDONDO *et al.*, 2004). En el caso de saladares de interior, no se han encontrado datos a cerca de la germinación de las semillas de *S. perennis*, aunque de forma similar a *S. fruticosa*, tiene que hacer frente a elevadas concentraciones de salinidad. A pesar de esta inhibición de la germinación por altos niveles de salinidad, *S. perennis* es una especie que presenta una propagación clonal a través de los tallos enraizantes, que producen raíces adventicias en los nodos (DAVY *et al.*, 2006). La presencia de esta reproducción vegetativa, que en *S. fruticosa* es menos frecuente, permite una rápida colonización del terreno (ADAM & BATE, 1994; PENNING & BERTNESS, 2001; DAVY *et al.*, 2006) favoreciendo la propagación de *S.*

perennis, aunque DAVY *et al.* (2006) comentan que la reproducción por semillas en *S. perennis* es más efectiva.

A parte de los mecanismos que inhiben o aceleran la germinación y de la existencia de una reproducción vegetativa, la dispersión de las semillas tiene una gran importancia en la explicación de los resultados obtenidos en estas dos especies. La presencia de *S. perennis* en la zona baja de los saladares costeros facilita la dispersión de sus semillas, puesto que éstas al desprenderse de las inflorescencias quedarían en el sustrato o caerían directamente al agua (DAVY *et al.*, 2006), mientras que en *S. fruticosa* las semillas no llegarían de manera tan fácil al agua (FIGUEROA *et al.*, 2003). Este mismo hecho se ha comprobado en otras plantas costeras como *Cakile maritima*, *Critbnum maritimum*, *Eryngium maritimum*, *Halimione portulacoides*, *Salsola kali* y *Calystegia soldanella*, que han mostrado diversos patrones filogeográficos, todos ellos relacionados con la elevada dispersión de sus semillas a través de las corrientes marinas (KADEREIT *et al.*, 2005b; ARAFEH & KADEREIT, 2006; WESTBERG & KADEREIT, 2009). En el caso de *S. fruticosa* y *S. perennis*, este tipo de dispersión de las semillas podría explicar el aislamiento de las poblaciones de *S. fruticosa*, frente al funcionamiento de las poblaciones de *S. perennis* como una única población. Además, la presencia de un linaje de haplotipos en *S. perennis* exclusivamente atlántico podría deberse a que el estrecho de Gibraltar podría estar actuando como barrera geográfica (TOUMI & LUMARET, 1998; VARGAS *et al.*, 1999; FIZ *et al.*, 2002; LUMARET *et al.*, 2002; CAUJAPÉ-CASTELLS & JANSEN, 2003; HAMPE *et al.*, 2003; KADEREIT *et al.*, 2005b; ESCUDERO *et al.*, 2008). La existencia de una masa de agua mediterránea de salida (“*Mediterranean Outflow Water*”) en la zona del estrecho de Gibraltar, favorecería la dispersión de los linajes atlánticos puesto que esta masa de agua fluye por el golfo de Cádiz hacia el norte del océano Atlántico (ROGERSON *et al.*, 2005; MONTOYA & ACOSTA, 2006). Sin embargo, este tipo de dispersión no serviría en el caso de las poblaciones que se desarrollan en saladares del interior.

Otra posible vía de dispersión de las semillas a considerar sería a través de aves acuáticas, principalmente limícolas (familias *Charadriidae* y *Scolopacidae*) y anátidas (familia *Anatidae*), que hacen su recorrido migratorio entre África y Europa del Norte (BARBOSA, 1997; HORTAS, 1997). En este caso, la península ibérica representa un papel muy importante, ya que se trata de un enclave muy significativo tanto para la migración,

como la invernada o avituallamiento de estas aves en Europa occidental (HORTAS, 1997). Son aves de amplia distribución (BURGER, 1984), capaces de recorrer largas distancias (GREEN *et al.*, 2002; SÁNCHEZ *et al.*, 2006), ocupando principalmente hábitats litorales encharcados con presencia de limos. Su alimentación está basada fundamentalmente en distintos grupos de invertebrados, que se encuentran en grandes cantidades en los medios costeros, particularmente en las áreas fangosas y marismas (BARBOSA, 1997). Es por ello que utilizan principalmente los saladares costeros como áreas de descanso, para alimentarse o como sitios de invernada (VIVIAN-SMITH & STILES, 1994; HORTAS, 1997; SÁNCHEZ *et al.*, 2006; GOSÁLVEZ *et al.*, 2012), y de esta manera facilitan la dispersión de las semillas, bien a largas distancias, puesto que las aves limícolas realizan largos trayectos, o bien entre las distintas partes de los complejos lagunares, ya que también se mueven entre salinas y humedales separados hasta 20 km (SÁNCHEZ *et al.*, 2006). El modo de transporte de las semillas podría darse de diferente manera, por ingestión o bien a través de su adhesión a las plumas y patas (DARWIN, 1859; RIDLEY, 1930; SALISBURY, 1970; VAN DER PIJL, 1982; VIVIAN-SMITH & STILES, 1994; GREEN *et al.*, 2002; SÁNCHEZ *et al.*, 2006). Por lo que la dispersión de las semillas de *S. fruticosa* y *S. perennis* a través de estas aves acuáticas parece factible, aunque de nuevo, es en el caso de *S. perennis* donde parece más probable que se favorezca su dispersión, ya que las aves acuden a la orilla de los saladares a alimentarse. Aunque también existe una avifauna acuática, que comparte especies con las aves limícolas que visitan los saladares costeros (GOSÁLVEZ *et al.*, 2012), asociada a los saladares del interior, que permitiría la dispersión de las poblaciones de *S. fruticosa* y *S. perennis* que crecen en tales saladares.

De nuevo, la dispersión a través de aves acuáticas permitiría relacionar la vía de vuelo del Atlántico este, mostrada por muchas aves limícolas (e.g. *Himantopus himantopus* L., 1758; *Charadrius alexandrinus* L., 1758 y *Numenius phaeopus* L., 1758, entre otros, en HORTAS, 1997) con el patrón atlántico encontrado en los haplotipos de *S. perennis*. Así como también, la presencia del haplotipo H5, en el caso de *S. fruticosa*, en poblaciones del sureste peninsular y Camarga francesa que coinciden con puntos geográficos que forman parte de la vía de vuelo del Mediterráneo occidental en algunas aves limícolas (HORTAS, 1997). Sin embargo, en este último caso, para el resto de poblaciones

estudiadas no se ha observado ningún patrón filogeográfico, al igual que sucede con las poblaciones mediterráneas de *S. perennis*, por lo que para el Mediterráneo la dispersión de las semillas a través de las aves no es tan efectiva, o simplemente, está experimentando actualmente un proceso de diferenciación, por lo que predomina el haplotipo ancestral y existen otros haplotipos todavía no relacionados.

5.2.2. Importancia del estrecho de Gibraltar en la estructura genética de las poblaciones de *Sarcocornia*

Relacionado con la dispersión de las semillas a través del agua, habría que comentar que el estrecho de Gibraltar muestra un papel fundamental en la estructuración genética de muchas plantas. Su abertura se produjo a principios del Plioceno (hace aproximadamente 5.3 Ma; HSÜ, 1972; KRIJSMAN *et al.*, 1999, 2000; LOGET & VAN DEN DRIESSCHE, 2006; GARCÍA-CASTELLANOS *et al.*, 2009; RYAN, 2009), produciendo la reinundación del mar Mediterráneo (GARCÍA-CASTELLANOS *et al.*, 2009) y la aparición de una barrera para el flujo genético (VALDÉS, 1991; TOUMI & LUMARET, 1998; VARGAS *et al.*, 1999; FIZ *et al.*, 2002; LUMARET *et al.*, 2002; WERNER *et al.*, 2002; CAUJAPÉ-CASTELLS & JANSEN, 2003; HAMPE *et al.*, 2003; KADEREIT *et al.*, 2005b; ESCUDERO *et al.*, 2008). Aunque en otros casos, constituyó un puente activo para la migración y diferenciación de especies (QUÉZEL, 1978; CAUJAPÉ-CASTELLS & JANSEN, 2003). En el caso de *S. fruticosa* y *S. perennis*, la presencia del mismo haplotipo dominante en ambos lados del estrecho apunta a que no existe una barrera al flujo genético entre el Mediterráneo y el Atlántico. Sin embargo, hay que tener en cuenta que de los 11 haplotipos identificados para ambas especies, seis son exclusivamente atlánticos y tres mediterráneos. Ante esta situación se podría pensar, que tal y como se ha dicho anteriormente, la aparición de estas dos especies es relativamente reciente, por lo que en la actualidad estaría teniendo lugar un proceso activo de diferenciación. Para poder afirmar que el estrecho de Gibraltar constituye una barrera genética, sería necesario seguir la evolución de las poblaciones estudiadas, y añadir nuevas poblaciones a ambos lados del estrecho para observar si esta separación geográfica de los haplotipos se mantiene, o por el contrario, aparecen la totalidad de los haplotipos encontrados a ambos lados.

5.2.3. El sur de la península ibérica como refugio genético

Desde un punto de vista geográfico, los lugares donde aparece un mayor número de haplotipos y una mayor diversidad genética, teniendo en cuenta ambas especies, coinciden con el sur de la península ibérica. Este hecho se ha observado en otros grupos de plantas (RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ *et al.*, 2010) y estaría relacionado con el papel desempeñado por la península ibérica como refugio glacial durante el último máximo glacial (LGM), a partir del cual se produjo la colonización hacia el norte (BENNET, 1997; HEWITT, 1999, 2004; MÉDAIL & DIADEMA, 2009). De igual forma que sucede con otras especies arbustivas esclerófilas (CARRIÓN *et al.*, 2000), la mayor acumulación de haplotipos de *S. fruticosa* y *S. perennis* se han encontrado en territorios meridionales, traducándose esta área geográfica en una reserva de diversidad genética. En relación con la zona del sureste peninsular, las características propias de esta región, podrían sumarse al papel de la península como refugio glacial y punto caliente de diversidad (MÉDAIL & QUÉZEL, 1997), y favorecer el mantenimiento de una alta variabilidad de haplotipos. Esta zona perteneciente a la provincia biogeográfica Murciano-Almeriense está representada por un clima semiárido, motivado por las escasas precipitaciones y las elevadas temperaturas (ALONSO, 1996; ÁLVAREZ ROGEL, 1997; ALONSO, 2000), que favorecen la aparición de ambientes salinos de indudable valor ecológico (GONZÁLEZ-BERNÁLDEZ, 1990; CONESA & JIMÉNEZ-CÁRCELES, 2007).

5.2.4. El aislamiento genético de la isla de Cerdeña

Hay que prestar especial atención a la presencia del haplotipo H6 en la isla de Cerdeña, ya que es el único lugar en el que aparece de toda la zona de estudio, y lo hace tanto para *S. fruticosa* como para *S. perennis*. La presencia de este haplotipo únicamente en Cerdeña no estaría reflejando una colonización reciente, sino más bien se trataría del resultado de un proceso de diferenciación, que estaría relacionado con la historia geológica de la cuenca mediterránea occidental (ROSENBAUM & LISTER, 2004a,b; DUERMEIJER *et al.*, 1998). De acuerdo con las reconstrucciones tectónicas (ÁLVAREZ, 1972; ROSENBAUM *et al.*, 2002) y las paleogeográficas actuales (MANSION *et al.*, 2008), la microplaca cabillio-baleárica y la corso-sardo-calabresa, se separaron de la península ibérica hace 30-20 Ma. Ambas placas estuvieron sometidas a un fenómeno de rotación

y translación que produjo la separación del archipiélago balear de Cabilia, su establecimiento (hace alrededor de 21 Ma) en la posición actual, la colisión de la microplaca corso-sarda-calabresa con la apuliana y la separación, primero de Córcega (16 Ma) y luego de Cerdeña (5 Ma) hasta la posición actual (ROSENBAUM *et al.*, 2002; SPERANZA *et al.*, 2002). Toda esta sucesión de eventos geológicos podría explicar que las poblaciones de *S. fruticosa* y *S. perennis*, una vez que Cerdeña quedó aislada del resto de islas, evolucionasen de manera independiente al resto. El flujo genético de estas poblaciones habría quedado restringido a la isla, explicando su actual situación, que concuerda con los datos para otros géneros y especies que crecen en islas mediterráneas (e.g. *Cyclamen balearicum*, AFFRE *et al.*, 1997; *Medicago citrina*, JUAN *et al.*, 2004; *Aquilegia* L., GARRIDO *et al.*, 2012). Sin embargo, no explicaría el hecho que el resto de islas de la cuenca mediterránea occidental estudiadas (Baleares y Sicilia) y la costa italiana presenten el haplotipo común. Este segundo hecho se podría explicar si se tiene en cuenta que la historia de las islas Baleares y Sicilia ha sido muy compleja en los últimos 20 Ma, haciendo frente a períodos de inmersión y emersión, y a contactos continentales con la península ibérica y Túnez (LÁZARO *et al.*, 2011). De este modo se habría favorecido el mantenimiento del haplotipo H1.

5.3. Principales amenazas

Desde una óptica ecológica, las zonas salinas son ecosistemas muy vulnerables ya que sufren continuos cambios en sus condiciones ecológicas (ALONSO, 2000). Por un lado, una gran mayoría de saladares costeros están sometidos a las fluctuaciones de las mareas. Por otro, la existencia de los saladares de interior está condicionada al inconstante régimen de lluvias de las regiones áridas y semiáridas, donde se localizan este tipo de ecosistemas. Esta dependencia de la vegetación halófila a las alteraciones del nivel freático o las mareas es la responsable de su extremada fragilidad.

Si existe un factor serio que amenaza a estos ecosistemas, éste es la acción antrópica (HERNÁNDEZ-GIL & ROBLDANO, 1997). Los saladares costeros, por su situación, son punto de mira de las grandes constructoras, favoreciendo de esta manera la fragmentación de tales hábitats, lo cual conduce irremediamente a un aislamiento de las poblaciones, pérdida de diversidad genética, procesos de cuello de botella, etc. (GIL-DELGADO *et al.*, 1989; CASTRO *et al.*, 2001; ORTEGA *et al.*, 2006; PALOP-ESTEBAN

et al., 2011). Los saladares del interior están sometidos a otras actividades humanas, como la roturación de las tierras de labranza y la nitrificación del medio por pastoreo, con la consiguiente desaparición de las comunidades halófilas a favor de las halonitrófilas (CIRUJANO, 1990; ALONSO, 2000; GOSÁLVEZ *et al.*, 2012). Los saladares interiores por su característica de impermeabilidad del suelo también son candidatos idóneos para la instalación de depuradoras, plantas de reciclaje, etc.

Por todo ello, se debería continuar y ampliar el estudio poblacional de las comunidades halófilas, puesto que como se ha visto en este capítulo, dentro de un mismo género pueden existir especies con patrones genéticos bien diferentes. El mantenimiento de ecosistemas tan vulnerables y a la vez tan diversos depende también de la realización de este tipo de estudios, que desempeñan un papel notorio en la conservación biológica, como ya señalaron HEDRICK (2001) y FRANKHAM (2003).



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Universitat d'Alacant
Conclusiones
Universidad de Alicante

CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en esta memoria, pueden extraerse las siguientes conclusiones:

Capítulo 1

1. Se confirma la monofilia del grupo constituido por los géneros *Salicornia* y *Sarcocornia*, que presenta caracteres morfológicos propios en relación con el resto de géneros de la subfamilia *Salicornioideae*.
2. Los resultados filogenéticos indican que el género *Salicornia* constituye un clado monofilético, mientras que *Sarcocornia* es parafilético en relación con *Salicornia*. El estudio morfológico muestra que exclusivamente la disposición de las flores en el artejo fértil, apoyaría la distinción de estos dos géneros. A la vista de estos resultados, se acepta la separación tradicional en los géneros *Salicornia* y *Sarcocornia*, aunque se plantea la posibilidad de realizar futuros estudios morfológicos y moleculares, cuyos resultados confirmen esta opción, o por el contrario, apunten hacia la existencia de un solo género.

Capítulo 2

3. Desde un punto de vista molecular y morfológico, se puede afirmar la existencia de una clara separación taxonómica entre las especies americanas, y las europeo-norteafricanas, pudiéndose confirmar que en el continente americano no están presentes los táxones *Sarcocornia perennis* y *Sarcocornia fruticosa*.
4. La ausencia de estructuración filogenética en los táxones europeos y norteafricanos no permite diferenciar entre las especies *S. fruticosa* y *S. perennis*. Sin embargo, el estudio preliminar realizado con la técnica AFLP, sí confirma la existencia de dos táxones en Europa y Norte de África, y descarta la presencia de táxones infraespecíficos en el seno de *S. perennis*.
5. Las incongruencias observadas en la posición de *S. perennis* de la localidad de Ría de Villaviciosa (Asturias, España) entre los árboles filogenéticos de la región nuclear ITS, las regiones plastidiales y el análisis conjunto de ITS y el plasto, apuntan hacia la existencia de un fenómeno de introgresión genética entre una especie sudafricana

(*Sarcocornia natalensis*) y una europeo-norteafricana (*S. perennis*), que pudo deberse a causas antrópicas.

6. Desde un punto de vista filogenético, el estudio combinado de ITS y de tres regiones del plasto ha mostrado la existencia de un patrón ecológico en el clado de especies americanas de *Sarcocornia*. En el caso de aquellas especies que crecen en áreas del interior del continente y a grandes altitudes (*S. andina*, *S. pulvinata* y *S. utabensis*), su tratamiento taxonómico basado en datos morfológicos está apoyado desde un punto de vista filogenético. En cambio, para el caso de las especies que crecen mayoritariamente en la costa, los resultados filogenéticos no permiten diferenciar entre distintas entidades taxonómicas. Por ello se propone realizar un estudio molecular más completo, empleando diferentes regiones del ADN, o incluso, utilizando otras herramientas moleculares como los AFLP, para obtener nuevos resultados, que en combinación con el estudio morfológico, permitan resolver el tratamiento taxonómico en este grupo de plantas.
7. La presencia de *S. utabensis* en todos los análisis filogenéticos como la rama más externa del clado constituido por las especies americanas de *Sarcocornia*, podría estar indicando que esta especie fue la primera en diversificarse en América, produciéndose la dispersión del género, desde la zona del Gran Lago Salado (Utah, Estados Unidos) hacia el resto de áreas en las que crece actualmente.

Capítulo 3

8. Se confirma la utilidad de ciertos caracteres morfológicos para diferenciar entre las especies *S. fruticosa* y *S. perennis*, destacando las características micromorfológicas (seminales y estomáticas) por su gran resolución taxonómica. Atendiendo a estos caracteres micromorfológicos, *S. fruticosa* se caracteriza por tener estomas hundidos y semillas con mamelones y tricomas cortos, y *S. perennis* por presentar estomas expuestos y semillas con tricomas largos y curvados.
9. El estudio morfológico realizado no ha aportado caracteres que permitan diferenciar entre *S. perennis* subsp. *perennis* y *S. perennis* subsp. *alpini*. De esta manera, se corroboran los resultados obtenidos en el capítulo 2 con el uso de los AFLP, no aceptándose la existencia de dos subespecies en el seno de *S. perennis*.

10. El solapamiento en los caracteres de hábito, ápice de las hojas, tipo de exotesta de la semilla, relación entre el pericarpo, el perianto y la semilla, tipo estomático y cariología, entre las especies *S. hispanica* y *S. fruticosa*, muestra una ausencia de características morfológicas que permitan identificar un nuevo taxon en el sureste peninsular. Por lo tanto, la especie recientemente descrita como *Sarcocornia hispanica* debe ser tratada como un sinónimo de *S. fruticosa*.

Capítulo 4

11. Se proponen dos posibles hipótesis para la presencia de un haplotipo común en las poblaciones estudiadas de *S. fruticosa* y *S. perennis*: la existencia de una evolución reticulada o de una distribución de linajes incompleta. De las dos posibles opciones, la segunda se encontraría más en consonancia con un grupo de especies de aparición relativamente reciente, como podrían ser *S. fruticosa* y *S. perennis*.
12. La existencia de una elevada diversidad genética en *S. fruticosa* podría deberse al hecho de ser una planta con altos niveles de ploidía. Además, el valor obtenido de *Fst* y los resultados de los análisis de BAPS, NJ y PCOA apuntan hacia la existencia de una fragmentación en sus poblaciones.
13. La presencia de una estructuración genética en las poblaciones de *S. perennis* estaría reflejando la división de la cuenca mediterránea en dos áreas: cuenca mediterránea occidental y oriental. Sin embargo, dentro de la primera de ellas, las poblaciones de *S. perennis* se estarían comportando como una metapoblación, existiendo un flujo genético activo entre sus poblaciones.
14. Las tendencias observadas en las poblaciones de *S. fruticosa* de un posible aislamiento genético, y en *S. perennis*, de un funcionamiento como una metapoblación, podrían explicarse si se tienen en cuenta las distintas formas de dispersión de las semillas a larga distancia, a través de las corrientes marinas o de aves acuáticas. En el caso concreto de *S. perennis*, estas dos vías de dispersión podrían explicar la existencia de un linaje de haplotipos atlánticos.
15. La acumulación de una mayor diversidad de haplotipos al sur de la península ibérica podría estar confirmando el papel de esta región como refugio genético para estas especies.

16. La presencia de un haplotipo exclusivo en Cerdeña podría ser el resultado de la historia geológica y paleogeográfica de la cuenca mediterránea. Este hecho ha favorecido la aparición de un haplotipo aislado en esta isla frente al resto de islas de la cuenca mediterránea occidental, que hicieron frente a períodos de inmersión y emersión, y a contactos con el continente europeo y africano durante los últimos 20 Ma.
17. Se confirma la importancia del estudio poblacional de las comunidades halófilas, puesto que forman parte de ecosistemas muy vulnerables, tanto por las condiciones ecológicas cambiantes, como por la acción antrópica del ser humano.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Bibliografía

BIBLIOGRAFÍA

- ABBOTT, R.J. (1992). Plant invasions, interspecific hybridization and the evolution of new plant taxa. *Trends. Ecol. Evol.* 7: 401-405.
- ADAM, J.B. & G.C. BATE (1994). The effect of salinity and inundation on the estuarine macrophyte *Sarcocornia perennis* (Mill.) A.J. Scott. *Aquat. Bot.* 47: 341-348.
- ADAM, P., FISHER, A.J. & J.M.E. ANDERSON (1987). POLLEN collection by honey bees from *Sarcocornia quinqueflora*. *Wetlands (Australia)* 7: 25-28.
- ADLER, R., CLAASSEN, M., GODFREY, L. & TURTON, A.R. (2007). Water, mining and waste: a historical and economic perspective on conflict management in South Africa. *The Economics of Peace and Security Journal* 2(2): 32-41.
- AELLEN, P., CULLEN, J. & M.J.E. COODE (1967). *Arthrocnemum* Moq. En: DAVIS, P.H. (ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* 2: 320-321. Edinburgh University Press, Edinburgh, UK.
- AFFRE, L., THOMPSON, J.D. & M. DEBUSSCHE (1997). Genetic structure of continental and island populations of the mediterranean endemic *Cyclamen balearicum* (Primulaceae). *Am. J. Bot.* 84(4): 437-451.
- AGUILAR, R., QUESADA, M., ASHWORTH, L., HERRERÍAS-DIEGO, Y. & J. LOBO (2008). Genetic consequences of hábitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Mol. Ecol.* 17: 5177-5188.
- AIZPURU, I., ASEGINOLAZA, C., URIBE-ECHEBARRÍA, P.M., URRUTIA, P. & I. ZORRAKIN (1999). *Claves ilustradas de la Flora del País Vasco y Territorios Limítrofes*. Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz. 831 pp.
- AKHANI, H., TRIMBORN, P. & Z. HERBERT (1997). Photosynthetic pathways in *Chenopodiaceae* from Africa, Asia and Europe with their ecological, phytogeographical and taxonomical importance. *Pl. Syst. Evol.* 26: 187-221.
- ALLMENDINGER, R.W., JORDAN, T.E., KAY, S.M. & B.L. ISACKS (1997). The evolution of the Altiplano-Puna Plateau of the central Andes. *Annu. Rev. Earth Pl. Sc.* 25: 139-174.

- ALONSO, M.A. (1996). *Flora y vegetación del Valle de Villena (Alicante)*. Instituto de Cultura Juan Gil-Albert. Textos Universitarios. 263 pp.
- ALONSO, M.A. (2000). *Estudio geobotánico de los saladares del sureste peninsular (Albacete-Alicante-Almería y Murcia)*. Tesis Doctoral. Universidad de Alicante. Dept. de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales. 435 pp.
- ALONSO, M.A. (2009). La vida vegetal en las Salinas de Villena (Alicante). En: *Los paisajes ibéricos de la sal 2. Humedales salinos de interior*. Asociación de amigos de las salinas de interior. 167 pp.
- ALONSO, M.A. & A. DE LA TORRE (1999). Precisiones nomenclaturales sobre asociaciones iberolevantinas de *Limonietalia* y *Salsolo-Peganetalia*. *Lazaroa* 20: 117-118.
- ALONSO, M.A. & A. DE LA TORRE (2002). Datos sobre las comunidades de *Sarcocornia fruticosa* (L.) A. J. Scott en la provincia Murciano-Almeriense (SE España)...*Acta Bot. Malac.* 27: 288-294.
- ALONSO, M.A. & M.B. CRESPO (2008). Taxonomic and nomenclatural notes on South American taxa of *Sarcocornia* (Chenopodiaceae). *Ann. Bot. Fennici* 45: 241-254.
- ÁLVAREZ, W. (1972). Rotation of Corsica-Sardinia microplate. *Nature* 235: 103-105.
- ÁLVAREZ ROGEL, J. (1997). *Relaciones suelo-vegetación en saladares del Sureste de España*. 18-23, 31-43. Tesis Doctoral Univ. de Murcia, Murcia.
- ÁLVAREZ ROGEL, J; ALCARAZ, F. & R. ORTIZ (2000). Soil salinity and moisture gradients and plant zonation in Mediterranean salt marshes of southeast Spain. *Wetlands* 20: 357-372.
- ÁLVAREZ ROGEL, J; ORTIZ, R; VELA DE ORO, N. & F. ALCARAZ (2001). The application of the FAO and US soil taxonomy systems to saline soils in relation to halophytic vegetation in SE Spain. *Catena* 45: 73-84.
- ANTONELLI, A., NYLANDER, J.A.A., PERSSON, C. & I. SANMARTÍN (2009). Tracing the impact of the Andean uplift on Neotropical plant evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 9749-9754.

- APG II (2003). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Bot. J. Linn. Soc.* 141: 300-436.
- APG III (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Bot. J. Linn. Soc.* 161: 105-121.
- ARCE, L.M. (2010). Las aves de la ría de Villaviciosa (Asturias, España). Catálogo, estatus y fenología. *Bol. Cien. Nat. RIDEA* 51: 7-134.
- ARNOLD, M.L. (1997). *Natural hybridization and evolution*. Oxford Univ. Press, Oxford, U.K. 232 pp.
- AVISE, J.C. (1994). *Molecular markers, natural history and evolution*. Chapman and Hall, New York. 541 pp.
- AVISE, J.C. (2000). *Phylogeography: The history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, M.A. 447 pp.
- AYRES, D.R. & F.J. RYAN (1999). Genetic diversity and structure of the narrow endemic *Wyethia reticulate* and its congener *W. bolanderi* (Asteraceae) using RAPD and allozyme techniques. *Am. J. Bot.* 86: 344-353.
- BALL, P.W. (1957). En: LOUSLEY, J.E. (1956). The British flora during 1956. *Nature* 179: 351-353.
- BALL, P.W. (1964). *Arthrocnemum* Moq. En: TUTIN, T.G., HEYWOOD, V.H., BURGESS, N.A., VALENTINE, D.H., WALTERS, S.M. & D.A. WEBB (eds.). *Flora Europaea*, 1(1): 121. Cambridge Univ. Press. Cambridge.
- BALL, P.W. (1967). *Arthrocnemum* Moq. En: DAVIS, P.H. (ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* 2: 320-321. Edinburgh University Press, Edhinburgh, UK.
- BALL, P.W. (1993). *Arthrocnemum* Moq. En: TUTIN, T.G., BURGESS, N.A., CHATER, A.O., EDMONDSON, J.R., HEYWOOD, V.H., MOORE, D.M., VALENTINE, D.H., WALTERS, S.M. & D.A. WEBB (eds.). *Flora Europaea*, 2(1): 121. Cambridge Univ. Press. Cambridge.
- BALL, P.W. (2003). *Sarcocornia* A.J. Scott. En: Flora of North America Editorial Committee (eds.). *Flora of North America* 4 (Magnoliophyta: Caryophyllidae): 321-323. Oxford Univ. Press, Oxford.

- BALL, P.W. (2007). *Sarcocornia fruticosa*. En: JARVIS, C. (ed.). *Order out of Chaos: Linnean Plant Names and their Types*: 807. Published by the Linnean Society of London in association with the Natural History Museum, London.
- BALL, P.W. & T.G. TUTIN (1959). Notes on the annual species of *Salicornia* in Britain. *Watsonia* 4: 193-205.
- BALL, P.W. & J.R. AKEROYD (1993). *Salicornia* L. En: TUTIN, T.G., BURGESS, N.A., CHATER, A.O., EDMONDSON, J.R., HEYWOOD, V.H., MOORE, D.M., VALENTINE, D.H., WALTERS, S.M. & D.A. WEBB (eds.). *Flora Europaea* 2(1): 121-123. Cambridge Univ. Press. Cambridge.
- BANDELT, H.J., FORSTER, P. & A. ROEHL (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 16: 37-48.
- BÄNFER, G., MOOG, U., FIALA, B., MOHAMED, M., WEISING, K. & F.R. BLATTNER (2006). A chloroplast genealogy of mymercophytic *Macaranga species* (Euphorbiaceae) in Southeast Asia reveals hybridization, vicariance and long-distance dispersals. *Mol. Ecol.* 15: 4409-4424.
- BARBOSA, A. (1997). Características generales de la biología de las aves limícolas. En: BARBOSA, A. (ed.). *Las aves limícolas en España*. Organismo Autónomo de Parques Nacionales. Ministerio de Medio Ambiente.
- BARRIER, E., VELASQUILLO, L., CHAVEZ, M. & R. GAULON (1998). Neotectonic evolution of the Isthmus of Tehuacan (southeastern Mexico). *Tectonophysics* 287: 7-96.
- BAUHIN, C. (1623). *Pinax theatri botanici Caspari Bavhini Basileens. Archiatri & à Seculo scripserunt Opera: plantarum circiter sex millium ab ipsis exhibitarum nomina cum earundum Synonymiis & differentiis Methodicè secundùm earum & genera & species proponens. Opus XL. Annorum Hactenus non editum summoperè expetitum & ad auctores intelligendus plurimùm faciens. Galenus I. de Antid. V. Medicus omnium Stirpium, si fieri potest, peritiam habeat consulo sin minus, plurimarum saltem, quibus frequenter utimur. Sumptibus & Typis Ludovici Regis, Basilea.*
- BENNET, K. (1997). *Evolution and ecology: the pace of life*. Cambridge University Press. 241 pp.

- BERTOLANI-MARCHETTI, D. (1985). Pollen paleoclimatology in the Mediterranean since Messinian time. En: STANLEY, D.J. & F.-C. WEZEL (eds.). *Geological Evolution of the Mediterranean basin*: 525-558. Springer-Verlag, New York.
- BESNARD, G., RUBIO DE CASAS, R. & P. VARGAS (2007). Plastid and nuclear DNA polymorphism reveals historical processes of isolation and reticulation in the olive tree complex (*Olea europaea*). *J. Biogeogr.* 34: 736-752.
- BIANCHI, N. & C. MORRI (2000). Marine biodiversity of the Mediterranean Sea: situation, problems and prospects for future research. *Mar. Pollut. Bull.* 40: 367-376.
- BIONDI, E., BLASI, C., BURRASCANO, S., CASAVECCHIA, S., COPIZ, R., DEL VICO, E., GALDENZI, D., GIGANTE, D., LASEN, C., SPAMPINATO, G., VENANZONI, R. & L. ZIVKOVIC 2010. *Italian interpretation Manual of the habitats (92/43/EEC Directive)*. Ministry of Environment, Land and Sea Protection Nature Protection Directorat. Italy.
- BISSIO, B. (1977). Sudáfrica: La crisis del Apartheid. *Nueva Sociedad* 31-32: 231-240.
- BOBROV, E.G. (1965). On the origin of the flora of the Old World deserts, as illustrated by the genus *Nitraria* L. *Bot. Zurn.* 50: 1053-1067.
- BOG, M., BAUMBACH, H., SCHWEEN, U., HELLWIG, F., LANDOLT, E. & K.-J. APPENROTH (2010). Genetic structure of genus *Lemna* L. (Lemnaceae) as revealed by amplified fragment length polymorphism. *Planta* 232: 609-619.
- BOLÒS, O. & R. MOLINIER (1958). Recherches phytosociologiques dans l'Îlle de Majorque. *Collect. Bot. (Barcelona)* 4(3): 1-32.
- BOLÒS, O. & J. VIGO (1990). *Flora dels Països Catalans*. 2. Ed. Barcino, Barcelona, 921 pp.
- BOLÒS, O., MOLINIER, R. & P. MONTSERRAT (1970). Observations phytosociologiques dans l'Îlle de Minorque. *Acta Bot. Barcinon.* 5: 1-150. (Commum. Stat. Inst. Géobot. Médit. Montpellier 191).

- BOND, J.M., DANIELS, R. & F. BIORET (2005). Genetic diversity in *Crambe maritima* along the English Channel: the role of ocean currents in determining population structure. *Ecography* 28: 374-384.
- BORHIDI, A. (1996). *Phytogeography and Vegetation Ecology of Cuba*. Akadémiai Kiadó. Budapest. 858 pp.
- BORSA, P., BLANQUER, A. & P. BERREBI (1997). Genetic structure of the flounders *Platichthys flesus* and *P. stellatus* at different geographic scales. *Mar. Biol.* 129: 233-246.
- BORSCH, T. (1998). Pollen types in the Amaranthaceae. Morphology and evolutionary significance. *Grana* 37(3): 129-142.
- BOULOS, L. (1999). *Flora of Egypt* 1. Al Hadara Publishing. Cairo, Egypt, 419 pp.
- BRAKO, L. & J. ZARUCCHI (1993). Catalogue of the Flowering Plants and Gymnosperms of Peru. *Mongr. Missouri Bot. Gard.* 45. Missouri Botanical Garden. 1286 pp.
- BRAUN-BLANQUET, J. (1928). *Pflanzensoziologie*. Berlin, 330 pp.
- BRAUN-BLANQUET, J. (1933). Zentralalpen und Tatra, eine pflanzensoziologische Parallele. *Veröff. Ver. Geobot. Inst. Rübél* 6: 43.
- BROCHMANN, C., BRYSTING, A.K., ALSOS, I.G., BORGÉN, L., GRUNDT, H.H., SCHEEN, A.C. & R. ELVEN (2004). Polyploidy in arctic plants. *Biol. J. Linn. Soc.* 82: 521-536.
- BROCKINGTON, S.F., WALKER, R.H., SOLTIS, P.S. & D.E. SOLTIS (2011). Complex pigment evolution in the Caryophyllales. *New Phytol.* 190(4): 854-864.
- BROMBERG-GEDAN, K., SILLIMAN, B.R. & M.D. BERTNESS (2009). Centuries of Human-Driven Change in Salt Marsh Ecosystems. *Ann. Rev. Mar. Sci.* 1: 117-141.
- BRULLO, S. & F. FURNARI (1976). Le associazioni vegetali degli ambienti palustri costieri della Sicilia. *Not. Fitosoc.* 11: 1-43.
- BURGER, J. (1984). Shorebirds as marine animals. En: BURGER, J. & B.L. OLLA (eds.). *Shorebirds. Behaviour of marine animals*. Plenum Press. NY. 344 pp.

- CABELLO, J. (2011). *Chenopodiaceae*. En: BLANCA, G., CABEZUDO, B., CUETO, SALAZAR, C. & C. MORALES-TORRES (eds.). *Flora Vascular de Andalucía Oriental*: 555-580. Universidades de Almería, Granada, Jaén, Málaga y Granada.
- CABRERA, J., JACOBS, S. & G. KADEREIT (2009). Phylogeny of the Australian *Campthorosmeae* (*Chenopodiaceae*) and the taxonomic significance of the fruiting perianth. *Int. J. Pl. Sci.* 170: 505-521.
- CANO, A., LA TORRE, M.I., LEÓN, B., YOUNG, K.R., ROQUE, J. & M. ARAKAKI (1998). Estudio comparativo de la Flora vascular de los principales humedales de la zona costera del departamento de Lima, Perú. En: CANO, A. & K.R. YOUNG (eds.). *Los pantanos de la Villa, biología y conservación*. Young ed. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Museo de Historia Natural. Lima 238 pp.
- CAROLIN, R.C. (1982). The chlorenchyma of some members of the *Salicornieae* (*Chenopodiaceae*). *Austral. J. Bot.* 30: 387-392.
- CAROLIN, R.C., JACOBS, S.W.L. & M. VESK (1975). Leaf structure in *Chenopodiaceae*. *Bot. Jahrb. Syst.* 95: 226-255.
- CARRIÓN, J.S., MUNUERA, M., NAVARRO, C. & F. SÁEZ (2000). Paleoclimas e historia de la vegetación Cuaternaria en España a través del análisis polínico. *Complutum* 11: 115-142.
- CASSAR, L.F., CONRAD, E. & P.J. SCHEMBRI (2008). The Maltese archipelago. En: VOGIATZAKIS, I.N., PUNGETTI, G. & A.M. MANNION (eds.). *Mediterranean islands landscapes: natural and cultural approaches*: 297-324. Heidelberg, Germany. Springer.
- CASTRESANA, J. (2000). Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Molec. Biol. Evol.* 17: 540-552.
- CASTRO, D. & F.C. FONTES (1946). Primeiro contacto citológico com a flora halófila dos Salgados de Sacavém. *Brotéria* 15(1): 38-46.
- CASTRO, H., CARRIQUE, E.L., AGUILERA, P.A., CASAS, J.J., RESCIA, A., SCHMITZ, M.F. & F.D. PINEDA (2001). Humedales almerienses: importancia, problemática y gestión. En: PULIDO, A., CALAFORRA, J.M. & P. PULIDO (eds.). *Problemática de la*

- gestión del agua en regiones semiáridas*: 47-61. Colección Actas, 42. Instituto de Estudios Almerienses (Diputación de Almería). Almería.
- CASTROVIEJO, S. (1990). *Chenopodiaceae*. En: CASTROVIEJO, S., LAÍNZ, M., LÓPEZ GONZÁLEZ, G., MONTSERRAT, P., MUÑOZ GARMEDIA, F., PAVIA, J. & L. VILLAR (eds.). *Flora Iberica* 2: 476-553. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid.
- CASTROVIEJO, S. & P. COELLO (1980). Datos cariológicos y taxonómicos sobre las *Salicorniinae* A.J. Scott Ibéricas. *Anales Jard. Bot. Madrid* 37(1): 41-73.
- CASTROVIEJO, S. & E. LAGO (1992). Datos acerca de la hibridación en el género *Sarcocornia* (*Chenopodiaceae*). *Anales Jard. Bot. Madrid* 50(2): 163-170.
- CAUJAPÉ-CASTELLS, J. & R.K. JANSEN (2003). The influence of the Miocene Mediterranean desiccation on the geographical expansion and genetic variation of *Androcymbium gramineum* (Cav.) McBride (Colchicaceae). *Mol. Ecol.* 12: 1515-1525.
- CEVALLOS-FERRIZ, S.R.S., ESTRADA-RUIZ, E. & B.R. PÉREZ-HERNÁNDEZ (2008). Phytolaccaceae infrutescence from Cerro del Pueblo Formation, Upper Cretaceous (late Campanian), Coahuila, Mexico. *Am. J. Bot.* 95(1): 77-83.
- CHAPMAN, V.J. (1974). *Salt Marshes and Salt Deserts of the World*. Verlag Von J. Cramer, Lehre, Germany. 494 pp.
- CHARRIER, R. & N. MUÑOZ (1997). *Geología del Altiplano chileno*. En: CHARRIER, R. (ed.). *El Altiplano: Ciencia y conciencia en los Andes*: 23-31. Universidad de Chile, Santiago.
- CHASE, M.W. & H.G. HILL (1991). Silica gel: an ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies. *Taxon* 40: 215-220.
- CHASE, M.W. & J.L. REVEAL (2009). A phylogenetic classification of the land plants to accompany APG III. *Bot. J. Linn. Soc.* 161: 122-127.
- CIRUJANO, S. (1990). *Flora y vegetación de las lagunas húmedas de la provincia de Albacete*: 1-144. Albacete, Inst. Estudios Albacetenses.
- CLEMENT, J.S., MABRY, T.J., WYLER, H. & A.S. DREIDING (1994). Chemical review and evolutionary significance of the betalains. En: BEHNKE, H.D. & T.J. MABRY (eds.). *Caryophyllales*: 247-261. Springer, Berlin.

- COART, E., VAN GLABEKE, S., PETTIT, R.J., VAN BOCKSTAELE, E. & I. ROLDÁN-RUIZ (2005). Range wide versus local patterns of genetic diversity in hornbeam (*Carpinus betulus* L.). *Conserv. Genet.* 6: 259-273.
- COATES, A.G. & J.A. OBANDO (1996). The Geologic evolution of the Central American Isthmus. En: JACKSON, J.B.C., BUDD, A.F. & A.G. COATES (eds.). *Evolution and Environment in Tropical America*: 21-56. The University of Chicago Press, Chicago.
- COEN, E.S. & E.M. MEYEROWITZ (1991). The war of the whorls: Genetic interactions controlling flower development. *Nature* 353: 31-37.
- COLLINSON, M.E., BOULTER, M.C. & P.L. HOLMES (1993). Magnoliophyta ('Angiospermae'). En: BENTON, M.J. (ed.). *The Fossil Record 2*: 809-841. Chapman & Hall, London.
- COMES, H.P. & R.J. ABBOTT (2001). Molecular phylogeography, reticulation, and lineage sorting in Mediterranean *Senecio* sect. *Senecio* (Asteraceae). *Evolution* 55: 1943-1962.
- CONESA, H.M. & F.J. JIMÉNEZ-CÁRCELES (2007). The Mar Menor lagoon (SE Spain): A singular natural ecosystem threatened by human activities. *Mar. Pollut. Bull.* 54: 839-849.
- CONESA, H.M. & R. SCHULIN (2010). The Cartagena-La Unión mining district (SE Spain): a review of environmental problems and emerging phytoremediation solutions after fifteen years research. *J. Environ. Monitor.* 12: 1225-1233.
- CONNOR, H.E. (1984). Gynodioecism in *Sarcocornia quinqueflora* (Salicornieae) in New Zealand. *N. Z. J. Bot.* 22: 433-439.
- CONTANDRIOPOULOS, J. (1968). A Propos des nombres Chromosomiques des Salicornia de la région méditerranéenne. *Bull. Mus. Hist. Nat. (Marseille)* 28: 45-52.
- CORANDER, J. & P. MARTTINEN (2006). Bayesian identification of admixture events using multilocus molecular markers. *Mol. Ecol.* 15: 2833-2843.

- CORANDER, J., WALDMANN, P., MARTTINEN, P. & M.J. SILLANPÄÄ (2004). BAPS 2: enhanced possibilities for the analysis of genetic population structure. *Bioinformatics* 20: 2363-2369.
- CORREA-METRIO, A., BUSH, M.B., HODELL, D., BRENNER, M., ESCOBAR, J. & T. GUILDERSON (2012). The influence of abrupt climate change on the ice-age vegetation of the Central American lowlands. *J. Biogeogr.* 39: 497-509.
- COSTA, M. & H. BOIRA (1981). La vegetación costera valenciana: los saladares. *Anales Jard. Bot. Madrid* 38(1): 233-244.
- COSTA, J.C., ARSÉNIO, P., MONTEIRO-HENRIQUES, T., NETO, C., PEREIRA, E., ALMEIDA, T. & J. IZCO (2009). Finding the Boundary between Eurosiberian and Mediterranean Salt Marshes. *J. Coastal Res.* 56: 1340-1344.
- COSTE, H. (2007). *Flore descriptive et illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes*: 189-191. Librairie scientifique et technique, Albert Blanchard 9, rue de Médicis, Paris 6°.
- COUTINHO, A.X.P. (1939). *Flora de Portugal (plantas vasculares) disposta em chaves dicotómicas*. 2° ed. Dirigida pelo Dr. Ruy Telles Palhinha. Lisboa. 938 pp.
- CRISTOFOLINI, G. & L. CHIAPPELLA (1970). Chemotassonomia del genere *Salicornia* delle coste Venete. *G. Bot. Ital.* 104: 91-115.
- CUTLER, D.F., BOTHA, T. & D.W. STEVENSON (2008). *Plant Anatomy. An applied approach*. Blackwell Publishing. 302 pp.
- DALBY, D.H. (1962). Chromosome number, morphology and breeding behaviour in the British *Salicorniae*. *Watsonia* 5: 150-162.
- DALBY, D. H. (1963). Seed dispersal in *Salicornia pusilla*. *Nature* 199: 197-198.
- DALBY, D.H. (1975). 160. *Salicornia* L. En: STACE, C.A. (ed.). *Hybridization and the Flora of the British Isles*: 186-188. Academic Press, London.
- DARWIN, C. (1859). *On the Origin of Species*. Murray, London, England. 502 pp.
- DATSON, B. (2002). *Samphires in Western Australia. A field guide to Chenopodiaceae tribe Salicornieae*. Department of Conservation and land management. 125 pp.

- DAVIS, O.K. & T.E. MOUTOUX (1998). Tertiary and Quaternary vegetation history of the Great Salt Lake, Utah, USA. *J. Paleolimnol.* 19: 417-427.
- DAVY, A.J., BISHOP, G.F. & C.S.B. COSTA (2001). Biological Flora of the British Isles, n°. 219. *Salicornia* L. (*Salicornia pusilla* J. Woods, *S. ramosissima* J. Woods, *S. europaeae* L., *S. obscura* P.W. Ball & Tutin, *S. nitens* P.W. Ball & Tutin, *S. fragilis* P.W. Ball & Tutin and *S. dolichostachya* Moss). *J. Ecol.* 89: 681-707.
- DAVY, A.J., BISHOP, G.F., MOSSMAN, H., REDONDO-GÓMEZ, S., LUQUE, T. & E. FIGUEROA (2006). Biological Flora of the British Isles, n° 244: *Sarcocornia perennis* (Miller) A.J. Scott. *J. Ecol.* 94: 1035-1048.
- DELF, E.M. (1911). Transpiration and behavior of stomata in halophytes. *Ann. Bot.* 15(98): 485-505.
- DELF, E.M. (1915). The meaning of Xerophily. *J. Ecol.* 3(2): 110-121.
- DIETRICH, A.G. (1831). *Caroli a Linné Species Plantarum*, ed. 6, part.1. G.C. Nauck, Berlin.
- DOWNIE, S.R. & D.S. KATZ-DOWNIE (1999). Phylogenetic analysis of chloroplast *rps16* intron sequences reveals relationships within the woody southern African Apiaceae subfamily Apioideae. *Can. J. Bot.* 77: 112-1135.
- DOYLE, J. J. & J.L. DOYLE (1987). A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bull.* 19: 11-15.
- DUERMEIJER, C.E., VAN VUGT, N., LANGEREIS, C.G., MEULENKAMP, J.E. & W.T. ZACHARIASSE (1998). A major late Tortonian rotation phase in the Croton basin using AMS as tectonic tilt correction and timing of the opening of the Tyrrhenian basin. *Tectonophysics* 287(1-4): 233-249.
- DUPANLOUP, I., SCHNEIDER, S. & L. EXCOFFIER (2002). A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Mol. Ecol.* 11: 2571-2581.
- DURETO, M.F. & D.I. MORRIS (2011). 97 Amaranthaceae, version 2011:1. En: DURETO, M.F. (ed.). *Flora of Tasmania Online*. 29 pp.
- DUVAL-JOUBE, D. (1868). Des *Salicornia* de l' Herault. *Bull. Soc. Bot. France* 15: 165-179.

- EBERT, D. & R. PEAKALL (2009a). Chloroplast simple sequence repeats (cpSSRs): technical resources and recommendations for expanding cpSSR discovery and applications to a wide array of plants species. *Mol. Ecol. Resour.* 9: 673-690.
- EBERT, D. & R. PEAKALL (2009b). A new set of universal *de novo* sequencing primers for extensive coverage of noncoding chloroplast DNA: new opportunities for phylogenetics studies and cpSSR discovery. *Mol. Ecol. Resour.* 9: 777-1075.
- EHRICH, D. (2006). AFLPdat: a collection of R functions for convenient handling of AFLP data. *Mol. Ecol. Notes* 6: 603-604.
- EIG, A. (1946). Synopsis of the Phytosociological units of the Palestine. *Palestine J. Bot.*, Jerusalem Ser. 3(4): 230-253.
- ELLSTRAND, N.C. & D.R. ELAM (1993). Population genetic consequences of small populations size: implications for plant conservation. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24: 217-242.
- ENGLISH, J. (2004). *Ecophysiology of salinity and waterlogging tolerance in selected species of Halosarcia*. PhD thesis. The University of Western Australia, Perth.
- ESCUADERO, M., VARGAS, P., VALCÁRCEL, V. & M. LUCEÑO (2008). Strait of Gibraltar: an effective gene-flow barrier for wind-pollinated *Carex belodes* (Cyperaceae) as revealed by DNA sequences, AFLP, and cytogenetic variation. *Am. J. Bot.* 95: 745-755.
- EXCOFFIER, L., LAVAL, G. & S. SCHNEIDER (2005). Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform.* Online 1: 47-50.
- FADY-WELTERLEN, B. (2005). Is there really more biodiversity in Mediterranean forest ecosystems? *Taxon* 54: 905-910.
- FAY, M.F., COWAN, R.S. & I.J. LEITCH (2005). The effects of nuclear DNA content (C-value) on the quality and utility of AFLP fingerprinting. *Ann. Bot.* 95: 237-246.
- FEIST, M.A., DOWNIE, S.R., MAGEE, A.R. & L.M. REBECCA (2012). Revised generic demilitations for *Oxypolis* and *Ptilimnium* (Apiaceae) based on leaf morphology,

- comparative fruit anatomy, and phylogenetic analysis of nuclear rDNA, ITS and cpDNA *trnQ-trnK* intergeneric spacer sequence data. *Taxon* 61(2): 402-418.
- FELSENSTEIN, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- FERGUSON, I.K. (1964). Notes on the stigma morphology and flowering behaviour in British Salicorniae. *Watsonia* 6(1): 25-27.
- FERNÁNDEZ, M. & A. SANTOS (1983). La vegetación litoral de Canarias, I. Arthrocnemetea. *Lazaroa* 5: 143-155.
- FERNANDEZ-ILLESCAS, F., NIEVA, F.J.J., SILVA, I., TORMO, R. & A.F. MUÑOZ (2010). Pollen production of Chenopodiaceae species at habitat and landscape scale in Mediterranean salt marshes: An ecological and phenological study. *Rev. Paleobot. Palynol.* 161: 127-136.
- FERNÁNDEZ-ILLESCAS, F., NIEVA, F.J.J., DE LAS HERAS, M.A. & A.F. MUÑOZ-RODRÍGUEZ (2011). Dichogamy in Salicornieae species: establishment of floral sex phases and evaluation of their frequency and efficacy in four species. *Plant. Syst. Evol.* 296: 255-264.
- FERREYRA, R. (1983). Los tipos de vegetación de la costa peruana. *Anales Jard. Bot. Madrid* 40(1): 241-256.
- FEULGEN, R. & M. RÖSSENBECK (1924). Mikroskopisch-chemischer Nachweis einer Nucleinsäure vom Typus der Thymonucleinsäure und die darauf beruhende selective Färbung von Zellkernen in mikroskopischen Präparaten. *Z. Physiol. Chemie* 135: 203-248.
- FIELDING, J. & N. TURLAND (2008). *Flowers of Crete*. Royal Botanic Gardens, Kew. 649 pp.
- FIGUEROA, M.E., CASTILLO, J.M., REDONDO, S., LUQUE, T., CASTELLANOS, E.M., NIEVA, F.J., LUQUE, C.J., RUBIO-CASAL, A.E. & A.J. DAVY (2003). Facilitated invasion by hybridization of *Sarcocornia* species in a salt-marsh succession. *J. Ecol.* 91: 616-626.

- FITCH, W.M. (1971). Towards defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology. *Syst. Zool.* 20: 406-416.
- FIZ, O., VALCÁRCEL, V. & P. VARGAS (2002). Phylogenetic position of Mediterranean Asteraceae and carácter evolution of daisies (*Bellis*, Asteraceae) inferred from nrDNA ITS sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 25: 157-171.
- FLOWERS, T.J. & T.D. COLMER (2008). Salinity tolerance in halophytes. *J. Exp. Bot.* 55: 307-319.
- FLOWERS, T.J., GALAL, H.K. & L. BROMHAM (2010). Evolution of halophytes: multiple origins of salt tolerance in land plants. *Funct. Plant Biol.* 37: 604-612.
- FOLGUERA A., RAMOS, V.A. & D. MELNICK (2002). Partición de la deformación en la zona del arco volcánico de los Andes Neuquinos (36-39°S) en los últimos 30 millones de años. *Rev. Geol. Chile* 29(2): 151-165.
- FONT QUER, P. (1989). *Diccionario de botánica*. Barcelona, Lábor. 1100 pp.
- FRANKHAM, R. (2003). Genetics and conservation biology. *C. R. Biol.* 326 Suppl. 1:22-29.
- FREITAG, H. (1989). Contribution to the chenopod flora of Egypt. *Flora* 183: 149-173.
- FREITAG, H. (2000). Chenopodiaceae. En GÜNER, A., ÖZHATAY, N., EKIM, T. & K.H.C. BASER (eds.). *Flora of Turkey* 11, Suppl. 2: 57-65. Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.
- FREITAG, H. (2011). Typification of *Salicornia perennans* Willd. (*Chenopodiaceae/Amaranthaceae*) and the significance of names by Pallas. *Willdenowia* 41: 231-237.
- FRIES, R.E. (1905). Zur Kenntnis der alpine Flora im nördlichen Argentinien. *Nova Acta Regiae Soc. Sci. Upsal.*, ser. 4,1(1): 1-206.
- FUENTE, V. DE LA, RUFO, L. & D. SÁNCHEZ-MATA (2011). *Sarcocornia hispanica* (*Chenopodiaceae*), a new specie from the Iberian Peninsula. *Lazaroa* 32: 9-13.
- GALBANY-CASALS, M., ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., GARCÍA-JACAS, N., SUSANA, A., RICO, E. & M.M. MARTÍNEZ-ORTEGA (2010). How many of Cassini anagrams should

- there be? Molecular systematics and phylogenetic relationships in the *Filago* group (Asteraceae, Gnaphalieae), with special focus on the genus *Filago*. *Taxon* 59(6): 1971-1689.
- GAMES, P.A. & J.F. HOWELL (1976). Pairwise multiple comparison procedures with unequal N's and/or variances: A monte carlo study. *J. Educ. Stat.* 1: 113-125.
- GAMISANS, J. & D. JEANMONOD (1993). *Catalogues des plantes vasculaires de la Corse*. ed. 2. *Compléments au Prodrome de la Flore Corse, annexe 3*. Editions des Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève. 258 pp.
- GARCÍA-CASTELLANOS, F., ESTRADA, F., JIMÉNEZ-MUNT, I., GORINI, C., FERNÁNDEZ, M., VERGÉS, J. & R. DE VICENTE (2009). Catastrophic flood of the Mediterranean after the Messinian salinity crisis. *Nature* 462: 778-781.
- GARIBALDI, L. & J.F. CADDY (1998). Biogeographic characterization of Mediterranean and Black seas faunal provinces using GIS procedures. *Ocean Coast Manag.* 139: 211-227.
- GARRIDO, J.L., FENU, G., MATTANA, E. & G. BACCHETA (2012). Spatial genetic structure of *Aquilegia* taxa endemic to the island of Sardinia. *Ann. Botany* 109: 953-964.
- GAY, A.P. & R.G. HURD (1975). The influence of light on stomatal density in the tomato. *New Phytol.* 75: 37-46.
- GÉHU, M. & E. BIONDI (1994). Végétation du litoral de la Corse essai de synthèse phytosociologique. *Braun-Blanquetia* 13: 1-154.
- GÉHU, M.J., COSTA, M., BIONDI, E., PERIS, B. & N. ARNOLD (1984a). Données sur la végétation maritime des côtes meridionales de l'Île de Chypre (plages, dunes, lacs salés et falaises). *Doc. Phytosoc.* 8: 343-361.
- GÉHU, M. J., COSTA, M., SCOPPOLA, A., BIONDI, E., MARCHIORIS, S. PERIS, B., GÉHU-FRANK, J., CANIGLIA, G. & L. VERI (1984b). Essai Synsystématique et synchorologique sur les végétations littorales italiennes dans un but conservatoire. *Doc. Phytosoc.* 8: 393-474.

- GIL-DELGADO, J.A., LÓPEZ, G., RICO, L., SIRVENT, M.I., VILLAPLANA, J. & L. ALBENTOSA (1989). Análisis de la distribución de la avifauna nidificantes en la provincia de Alicante. *Mediterránea Ser. Biol.* 11: 77-120.
- GIRAUDI, C. (2004). THE Upper Pleistocene to Holocene sediments on the Mediterranean island of Lampedusa (Italy). *J. Quaternary Sci.* 19: 537-545.
- GIUSTI, L. (1984). Chenopodiaceae. En: CORREA, M.N. (ed.). *Flora Patagónica* 8, part. 4a: 99-137. Colección Científica del INTA, Buenos Aires.
- GIUSTI, L. (1997). Chenopodiaceae. En: HUNZIKER, A.T. (ed.). *Flora fanerogámica argentina*, Fasc. 40: 1-53. Proflora-Conicet. Córdoba.
- GONZÁLEZ-BERNÁLDEZ, F. (1990). El sureste: singularidad complementaria y desarrollo estable. En: Diario La Opinión (ed.). *La Región de Murcia y su Naturaleza*. 1-2. Murcia.
- GOSÁLVEZ, R., GIL-DELGADO, J.A., VIVES-FERRÁNDIZ, SÁNCHEZ, G. & M. FLORÍN (2012). Seguimiento de aves acuáticas amenazadas en lagunas de la reserva de la biosfera de la Mancha húmeda (España central) *Polígonos. Revista de Geografía* 22: 89-122.
- GOUAN, A. (1762). *Hortus Regius Monspeliensis, sistens plantas tum indigenas tum exoticas n.º MM. CC. ad genera relatas, cum nominibus specificis, synonymis selectis, nominibus trivialibus, habitationibus indigenarum, hospitibus exoticarum, secundum sexualem methodum digestas. In gratiam Philiatorum Monspeliensium.* Sumptibus Fatrum De Tournes, Lugduni.
- GOLOBOFF, P.A. FARRIS, J.S. & K. NIKON (2003-2005). TNT: Tree Analysis Using New Technology, version 1.1. Program and documentation, available from the authors, and at <http://www.zmuc.dk/public/phylogeny/>.
- GÓMEZ-FERRERAS, C. & J. PEDROL (1987). Estudio palinológico del género *Suaeda* (*Chenopodiaceae*) en la Península Ibérica e Islas Baleares. *Anales Jard. Bot. Madrid* 44(2): 275-283.
- GRAHAM, A. (2010). *A natural history of the New World: the ecology and evolution of plants in the Americas.* University of Chicago Press, Chicago. 392 pp.

- GRANT, V. (1981). *Plant Speciation*. New York, USA; Columbia University Press.
- GREEN, A.J., FIGUEROLA, J. & M.I. SÁNCHEZ (2002). Implications of waterbird ecology for the dispersal of aquatic organisms. *Acta Oecol.* 23: 177-189.
- GREUTER, W., BURDET, H.M. & G. LONG (1984). *Med-Checklist 1*. Conserv. Jard. Bot. Genève. Genève.
- GUILLÓ, A., ALONSO, M.A., JUAN, A. & M.B. CRESPO (2011). Nomenclatural notes on *Sarcocornia perennis* (Miller) A.J. Scott (Amaranthaceae). *Candollea* 66(2): 331-335.
- GUILLÓ, A., ALONSO, M.A. & A. JUAN (2012a, en prensa). New insights of seminal and stomata morphology and their contribution to the taxonomy of the Old World *Sarcocornia* taxa and relatives. *Pl. Syst. Evol.*
- GUILLÓ, A., ALONSO, M.A., LENDÍNEZ, M.L., SALAZAR, C. & A. JUAN (2012b, en prensa). Taxonomical identity of *Sarcocornia fruticosa* and *S. hispanica* in the Iberian Peninsula (Spain). *Anales Jard. Bot. Madrid*
- HAMBLER, H. (1954). Chromosome numbers in british Salicornia. *Nature* 173: 547.
- HAMBLER, H. (1955). Some observations on Salicornia. *Bot. Soc. Brit. Isles Proc.* 1(3): 385-386.
- HAMPE, A., ARROYO, J., JORDANO, P. & R.J. PETIT (2003). Rangewide phylogeography of a bird-dispersed Eurasian shrub: contrasting Mediterranean and temperate glacial refugia. *Mol. Ecol.* 12: 3415-3426.
- HAMRICK, J.L. & M.J.W. GODT (1996). Effects of life history on genetic diversity in plant species. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 351: 1291-1298.
- HARDY, O.J. & X. VEKEMANS (2001). Patterns of allozyme variation in diploid and tetraploide *Centaurea jacea* at different spatial scales. *Evolution* 55: 943-954.
- HEDRÉN, M., FAY, M.F. & M.W. CHASE (2001). Amplified fragment length polymorphisms (AFLP) reveal details of polyploid evolution in *Dactyloctenium* (Orchidaceae). *Am. J. Bot.* 88: 1868-1880.
- HEDRICK, P.W. (2001). Conservation genetics: where are we now? *Trends Ecol. Evol.* 16: 629-636.

- HERNÁNDEZ-GIL, V. & F. ROBLEDANO (1997). La comunidad de aves acuáticas del mar menor (Murcia, SE de España): aproximación a su respuesta a las modificaciones ambientales en la laguna. En: MANRIQUE, J. *et al.* *Actas de las XII Jornadas Ornitológicas Españolas. Almería (1994)*. Instituto de Estudios Almerienses
- HERRERA-GALLASTEGUI, M., FERNÁNDEZ-CASADO, M.A. & J.A. FERNÁNDEZ-PRieto (1989). El género *Salicornia* L. en el estuario del Río Asón (Cantabria). *Anales J. Bot. Madrid* 45: 551-552.
- HEKMAT-SHOAR, H. (1978). Contribution à l'étude cytotonmique de quelques halophytes d'Azerbaïdjan (Iran). *Revue de Cytologie et de Biologie Vegetales—le Botaniste* 1: 97-104.
- HÉRAIL, G., BABY, R., LÓPEZ, M., OLLER, J., LÓPEZ, O., SALINAS, R., SEMPERE, T., BECCAR, G. & H. TOLEDO (1990). *Structure and kinematic evolution of subandean thrust system of Bolivia*. Premier Symposium International de Géodynamique.
- HEWITT, G.M. (1999). Post-glacial re-colonization of European biota. *Biol. J. Linn. Soc.* 68: 87-112.
- HEWITT, G.M. (2004). Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 359: 183-195.
- HILL, R.S. (1998). Fossil evidence for the onset of xeromorphy and scleromorphy in Australian Proteaceae. *Aust. Syst. Bot.* 11: 391-400.
- HILTON, J.R. (1975). Studies on the biology of *Salicornia dolichostachya* Moss. PhD thesis, University of Exeter, Exeter, UK.
- HOKCHE, O., BERRY, P.E. & O. HUBBER (eds.) (2008). *Nuevo Catálogo de la flora vascular de Venezuela*. Fundación Instituto Botánico de Venezuela, Caracas. 859 pp.
- HONNAY, O. & H. JACQUEMYN (2007). Susceptibility of common and rare plant species to the genetic consequences of habitat fragmentation. *Conserv. Biol.* 21: 823-831.
- HÖRANDL, E. & T.F. STuessy (2009). Paraphyletic groups as natural units of biological classification. *Taxon* 59(9): 1641-1653.
- HORTAS, F. (1997). Migración de aves limícolas en el suroeste ibérico, vía de vuelo del Mediterráneo occidental y África. En: A. BARBOSA (ed.). *Las aves limícolas en*

- España*: 77-116. Editorial Organismos Autónomo de Parques Nacionales, Madrid.
- HSÜ, K.J. (1972). When the Mediterranean dried up. *Sci. Am.* 227: 27-36.
- HUELSENBECK, P. & F. RONQUIST (2001). MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754-755.
- HUMPHREYS, A.M. & H.P. LINDER (2009). Concept versus data in delimitation of plant genera. *Taxon* 58: 1054-1074.
- JAKOB, S.S. & F.R. BLATTNER (2006). A chloroplast genealogy of *Hordeum* (Poaceae): Long-term persisting haplotypes, incomplete lineage sorting, regional extinction, and the consequences for phylogenetic inference. *Mol. Biol. Evol.* 23: 1602-1612.
- JEANMONOD, D. & J. GAMISANS (2007). *Flora Corsica*: 319-322. Édisud. Aix-en-Provence.
- JOHNSON, K.P. & J.D. WECKSTEIN (2011). The central American land bridge as an engine of diversification in New World doves. *J. Biogeogr.* 38: 1069-1076.
- JOLY, S., MCLENACHAN, P.A. & P. LOCKHART (2009). A Statistical Approach for Distinguishing Hybridization and Incomplete Lineage Sorting. *Amer. Nat.* 174(2): 54-70.
- JORDAN, G.J., WESTON, P.H., CARPENTER, R.J., DILLON, R.A. & T.J. BRODRIBB (2008). The evolutionary relations of sunken, covered, and encrypted stomata to dry habitats in *Proteaceae*. *Am. J. Bot.* 95(5): 521-530.
- JUAN, A., CRESPO, M.B., COWAN, R.S., LEXER, C. & M.F. FAY (2004). Patterns of variability and gene flow in *Medicago citrina*, an endangered endemic of islands in the western Mediterranean, as revealed by amplified fragment length polymorphism (AFLP). *Mol. Ecol.* 13: 2679-2690.
- JUAN, A., ALONSO, M.A., GUILLÓ, A. & M.B. CRESPO (2007). Diversidad genética del género *Sarcocornia* (L.) A.J. Scott en Sudamérica: implicaciones en la taxonomía y conservación. En: *III Congreso de Biología de la Conservación de Plantas, Libro de Resúmenes*: 54-55. Puerto de la Cruz (Tenerife).

- JUAN, A., FAY, M.F., PASTOR, J., JUAN, R., FERNÁNDEZ, I. & M.B. CRESPO (2012). Genetic structure and phylogeography in *Juniperus oxycedrus* subsp. *macrocarpa* around the Mediterranean and Atlantic coasts of the Iberian Peninsula, based on AFLP and plastid markers. *Eur. J. Forest. Res.* 131(3): 845-856.
- JUDD, W.S. & I.K. FERGUSON (1999). The genera of Chenopodiaceae in the Southeastern United States. *Harv. Pap. Bot.* 4: 365-416.
- KADEREIT, G. & A.E. YAPRAK (2008). *Microcnemum coralloides* (Chenopodiaceae-Salicornioideae): an example of intraspecific East-West disjunctions in the Mediterranean region. *Anales Jard. Bot. Madrid* 65(2): 415-426.
- KADEREIT, G., MUCINA, L. & H. FREITAG (2006). Phylogeny of Salicornioideae (Chenopodiaceae): diversification, biogeography, and evolutionary trends in leaf and flower morphology. *Taxon* 55(3): 617-642.
- KADEREIT, G., BORSCH, T., WEISING, K. & H. FREITAG (2003). Phylogeny of Amaranthaceae and Chenopodiaceae and the evolution of C4 photosynthesis. *Int. J. Plant Sci.* 164: 959-986.
- KADEREIT, G., GOTZEK, D., JACOBS, S. & H. FREITAG (2005a). Origin and age of Australian Chenopodiaceae. *Organ. Divers. Evol.* 5: 59-80.
- KADEREIT, J.W., ARAFEH, R., SOMOGYI, G. & E. WESTBERG (2005b). Terrestrial growth and marine dispersal? Comparative phylogeography of five coastal plant species at a European scale. *Taxon* 54(4): 861-876.
- KADEREIT, G., BALL, P., BEER, S., MUCINA, L., SOKOLOFF, D., TEEGE, P., YAPRAK, A.E. & H. FREITAG (2007). A taxonomic nightmare comes true: phylogeny and biogeography of glassworts (*Salicornia* L., Chenopodiaceae). *Taxon* 56(4): 1143-1170.
- KAHN, F., LEÓN, B. & K.R. YOUNG (1993). *Las plantas vasculares en las aguas continentales del Perú*. IFEA, Lima-Perú. 357 pp.
- KALIGARIC, M. & S. SKORNIK (2006). Vegetation of tall rush saltmarshes (*Junceteta maritimi*) and saltmarsh scrubs (*Arthrocnemetea fruticosi*) on the Slovenian seacost. *Annales Ser. Hist. Nat.* 17: 47-58.

- KÄSS, E. & M. WINK (1997). Phylogenetic relationships in the Papilionoideae (family Leguminosae) based on nucleotide sequences of cpDNA (*rbcl*) and ncDNA (ITS1 and 2). *Mol. Phyl. Evol.* 8: 65-88.
- KOCE, J.D., SKONDRIC, S., BACIC, T. & M. DERMASTIA (2008). Amounts of nuclear DNA in marine halophytes. *Aquabotanic* 89: 386-389.
- KOOPMAN, W.J.M. (2005). Phylogenetic signal in AFLP data sets. *Syst. Bot.* 54: 197-217.
- KOOPMAN, W.J.M., WISSEMAN, V., DE COCK, K., VAN HUYLENBROECK, J., DE RIEK, J., SABATINO, G.J., VISSER, D., VOSMAN, B., RITZ, C.M., MAES, B., WERLEMARK, G., NYBOM, H., DEBENER, T., LINDE, M. & M.J. SMULDERS (2007). AFLP markers as a tool to reconstruct complex relationships in the genus *Rosa* (Rosaceae). *Am.J. Bot.* 95: 353-366.
- KOVAR-EDER, J., JECHOREK, H., KVACEK, Z. & V. PARASHIV (2008). The integrated plant record: the ultimate tool to reconstruct Neogene zonal vegetation in Europe. *Palaios* 23: 97-111.
- KOWALEWSKA, A. & A.S. COHEN (1998). Reconstruction of paleoenvironments of the Great Salt Lake Basin during the late Cenozoic. *J. Paleolimnol.* 20: 381-407.
- KRIJGSMAN, W. (2002). The Mediterranean: Mare Nostrum of Earth sciences. *Earth Planet. Sc. Lett.* 205: 1-12.
- KRIJGSMAN, W., HIIGENI, F.J., RAFFI, I., SIERRO, F.J. & D.S. WILSON (1999). Chronology, causes and progression of the Messinian salinity crisis. *Nature* 400: 652-655.
- KUHLEMEIER, C. (2007). Phyllotaxis. *Trends Plant Sci.* 12(4): 143-150.
- KÜHN, U., BITTRICH, R., CAROLIN, R., FREITAG, H., HEDGE, I.C., UOTILA, P. & P.G. WILSON (1993). *Chenopodiaceae*. En KUBITZKI, W. (ed.). *Families and genera of vascular plants 2*: 253-281. Berlin, Heidelberg: Springer.
- KUNTH, CS (1818). En: VON HUMBOLDT, F.W.H.A., BONPLAND, A. & C.S. KUNTH (1818). *Nova genera et Species Plantarum, 2*. Typographia d'Hautel, Paris.
- LABADIE, J.P. (1976). En: LÖVE, A. IOPB Chromosome number reports LIV. *Taxon* 25(5/6): 631-649.

- LAGASCA, M. (1817). *Memoria sobre las plantas barrilleras en España*. Imprenta Real, Madrid. 84 pp.
- LAGO, E. & S. CASTROVIEJO (1993). *Estudio citotaxonomico de la flora de las costas gallegas*. Semin. Estudios Galego. Ed. O. Castro, Sada, La Coruña. 215 pp.
- LAHONDÈRE, C. (2004). Les salicornes s.l. (*Salicornia* L., *Sarcocornia* A.J. Scott et *Arthrocnemum* Moq.) sur les côtes françaises. *Bull. Soc. bot. Cent.-Ouest* Numéro spécial: 24-2004.
- LAHONDÈRE, C. & J. GAMISANS (1988). Note. En: JEANMONOD, D. & H.M. BURDET (eds.). *Notes et contribution à la flore de Corse. Candollea*: 368.
- LALLANA, V.H. & M. LALLANA (2004). Densidad estomática en hojas de *Eryngium horridum* Malme y su relación con el estado de desarrollo de las hojas. *RCA Rev. Cient. Agropecu.* 4(5): 81-86.
- LARCHER, W. (2003). *Physiological plant ecology: Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups*. Springer-Verlag, Germany. 513 pp.
- LAUSI, D. (1969). Descrizione di una nuova *Salicornia* dalla Laguna Veneta. *G. Bot. Ital.* 103: 183-188.
- LAUSI, D. (1982). *Arthrocnemum* Moq. En PIGNATTI, S. (ed.). *Flora d'Italia* 1:172-173. Edagricole, Edizione Agricole della Calderini s.r.l., Bologna.
- LÁZARO, E.M., HARRATH, A.H., STOCCHINO, G.A., PALA, M., BAGUÑA, J. & M. RIUTORT (2011). *Schmidtea mediterranea* phylogeography: an old species surviving on a few Mediterranean islands?. *BMC Evol. Biol.* 11: 274.
- LENDÍNEZ, M.L. (2010). *Estudio florístico y fitocenético de la vegetación halófila andaluza: Bases para su gestión y conservación*. Tesis Doctoral. Universidad de Jaén. 566 pp.
- LENDÍNEZ, M.L., MARCHAL, F.M. & C. SALAZAR (2011). Estudio florístico de los medios húmedos salinos de Andalucía (S. España). Catálogo florístico de la flora vascular halófila. *Lagascalia* 31: 77-130.
- LEÓN, H. & H. ALAIN (1951). Flora de Cuba 2. Dicotiledóneas: Casuarináceas a Meliaceas. *Contr. Ocas. Mus. Hist. Nat.* "De La Salle", 10. 455 pp.

- LINNEO, C. (1753). *Species plantarum, exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum Differentiis Specificis, Nominibus Trivialibus, Synonymis Selectis, Locis Natalibus, Secundum sistema sexuale digestas*. I. Impensis Laurentii Salvii, Holmiae.
- LINNEO, C. (1762). *Species plantarum, exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum Differentiis Specificis, Nominibus Trivialibus, Synonymis Selectis, Locis Natalibus, Secundum sistema sexuale digestas*. I. Editio Secunda, aucta. Holmiae: Impensis Direct Laurentii Salvii.
- LLORENS, LL. (1986). La vegetación de los saladares de la isla de Formentera (Balears). *Anales Jard. Bot. Madrid* 42(2): 469-479.
- LO PRESTI, R.M. & C. OBERPRIELER (2011). The central Mediterranean as a phytodiversity hotchpotch: phylogeographical patterns of the *Anthemis secundiramea* group (Compositae, Anthemideae) across the Sicilian Channel. *J. Biogeogr.* 38(6): 1109-1124.
- LOGET, N. & J. VAN DEN DRIESSCHE (2006). On the origin of the Strait of Gibraltar. *Sediment. Geol.* 188-189: 341-356.
- LOMONOSOVA, M.N. (2005). Novye vidy semeistva Chenopodiaceae New taxa of the family Chenopodiaceae. *Bot. Zhurn.* 90: 1248-1252.
- LÓPEZ GONZÁLEZ, G. (1997). Sobre las especies madrileñas de *Salicornia* L. (incl. *Sarcocornia* A.J. Scott). *Anales Jard. Bot. Madrid* 55(2): 468-471.
- LÓPEZ-PUJOL, J., ORELLANA, M.R., BOSCH, M., SIMON, J. & C. BLANCHÉ (2003). Effects of habitat fragmentation on allozyme diversity and conservation status of the coastal sand dune plant *Stachys maritima* (Lamiaceae) in the Iberian Peninsula. *Plant Biol.* 5: 504-512.
- LÓPEZ-PUJOL, J., BOSCH, M., SIMON, J. & C. BLANCHÉ (2004). Allozyme diversity in the tetraploide endemic *Thymus loscosii* (Lamiaceae). *Ann. Botany* 93: 323-332.
- LORENTZ, P. & G. NIEDERLEIN (1881). *Informe oficial de la Comisión científica agregada al Estado Mayor General de la Expedición de Río Negro (Patagonia) realizada en los meses de Abril, Mayo y Junio de 1879, bajo las órdenes del general D. Julio A. Roca. Entrega 2, Botánica*. Imprenta de Ostwald y Martínez. Buenos Aires.

- LUMARET, R., MIR, C., MICHAUD, H. & V. RAYNAL (2002). Phylogeographical variation of chloroplast DNA in holm oak (*Quercus ilex* L.). *Mol. Ecol.* 11: 2327-2336.
- LUMARET, R., TRYPHON-DIONNET, M., MICHAUD, H., SANUY, A., IPOTESI, E., BORN, C. & C. MIR (2005). Phylogeographical variation of chloroplast DNA in cork oak (*Quercus suber*). *Ann. Botany* 96: 853-861.
- LUQUE, T., RUIZ, C., AVALOS, J., CALDERÓN, I.L. & E. FIGUEROA (1995). Detection and analysis of genetic variation in *Salicornieae* (*Chenopodiaceae*) using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Taxon* 44: 53-63.
- LYNCH, M. (1984). Destabilizing hybridization, general purpose genotypes and geographic parthenogenesis. *Q. Rev. Biol.* 59: 257-283.
- LYNCH, M. & B.G. MILLIGAN (1994). Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Mol. Ecol.* 3: 91-99.
- MADDISON, W.P. (1997). Gene trees in species trees. *Syst. Biol.* 55: 21-30.
- MADDISON, W.P. & D.R. MADDISON (2010). *Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.74.* <http://mesquiteproject.org>.
- MAGNOL, P. (1676). *Botanicum Mospeliense sive plantarum Circa Mospelium nascentium protognomon In quo Plantarum Nomina meliora seliguntur: Loca, in quibus Plantae spontè adoleſcunt, tum à prioribus Botanicis, tum ab Authore observata indicantur: & praecipuae Facultates edocentur. Adduntur variarum Plantarum nondum descriptarum Descriptiones, & Icones, tum & Figurae quarundum quas solùm descripsit Casp. Baubinus in Prodomo.* Impensis Francisci Bovrly, Lugduni.
- MAHY, G., BRUEDERLE, L.P., CONNORS, B., VAN HOFWEGEN & N. VORSA (2000). Allozyme evidence for genetic autopolyploidy and high genetic diversity in tetraploide cranberry, *Vaccinium oxycoccos* (Ericaceae). *Am. J. Bot.* 87: 1882-1889.
- MAIRE, R. & P. QUÉZEL (1962). *Chenopodiaceae.* En *Flore de L'Afrique du Nord.* 8: 7-194. Éditions Paul Lechevalier 12, Rue de Tournon, 12, Paris.
- MANSION, G., ROSENBAUM, G., SCHÖNENBERGER, N., BACCHETA, G., ROSSELLÓ, J.A. & E. CONTI (2008). Phylogenetic analysis informed by geological history

- supports multiple, sequential invasions of the Mediterranean basin by the angiosperm family Araceae. *Syst. Biol.* 57: 269-285.
- MANTEL, N.A. (1967). The detection of disease clustering and generalized regression approach. *Can. Res.* 27: 209-220.
- MANTEL, S., SCHWARTZ, M.K., LUIKART, G. & P. TABERLET (2003). Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends Ecol. Evol.* 18: 189-197.
- MARKGRAF, F. (1934). Genetische Beziehungen der Mittelmeerflora. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 52: 68-79.
- MARTÍNEZ-AZORÍN, M., CRESPO, M.B., JUAN, A. & M. FAY (2011). Molecular phylogenetics of subfamily Ornithogaloideae (Hyacinthaceae) based on nuclear and plastid DNA regions, including a new taxonomic arrangement. *Ann. Bot.* 107: 1-37.
- MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M., DELGADO, L., ALBACH, D.C., ELENA-ROSSELLÓ, J.A. & E. RICO (2004). Species boundaries and phylogeographic patterns in cryptic taxa inferred from AFLP markers: *Veronica* subgsn. *Pentasepalae* (Scrophulariaceae) in the Western Mediterranean. *Syst. Bot.* 29(4): 965-986.
- MASON-GAMER, R.J., HOLSINGER, K.E. & R.K. JANSEN (1995). Chloroplast DNA haplotype variation within and among populations of *Coreopsis grandiflora* (Asteraceae). *Mol. Biol. Evol.* 12: 371-381.
- MATEO, G. & M.B. CRESPO (2009). *Manual para la determinación de la flora valenciana*. Librería Compás, Alicante. 507 pp.
- MATHEWS, S., LAVIN, M. & R.A. SHARROCK (1995). Evolution of the phytochrome gene family and its utility for phylogenetic analysis of angiosperms. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 82: 296-321.
- MAUDE, G. (1939). The Merton catalogue. A list of the chromosome numerals of species of british flowering plants. *New Phytol.* 38(1): 1-31.
- MCNEILL, C.J., BARRIE, F.R., BURDET, H.M., DEMOULIN, V., HAWKSWORTH, D.L., MARHOLD, K., NICOLSON, D.H., PRADO, J., SILVA, P.C., SKOG, J.E., WIERSEMA,

- J.H. & N.J. TURLAND (eds.) (2006). *International Code of Botanical Nomenclature (Vienna Code)*. Adopted by the Seventeenth International Botanical Congress Vienna, Austria, July 2005. Koetz Scientific Books, Königstein, Germany. [*Regnum Veg.* 146].
- MÉDAIL, F. & P. QUÉZEL (1997). Hot-spots analysis for conservation of plant biodiversity in the Mediterranean Basin. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 84: 112-127.
- MÉDAIL, F. & K. DIADEMA (2009). Glacial refugia influence plant diversity patterns in the Mediterranean Basin. *J. Biogeogr.* 36: 1333-1345.
- MEIKLE, R.D. (1985). *Flora of Cyprus*, vol.2. The Bentham-Moxon Trust. Royal Botanic Gardens, Kew. 1969 pp.
- METCALFE, C.R. & L. CHALK (1979). *Anatomy of the Dicotyledons, Systematic Anatomy of the leaf and stem*. Vol. I. 2nd. Ed. Clarendon Press, Oxford. 1988 pp.
- MEYEN, F.J.F. (1834). *Reise um die Erde, in den Jahren 1830, 1831, und 1832, ausgeführt von F.J.F. Meyen*. 1. C.W. Eichhoff, Berlin.
- MICHAUX, A. (1803). *Flora Boreali-Americana* 1. Levrault. Paris.
- MILLER, P. (1768). *The gardener's and botanist's dictionary; containing the best and newest methods of cultivating and improving the kitchen, fruit, and flower garden, and nursery; of performing the practical parts of agriculture; of managing vineyards, and of propagating all sorts of timber trees*. F. & C. Rivington, London.
- MOLERO, J. & J.M. MONTSERRAT (2006). Quenopodiáceas nuevas o raras para la flora de Marruecos. *Lagascalia* 26: 7-24.
- MONTOYA, I. & J. ACOSTA (2006). *Estudio morfológico del margen continental en el sector Punta de Carchuna-Punta de Sabinal (sureste español)*. Universidad Rey Juan Carlos. Servicio de Publicaciones.
- MOQUIN-TANDON, C.H.B.A. (1840). *Chenopodearum monographica enumeratio*. P.J. Loss. Paris. 182 pp.
- MOSTACERO, J., MEJÍA, F. & O. GAMARRA (2002). *Taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú*. Volumen 1 Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Perú). Editora Normas Legales, 1323 pp.

- MOSYAKIN, S.L. & K.R. ROBERTSON (1996). New inafrageneric taxa and combinations in *Amaranthus* (Amaranthaceae). *Ann. Bot. Fennici* 33: 275-281.
- MUDIE, P.J., GREER, S., BRAKEL, J., DICKSON, J.H., SCHINKEL, C., PETERSON-WELSH, R., STEVENS, M., TURNER, N.J., SHADOW, M. & R. WASHINGTON (2005). Forensic palynology and ethnobotany of *Salicornia* species (Chenopodiaceae) in northwest Canada and Alaska. *Can. J. Bot.* 83: 111-123.
- MÜLLER, L.E. (1964) Manual de Laboratorio. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la O. E. A. Costa Rica. 165 pp.
- MURAKEÖZY, E.P., AÏNOUCHE, A., MEUDEC, A., DESLANDES, E. & N. POUPART (2007). Phylogenetic relationships and genetic diversity of the Salicornieae (Chenopodiaceae) native to the Atlantic coasts of France. *Pl. Syst. Evol.* 264: 217-237.
- NAVARRO, L. & J. GUTIÁN (2003). Seed germination and seedling survival of two threatened endemic species of the northwest Iberian Peninsula. *Biol. Conserv.* 109: 313-320.
- NEI, M. & W.-H. LI (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 76: 5269-5273.
- NILSSON, O. & P. LASSEN (1971). Chromosome numbers of vascular plants from Austria, Mallorca and Yugoslavia. *Bot. Not.* 124: 270-276.
- OBERDOFER, E. (1952). Beitrag Zur Kenntnis der Nordägäischen Küstenvegetation. *Vegetatio* 3(6): 329-349.
- O'CALLAGHAN, M. (1992). The ecology and identification of the southern African *Salicorniieae* (Chenopodiaceae). *S. African J. Bot.* 58: 430-439.
- OOSTERBROEK, P. & J.W. ARNTZEN (1992). Area-cladograms of circum-Mediterranean taxa in relation to Mediterranean palaeogeography. *J. Biogeogr.* 19: 3-20.
- ORTEGA, F., PARRA, G. & F. GUERRERO (2006). Usos del suelo en las cuencas hidrográficas de los humedales del Alto Guadalquivir: Importancia de una adecuada gestión. *Limnetica* 25(3): 723-732.

- PALACIOS, C., KRESOVICH, S. & F. GONZÁLEZ-CANDELAS (1999). A population genetic study of the endangered plant species *Limonium dufourii* (Plumbaginaceae) based on amplified fragment length polymorphism (AFLP). *Mol. Ecol.* 8: 645-657.
- PALOP-ESTEBAN, M., SEGARRA-MORAGUES, J.G. & F. GONZÁLEZ-CANDELAS (2011). Polyploid origin, genetic diversity and population structure in the tetraploid sea lavender *Limonium norbonense* Miller (Plumbaginaceae) from eastern Spain. *Genetica* 139: 1309-1322.
- PAPINI, A., TRIPPANERA, G.B., MAGGINI, F., FILIGHEDDU, R. & E. BIONDI (2004). New insights in *Salicornia* L. and allied genera (*Chenopodiaceae*) inferred from nrDNA sequence data. *Plant Biosyst.* 138(3): 215-223.
- PARÉS-MARTÍNEZ, J., ARIZALETA, M., SANABRIA, M.E. & L. BRITO (2004). Características de los estomas, densidad e índice estomático y su variación en función a la injertación en *Annona muricata* L. y *A. montana* Madfac. *Bioagro* 16(3):213-218
- PARISH, S.B. (1898). New or Little known Plants of Southern California I. *Erythraea* 6: 87.
- PARK, K.R. (2004). Comparisons of allozyme variation of narrow endemic and widespread species of Far East *Euphorbia* (Euphorbiaceae). *Bot. Bull. Acad. Sinica* 45: 221-228.
- PARRONDO, F.F. (2002). La explotación aurífera en el occidente Asturiano: evolución histórica y situación actual. *Estud. Geogr.* 63: 248/249.
- PASCHKE, M., ABS, C. & B. SCHMID (2002). Relationship between population size, allozyme variation, and plant performance in the narrow endemic *Cochlearia bavarica*. *Conserv. Genet.* 3: 131-144.
- PASTOR, J. & B. VALDÉS (1986). Números cromosómicos para la flora española, 485-490. *Lagasalia* 14: 297-301.
- PEAKALL, R. & P. SMOUSE (2006). Genealex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes* 6: 288-295.

- PENNINGS, S.C. & M.D. BERTNESS (2001). Salt marsh communities. En: BERTNESS, M.D., GAINES, S.D. & M.E. HAY (eds.). *Marine Community Ecology*: 289-316. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- PÉREZ-COLLAZOS, E. & P. CATALÁN (2006). Paleopolyploidy, Spatial Structure and Conservation Genetics of the Narrow Steppe Plant *Vella pseudocytisus* subsp. *pau* (Vellinae, Cruciferae). *Ann. Botany* 97: 635-647.
- PERSOON, C.H. (1805). *Synopsis plantarum, seu enchiridium botanicum, complectens systematicam specierum hucusque cognitarum.* Curante Dr. C.H. Persoon, diversarum societatum membro. Parisiis Lutetiorum: Apud Carol. Frid. Cramerum. et Tubingae: Apud J.G. Cottam.
- PETCH, C.P. & E.L. SWANN (1968). *Flora of Norfolk*. Jarrold, Norwich. 320 pp.
- PETIT, R.J., EL MOUSADIK, A. & O. PONS (1998). Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conserv. Biol.* 12: 844-855.
- PETIT, R.J., HAMPE, A. & R. CHEDDADI (2005). Climate changes and tree phylogeography in the Mediterranean. *Taxon* 54: 877-885.
- PFENNINGER, M., VÉLA, E., JESSE, R., ELEJALDE, M.A., LIBERTO, F., MAGNIN, F. & A. MARTÍNEZ-ORTÍ (2010). Temporal speciation pattern in the western Mediterranean genus *Tudorella* P. Fischer, 1885 (Gastropoda, Pomatiidae) supports the Tyrrhenian vicariance hypothesis. *Mol. Phyl. Evol.* 54:427-436.
- PHILIPPI, R.A. (1891). Viaje a la provincia de Tarapacá. *Anales Mus. Nac. Chile*, secc.2, Bot.: 1-96.
- PHILIPPI, R.A. (1895). Plantas nuevas chilenas. *Anales Univ. Chile*, secc. 1, 91:415-432.
- PICKART, A.J. (1988). Dune vegetation at Buhne Point, King Salomon, California. En: BERGER, J.J. (ed.). *Environmental Restoration, Science and Strategies for Restoring the Earth*: 38-49. Island Press, Washington, DC.
- PLEINES, T., JAKOB, S.S. & F.R. BLATTNER (2009). Application of non-coding DNA regions in intraspecific analyses. *Plant Syst. Evol.* 282: 281-294.
- PONS, O. & R.J. PETIT (1996). Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles. *Genetics* 144: 1237-1245.

- POSADA, D. (2008). jModeltest: Phylogenetic Model Averaging. *Mol. Biol. Evol.* 25: 1253-1256.
- POSADA, D. & K.A. CRANDALL (1998). Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14(9): 817-818.
- POSADA, D. & K.A. CRANDALL (2001). Intraspecific gene genealogies: grafting trees into networks. *Trends Ecol. Evol.* 16: 37-45.
- POSADA, D. & T.R. BUCKLEY (2004). Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages for the AIC and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. *Syst. Biol.* 53: 793-808.
- PRINZ, K., WEISING, K. & I. HENSEN (2010). Genetic structure of coastal and inland populations of *Spergularia media* (L.) C. Presl (Caryophyllaceae) in Central Europe. *Conserv. Genet.* 11: 2169-2177.
- QUÉZEL, P. (1978). Analysis of the flora of Mediterranean and Sahara Africa. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 65: 479-534.
- QUÉZEL, P. (1985). *Definition of the Mediterranean region and the origin of its flora*. En: Gomez-Campo, C. (ed.). *Plant conservation in the Mediterranean area*: 9-24. Geobotany 7, W. Junk, Dordrecht.
- QUÉZEL, P. & S. SANTA (1963). *Chenopodiaceae*. En: QUÉZEL, P. & S. SANTA (eds.). *Nouvelles Flore de L'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales*: 284-303. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris 7°.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM (2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- RAMOS, V.A. (1999). Plate tectonic setting of the Andean Cordillera. *Episodes* 22(3): 183-190.
- RANKER, T.A. (1994). Evolution of high genetic variability in the rare Hawaiian fern *Adenophorus periens* and implications for conservation management. *Biol. Cons.* 70: 19-24.

- RAY, J. (1696). *Synopsis Methodica Stirpium Britannicarum*, ed. 2. Impensis S. Smith and B. Walford, Londini.
- RAY, J. (1724). *Synopsis methodica stirpium Britannicarum: Tum Indigenis, tum in Agris cultis Locis suis dispositis; Additis Generum Characteristicis, Specierum Descriptionibus & Virium Epitome.; Editio Tertia Multis locis Emendata, & quadringentis quinquaginta circiter Speciebus noviter detectis aucta. Cum Iconibus*. Impensis Gulielmi & Joannis, Londini.
- REDONDO, S. (2004). *Aspectos ecológicos del género Sarcocornia en el Suroeste de la Península Ibérica. Papel en la sucesión, diversidad genética y ecofisiología de sus poblaciones*. Tesis doctoral. Universidad de Sevilla.
- REDONDO, S., RUBIO-CASAL, A.E., CASTILLO, J.M., LUQUE, C.J., ÁLVAREZ, A.A., LUQUE, T. & M.E. FIGUEROA (2004). Influences of salinity and light on germination of three *Sarcocornia* taxa with contrasted hábitats. *Aquat. Bot.* 78: 255-264.
- REICHE, K.F. (1911). *Flora de Chile* 6. Impr. Barcelona, Santiago de Chile.
- RIDLEY, H.N. (1930). *The Dispersal of Plants throughout the World*. Reeve, London, England.
- RIESEBERG, L.H. (1997). Hybrid origins of plant species. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 28: 359-389.
- RIESERBERG, L.H. (1998). Genetic mapping as a tool for studying speciation. En: SOLTIS, D.E., SOLTIS, P.S. & J.J. DOYLE (eds.). *Molecular systematics of plants. II DNA*: 459-487. Kluwer Academic Publishers, Boston, MA.
- RIKLI, M. (1946). *Das Pflanzenkleid der Mittelmeerländer*, 2. Hans Huber, Bern.
- RIVAS-MARTÍNEZ, S. (1988). *Bioclimatología, Biogeografía y series de vegetación de Andalucía occidental*. 91-119. En: VALDÉS, B. & J. PASTOR (eds.) *Lagascalía* 15(extra). Comunicaciones y paneles presentados a las I Jornadas de taxonomía vegetal Sevilla, 14-17 de Mayo de 1987.
- RIVAS-MARTÍNEZ, S. & M. HERRERA (1996). Datos sobre *Salicornia* L. (*Chenopodiaceae*) en España. *Anales Jard. Bot. Madrid* 54: 149-154.

- RIVAS-MARTÍNEZ, S., COSTA, M., CASTROVIEJO, S. & E. VALDÉS (1980). La Vegetación de Doñana (Huelva, España). *Lazaroa* 2: 5-190.
- RIVAS-MARTÍNEZ, S., COSTA, M., SORIANO, P., PÉREZ BADIA, R., LLORENS, L. & J. A. ROSELLÓ (1992). Datos sobre el paisaje vegetal de Mallorca e Ibiza (Islas Baleares, España). *Itinera Geobot.* 6: 5-98.
- RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, F., GUZMÁN, B., VALIDO, A., VARGAS, P. & J. ARROYO (2009). Late Neogene history of the laurel tree (*Laurus* L., Lauraceae) based of phylogeographical analyses of Mediterranean and Macaronesian populations. *J. Biogeogr.* 36: 1270-1281.
- RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, F., HAMPE, A., JORDANO, P. & J. ARROYO (2010). Past tree range dynamics in the Iberian Peninsula inferred through phylogeography and paleodistribution modelling: a review. A review *Rev. Paleobot. Palynol.* 162: 507-521.
- ROGERSON, M., ROHLING, E.J., WEAVER, P.P.E. & J.W. MURRAY (2005). Glacial to interglacial changes in the settling depth of the Mediterranean Outflow plume. *Paleoceanography* 20(3): PA3007.
- RONQUIST, F. & J.P. HUELSENBECK (2003). MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- ROSENBAUM, G. & G.S. LISTER (2004a). Neogene and Quaternary rollback evolution of the Tyrrhenian Sea, the Apennines, and the Sicilian Maghrebides. *Tectonics* 23(1): TC1013.
- ROSENBAUM, G. & G.S. LISTER (2004b). Formation of arcuate orogenic belts in the western Mediterranean region. En: SUSSMAN, A.J. & A.B. WEIL (eds.). *Orogenic Curvature: Integrating Paleomagnetic and Structural Analyses*: 41-56 Boulder, Colorado: Geological Society of America.
- ROSENBAUM, G., LISTER, G.S. & C. DUBOZ (2002). Reconstruction of the tectonic evolution of the western Mediterranean since the Oligocene. *Journal of Virtual Explorer* 8: 107-126.

- ROSS, M.H. & W. PAWLINA (2007). *Histology. A Text and Atlas with correlated cell and molecular biology*. 5º Ed. Buenos Aires: Médica Panamericana. 906 pp.
- ROSSETTO, M., WAVER, P.K. & K.W. DIXON (1995). Use of RAPD analysis in devising conservation strategies for the rare and endangered *Grevillea scapigera* (Proteaceae). *Mol. Ecol.* 4: 321-329.
- ROTH-NEBELSICK, A., HASSIOTOU, F. & E.J. VENEKLAAS (2009). Stomatal crypts have small effects on transpiration: A numerical model analysis. *Plant Physiol.* 151: 2018-2027.
- RUNEMARK, H. (1996). Mediterranean chromosome number reports—6. En: KAMARI, D., FELBER, F. & F. GARBARI (eds.). *Flora Mediterranea*. 223-337. Herbarium Mediterraneum Panormitanum: Palermo, Italy.
- RYAN, W.B.F. (2009). Decoding the Mediterranean salinity crisis. *Sedimentology* 56: 95-136.
- SAITOU, N. & M. NEI (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molec. Biol. Evol.* 4: 406-425.
- SALAS, J., SANABRIA, M. & R. PIRE (2001). Variación en el índice y densidad estomática en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sometidas a tratamientos salinos. *Bioagro* 13(3): 99-104.
- SALAZAR, C., TORRES, J.A., MARCHAIL, F.M. & E. CANO (2002). La vegetación edafohigrófila del distrito Guadiciano-Bastetano (Granada-Jaén, S. España). *Lazaroa* 23: 45-64.
- SALISBURY, E.J. (1970). The pioneer vegetation of exposed muds and its biological features. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London (B)* 259: 207-255.
- SÁNCHEZ, M.I., GREEN, A.J. & M. CASTELLANOS (2006). Internal transport of seeds by migratory waders in the Odiel marshes, south-west Spain: consequences for long-distance dispersal. *J. Avian Biol.* 37: 201-206.
- SÁNCHEZ-GÓMEZ, P. & J. GUERRA (eds.) (2007). *Nueva Flora de Murcia. Plantas Vasculares*. DM, Librero Editor. 499 pp.

- SÁNCHEZ-MONGE, E. & N. JOUVE (1989). *Genética*. 2ª ed. Omega. Barcelona. 520 pp.
- SANG, T. (2002). Utility of Low-Copy Nuclear Gene Sequences in Plant Phylogenetics. *Crit. Rev. Biochem Mol. Biol.* 37(3): 121-147.
- SAUVAGES DE LA CROIX, F.B. (1751). *Methodus foliorum, seu Plantae florum Monspeliensis, juxta foliorum ordinem, ad juvandam specierum cognitionem / Autore F.B. De Sauvages, Regis Consiliario ac Medico in Universitate Monspeliensi, Medicinae Professore Regio societatis. Regiae Scientiarum Londinensis, Monspeliensis, Upsalienis, & Academiae Suecicae Socio.= Methode Pour connoître les Plantes par les Feuilles*. A la Haye: [s.n.].
- SCHULTES, J.A. (1822). *Caroli a Linné equities Systema vegetabilium. Mantisa 1*. J.G. Cotta, Stuttgart.
- SCHULZE, E.-D., BECK, E. & K. MÜLLER-HOHENSTEIN (2005). *Plant Ecology*. Berlin/Heidelberg: Springer. 702 pp.
- SCHÜTZE, P., FREITAG, H. & K. WEISING (2003). An integrated molecular and morphological study of the subfamily Suaedoideae Ulbr. (Chenopodiaceae). *Pl. Syst. Evol.* 239: 257-286.
- SCOTT, A.J. (1977). Reinstatement and revision of Salicorniaceae J. Agardh (Caryophyllales). *Bot. J. Linn. Soc.* 75: 357-374.
- SEGARRA-MORAGUES, J.G. & P. CATALÁN (2002). Low allozyme variability in the critically endangered *Borderea chouardii* and its congener *Borderea pyrenaica* (Dioscoraceae), two paleoendemic relicts from the central Pyrenees. *Int. J. Plant Sci.* 163: 159-166.
- SEMPERE, T., HÉRAIL, G., OLLER, J. & M.G. BONHOMME (1990). Late Oligocene-early Miocene major tectonic crisis and related basins in Bolivia. *Geology* 18: 812-815.
- SEYFRIED, H., WORRIER, G., UHLIG, D., KOHLER, I. & C. CALVO (1998). Introducción a la geología y morfología de los Andes en el Norte de Chile. *Chungará* 30(1): 7-39.
- SHAW, J., E.B. LICKEY, J.T. BECK, S.B. FARMER, W. LIU, J. MILLER, K. C. SIRIPUN, C. T. WINDER, E. E. SCHILLING & R.L. SMALL (2005). The tortoise and the hare

- II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *Am. J. Bot.* 92 (1): 142-166.
- SHAW, J., LICKEY, E.B., SCHILLING, E.E. & R.L. SMALL (2007). Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *Am. J. Bot.* 94(3): 275-288.
- SHEPHERD, K.A. & G. YAN (2003). Chromosome number and size variation in the Australian Salicornioideae (Chenopodiaceae)—evidence of polyploidisation. *Austr. J. Bot.* 51: 441-452.
- SHEPHERD, K.A. & P.G. WILSON (2007). Incorporation of the Australian genera *Halosarcia*, *Pachycornia*, *Sclerostegia* and *Tegicornia* into *Tecticornia* (Salicornioideae, Chenopodiaceae). *Austr. Syst. Bot.* 20: 319-331.
- SHEPHERD, K.A., WAYCOTT, M. & A. CALLADINE (2004). Radiation of the Australian Salicornioideae (Chenopodiaceae) based on evidence from nuclear and chloroplast DNA sequences. *Amer. J. Bot.* 91: 1387-1397.
- SHEPHERD, K.A., MACFARLANE, T.D. & M. WAYCOTT (2005a). Phylogenetic analysis of the Australian Salicornioideae (Chenopodiaceae) based on morphology and nuclear DNA. *Aust. Syst. Bot.* 18: 89-115.
- SHEPHERD, K.A., MACFARLANE, T.D. & T.D. COLMER (2005b). Morphology, anatomy and histochemistry of Salicornioideae (Chenopodiaceae) fruits and seeds. *Ann. Bot.* 95: 917-933.
- SHMIDA, A. (1985). Biogeography of the desert flora. En: EVENARI, M., NOY-MEIR, I. & D.W. GOODALL (eds.). *Ecosystems of the World 12A; Hot deserts and arid shrublands*: 23-77. Amsterdam, Elsevier.
- SHORT, D.C. & T.D. COLMER (1999). Salt tolerance in the halophyte *Halosarcia pergranulata* subsp. *pergranulata*. *Ann. Bot.* 83: 207-213.
- SILVA, H. & P. SANTOS (1999). Pollen of *Chenopodiaceae* from the Aveiro Lagoon (Portugal). *Anales Jard. Bot. Madrid* 57(1): 193-195.
- SMALL, R.L., RYBURN, J.A., CRONN, R.C., SEELANAN, T. & J.F. WENDEL (1998). The tortoise and the hare: choosing between noncoding plastome and nuclear *Adh*

- sequences for phylogenetic reconstruction in a recently diverged plant group. *Am. J. Bot.* 85: 1301-1315.
- SMALL, R.L., CRONN, R.C. & J.F. WENDEL (2004). Use of nuclear genes for phylogeny reconstruction in plants. *Aust. Syst. Bot.* 17: 145-170.
- SMITH, J.E. (1800). *Flora Britanica, / auctore Jacobo Edvardo Smith, M.D., Societatis Linnaeanae praeside, Regia Londinensis, Holm. Upsal. Taurin, Olyssip. Philadelph.--physiogr. Lund. Berolin. Paris. Aliarumque societatum socio. Vol. I.* Veneut apud J. White, Fleet-Street (Typis J. Davis, Chancery-lane), Londini.
- SMITH, J.E. (1807). *English botany; or, coloured figures of British plants, with their essential characters, synonyms, and places of growth, to which will be added, occasional remarks.* R. Taylor and Co, London.
- SMITH, M.H. (1985). *Life-histories of Annual Plants in a Heterogeneous Salt Marsh Environment.* Ph.D. Thesis, University of East Anglia, Norwich.
- SMITH, L.G. & S. HAKE (1992). The Initiation and Determination of Leaves. *The Plant Cell* 4: 1017-1027.
- SMOUSE, P. & R. PEAKALL (1999). Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Heredity* 82: 561-573.
- SOLTIS, D.E. & P.S. SOLTIS (1993). Molecular data and the dynamic nature of polyploidy. *Crit. Rev. Plant Sci.* 12: 243-273.
- SORIANO, A. (1947). Las quenopodiáceas de la tribu "Salicornieae" en la República Argentina. *Rev. Argentina Agronom.* 14: 148-172.
- SPEGAZZINI, C.L. (1902). Nova addenda ad Floram Patagonicam. *Anales Mus. Nac. Buenos Aires* 7: 135-308.
- SPERANZA, F., VILLA, I.M., SAGNOTTI, L., FLORINDO, F., CONSENTINO, D., CIPOLLARI, P. & M. MATTEI (2002). Age of the Corsica-Sardinia rotation and Liguro-Provencal Basin spreading: New paleomagnetic and Ar/Ar evidence. *Tectonophysics* 347: 231-251.
- SRIVASTAVA, S.K. (1969). Assorted angiosperm pollen from the Edmonton formation (Maastrichtian), Alberta, Canada. *Can. J. Bot.* 47: 975-989.

- STACE, C. (1991). *New Flora of the British Isles*: 181-184. Cambridge University Press.
- STANDLEY, P.C. (1914). The genus *Arthrocnemum* in North America. *J. Wash. Acad. Sci.* 4(14): 398-399.
- STEBBINS, G.L. (1971). Chromosomal evolution in higher plants. En: WILLIS, A.J. (ed.) *A series of student texts in contemporary biology*: 155-199. Edward Arnold: London.
- STEBBINS, G.L. (1985). Polyploidy, hybridization, and the invasion of new habitats. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 72: 824-832.
- STEFFEN, S. (2006). *Phylogenie, Systematik und ökologische Differenzierung in südafrikanischer Sarcocornia (Chenopodiaceae)*. M. S. Thesis, Mainz: Johannes Gutenberg-Universität.
- STEFFEN, S., MUCINA, L. & G. KADEREIT (2009). Three new species of *Sarcocornia* (Chenopodiaceae) from South Africa. *Kew Bull.* 64: 447-459.
- STEFFEN, S., MUCINA, L. & G. KADEREIT (2010). Revision of *Sarcocornia* (Chenopodiaceae) in South Africa, Namibia and Mozambique. *Syst. Bot.* 35(2): 390-408.
- STEININGER, F.F. & F. RÖGL (1984). Paleogeography and palinspatic reconstruction of the Neogene of the Mediterranean and Paratethys. The geological evolution of the Eastern Mediterranean (ed. by J.E. Dixon and A.H.F. Robertson). Geological Society Special Publication 17: 659-668. Blackwell Scientific, Oxford.
- STEVENS, P.F. (2001 en adelante). Angiosperm Phylogeny Website. Version 9, June 2008. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- STROGONOV, B.P. & V.V. KABANOV (1967). Plants in relation to waterlogging and salinity. En: C. VAN DEN BERG (ed.) *Irrigation and drainage of arid lands*. 378-391. F.A.O. – UNESCO.
- SWOFFORD, D.L. (2002). PAUP*: phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), version 4.0b10. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA.
- SWOFFORD, D.L., OLSEN, G.J., WADDELL, P.J. & D.M. HILLIS (1996). Phylogenetic Inference. En: HILLIS, D.M., MORITZ, D. & B.K. MABLE (eds.). *Mol. Syst.* 407-514. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

- SYMMANK, L., SAMAIN, M-S, SMITH, J.F., PINO, G., STOLL, A., GOETGHEBEUR, P., NEINHUIS, C. & S. WANKE (2011). The extraordinary journey of *Peperomia* subgenus *Tildenia* (Piperaceae): insights into diversification and colonization patterns from its cradle in Peru to the Trans-Mexican Volcanic Belt. *J. Biogeogr.* 38: 2337-2349.
- TABERLET, P., L. GIELLY, G. PAUTOU & J. BOUVET (1991). Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Mol. Biol.* 17: 1105-1109.
- TADROS, T.M. (1958). A phytosociological study of halophilous communities from Mareotis (Egypt). *Vegetatio* 4(2): 102-125.
- TALAVERA, G. & J. CASTRESANA (2007). Improvement of phylogenies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments. *Syst. Biol.* 56: 564-577.
- TAN, K. (1997). *Chenopodiaceae*. En: STRID, A. (ed.). *Flora Hellenica* 1: 108-137. Koeltz Scientific Books, D-6240 Königstein/Federal Republic of Germany.
- TENORE, M. (1831). *Sylloge plantarum vascularium florae neapolitane hucusque detectarum*. Typographia Fibreni, Neapoli.
- TILDESTROM, I. (1913). A new *Salicornia*. *Proc. Biol. Soc. Washington* 26; 13-14.
- TÖLKEN, H.R. (1967). The species of *Arthrocnemum* and *Salicornia* (Chenopodiaceae) in South Africa. *Bothalia* 9: 255-307.
- TORRALVA, M; OLIVA-PATERNA, F.J; ANDREU, A; GARCÍA-MELLADO, A; MIÑANO, P.A; CARDOZO, V; GARCÍA-ALONSO, J. & C. FERNÁNDEZ-DELGADO (2001). Distribución y estado de conservación del Fartet, *Aphanius iberus* (Valenciennes, 1846), en la región de Murcia (S.E. de la península Ibérica). Establecimiento de grupos poblacionales operativos. *An. Biol.* 23 (Biología animal, 12): 63-84.
- TORRES, E., IRIONDO, J.M., ESCUDERO, A. & C. PÉREZ (2003). Analysis of within-population spatial genetic structure in *Antirrhinum microphyllum* (Scrophulariaceae). *Am. J. Bot.* 90: 1688-1695.

- TOUMI, L. & R. LUMARET (1998). Allozyme variation in cork oak (*Quercus suber* L.): The role of phylogeography and genetic introgression by other Mediterranean oak species and human activities. *Theor. Appl. Genet.* 97: 647-656.
- TOURNEFORT, J.P. (1703). *Corollarium institutionum rei herbariae, in quo plantae 1356 munificentia Ludovici Magni in Orientalibus regionibus observatae recesentur, & ad genera sua rebocantur.* Typographia regia, Parisiis.
- TZVELEV, N.N. (1996). Salicornia. En: Tzvelev, N.N. ed. *Flora of Russia, The European Part and Bordering Regions* 9: 101-103. Balkema –Proceedings and Monographs in Engineering, Walter and Earth Sciences.
- ULBRICH, E. (1934). *Chenopodiaceae.* 379-584. En: ENGLER, A. & K. PRANTL (eds.). *Die natürlichen Pflanzenfamilien* 16c. Engelmann, Leipzig.
- UNGERN-STERNBERG, F. (1866). *Versuch einer Systematik der Salicornieen.* E.J. Karow, Dorpart. (Tartu). 343 pp.
- VALDÉS, B. (1991). Andalucía and the Rif. Floristic links and a common flora. *Bot. Chronika* 10: 117-124.
- VALDÉS, B., DÍEZ, M.J. & I. FERNÁNDEZ (1987a). *Atlas polínico de Andalucía Occidental.* Instituto de Desarrollo Regional de la Universidad de Sevilla y Excma. Diputación de Cádiz. Sevilla. 450 pp.
- VALDÉS, B., TALAVERA, S. & E. FERNÁNDEZ-GALIANO (1987b). *Flora Vascular de Andalucía Occidental.* 1. Ketres Editora S.A. Barcelona.
- VALDÉS, B., REIJDALI, M., ACHHAL EL KADMIRI, A., JURY, J.L. & J.M. MONTSERRAT (2002). *Catalogue des plantes vasculaires du nord du Maroc, incluant des clés d'identification* 1. CSIC, Madrid. 1007 pp.
- VAN DER PIJL, L. (1982). *Principles of dispersal in higher plants.* Springer Verlag, Berlin, Germany.
- VARGAS, P., MORTON, C.M. & S.L. JURY (1999). Biogeographic patterns in Mediterranean and Macaronesian species of *Saxifraga* (Saxifragaceae) inferred from phylogenetic analyses of ITS sequences. *Am. J. Bot.* 86: 724-734.

- VEKEMANS, X. (2002). AFLP-SURV version 1.0. Distributed by the author. Laboratoire de Génétique et Ecologie Végétale, Université Libre de Bruxelles, Bélgica.
- VIVIAN-SMITH, G. & E.W. STILES (1994). Dispersal of salt marsh seeds on the feet and feathers of waterfowl. *Wetlands* 14: 316-319.
- WALLMANN, P.C., MAHOOD, G.A. & D.D. POLLARD (1988). Mechanical models for correlation of ring-fracture eruptions at Pantelleria, Strait of Sicily, with glacial sea-level drawdown. *B. Volcanol.* 50: 327-339.
- WASEL, Y. (1972). *Biology of halophytes*. New York and London: Academic Press. 395 pp.
- WATSON, S. (1874). A revision of the North American Chenopodiaceae. *Proc. Amer. Acad. Arts.* 9: 82-126.
- WEBERBAUER, A. (1911). Die Pflanzenwelt der peruanischen Anden. En: ENGLER, A. & O. DRUDE (eds.). *Die Vegetation der Erde*, 12: 1-135. Ilhelm Engelmann, Leipzig.
- WEIJERMARS, R. (1988). Neogene tectonics in the western Mediterranean may have caused the Messinian salinity crisis and an associated glacial event. *Tectonophysics* 148: 211-219.
- WERNER, O., SÁNCHEZ-GÓMEZ, O., CARRIÓN-VILCHES, M.A. & J. GUERRA (2002). Evaluation of genetic diversity in *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) from the southern Iberian Peninsula and North Africa using RAPD assay. Implications for reafforestation policy. *Israel J. Plant Sci.* 268: 1-10.
- WESTBERG, R. & J.W. KADEREIT (2006). Long-distance seed dispersal, clone longevity and lack of phylogeographical structure in the European distributional range of the COASTAL *Calystegia soldanella* (L.) R. Br. (Convolvulaceae). *J. Biogeogr.* 33: 1461-1469.
- WESTBERG, E. & J.W. KADEREIT (2009). The influence of sea currents, past disruption of gene flow and species biology on the phylogeographical structure of coastal flowering plants. *J. Biogeogr.* 36: 1398-1410.
- WIGGINS, I. (1980). *Flora of Baja California*. Stanford University Press, Stanford, California, 1025 pp.

- WIGGINS, I. & PORTER, D.M. (1971). *Flora of the Galapagos Islands*. Stanford University Press. 1020 pp.
- WILLDENOW, C.L. (1797). *Species plantarum*, ed. 1, 24. Berolini: G.C. Nauk.
- WILLIAMSON, P.S. & C.R. WERTH (1999). Levels and patterns of genetic variation in the endangered species *Abronia macrocarpa* (Nyctaginaceae). *Am. J. Bot.* 86: 293-301.
- WILLNER, C.M. (1986). *Los estomas*. Librería Agripecuaria S.A. 192 pp.
- WILSON, P.G. (1972). A taxonomic revision of the genus *Tecticornia*. *Nuytsia* 1: 277-288.
- WILSON, P.G. (1980). A revision of the Australian species of Salicorniaceae (Chenopodiaceae). *Nuytsia* 3: 1-154.
- WILSON, P.G. (1984). Chenopodiaceae. En: GEORGE, A. (ed.). *Flora of Australia*: 277-309. Australian Government Publishing Service: Canberra.
- WISE, C.A., RANKER, T.A. & Y.B. LINHART (2002). Modelling problems in conservation genetics with *Brassica rapa*. I. Genetic variation and fitness in plant under mild, stable conditions. *Conserv. Biol.* 16: 1542-1554.
- WOLF, W. (1968). The halophilous vegetation of the lagoons of Mesolonghi, Greece. *Vegetatio* 16: 95-134.
- WOLFF, S.L. & R.L. JEFFERIES (1987). Morphological and isozyme variation in *Salicornia europaea* (s.l.) (Chenopodiaceae) in northeastern North America. *Can. J. Bot.* 65: 1410-1419.
- WOODS, J. (1851). On the various forms of *Salicornia*. *Bot. Gaz.* 3(27): 29-32.
- XU, B., WU, N., GAO, X.-F. & L.-B. ZHANG (2012). Analysis of DNA sequences of six chloroplast and nuclear genes suggests incongruence, introgression, and incomplete lineage sorting in the evolution of *Lespedeza* (Fabaceae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 62: 346-358.
- XUE, D.W., GE, H.J., HAO, G. & C.Q. ZHANG (2004). High genetic diversity in a rare, narrowly endemic primrose species, *Primula interjacens*, by ISSR analysis. *Acta Bot. Sin.* 46: 1163-1169.

YOUNG, A.G., BOYLE, T. & T. BROWN (1996). The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends Ecol. Evol.* 11: 413-418.

ZÁVESKÁ, L. & C. VLČEK (2010). Molecular phylogeny of the genus *Luzula* DC. (Juncaceae, Monocotyledones) based on plastome and nuclear ribosomal regions: A case of incongruence, incomplete lineage sorting and hybridization. *Mol. Phylogenet. Evol.* 57: 536-551.

ZHIVOTOVSKY, L.A. (1999). Estimating population structure in diploids with multilocus dominant DNA markers. *Mol. Ecol.* 8: 907-913.

ZOHARY, M. (1966). *Flora Palestina*. The Israel Academy of Sciences and Humanities.

ZOHARY, M. (1973). *Geobotanical Foundations of the Middle East* 1. G.Fischer, Stuttgart. 738 pp.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Apéndices



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Apéndice 1.

Listado de los táxones secuenciados en los capítulos

1 y 2

Apéndice 1. Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2	
			Región amplificada	Nº GenBank y Bibliografía	Región amplificada	Código
<i>Sarcocornia ambigua</i> (Michx.) M.A. Alonso & M.B. Crespo	República Dominicana, Laguna de Oviedo J.A. Torres & A. García	-	ITS ETS	-	ITS, PHYC rp132-trnL ^(UAG) trnQ ^(UUG) -rps16 rps16	1
<i>Sarcocornia ambigua</i> (Michx.) M.A. Alonso & M.B. Crespo	U.S.A.: Massachusetts, Chatham. P. Teege 05-US-004 (MJG)	Chen 894 (MJG)	ETS	EF433591. KADEREIT et al. (2007)	-	2
<i>Sarcocornia andina</i> (Phil.) Freitag, M.A. Alonso & M.B. Crespo	Chile: Yalquincha, Calama, Río Loa. C. Lazcano	-	ITS ETS	-	ITS, PHYC rp132-trnL ^(UAG) trnQ ^(UUG) -rps16 rps16	3
<i>Sarcocornia andina</i> (Phil.) Freitag, M.A. Alonso & M.B. Crespo	Bolivia: Oruro Prov., 10 km N of Challapata. E. García, St. Beck & R. de Michel 600 (LPB, KAS)	Chen 313 (LPB, KAS)	ETS	EF433592. KADEREIT et al. (2007)	-	4
<i>Sarcocornia cuzcoensis</i> Freitag, M.A. Alonso & M.B. Crespo (ined.)	Perú: Dpto. Cuzco, Huacarpay. P. Gutte & G. Müller 9461ab (LZ)	Chen 921 (LZ)	ETS	EF433595. KADEREIT et al. (2007)	-	5
<i>Sarcocornia magellanica</i> (Phil.) M.A. Alonso & M.B. Crespo	Chile: Isla Grande de Tierra del Fuego, D. Claro de la Maza.	SGO 134213	ITS ETS	-	ITS, PHYC rp132-trnL ^(UAG) trnQ ^(UUG) -rps16 rps16	6

Apéndice 1 (Continuación). Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2		Código
			Región amplificada	N° GenBank y Bibliografía	Región amplificada		
<i>Sarcocornia neei</i> (Lag.) M.A. Alonso & M.B. Crespo	Argentina: Mendoza, Las Heras, Campo Espejo. <i>A. Rodeghiero</i>	-	ITS ETS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	7	
<i>Sarcocornia neei</i> (Lag.) M.A. Alonso & M.B. Crespo	Argentina: Neuquén, Senillosa, Aguada del Cajón. <i>M.B. Cerazo</i>	-	ITS ETS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	8	
<i>Sarcocornia neei</i> (Lag.) M.A. Alonso & M.B. Crespo	Argentina: Patagonia, Chubut Prov., Cabo dos Bahías, Camarones. <i>F.G. Schröder s.r.</i> , 12/02/2003	Chen 329 (KAS)	ETS	EF433599. <i>KADEREIT et al. (2007)</i>	-	9	
<i>Sarcocornia neei</i> (Lag.) M.A. Alonso & M.B. Crespo	Chile: Caldera, Playa Las Salinas, desembocadura río Copiapó. <i>C. Lazcano</i>	-	ITS ETS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	10	
<i>Sarcocornia neei</i> (Lag.) M.A. Alonso & M.B. Crespo	Chile: Región VIII, Chiloé Sur, Río Inio bajo. <i>C. Lazcano</i>	-	ITS ETS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	11	
<i>Sarcocornia neei</i> (Lag.) M.A. Alonso & M.B. Crespo	Perú: Lima, Chorrillos, Pantanos de Villa. <i>F. Salvador & L. Salvador</i>	-	ITS ETS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	12	

Apéndice 1 (Continuación). Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2		Código
			Región amplificada	N° GenBank y Bibliografía	Región amplificada		
<i>Sarcocornia pacifica</i> (Standl.) A.J. Scott	Canada: British Columbia, Vancouver Island, Parksville	DAO 227720	ITS ETS	-	ITS, PHYC rpl32-trmL ^(UAG) trnQ ^(UUG) -rps16 rps16	13	
<i>Sarcocornia pacifica</i> (Standl.) A.J. Scott	Méjico: Baja California, Bahía de San Quintín. J. Delgadillo & F. Alcaraz	-	ITS ETS	-	ITS, PHYC rpl32-trmL ^(UAG) trnQ ^(UUG) -rps16 rps16	14	
<i>Sarcocornia pacifica</i> (Standl.) A.J. Scott	U.S.A.: California, Napa Valley near Vallejo. D. Stone 2570 (UC)	Chen 487 (UC)	ETS	EF433602. KADEREIT et al. (2007)	-	15	
<i>Sarcocornia pulvinata</i> (R.E.Fr.) A.J. Scott	Bolivia: Salar de Uyuni. R. López-Poma	ABH 49246	ITS ETS	-	ITS, PHYC rpl32-trmL ^(UAG) trnQ ^(UUG) -rps16 rps16	16	
<i>Sarcocornia utahensis</i> (Tidestr.) A.J. Scott	U.S.A.: Utah, Tooele Co, E & S side of Big Spring Waterfowl Management Area	UT 124771	ITS ETS	-	ITS, PHYC rpl32-trmL ^(UAG) trnQ ^(UUG) -rps16 rps16	17	
<i>Sarcocornia utahensis</i> (Tidestr.) A.J. Scott	U.S.A.: Utah, Utah County. E.H. Zacharias 855 (UC)	Chen 585 (UC)	ITS ETS	ITS: DQ340173. KADEREIT et al. (2006) ETS: EF433605. KADEREIT et al. (2007)	-	18	

Apéndice 1 (Continuación). Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2	
			Región amplificada	Nº GenBank y Bibliografía	Región amplificada	Código
<i>Sarcocornia fruticosa</i> (L.) A.J. Scott	España: Alicante, Elche, Saladar de Agua Amarga. A. Guilló, J.C. Agulló, P. Rico, J.L. Villar & A. Vicente	ABH 53129	ITS ETS	-	ITS, PHYC rpl32-trnL ^(UAG) trnQ ^(UUG) -rps16 rps16	19
<i>Sarcocornia fruticosa</i> (L.) A.J. Scott	España: Cádiz, Chiclana de la Frontera, Playa de Sancti Petri. A. Guilló & M. Plaza	ABH 53276	ITS ETS	-	ITS, PHYC rpl32-trnL ^(UAG) trnQ ^(UUG) -rps16 rps16	20
<i>Sarcocornia fruticosa</i> (L.) A.J. Scott	Spain: Cantabria, Noja. G. Kadereit 2002/20 (MJG)	Chen 2002/20 (MJG)	ETS	EF433597. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	21
<i>Sarcocornia fruticosa</i> (L.) A.J. Scott	España: Mallorca, Campos, Platja de Es Trenc, Saladar de Campos. A. Guilló, A. Juan & J.C. Agulló	ABH 58318	ITS ETS	-	ITS, PHYC rpl32-trnL ^(UAG) trnQ ^(UUG) -rps16 rps16	22
<i>Sarcocornia fruticosa</i> (L.) A.J. Scott	Italia: Cerdeña, Oristano, San Giovanni de Sinnis. A. Guilló, M.A. Alonso, A. Juan, J.C. Agulló & J.L. Villar	ABH 54629	ITS ETS	-	ITS, PHYC rpl32-trnL ^(UAG) trnQ ^(UUG) -rps16 rps16	23
<i>Sarcocornia fruticosa</i> (L.) A.J. Scott	Italia: Grosseto, Orbetello, Laguna di Orbetello. A. Guilló & M. Plaza	ABH 58369	ITS ETS	-	ITS, PHYC rpl32-trnL ^(UAG) trnQ ^(UUG) -rps16 rps16	24

Apéndice 1 (Continuación). Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2	
			Región amplificada	Nº GenBank y Bibliografía	Región amplificada	Código
<i>Sarcocornia fruticosa</i> (L.) A.J. Scott	Italia: Venecia, Golfo di Venezia, Laguna Covallino Treporti. A. Guilló, M.A. Alonso & A. Juan	ABH 58384	ITS ETS	-	ITS, PHYC rp132-trnL ^(UAG) tmQ ^(UUG) -rps16 rps16	25
<i>Sarcocornia fruticosa</i> (L.) A.J. Scott	Marruecos: Tetuán, Larache. M. Martínez-Azorín	ABH 51020	ITS ETS	-	ITS, PHYC rp132-trnL ^(UAG) tmQ ^(UUG) -rps16 rps16	26
<i>Sarcocornia perennis</i> (Mill.) A.J. Scott subsp. <i>alpini</i> (Lag.) Castrov.	España: Cádiz, Puerto de Santa María, Caridad. A. Guilló & M. Plaza	ABH 53302	ITS ETS	-	ITS, PHYC rp132-trnL ^(UAG) tmQ ^(UUG) -rps16 rps16	27
<i>Sarcocornia perennis</i> (Mill.) A.J. Scott subsp. <i>alpini</i> (Lag.) Castrov.	España: Cádiz, Sanlúcar de Barrameda, Bonanza. A. Guilló & M. Plaza	ABH 53314	ITS ETS	-	ITS, PHYC rp132-trnL ^(UAG) tmQ ^(UUG) -rps16 rps16	28
<i>Sarcocornia perennis</i> (Mill.) A.J. Scott subsp. <i>alpini</i> (Lag.) Castrov.	España: Cádiz, Trebujena. A. Guilló & M. Plaza	ABH 53316	ITS	-	-	29
<i>Sarcocornia perennis</i> (Mill.) A.J. Scott subsp. <i>alpini</i> (Lag.) Castrov.	España: Gerona, Torroella de Montgrí. A. Juan & M.A. Alonso & S. Saura	ABH 57796	ITS ETS	-	ITS, PHYC rp132-trnL ^(UAG) tmQ ^(UUG) -rps16 rps16	30

Apéndice 1 (Continuación). Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2	
			Región amplificada	Nº GenBank y Bibliografía	Región amplificada	Código
<i>Sarcocornia perennis</i> (Mill.) A.J. Scott subsp. <i>alpini</i> (Lag.) Castrov.	España: Sevilla, Puebla del Río, Isla Mayor. A. Guilló & M. Plaza	ABH 53326	ITS ETS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	31
<i>Sarcocornia perennis</i> (Mill.) A.J. Scott subsp. <i>alpini</i> (Lag.) Castrov.	España: Toledo, Villafranca de los Caballeros, Laguna de Peña Hueca. A. Guilló & M. Plaza	ABH 53115	ITS ETS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	32
<i>Sarcocornia perennis</i> (Mill.) A.J. Scott subsp. <i>perennis</i>	Argelia: Orán, La Macta. A. Juan, M. Martínez-Ortega, S. Barrios & J. Peña	ABH 59338	ITS ETS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	33
<i>Sarcocornia perennis</i> (Mill.) A.J. Scott subsp. <i>perennis</i>	España: Asturias, margen occidental de la Ría de Villaviciosa. A. Guilló & M. Plaza	ABH 54693	-	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	34
<i>Sarcocornia perennis</i> (Mill.) A.J. Scott subsp. <i>perennis</i>	España: Gran Canaria, Lanzarote, Saladar al Este de Orzola. A. Reyes-Betancor	-	ITS ETS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	35
<i>Sarcocornia perennis</i> (Mill.) A.J. Scott subsp. <i>perennis</i>	Francia: Aïfes, Camarga. M.A. Alonso, J.J. Montoya, M.A. Rubio & J. Zamo	-	ITS ETS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	36

Apéndice 1 (Continuación). Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2	
			Región amplificada	Nº GenBank y Bibliografía	Región amplificada	Código
<i>Sarcocornia aff. perennis</i> (Mill.) A.J. Scott	France: Loire-Atlantique, St-Nazaire. P. Teege (MJG)	Chen 572 (MJG)	ETS	EF433603. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	37
<i>Sarcocornia perennis</i> (Mill.) A.J. Scott subsp. <i>perennis</i>	Grecia: Creta, Heraklion, Estuario de Aposelemis. A. Vicente, J.L. Villar & M.A. Alonso	ABH 54 109	ITS ETS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	38
<i>Sarcocornia perennis</i> (Mill.) A.J. Scott subsp. <i>perennis</i>	Italia: Sicilia, Capo Feto. A. Guilló, M.A. Alonso, A. Juan & P. Rico	ABH 51583	ITS ETS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	39
<i>Sarcocornia perennis</i> (Mill.) A.J. Scott subsp. <i>perennis</i>	Portugal: Aveiro, Ria de Aveiro. M.D. Vargas & M.J. Escartín	-	ITS ETS	-	I ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	40
<i>Sarcocornia perennis</i> (Mill.) A.J. Scott subsp. <i>perennis</i>	Reino Unido: Norfolk, Morston. M.A. Alonso, A. Juan, M.D. Lledó & M. Martínez- Azorín	ABH 53649	ITS ETS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	41
<i>Sarcocornia perennis</i> (Mill.) A.J. Scott subsp. <i>perennis</i>	Reino Unido: West Itchenor, Chichester. M.A. Alonso & A. Juan	ABH 53643	ITS ETS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	42

Apéndice 1 (Continuación). Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2	
			Región amplificada	Nº GenBank y Bibliografía	Región amplificada	Código
<i>Sarcocornia perennis</i> (Mill.) A.J. Scott subsp. <i>perennis</i>	Túnez: Monastir. M.A. Alonso & J.J. Montoya	ABH 50961	ITS ETS	-	ITS, PHYC. <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	43
<i>Sarcocornia capensis</i> (Moss) A.J. Scott	South Africa: Western Cape Prov., Agulhas Plain, Gansbaai. <i>L. Mucina</i> 7202/2 (MJG, STEU)	-	ITS	AY489253. KADEREIT <i>et al.</i> (2006)	-	44
<i>Sarcocornia decumbens</i> (Toelken) A.J. Scott	South Africa: Western Cape Prov., Gansbaai, Uilkraalsmond. <i>L. Mucina</i> 7205/1 (MJG, STEU)	Chen 312 (MJG, STEU)	ITS ETS	ITS: AY489254. KADEREIT <i>et al.</i> (2006) ETS: EF433596. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	45
<i>Sarcocornia littorea</i> (Moss) A.J. Scott	South Africa: Western Cape Prov., Agulhas Plain, Gansbaai, Uilkraalsmond. <i>L. Mucina</i> 7209/1 (MJG, STEU)	Chen 382 (MJG, STEU)	ITS ETS	ITS: AY489257. KADEREIT <i>et al.</i> (2006) ETS: EF433598. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	46
<i>Sarcocornia mossiana</i> (Toelken) A.J. Scott	South Africa: Western Cape Prov., West Coast, Dwarskernbos. <i>L. Mucina</i> 091200/6-3 (MJG, STEU)	-	ITS	DQ340165. KADEREIT <i>et al.</i> (2006)	-	47
<i>Sarcocornia mossiana</i> (Toelken) A.J. Scott	South Africa: Western Cape, Klein Langkloof. <i>Waiter & L. Mucina</i> 5060 (MJG, STEU)	Chen 593 (MJG, STEU)	ETS	EU000541. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	48

Apéndice 1 (Continuación). Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2	
			Región amplificada	Nº GenBank y Bibliografía	Región amplificada	Código
<i>Sarcocornia natalensis</i> (Bunge ex Ung.-Sternb.) A.J. Scott	Sudáfrica: McDougal Bay. C. Salazar. 05/09/08	-	ITS ETS	-	ITS, PHYC rpl32-trnL ^(UAG) trnQ ^(UUG) -rps16 rps16	49
<i>Sarcocornia natalensis</i> (Bunge ex Ung.-Sternb.) A.J. Scott	Sudáfrica: Kenton on sea. M. Martínez-Azorín, M.B. Crespo & A. Martínez-Soler	ABH 58679	ITS ETS	-	ITS, PHYC rpl32-trnL ^(UAG) trnQ ^(UUG) -rps16 rps16	50
<i>Sarcocornia natalensis</i> (Bunge ex Ung.-Sternb.) A.J. Scott	South Africa: Western Cape, Kalbakraal. L. Mucina 260200/1-5 (MJG, STEU)	Chen 597 (MJG, STEU)	ETS	EF433600. KADEREIT et al. (2007)	-	51
<i>Sarcocornia natalensis</i> subsp. <i>affinis</i> (Moss) S. Steffen, Mucina & G. Kaderait [ut <i>Sarcocornia natalensis</i> var. <i>affinis</i> en KADEREIT et al. (2006)]	South Africa: Western Cape Prov., West Coast, Yzerfontein. L. Mucina 091200/10-2 (MJG, STEU)	-	ITS	DQ340166. KADEREIT et al. (2006)	-	52
<i>Sarcocornia natalensis</i> (Bunge ex Ung.-Sternb.) A.J. Scott subsp. <i>natalensis</i> [ut <i>Sarcocornia natalensis</i> var. <i>natalensis</i> en KADEREIT et al. (2006)]	South Africa: KwaZulu-Natal Prov., St. Lucia Wetland Park, False Bay. L. Mucina 080701/3 (MJG, STEU)	-	ITS	DQ340167. KADEREIT et al. (2006)	-	53
<i>Sarcocornia pillansii</i> (Moss) A.J. Scott	Sudáfrica: Red House. M. Martínez-Azorín, M.B. Crespo & A. Martínez-Soler	ABH 58674	ITS ETS	-	ITS, PHYC rpl32-trnL ^(UAG) trnQ ^(UUG) -rps16 rps16	54

Apéndice 1 (Continuación). Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2	
			Región amplificada	N° GenBank y Bibliografía	Región amplificada	Código
<i>Sarcocornia pillansii</i> (Moss) A.J. Scott	Sudáfrica: West Coast National Park. C. Salazar. 01/09/08	-	ITS ETS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UAG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	55
<i>Sarcocornia terminalis</i> (Toelken) A.J. Scott	South Africa: Northern Cape Prov., Namaqualand, Kamieskroon. L. Mucina 210901/19S (MJG, STEU)	Chen 385 (MJG, STEU)	ITS ETS	ITS: DQ340173. KADEREIT <i>et al.</i> (2006) ETS: EF433604. S. <i>pillansii</i> en KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	56
<i>Sarcocornia xerophila</i> (Toelken) A.J. Scott	Sudáfrica: Kweijascop (succulent farming). C. Salazar. 06/09/08	-	ITS ETS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UAG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	57
<i>Sarcocornia xerophila</i> (Toelken) A.J. Scott	South Africa: Western Cape Prov., Knersvlake, Vanrhynsdorp, Quaggaskop. L. Mucina 230901/8 (MJG, STEU)	Chen 390 (MJG, STEU)	ITS ETS	ITS: DQ340175. KADEREIT <i>et al.</i> (2006) ETS: EF433606. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	58
<i>Sarcocornia blackiana</i> (Ulbr.) A.J. Scott	Australia: Western Australia, Mortlock River. S. Jacobs 9136 (NSW)	Chen 534 (NSW)	ITS ETS	ITS: DQ340163. KADEREIT <i>et al.</i> (2006) ETS: EF433593. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	59
<i>Sarcocornia blackiana</i> (Ulbr.) A.J. Scott	Australia: Western Australia, 3.6 km W of Cox R don Truslove Rd. K. Shepherd K724	-	ITS	AY1209642. SHEPHERD <i>et al.</i> (2005a)	-	60

Apéndice 1 (Continuación). Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2	
			Región amplificada	Nº GenBank y Bibliografía	Región amplificada	Código
<i>Sarcocornia globosa</i> Paul G. Wilson	Australia:Western Australia, Lake Koobabie. K. <i>Shepherd</i> KS644	-	ITS	AY1209643. <i>SHEPHERD et al.</i> (2005a)	-	61
<i>Sarcocornia quinqueflora</i> (Bunge ex Ung.-Stemb.) A.J. Scott	Australia: New South Wales, Karuah. N. <i>Schmalz</i> 32 (MJG)	Chen 331 (MJG)	ITS ETS	ITS: AY489259. <i>KADEREIT et al.</i> (2006) ETS: EF433601. <i>KADEREIT et al.</i> (2007)	-	62
<i>Sarcocornia quinqueflora</i> (Bunge ex Ung.-Stemb.) A.J. Scott	Australia:Western Australia, Alfred Cove. K. <i>Shepherd</i> KS774	-	ITS	AY1209644. <i>SHEPHERD et al.</i> (2005a)	-	63
<i>Salicornia bigelovii</i> Torr.	Mexico: Baja California, NW of Abreojos. <i>Moran</i> 19740 (CAS 597787)	Chen 1428 (CAS)	ETS	EU000542. <i>KADEREIT et al.</i> (2007)	-	64
<i>Salicornia borealis</i> S.L. Wolff & Jefferies	Canada: Yukon, between Whitehorse and Haines Junction. <i>Calder</i> 28101 (CAS 469354)	Chen 1048 (CAS)	ETS	EF433610. <i>KADEREIT et al.</i> (2007)	-	65
<i>Salicornia borysthonica</i> Tzelev	Ukraine: E Crimea, Arabat'skaya Streika. H. <i>Freitag</i> 33.235 (KAS)	Chen 449 (KAS)	ITS ETS	ITS: DQ340154. <i>KADEREIT et al.</i> (2006) ETS: EF433611. <i>KADEREIT et al.</i> (2007)	-	66
<i>Salicornia "crassa"</i> (ined.)	Turkey: Çorum, Sungurlu, Bahsili. A.E. <i>Yaprak 2004-1</i> (ANK)	Chen 610 (ANK)	ETS	EF433613. <i>KADEREIT et al.</i> (2007)	-	67

Apéndice 1 (Continuación). Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2	
			Región amplificada	N° GenBank y Bibliografía	Región amplificada	Código
<i>Salicornia "dagmarae"</i> (ined.)	South Africa: Western Cape, West Coast, Velddrif, Berg River estuary. S. Steffen & V. Koecke 190406/25 (MJG)	Chen 1091 (MJG)	ETS	EF433615. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	68
<i>Salicornia depressa</i> Standl.	Canada: Québec, St. André. P. Teege 05US/011 (MJG)	Chen 898 (MJG)	ETS	EF433619. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	69
<i>Salicornia dolichostachya</i> Moss	France: Manche, Sainte-Marie-du-Mont. P. Teege 04F/0059 (MJG)	Chen 961 (MJG)	ETS	EF433631. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	70
<i>Salicornia aff. emerici</i> Duval-Jouve	Italy: Adriatic coast, Puglia, saltworks of Trinitapoli. H. Freitag 30.012 (KAS)	Chen 988a (KAS)	ETS	EF433640. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	71
<i>Salicornia europaea</i> L.	Germany: Mecklenburg-Vorpommern, Zingst. H. Freitag 34.076 (KAS)	Chen 993a(KAS)	ETS	EF433642. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	72
<i>Salicornia europaea</i> L.	France: Camargue, Le Grau du Roi. G. Kadereit 2002/1 (MJG)	-	ITS	AY489247. KADEREIT <i>et al.</i> (2006)	-	73

Apéndice 1 (Continuación). Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2	
			Región amplificada	N° GenBank y Bibliografía	Región amplificada	Código
<i>Salicornia</i> aff. <i>europaea</i> L.	Turkey: Denizli, Çardak, Aci Göl. A.E. Yaprak 2004-64b (ANK)	Chen 627 (ANK)	ETS	EF433647. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	74
<i>Salicornia</i> aff. <i>fragilis</i> P.W. Ball & Tutin	France: Camarga, Le-Grau-du-Roi. P.W. Ball & Tutin; G. Kaderleit 2002/2 (MJG)	Chen 2002/2 (MJG)	ETS	EF433649. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	75
<i>Salicornia freitagii</i> Yaprak & Yurdak	Turkey: Ankara, Seriflikoçhisar. A.E. Yaprak 2006-73 (ANK)	Chen 1274 (ANK)	ETS	EU000544. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	76
<i>Salicornia heterantha</i> S.S. Beer & Demina	Russia: Rostov Prov., Proletarsk, Manych river vall. Pankova & Demina 8.1 (MW)	Chen 719 (MW)	ETS	EF433653. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	77
<i>Salicornia "knysnaensis"</i> (ined.)	South Africa: Western Cape Prov., Knysna Lagoon. George Rex Drive. J. Walter & L. Mucina 5050 (MJG, STEU)	Chen 381 (MJG, STEU)	ETS	EF433654. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	78
<i>Salicornia "macrocarpa"</i> (ined.)	South Africa: Eastern Cape Prov., Jeffrey's Bay, Paradise Beach. L. Mucina 6937/2 (MJG, STEU)	Chen 459 (MJG, STEU)	ETS	EF433655. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	79

Apéndice 1 (Continuación). Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2	
			Región amplificada	N° GenBank y Bibliografía	Región amplificada	Código
<i>Salicornia maritima</i> S.L. Wolf & Jeffertes	Canada: Québec, Magdalen Islands, Ile du Havre Aubert. M.J. <i>Oldham 21164</i> (TRTE 63963)	Chen 1046 (TRTE)	ETS	EF433660. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	80
<i>Salicornia meyeriana</i> Moss	South Africa: Western Cape Prov., Knysna Lagoon. <i>J. Walter & L. Mucina</i> 5050 (MJG, STEU)	-	ITS	AY489248. KADEREIT <i>et al.</i> (2006)	-	81
<i>Salicornia meyeriana</i> Moss	South Africa: Western Cape Prov., Struisbaai, De Mond Nat. Res. <i>J. Walter & L. Mucina</i> 5097 (MJG, STEU)	Chen 924 (MJG, STEU)	ETS	EF433663. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	82
<i>Salicornia</i> aff. <i>meyeriana</i> Moss	South Africa: Western Cape Prov., Agulhas Plain Elim. <i>L. Mucina 6917/1</i> (STEU)	Chen 587 (STEU)	ETS	EF433664. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	83
<i>Salicornia "namanii"</i> (ined.)	Turkey: Erzurum, Narman to Oltu. <i>A.E. Yaprak 2004-16</i> (ANK)	Chen 616 (ANK)	ETS	EF433665. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	84
<i>Salicornia pachystachya</i> Bunge ex Ung.-Stemb.	South Africa: KwaZulu- Natal Prov., St. Lucia Wetland Pari. <i>L. Mucina 080701/2</i> (MJG, STEU)	-	ITS	DQ340155. KADEREIT <i>et al.</i> (2006)	-	85

Apéndice 1 (Continuación). Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2	
			Región amplificada	Nº GenBank y Bibliografía	Región amplificada	Código
<i>Salicornia pachystachya</i> Bunge ex Ung.-Stemb.	South Africa: Kwa Zulu-Natal, Elephant Coast, Richards Bay. S. <i>Naidoo</i> 080207/02 (MJG, STEU)	Chen 1395 (MJG, STEU)	ETS	EU000546. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	86
<i>Salicornia patula</i> Duval-Jouve	France: Camargue, Le-Grau-du-Roi. G. <i>Kadereit</i> 2002/1 K (MJG)	Chen 2002/1 (MJG)	ETS	EF433667. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	87
<i>Salicornia</i> aff. <i>patula</i> Duval-Jouve	Turkey: Edirne, Kesan, Erikli. A.E. <i>Yaprak</i> 2004-98 (ANK)	Chen 636 (ANK)	ETS	EF433669. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	88
<i>Salicornia</i> cf. <i>patula</i> Duval-Jouve	Italy: SE Sicilia, near Pachino. H. <i>Freitag</i> 31302 (KAS)	-	ITS	DQ340156. KADEREIT <i>et al.</i> (2006)	-	89
<i>Salicornia perennans</i> Willd.	Russia: Altai Republic, Kosh Agach. B. <i>Neuffer</i> & H. <i>Hurka</i> 13624 (MSTR, KAS)	-	ITS	AY489249. KADEREIT <i>et al.</i> (2006)	-	90
<i>Salicornia perennans</i> Willd.	Ukraine: NE Crimea, S Kazantip Peninsula, Aktas'ke lake. H. <i>Freitag</i> 33.242 (KAS)	Chen 445 (KAS)	ETS	EF433675. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	91
<i>Salicornia</i> aff. <i>perennans</i> Willd.	Austria: Neusiedler See, near Illmitz. B. <i>Neuffer</i> 10195 (OSBU)	Chen 1359 (OSBU)	ETS	EF433755. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	92

Apéndice 1 (Continuación). Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2	
			Región amplificada	N° GenBank y Bibliografía	Región amplificada	Código
<i>Salicornia persica</i> Akhani	Iran: Fars, N Tash, 1590 m, lake between Neiriz & Arsenjan. <i>I. Mehregan s.n.</i> , 19.10.2006 (MJG)	Chen 1247 (MJG)	ETS	EF433706. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	93
<i>Salicornia pojarkovae</i> Semenova	Russia: Karelia, White Sea, Kandalaksha Bay, Monastyrski Island. <i>S. Pankova 1</i> (NW)	Chen 478 (NW)	ITS ETS	ITS: DQ340158. KADEREIT <i>et al.</i> (2006) ETS: EF433707. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	94
<i>Salicornia procumbens</i> Sm.	Germany: North Sea, Scheleswig-Holstein, Büsum. <i>P. Teege HK 19_1</i> (MJG)	Chen HK 19_1 (MJG)	ETS	EF433709. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	95
<i>Salicornia procumbens</i> Sm.	Italy: Venezia Prov., Belvedere, May 2002. <i>E. Lambracht s.n.</i> (MJG)	-	ITS	AY489250. KADEREIT <i>et al.</i> (2006)	-	96
<i>Salicornia prostrata</i> Pall.	Romania: northern Transsylvania. <i>A.-M. Csergo s.n.</i> , <i>Nires s.n.</i> 2003 (MJG, in alcohol)	-	ITS	AY489251. <i>S. aff. ramosissima</i> en KADEREIT <i>et al.</i> (2005)	-	97
<i>Salicornia pusilla</i> J. Woods	Great Britain: Kent, Chellness. <i>P. Teege 04/GB0046</i> (MJG)	Chen 985b (MJG)	ETS	EF433715. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	98
<i>Salicornia ramosissima</i> J. Woods	Germany: North Sea, Schleswig-Holstein, Marne. <i>P. Teege s.n. 2005</i> (MJG)	Chen 951 (MJG)	ETS	EF433725. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	99

Apéndice 1 (Continuación). Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2	
			Región amplificada	Nº GenBank y Bibliografía	Región amplificada	Código
<i>Salicornia ramosissima</i> J. Woods	France: Morbihan, Noyal. <i>P. Teege</i> (MJG)	Chen 578 (MJG)	ITS	DQ340162. KADEREIT <i>et al.</i> (2006)	-	100
<i>Salicornia</i> aff. <i>ramosissima</i> J. Woods	France: Somme, Le Crotoy. <i>P. Teege 04F/0036</i> (MJG)	Chen 971 (MJG)	ETS	EF433722. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	101
<i>Salicornia rubra</i> A. Nelson	U.S.A.: Nevada, Nye County, Little Fish Lake (alt. 1970 m). <i>A. Trehm</i> <i>11561</i> (CAS 766229)	Chen 1044 (CAS)	ETS	EF433745. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	102
<i>Salicornia "sibirica"</i> (ined.)	Russia: Tuva, 70 km NW Kyzyl, near Arzhaan. <i>H. Freitag 33.074</i> (KAS)	Chen 468 (KAS)	ETS	EF433748. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	103
<i>Salicornia uniflora</i> Toelken	Namibia: Lüderitz, Second Lagoon. <i>L. Mucina 061205/14</i> (STEU, MJG)	Chen 1009 (STEU, MJG)	ETS	EF433749. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	104
<i>Salicornia veneta</i> Pignatti & Lausi	Italy: Prov. Venezia, Lido di Jesolo. <i>H. Freitag 27.169</i> (KAS)	Chen 989a (KAS)	ETS	EF433750. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	105
<i>Arthrocnemum</i> <i>macrostachyum</i> (Moric) K. Koch	España: Alicante, Villena, Saleros de Requena. <i>M.A. Alonso & J.J.</i> <i>Montoya</i>	ABH 11316	ITS	-	ITS, PHYC <i>rp/32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	106

Apéndice 1 (Continuación). Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2	
			Región amplificada	Nº GenBank y Bibliografía	Región amplificada	Código
<i>Arthrocnemum macrostachyum</i> (Moric) K. Koch	Italia: Sicilia, Capo Feto. A. Guilló, M.A. Alonso, A. Juan & P. Rico	ABH 51579	ITS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	107
<i>Arthrocnemum macrostachyum</i> (Moric) K. Koch	Turkey: Seyhan, SE Adana. H. Freitag & N. Adigüzel 28846 (KAS, GAZI)	Chen 353 (KAS, GAZI)	ITS ETS	ITS: AY489240. KADEREIT et al. (2006) ETS: EF433587. KADEREIT et al. (2007)	-	108
<i>Arthrocnemum subterminale</i> (Panish) Standl.	Méjico: Baja California, Estero Beach. M.A. Alonso & J.L. Villar	ABH 58668	ITS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	109
<i>Halocnemum strobilaceum</i> M. Bieb.	España: Alicante, Santa Pola, Lagunas de Bon Matí. M.A. Alonso & J.J. Montoya	ABH 53061	ITS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	110
<i>Halocnemum strobilaceum</i> M. Bieb.	Túnez: Monastir, Lago Salado. M.A. Alonso & J.J. Montoya	ABH 42482	ITS	-	ITS, PHYC <i>rpl32-trnL</i> ^(UAG) <i>trnQ</i> ^(UUG) - <i>rps16</i> <i>rps16</i>	111
<i>Microcnemum coralloides</i> (Loscos & Pardo) Buen subsp. <i>anatolicum</i> Wagenitz	Turkey: Konya Prov., Cihanbeyli. Vural 7558 (GAZI, KAS)	-	ITS	AY181876. KADEREIT et al. (2006)	-	112

Apéndice 1 (Continuación). Listado de los táxones secuenciados en los capítulos 1 y 2, con la indicación de la procedencia, pliego testigo, región amplificada, número del GenBank, bibliografía y código.

Taxon	Datos	Pliego testigo	Cap.1		Cap.2	
			Región amplificada	Nº GenBank y Bibliografía	Región amplificada	Código
<i>Microcnemum coralloides</i> (Loscos & Pardo) Buen subsp. <i>coralloides</i>	Spain: Aragón, Laguna de Guallar. G. Kaderleit 2002/15 (MJG) (MJG)	Chen 2002/15 (MJG)	ITS ETS	ITS: AY489245. KADEREIT <i>et al.</i> (2006) ETS: EF433589. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	113
<i>Tecticornia australasica</i> (Moq.) Paul G. Wilson	Australia: Queensland, N of Townville. S. Jacobs 8685 (NSW)	Chen 260 (NSW)	ITS ETS	ITS: AY489262. KADEREIT <i>et al.</i> (2006) ETS: EF433590. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	114
<i>Tecticornia indica</i> (Willd.) K.A. Sheph. & Paul G. Wilson [ut <i>Halosarcia indica</i> en KADEREIT <i>et al.</i> (2007)]	Western Australia: Mortlock River. S. Jacobs 9135 (NSW)	Chen 558 (NSW)	ETS	EF433588. KADEREIT <i>et al.</i> (2007)	-	115
<i>Tecticornia indica</i> subsp. <i>julacea</i> (Paul G. Wilson) K.A. Sheph. & Paul G. Wilson [ut <i>Halosarcia indica</i> subsp. <i>julacea</i> en KADEREIT <i>et al.</i> (2006)]	Australia: New South Wales. S. Jacobs 8691 (NSW)	-	ITS	AY489243. KADEREIT <i>et al.</i> (2006)	-	116
<i>Tecticornia triandra</i> (F. Muell.) K.A. Sheph. & Paul G. Wilson [ut <i>Pachycornia triandra</i> en KADEREIT <i>et al.</i> (2006)]	Australia: New South Wales. S. Jacobs 8702 (NSW)	-	ITS	AY489246. KADEREIT <i>et al.</i> (2006)	-	117



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Apéndice 2.

Matriz de datos del rastreo morfológico realizado en el
capítulo 1

Apéndice 2. Matriz de datos morfológicos de la tabla 1.1. Los números de la fila superior corresponden a los caracteres estudiados. El símbolo “?” indica datos desconocidos y “-“ ausencia de datos.

Taxon	Datos											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Sarcocornia ambigua</i>	1	0	0	0	1	2	0	0	0	1	1,2	1
<i>Sarcocornia andina</i>	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0,1	0
<i>Sarcocornia magellanica</i>	1	2	0	0	1	0	0	0	0	1	0,1	0
<i>Sarcocornia neei</i>	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1,2	0,1
<i>Sarcocornia neei</i>	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1,2	0,1
<i>Sarcocornia neei</i>	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1,2	0,1
<i>Sarcocornia pacifica</i>	1	0	0	0	0	?	0	1	0	0	1,2	1
<i>Sarcocornia pacifica</i>	1	0	0	0	0	?	0	1	0	0	1,2	1
<i>Sarcocornia pulvinata</i>	1	3	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
<i>Sarcocornia utahensis</i>	1	0	1	0	0	?	0	1	0	0	1	0,1
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	1	0	1	0	1	0,2	0	1	0	0	0,1,2	0,1
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	1	0	1	0	1	0,2	0	1	0	0	0,1,2	0,1
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	1	0	1	0	1	0,2	0	1	0	0	0,1,2	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>alpini</i>	1	0	0	0	0	0,1,2	0	0	0	0,1	0,1,2	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	1	2	0	0	0	0,1,2	0	0	0	0,1	0,1,2	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	1	2	0	0	0	0,1,2	0	0	0	0,1	0,1,2	0,1
<i>Sarcocornia natalensis</i>	1	2	0,1	0	1	2	1	1	0	0	1,2	0,1
<i>Sarcocornia natalensis</i>	1	2	0,1	0	1	2	1	1	0	0	1,2	0,1
<i>Sarcocornia pillansii</i>	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0,1,2	0,1
<i>Sarcocornia pillansii</i>	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0,1,2	0,1
<i>Sarcocornia xerophila</i>	1	0	1	0	?	0	0	0	0	?	0,1	0
<i>Salicornia borysthenica</i>	0	0	1	0	?	?	?	?	0	0	1,2	?
<i>Salicornia europaea</i>	0	0	1	0	0	2	?	?	0	0	1	0
<i>Salicornia meyeriana</i>	0	0	1	0	0	0,2	0	0	0	0	1	?
<i>Salicornia pachystachya</i>	0	0	1	0	0	2	0	?	0	0	1,2	?
<i>Salicornia patula</i>	0	0	1	0	0	1	?	?	0	0	1	0
<i>Salicornia perennans</i>	0	2	1	0	?	?	?	?	0	0	1	1
<i>Salicornia pojarkoviae</i>	0	0	1	0	?	?	?	?	0	?	1,2	?
<i>Salicornia procumbens</i>	0	0	1	0	?	?	?	?	0	?	2	0,1
<i>Salicornia ramosissima</i>	0	0	1	0	0	2	?	0	0	0	1,2	0,1
<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1,2	1
<i>Microcnemum coralloides</i>	0	0	1	0	0	0	?	?	0	0	2	0
<i>Tecticornia australasica</i>	0	0	1	0	0	?	1	?	1	0	2	?
<i>Tecticornia indica</i>	1	0	1	0	0	1	1	?	0	0	2	0

Apéndice 2 (Continuación). Matriz de datos morfológicos de la tabla 1.1. Los números de la fila superior corresponden a los caracteres estudiados. El “?” indica datos desconocidos y “-” ausencia de datos.

Taxon	Datos											
	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
<i>Sarcocornia ambigua</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	?	2
<i>Sarcocornia andina</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	?	2
<i>Sarcocornia magellanica</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	2
<i>Sarcocornia neei</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	?	3
<i>Sarcocornia neei</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	?	3
<i>Sarcocornia neei</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	?	3
<i>Sarcocornia pacifica</i>	0,1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	3
<i>Sarcocornia pacifica</i>	0,1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	3
<i>Sarcocornia pulvinata</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	?	0
<i>Sarcocornia utahensis</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1	?	1	2
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0	0	1	0,1	0	0	0	0	1	1	1	2
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0	0	1	0,1	0	0	0	0	1	1	1	2
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0	0	1	0,1	0	0	0	0	1	1	1	2
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>alpini</i>	0,1	0,1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	2
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	0,1	0,1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	2
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	0,1	0,1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	2
<i>Sarcocornia natalensis</i>	?	?	1	0	0	0	0	0	1	0,1	?	2
<i>Sarcocornia natalensis</i>	?	?	1	0	0	0	0	0	1	0,1	?	2
<i>Sarcocornia pillansii</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0,1	?	3
<i>Sarcocornia pillansii</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0,1	?	3
<i>Sarcocornia xerophila</i>	?	?	1	0	0	0	0	0	1	1	?	2
<i>Salicornia borysthenica</i>	?	?	1	0	1	1	0	0	1	0,1	0	2
<i>Salicornia europaea</i>	0	0,1	1	0	1	1	0	0	1	0,1	1	1
<i>Salicornia meyeriana</i>	?	?	1	0	1	1	0	0	1	0,1	1	2
<i>Salicornia pachystachya</i>	?	?	1	0	1	1	0	0	1	0,1	1	2
<i>Salicornia patula</i>	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0,1	?	2
<i>Salicornia perennans</i>	?	?	1	0	1	1	0	0	1	0,1	?	2
<i>Salicornia pojarkoviae</i>	?	?	1	0	1	1	0	0	1	0,1	?	2
<i>Salicornia procumbens</i>	?	?	1	0	1	1	0	0	1	0,1	?	2
<i>Salicornia ramosissima</i>	0,1	0	1	0	1	1	0	0	1	0,1	0	2
<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	2
<i>Microcnemum coralloides</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Tecticornia australasica</i>	0,1	0	1	1	1	0	?	1	0	0	?	2
<i>Tecticornia indica</i>	?	?	1	0,1	0	0	?	1	1	0	?	4

Apéndice 2 (Continuación). Matriz de datos morfológicos de la tabla 1.1. Los números de la fila superior corresponden a los caracteres estudiados. El “?” indica datos desconocidos y “-” ausencia de datos.

Taxon	Datos											
	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
<i>Sarcocornia ambigua</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Sarcocornia andina</i>	?	?	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0
<i>Sarcocornia magellanica</i>	?	?	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Sarcocornia neei</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0
<i>Sarcocornia neei</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0
<i>Sarcocornia neei</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0
<i>Sarcocornia pacifica</i>	?	?	0	1	0	0	0	0	0	1	0,1	0
<i>Sarcocornia pacifica</i>	?	?	0	1	0	0	0	0	0	1	0,1	0
<i>Sarcocornia pulvinata</i>	?	?	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0
<i>Sarcocornia utahensis</i>	?	?	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	1	-	0	1	0	0	0	0	0	0,1	0	0
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	1	-	0	1	0	0	0	0	0	0,1	0	0
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	1	-	0	1	0	0	0	0	0	0,1	0	0
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>alpini</i>	1	-	0	1	0	0	0	0	0	0,1	0	0
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	1	-	0	1	0	0	0	0	0	0,1	0	0
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	1	-	0	1	0	0	0	0	0	0,1	0	0
<i>Sarcocornia natalensis</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0,1	0	0
<i>Sarcocornia natalensis</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0,1	0	0
<i>Sarcocornia pillansii</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Sarcocornia pillansii</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Sarcocornia xerophila</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	?	?	0
<i>Salicornia borysthenica</i>	0	1	0	1	0	0	0	0	0	?	?	0
<i>Salicornia europaea</i>	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	?	0
<i>Salicornia meyeriana</i>	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1,2	?	0
<i>Salicornia pachystachya</i>	0	1	0	1	0	0	0	0	0	?	?	0
<i>Salicornia patula</i>	0	1	0	1	0	0	0	0	0	?	?	0
<i>Salicornia perennans</i>	0	1	0	1	0	0	0	0	0	?	?	0
<i>Salicornia pojarkoviae</i>	0	1	0	1	0	0	0	0	0	?	?	0
<i>Salicornia procumbens</i>	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	2
<i>Salicornia ramosissima</i>	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0,1	0
<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0,1	0	1
<i>Microcnemum coralloides</i>	0	?	1	0	0	0	0	1	0	0,1	0	0
<i>Tecticornia australasica</i>	0	?	1	0	0	0	1	1	1	1	?	2
<i>Tecticornia indica</i>	0	?	1	0	1	1	0	0	0	0,1	0	0

Apéndice 2 (Continuación). Matriz de datos morfológicos de la tabla 1.1. Los números de la fila superior corresponden a los caracteres estudiados. El “?” indica datos desconocidos y “-” ausencia de datos.

Taxon	Datos											
	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
<i>Sarcocornia ambigua</i>	1	2	0	0	?	?	?	?	0	0	0	?
<i>Sarcocornia andina</i>	0,1	2	0	0,1	?	?	?	?	0	0	0	?
<i>Sarcocornia magellanica</i>	0,1	2	1	0	?	?	?	?	0	0	0	?
<i>Sarcocornia neei</i>	1	2	1	0,1	?	?	?	?	0	0	0	?
<i>Sarcocornia neei</i>	1	2	1	0,1	?	?	?	?	0	0	0	?
<i>Sarcocornia neei</i>	1	2	1	0,1	?	?	?	?	0	0	0	?
<i>Sarcocornia pacifica</i>	1	2	1	1	?	?	?	?	0	0	0	1
<i>Sarcocornia pacifica</i>	1	2	1	1	?	?	?	?	0	0	0	1
<i>Sarcocornia pulvinata</i>	0	2	1	0	?	?	?	?	0	0	0	?
<i>Sarcocornia utahensis</i>	0	2	1	0	?	?	?	?	0	0	0	?
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0,1	2	1	0	?	?	?	?	0	0	0	1,2,3
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0,1	2	1	0	?	?	?	?	0	0	0	1,2,3
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0,1	2	1	0	?	?	?	?	0	0	0	1,2,3
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>alpini</i>	1	2	0	0,1	?	?	?	?	0	0	0	0,4
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	1	2	0	0,1	?	?	?	?	0	0	0	0,4
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	1	2	0	0,1	?	?	?	?	0	0	0	0,4
<i>Sarcocornia natalensis</i>	0	2	1	0	?	?	?	?	0	0	0	?
<i>Sarcocornia natalensis</i>	0	2	1	0	?	?	?	?	0	0	0	?
<i>Sarcocornia pillansii</i>	0	2	1	0	?	?	?	?	0	0	0	?
<i>Sarcocornia pillansii</i>	0	2	1	0	?	?	?	?	0	0	0	?
<i>Sarcocornia xerophila</i>	0	2	?	?	?	?	?	?	0	0	0	?
<i>Salicornia borysthenica</i>	1	2	?	?	?	?	?	?	0	0	0	?
<i>Salicornia europaea</i>	1	2	?	?	0	0	1	0	0	0	0	0,1
<i>Salicornia meyeriana</i>	1	2	?	?	?	?	?	?	0	0	0	?
<i>Salicornia pachystachya</i>	1	2	?	?	?	?	?	?	0	0	0	?
<i>Salicornia patula</i>	1	2	?	?	?	?	?	?	0	0	0	0
<i>Salicornia perennans</i>	1	2	?	?	?	?	?	?	0	0	0	0
<i>Salicornia pojarkoviae</i>	1	2	?	?	?	?	?	?	0	0	0	1
<i>Salicornia procumbens</i>	1	2	?	?	?	?	?	?	0	0	0	?
<i>Salicornia ramosissima</i>	1	2	0	?	?	?	?	?	0	0	0	0,1
<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>	-	1	-	-	0	0	0	1	0	0	1	0
<i>Microcnemum coralloides</i>	-	1	-	-	?	?	?	?	0	0	0	0
<i>Tecticornia australasica</i>	-	0	-	-	?	?	?	?	0	0	0	?
<i>Tecticornia indica</i>	-	-	-	-	?	?	?	?	0	1	0	0,1,2,4



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Apéndice 3.

Listado de las localidades estudiadas en el capítulo 3

Apéndice 3. Listado de las localidades estudiadas en el capítulo 3. Las abreviaturas se corresponden con: SF (*S. fruticosus*), SP (*S. perennis* subsp. *perennis*), SPA (*S. perennis* subsp. *alpinus*).

Código	País	Provincia	Municipio	Localidad	Coordenadas geográficas	Altura (m)	Pilego testigo
L1	Reino Unido	West Itchenor	Chichester	–	50° 48' 9.2"N 0° 53' 7.6"O	0	ABH 53643 (SP)
L2	Reino Unido	North Norfolk	Morston	–	52° 57' 12.1"N 0° 58' 32.0"E	0	ABH 53649 (SP)
L3	Francia	Mancha	Saint Michel	–	48° 38' 09.32"N 1° 30' 1.16"O	–	G. (s.n.) (SP)
L4	Francia	Aquitania	Gironda	–	44° 56' 13.77"N 0° 23' 8.74"O	–	G. (s.n.) (SP)
L5	Francia	Pyrénées-Orientales	Saint-Cyprien de Roselló	Canal de l'Aygal, saliendo del pueblo, D81A	42° 49' 50.0"N 3° 1' 28.1"E	0	ABH 52229 (SF)
L6	Francia	Aude	Leucate	Les Capitelles, cerca de Port Barcarés	42° 49' 50.0"N 3° 1' 28.1"E	0	ABH 52225 (SF)
L7	Francia	Gard	Aigues Mortes	Carretera de Saintes-Maries-de-la-Mer	43° 34' 48.4"N 4° 15' 3.5"E	0	ABH 52252 (SF)
L7	Francia	Bouches-du-Rhône	Arlès	–	43° 40' 52.6"N 4° 38' 03.2"E	–	– (SP)
L7	Francia	Bouches-du-Rhône	Saintes-Maries-de-la-Mer	Manade Raynaud, carretera a Aigues Mortes	43° 29' 19.3"N 4° 22' 21.9"E	0	ABH 52278 (SF)
L7	Francia	Bouches-du-Rhône	Saintes-Maries-de-la-Mer	Cerca del Mas de Cacharel, 13460, Camarga Francesa	43° 28' 11.7"N 4° 26' 2.9"E	0	ABH 52283 (SF)
L8	Francia	Var	Hyères	Les Salins, la Levée Saint-Nicolas des Vieux, salins d'Hyères	43° 6' 40.0"N 6° 11' 7.7"E	0	ABH 52214 (SF)
L8	Francia	Var	Hyères	Carretera Capte-La Tour, Salins des Pesquiers, Les Salins d'Hyères	43° 7' 13.5"N 6° 11' 50.4"E	0	ABH 52209 (SF)
L8	Francia	Var	Hyères	Salins des Pesquiers, Les Salins d'Hyères	43° 6' 42.2"N 6° 12' 36.1"E	0	ABH 52198 (SF)
L9	Francia	Córcega	–	–	–	–	G. (s.n.) (SF)
L10	Italia	Cerdeña	Sassari	Saladar próximo a Sintino	40° 53' 29.7"N 8° 14' 24.9"E	10	ABH 54667 (SF)
L11	Italia	Cerdeña	Oristano	Putzu Ido	40° 2' 44.5"N 8° 24' 7.7"E	0.5	ABH 54611 (SP)

Apéndice 3 (Continuación). Listado de las localidades estudiadas en el capítulo 3. Las abreviaturas se corresponden con: SF (*S. fruticosa*), SP (*S. perennis* subsp. *perennis*), SPA (*S. perennis* subsp. *alpini*).

Código	País	Provincia	Municipio	Localidad	Coordenadas geográficas	Altura (m)	Pliego testigo
L11	Italia	Cerdeña	Oristano	Santa Giusta I	39° 49' 16.3"N 8° 34' 3.6"E	1	ABH 54654 (SP) ABH 54652 (SF)
L11	Italia	Cerdeña	Oristano	San Giovanni de Sinnis	39° 53' 1.3"N 8° 26' 19.1"E	0	ABH 54629 (SP) ABH 54632 (SF)
L12	Italia	Cerdeña	Cagliari	Laguna di Nora	38° 59' 2.4"N 9° 0' 41.6"E	0	ABH 54640 (SP)
L12	Italia	Cerdeña	Cagliari	Stagno Cagliari	39° 10' 23.6"N 9° 1' 23.4"E	0	ABH 54635 (SF)
L13	Italia	Cerdeña	Carbonia-Iglesias	San Antioco	39° 3' 17.5"N 8° 28' 6.1"E	1	ABH 54647 (SF)
L14	Italia	Sicilia	Trápani	Marsala	37° 48' 43.0"N 12° 27' 9.3"E	4	ABH 51595 (SP)
L14	Italia	Sicilia	Trápani	Frente al centro de visitantes	37° 59' 37.4"N 12° 31' 3.7"E	3	ABH 51601 (SP)
L15	Italia	Sicilia	Caltanissetta	Carretera de Gela a Ragusa	37° 3' 11.5"N 14° 18' 9.7"E	11	ABH 51598 (SP)
L16	Italia	Sicilia	Mazaro del Vallo	Capo Feto	37° 40' 39.4"N 12° 29' 8.3"E	0	ABH 51586 (SP)
L16	Italia	Sicilia	Ragusa	Carretera de Pozzallo a Pachino	36° 41' 40.7"N 14° 57' 9.1"E	2	ABH 51576 (SP)
L17	Italia	Sicilia	Siracusa	Salinas de Augusta	37° 14' 7.4"N 15° 10' 49.4"E	3	ABH 51604 (SP)
L18	Italia	Puglia	-	Carretera a Margherita di Savoia, saladar	41° 29' 36.9"N 41° 29' 36.9"E	8	ABH 51604 (SP)
L19	Italia	Livorno	Piombino	Torre de la Sal	42° 58' 34.1"N 10° 35' 7.2"E	2	ABH 58357 (SP) ABH 58362 (SF)
L19	Italia	Grosseto	Orbetello	Laguna di Orbetello	42° 26' 56.2"N 11° 13' 7.2"E	4	ABH 58368 (SF)
L20	Italia	Venecia	Bibione	Porto Baselegue	45° 38' 17.4"N 12° 59' 4.8"E	0	ABH 58347 (SP) ABH 58346 (SF)
L20	Italia	Venecia	Udine	Marano, Lago di Marano	45° 45' 22.3"N 13° 9' 49.9"E	0	ABH 58387 (SF)
L20	Italia	Venecia	Udine	Grado, lado de la carretera que une Grado a la península	45° 41' 17.9"N 13° 26' 27.3"E	0	ABH 58344 (SF)
L20	Italia	Venecia	Golfo de Venecia	Salsi, Taglio del Sile, Comune di Musile di Piave	45° 34' 37.2"N 12° 32' 6.1"E	0	ABH 58386 (SF)

Apéndice 3 (Continuación). Listado de las localidades estudiadas en el capítulo 3. Las abreviaturas se corresponden con: SF (*S. fruticosa*), SP (*S. perennis* subsp. *perennis*), SPA (*S. perennis* subsp. *alpini*).

Código	País	Provincia	Municipio	Localidad	Coordenadas geográficas	Altura (m)	Pliego testigo
L20	Italia	Venecia	Golfo de Venecia	Il Porto della Laguna Covallino Treporti	45° 29' 32.3"N 12° 34' 3.8"E	0	ABH 58384 (SF)
L20	Italia	Venecia	Venecia	Lago Venetta	45° 25' 47.6"N 12° 26' 7.2"E	0	ABH 58383 (SF)
L21	Grecia	Epiro		Saladar en "Igoménitsa"	39° 31' 32.4"N 20° 11' 7.4"E	0	ABH 58335 (SP)
L22	Grecia	Peloponesos	Agios Andreas	Saladar	37° 22' 55.9"N 22° 46' 8.2"E	0	ABH 58339 (SP)
L23	Grecia	Atica	Legrena	Saladar Costero	37° 39' 42.9"N 24° 0' 0.7"E	6	ABH 58366 (SP)
L23	Grecia (occ)	Kounelli	-	Saladar junto al mar	38° 6' 4.3"N 21° 21' 0.5"E	0	ABH 58343 (SP)
L24	Grecia	Lesbos	-	Kalloni	39° 12' N 26° 15' E	2	ABH 51153 (SP)
L25	Grecia	Creta	Heraklion	Estuario de Aposelemis	35° 19' 50.0"N 25° 18' 9.8"E	0	ABH 54109 (SP)
L26	Turquía	Esmima	Kusadasi	-	-	-	G. (s.n.) (SP)
L27	Turquía	Karata	Kumlu	Arazi Uzedine	-	-	G. (s.n.) (SF)
L28	Jordania (Palestina)	-	-	Mar Muerto, en los saladares a 5 km al SW de Kallia	-	-	G. (s.n.) (SP)
L29	Egipto	-	Shakshuk	Lago Qarun	-	-	W2006-12010 (SP)
L30	Libia	Cirenaica	Bengasi	-	-	-	G. (s.n.) (SF)
L31	Túnez	Monastir	-	-	35° 45' 77"N 10° 43' 49"E	5	ABH 50961 (SP)
L32	Argelia	Orán	La Macta	La Macta, Saladar	35° 47' 8.6"N 0° 7' 24.1"O	-	ABH 59338 (SP) ABH 59341 (SF)
L33	Marruecos OR	Oujda	Nador	Arekmane	34° 54' 33.1"N 2° 45' 33.0"O	1	ABH 58341 (SP) ABH 58327 (SF)
L34	Marruecos TH	Alhoceima	Alhoceima	Bahía de Alhoceima	35° 11' 46.4"N 3° 48' 14.7"O	14	ABH 58416 (SF)
L35	Marruecos OR	Oujda	Taurirt	Melga al Ouidane	34° 33' 35.9"N 0° 55' O	240	ABH 59350 (SP)
L36	Marruecos	Tanger-Tétouan	Larache	-	35° 6' O	0	ABH 51020 (SF)

Apéndice 3 (Continuación). Listado de las localidades estudiadas en el capítulo 3. Las abreviaturas se corresponden con: SF (*S. fruticosa*), SP (*S. perennis* subsp. *perennis*), SPA (*S. perennis* subsp. *alpini*).

Código	País	Provincia	Municipio	Localidad	Coordenadas geográficas	Altura (m)	Pliego testigo
L37	Portugal	Aveiro	Aveiro	Ría de Aveiro	40°N 8°E	-	-(SP)
L38	Portugal	Baixo Alentejo	Carrasqueira	-	-	10	ABH 41436 (SF)
L39	Portugal	Algarve	Faro	Ludo	37° 1' 26.3"N 7° 59' 58.0"E	-	ABH 58300 (SF)
L39	Portugal	Algarve	Faro	Faro, Praia Faro	37° 2' 57.10"N 7° 45' 17.6"E	-	ABH 59318 (SF)
L40	Portugal	Algarve	Faro	Aljezur, Praia Amoreina	37° 20' 40.4" N 8° 50' 3.3"E	-	ABH 59328 (SP) ABH 59331 (SF)
L41	España	Lanzarote	Haría	Saladar al Este de Órzola	-	-	-(SP)
L41	España	Lanzarote	Tinajo	La Isla pr. La Santa	29° 6' 38.9"N 13° 39' 50.2"E	2	ABH 57568 (SP)
L41	España	Lanzarote	Tinajo	Los Risquetes	-	-	-(SP)
L42	España	Mallorca	Campos	Es Trenc, Es Cap de Sa Siquia	39° 10' 2.2"N 2° 25' 12.2"E	5	ABH 58418 (SF)
L42	España	Mallorca	Colonia de Sant Jordi	Es Estany	39° 19' 2.6"N 2° 59' 18.2"E	10	ABH 58309 (SF)
L42	España	Mallorca	Archipiélago de Cabrera	Na Pobra	39° 11' 28.5"N 2° 57' 54.9"E	-	ABH 55057 (SF)
L42	España	Mallorca	Archipiélago de Cabrera	Na Foradada	38° 43' 46.0"N 1° 26' 44.7"E	20	ABH 57428 (SF)
L42	España	Mallorca	Archipiélago de Cabrera	Ses Rates	39° 7' 41.3"N 2° 55' 8.5"E	10	-(SF)
L43	España	Vizcaya	Gernika	Murueta	43° 21' 8.7"N 2° 40' 45.0"E	2	ABH 40402 (SF)
L44	España	Cantabria	Marina de Cudeyo	Marisma	43° 25' 53.1"N 3° 45' 13.3"E	3	ABH 54705 (SP) ABH 54704 (SF)
L44	España	Cantabria	Santander	Astillero, Marismas Negras	43° 24' 13.7"N 3° 50' 23.2"E	5	ABH 54709 (SP) ABH 54708 (SF)
L45	España	Cantabria	Comillas	Ría de la Rabia	43° 22' 52.0"N 4° 19' 59.8"E	1	ABH 54702 (SF)
L46	España	Asturias	Villaviciosa	Margen occidental Ría de Villaviciosa	43° 30' 26.0"N 5° 25' 28.8"E	3	ABH 54693 (SP) ABH 54700 (SF)
L47	España	La Coruña	Betanzos	-	42° 30' 22.4"N 8° 49' 2.7"E	4	ABH 54684 (SP)

Apéndice 3 (Continuación). Listado de las localidades estudiadas en el capítulo 3. Las abreviaturas se corresponden con: SF (*S. fruticosa*), SP (*S. perennis* subsp. *perennis*), SPA (*S. perennis* subsp. *alpini*).

Código	País	Provincia	Municipio	Localidad	Coordenadas geográficas	Altura (m)	Pliego testigo
L48	España	La Coruña	Corrubedo	Marisma de Carregal	42° 34' 9.8"N 9° 2' 55.4"O	0	ABH 54680 (SF)
L48	España	Pontevedra	Cambados	Desembocadura del río Umia	42° 30' 22.4"N 8° 49' 2.7"O	3	ABH 54684 (SP)
L48	España	Pontevedra	O Grove	Isla de la Toja, Playa de la Toja	42° 28' 45.3"N 8° 51' 14.4"O	0	ABH 54676 (SP)
L49	España	Gerona	Torroella de Montgri	Bassa Frare Ramón, L' Estarrit	42° 1' 43.9"N 3° 11' 35.8"E	2	ABH 57796 (SPA) ABH 57797 (SF)
L50	España	Tarragona	Amposta	Delta del Ebro, Frente a la Isla de Buda	40° 41' 5.3"N 0° 50' 46.5"E	0	ABH 54710 (SF)
L51	España	Toledo	Villafranca de los Caballeros	Laguna de Peña Hueca	39° 31' 27.0"N 3° 20' 14.7"O	650	ABH 53115 (SPA)
L51	España	Toledo	Villafranca de los Caballeros	Laguna de Tirez	39° 32' 31.6"N 3° 21' 38.8"O	655	ABH 53117 (SPA)
L51	España	Toledo	Villacañas	Laguna Larga	39°35'14.2"N 3°19'33.8" O	660	ABH 59794 (SPA)
L52	España	Ciudad Real	Alcázar de San Juan	Laguna del camino de Villafranca	39° 24' 58.5"N 3° 15' 20.1"O	640	ABH 53099 (SP)
L52	España	Ciudad Real	Alcázar de San Juan	Laguna de las Yeguas	39° 25' 30.7"N 3° 16' 43.8"O	640	ABH 53110 (SP)
L53	España	Albacete	Agramón	Rambla de Tobarra	38° 24' 30.0"N 1° 38' 13.4"O	400	ABH 53783 (SF)
L53	España	Albacete	Cordovilla	Al lado de la valla "Los Altos / Casa Carcelen"	38° 33' 8.9"N 1° 38' 3.6"O	542	ABH 53736 (SF)
L54	España	Alicante	Villena	Saladar de Requena	38° 39' 1.8"N 0° 56' 34.8"O	500	ABH 57792 (SF)
L55	España	Alicante	Calpe	Salinas El Saladar, junto a la explanada de la rotonda	38° 38' 26.2"N 0° 3' 31.4"E	0	ABH 53062 (SF)
L56	España	Alicante	Eliche	Agua Amarga	38° 15' 49.9"N 0° 31' 10.8"O	0	ABH 53130 (SF)
L56	España	Alicante	Eliche	Playa del Carabasi	38° 12' 3.0"N 0° 31' 18.5"O	0	ABH 53149 (SF)
L56	España	Alicante	Santa Pola	Salinas del Braç del Port	38° 12' 7.2"N 0° 34' 43.9"O	8	ABH 53145 (SF)

Apéndice 3 (Continuación). Listado de las localidades estudiadas en el capítulo 3. Las abreviaturas se corresponden con: SF (*S. fruticosa*), SP (*S. perennis* subsp. *perennis*), SPA (*S. perennis* subsp. *alpini*).

Código	País	Provincia	Municipio	Localidad	Coordenadas geográficas	Altura (m)	Pliego testigo
L56	España	Alicante	Santa Pola	Lagunas de Bon Mati	38° 11' 5.8"N 0° 37' 30.3"O	3	ABH 53142 (SF)
L57	España	Murcia	San Pedro del Pinatar	Salinas de San Pedro del Pinatar	37° 50' 11.0"N 0° 46' 21.6"O	0	ABH 53065 (SF)
L58	España	Almería	Níjar	La Almadra de Moteleva	36° 44' 45.9"N 2° 12' 16.8"O	15	ABH 53121 (SF)
L58	España	Almería	Tabernas	Ayo. Cercano al Mini-Hollivood	37° 3' 13.7"N 2° 24' 54.6"O	–	ABH 58415 (SF)
L59	España	Granada	Cúllar	Salado del Margen	37° 38' 38.5"N 2° 35' 10.5"O	843	– (SF)
L60	España	Málaga	Fuente de Piedra	Mirador de la Vicaría	37° 7' 55.9"N 4° 46' 3.0"O	430	ABH 51006 (SP)
L61	España	Sevilla	Lebrija	Antigua Laguna de Val de Ojo, por la carretera A471, km 21	36° 56' 43.9"N 6° 0' 46.6"O	50	ABH 53323 (SPA)
L61	España	Sevilla	Puebla del Río	Isla Mayor, La Hedionda: puente de los Vaqueros	37° 6' 8.8"N 6° 9' 51.4"O	29	ABH 53328 (SPA)
L62	España	Cádiz	Chiclana de la Frontera	Playa de Sancti Petri, junto al poblado de Sancti Petri.	36° 23' 30.0"N 6° 12' 45.5"O	0	ABH 53274 (SF)
L62	España	Cádiz	Puerto de Santa María	Caridad, Bahía de la Luz	36° 37' 35.6"N 6° 14' 15.8"O	29	ABH 53302 (SPA)
L62	España	Cádiz	Sanlúcar de Barrameda	Bonanza, Salinas de Bonanza.	36° 49' 5.5"N 6° 20' 34.6"O	2	ABH 53314 (SPA) ABH 53310 (SF)
L62	España	Cádiz	Trebujena	Cerca del puerto, pasada la casa rural, en las marismas	36° 53' 16.6"N 6° 14' 22.4"O	1	ABH 53316 (SP)
L62	España	Cádiz	San Fernando	Vía de servicio, salida 666	36° 29' 54.2"N 6° 9' 10.8"O	3	ABH 53298 (SF)
L63	España	Huelva	Cartaya	Puente de Juan Vecino	37° 14' 52.6"N 7° 8' 22.6"O	30	ABH 50976 (SP)
L63	España	Huelva	Ayamonte	–	37° 11N 7° 24O	–	– (SF)
L63	España	Huelva	Marismas Río Odiel	–	37° 10' 21.1"N 6° 56' 19.4"O	0	GDA 59.102 (SF)



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Apéndice 4.

Matriz de datos del rastreo morfológico realizado en el
capítulo 3

Apéndice 4. Matriz de datos morfológicos de la tabla 3.5. Los números de la fila superior corresponden a los caracteres estudiados. El símbolo “?” indica datos desconocidos y “-“ ausencia de datos.

Taxon	Datos							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Sarcocornia ambigua</i>	0	0	1	2	1	1,2	?	1
<i>Sarcocornia andina</i>	1	0	1	1	0	0,1	?	1
<i>Sarcocornia magellanica</i>	2	0	1	0	1	0,1	?	1
<i>Sarcocornia neei</i>	0	1	1	0	1	1,2	?	1
<i>Sarcocornia neei</i>	0	1	1	0	1	1,2	?	1
<i>Sarcocornia neei</i>	0	1	1	0	1	1,2	?	1
<i>Sarcocornia neei</i>	0	1	1	0	1	1,2	?	1
<i>Sarcocornia neei</i>	0	1	1	0	1	1,2	?	1
<i>Sarcocornia pacifica</i>	0	0	0	?	0	1,2	?	1
<i>Sarcocornia pacifica</i>	0	0	0	?	0	1,2	?	1
<i>Sarcocornia pulvinata</i>	3	1	0	1	0	0	?	1
<i>Sarcocornia utahensis</i>	0	1	0	?	0	1	?	1
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0	1	1	0,2	0	0,1,2	1	0,1
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0	1	1	0,2	0	0,1,2	1	0,1
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0	1	1	0,2	0	0,1,2	1	0,1
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0	1	1	0,2	0	0,1,2	1	0,1
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0	1	1	0,2	0	0,1,2	1	0,1
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0	1	1	0,2	0	0,1,2	1	0,1
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0	1	1	0,2	0	0,1,2	1	0,1
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0	1	1	0,2	0	0,1,2	1	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>alpini</i>	0	0	0	0,1,2	1	0,1,2	0	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>alpini</i>	0	0	0	0,1,2	1	0,1,2	0	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>alpini</i>	0	0	0	0,1,2	1	0,1,2	0	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>alpini</i>	0	0	0	0,1,2	1	0,1,2	0	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>alpini</i>	0	0	0	0,1,2	1	0,1,2	0	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	2	0	0	0,1,2	1	0,1,2	0	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	2	0	0	0,1,2	1	0,1,2	0	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	2	0	0	0,1,2	1	0,1,2	0	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	2	0	0	0,1,2	1	0,1,2	0	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	2	0	0	0,1,2	1	0,1,2	0	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	2	0	0	0,1,2	1	0,1,2	0	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	2	0	0	0,1,2	1	0,1,2	0	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	2	0	0	0,1,2	1	0,1,2	0	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	2	0	0	0,1,2	1	0,1,2	0	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	2	0	0	0,1,2	1	0,1,2	0	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	2	0	0	0,1,2	1	0,1,2	0	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	2	0	0	0,1,2	1	0,1,2	0	0,1
<i>Sarcocornia natalensis</i>	2	0,1	1	2	0	1,2	?	0,1
<i>Sarcocornia natalensis</i>	2	0,1	1	2	0	1,2	?	0,1
<i>Sarcocornia pillansii</i>	0	1	1	1	1	0,1,2	?	1
<i>Sarcocornia pillansii</i>	0	1	1	1	1	0,1,2	?	1
<i>Sarcocornia xerophila</i>	0	1	?	0	1	0,1	?	?
<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>	0	1	1	0	0	1,2	0	0,1
<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>	0	1	1	0	0	1,2	0	0,1
<i>Arthrocnemum subterminale</i>	0	0	?	?	1	1	1	0
<i>Halocnemum strobilaceum</i>	0	1	1	0	0	1,2	?	0
<i>Halocnemum strobilaceum</i>	0	1	1	0	0	1,2	?	0

Apéndice 4 (Continuación). Matriz de datos morfológicos de la tabla 3.5. Los números de la fila superior corresponden a los caracteres estudiados. El "?" indica datos desconocidos y "-" ausencia de datos.

Taxon	Datos							
	9	10	11	12	13	14	15	16
<i>Sarcocornia ambigua</i>	0	0	3	0	0,1	0	0	2
<i>Sarcocornia andina</i>	1	0	1,2	0,1	0,1	0	0	0,1
<i>Sarcocornia magellanica</i>	0	0	1,2	0	1	1	0	0,1
<i>Sarcocornia neei</i>	1	0	3	0,1	0,1	1	0,1	2
<i>Sarcocornia neei</i>	1	0	3	0,1	0,1	1	0,1	2
<i>Sarcocornia neei</i>	1	0	3	0,1	0,1	1	0,1	2
<i>Sarcocornia neei</i>	1	0	3	0,1	0,1	1	0,1	2
<i>Sarcocornia neei</i>	1	0	3	0,1	0,1	1	0,1	2
<i>Sarcocornia pacifica</i>	0,1	0	3	1	0,1	1	0	2
<i>Sarcocornia pacifica</i>	0,1	0	3	1	0,1	1	0	2
<i>Sarcocornia pulvinata</i>	1	0	0	0	?	1	?	0
<i>Sarcocornia utahensis</i>	1	0	0	0	1	1	0	0
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0	0	0,1,2	0	1	1	0	0,1
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0	0	0,1,2	0	1	1	0	0,1
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0	0	0,1,2	0	1	1	0	0,1
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0	0	0,1,2	0	1	1	0	0,1
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0	0	0,1,2	0	1	1	0	0,1
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0	0	0,1,2	0	1	1	0	0,1
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	0	0	0,1,2	0	1	1	0	0,1
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>alpini</i>	0	0	3	0,1	0	0	0,1	2
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>alpini</i>	0	0	3	0,1	0	0	0,1	2
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>alpini</i>	0	0	3	0,1	0	0	0,1	2
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>alpini</i>	0	0	3	0,1	0	0	0,1	2
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>alpini</i>	0	0	3	0,1	0	0	0,1	2
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	0	0	3	0,1	0	0	0,1	2
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	0	0	3	0,1	0	0	0,1	2
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	0	0	3	0,1	0	0	0,1	2
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	0	0	3	0,1	0	0	0,1	2
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	0	0	3	0,1	0	0	0,1	2
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	0	0	3	0,1	0	0	0,1	2
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	0	0	3	0,1	0	0	0,1	2
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	0	0	3	0,1	0	0	0,1	2
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	0	0	3	0,1	0	0	0,1	2
<i>Sar. perennis</i> subsp. <i>perennis</i>	0	0	3	0,1	0	0	0,1	2
<i>Sarcocornia natalensis</i>	0	0	0	0	0	1	1	0
<i>Sarcocornia natalensis</i>	0	0	0	0	0	1	1	0
<i>Sarcocornia pillansii</i>	0	0	0	0	0	1	1	0
<i>Sarcocornia pillansii</i>	0	0	0	0	0	1	1	0
<i>Sarcocornia xerophila</i>	?	0	0	?	?	?	?	0
<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>	0	1	-	-	-	-	-	3
<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>	0	1	-	-	-	-	-	3
<i>Arthrocnemum subterminale</i>	0	1	-	-	-	-	-	3
<i>Halocnemum strobilaceum</i>	0	1	-	-	-	-	-	3
<i>Halocnemum strobilaceum</i>	0	1	-	-	-	-	-	3

Reunido el Tribunal que suscribe en el día de la fecha acordó otorgar,
por.....a la Tesis de Dña. ANA GUILLÓ RECUERDA la calificación de
.....

Alicante, adede

El Secretario,

El Presidente,



UNIVERSIDAD DE ALICANTE

CEDIP

La presente Tesis de Dña. ANA GUILLÓ RECUERDA ha sido registrada con el nº
..... del registro de entrada correspondiente.

Alicante..... de de

El Encargado del Registro,