



Universidade de Aveiro
2021

**Diana Filipa Almeida
Pinheiro**

**Desenvolvimento e otimização de processos de
germinação e produtividade de *Salicornia
ramosissima* para uma escala industrial**



Universidade de Aveiro
2021

**Diana Filipa Almeida
Pinheiro**

**Desenvolvimento e otimização de processos
de germinação e produtividade de *Salicornia
ramosissima* para uma escala industrial**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biologia Marinha Aplicada, realizada sob a orientação científica do Doutor Rui Jorge Miranda Rocha, diretor de operações e de inovação e desenvolvimento da Riasearch e professor auxiliar convidado do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro, e do Doutor Mário Guilherme Garcês Pacheco, professor associado com agregação do Departamento de Biologia, da Universidade de Aveiro.

Dedico este trabalho aos meus pais. Sem eles não seria possível chegar tão longe.

o júri

presidente

Prof. Doutora Maria Marina Pais Ribeiro da Cunha

Professora Associada, Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro

orientador

Prof. Doutor Rui Jorge Miranda Rocha

Professor Auxiliar Convidado, Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro

arguente

Doutora Patrícia Alexandra Cavaleiro Diogo

Diretora de I&D, Necton – Companhia Portuguesa de Culturas Marinhas, S.A.

agradecimentos

Quero agradecer à empresa Riasearch pela possibilidade de utilizar as suas instalações para realizar a minha tese. Ao pessoal da empresa, Adriana, André e Bruna, obrigada pelo tempo e por toda a ajuda disponibilizada, e um especial obrigada ao Daniel pelo acompanhamento e disponibilidade durante e depois do estágio. Aos meus colegas de estágio, Diogo e Igor, obrigada pelo companheirismo.

Agradeço também ao meu orientador, Dr Rui Rocha, pelo apoio ao longo do último ano, e ao meu co-orientador, Dr Mário Pacheco por toda a ajuda prestada.

Por último, o meu sincero obrigada à minha família e ao meu namorado que acompanharam o meu processo desde o primeiro dia e sempre acreditaram em mim.

palavras-chave

Salicornia ramosissima, sementes dimórficas, estratégias de germinação, produtividade, cultivo de *Salicornia*

Resumo

O aumento da população mundial e o aumento da salinização dos solos, leva a uma necessidade crescente de produzir culturas alternativas de agricultura. As plantas halófitas surgem como uma fonte alternativa de alimento devido à sua capacidade natural de crescer e prosperar em solos salinos. Neste estudo foi considerada a espécie anual *Salicornia ramosissima*, que apresenta elevado potencial na indústria ambiental (p. ex. fitorremediação) e alimentar (p. ex. elevada quantidade de ácidos gordos). São poucos os estudos publicados sobre esta espécie, particularmente sobre germinação e produtividade de campos de cultivos ao longo de todo o ano. Tendo em conta este contexto, é importante que se conheçam estratégias de germinação e cultivo desta planta halófitas. Neste trabalho foram utilizadas sementes provenientes de Portugal e de França. Foram testadas diferentes combinações de temperatura (15, 20, 25 e 30 °C) e salinidade (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40), para a germinação das sementes em condições controladas. Foi possível verificar uma tendência para uma melhor germinação em salinidades baixas e temperaturas entre os 20-30 °C. As sementes de origem francesa exibiram germinação numa maior gama de condições, não sendo, contudo, possível determinar diferenças significativas entre as diferentes condições. Em ensaios posteriores, foram realizados trabalhos de germinação em tabuleiros de germinação, e testes de produtividade em leiras industriais de produção, ambos realizados em ambiente de estufa em condições naturais de luminosidade. Nestes ensaios, contrariamente ao verificado no primeiro ensaio, foi verificado uma melhor eficiência de germinação, produtividade e eficiência fotossintética das sementes/plântulas de origem portuguesa, nem sempre com diferenças significativas. As plântulas de origem francesa floresceram prematuramente, evidenciando sinais de senescência, o que pode ter estado relacionado com germinação/crescimento em condição de stresse. Modelos que visem otimizar a produção de plantas halófitas devem ser uma prioridade uma vez que estas não competem pelos mesmos recursos (solo e água) do que os cultivos tradicionais.

keywords

Salicornia ramosissima, dimorphic seeds, germination strategies, productivity, Salicornia crop

Abstract

The increase in world population and the increase in soil salinization, turn paramount the production of saline crops. Halophyte plants emerge as an alternative food source due to their natural ability to grow and thrive in soils affected by salinity. In this work, it was studied the annual species *Salicornia ramosissima* a species with high nutritional value for human and animal nutrition, as well as on phytoremediation of contaminated soils or aquaculture effluents. There are few published studies on this species, particularly about germination and crop field productivity throughout the year. Considering this context, it is important to develop studies on germination and cultivation strategies. In this work, two seed ecotypes were used: one from France and other from Portugal. Different combinations of temperature (15, 20, 25 and 30 °C) and salinity (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40) were tested for seed germination under controlled conditions. Here, it was possible to conclude that better germination performances occur in low salinities and temperatures between 20-30 °C. The French seeds exhibited germination in a higher number of temperature vs. salinity conditions than the Portuguese ones; however it was not possible to determine significant differences between treatments with different combinations of temperature and salinity. In the following assays, it was evaluated the germination, productivity, and photosynthetic efficiency. These were performed preliminary in germination trays and then in industrial conditions, both performed in greenhouse environment with natural light conditions. In these both trials, conversely to what was achieved in the first assay, was verified that seeds/seedlings from Portuguese origin exhibited better germination, productivity, and photosynthetic efficiency than the ones of French origin, although not always with significant differences. French seedlings start to flourish and enter into senescence prematurely, which may be related to the germination/development under a stress condition. Models which aimed to optimize the production of halophyte plants are of paramount importance since these crops do not compete for resources (eg. soil and water) with traditional crops.

Índice

1.	Introdução geral	1
2.	Plantas halófitas	2
2.1.	Alternativa aos cultivos convencionais.....	2
2.2.	Estratégias de germinação.....	2
2.3.	Mecanismos de adaptação ao stress salino	3
2.4.	Potencialidades das halófitas	4
3.	<i>Salicornia L.: potencialidades e cultivo</i>	6
3.1.	<i>Salicornia ramosissima</i>	7
3.2.	Potencialidades comerciais.....	9
3.3.	Cultivo comercial	11
4.	Objetivos.....	16
5.	Material e métodos	17
5.1.	Local de estudo	17
5.2.	Origem das sementes	17
5.3.	Ensaio 1 – Germinação de <i>Salicornia ramosissima</i> em condições controladas	17
5.4.	Ensaio 2 – Germinação de <i>Salicornia ramosissima</i> em tabuleiros de germinação	20
5.5.	Ensaio 3 – Germinação e produtividade de <i>Salicornia ramosissima</i> em leiras industriais de produção	21
5.6.	Determinação de eficiência fotossintética	23
5.7.	Análise estatística	23
6.	Resultados	24
6.1.	Ensaio 1 - Germinação de <i>Salicornia ramosissima</i> em condições controladas.....	24
6.2.	Ensaio 2 - Germinação de <i>Salicornia ramosissima</i> em tabuleiros de germinação.....	26
6.3.	Ensaio 3 - Germinação e produtividade de <i>Salicornia ramosissima</i> em leiras industriais de produção.....	29
7.	Discussão	31
7.1.	Germinação de sementes de <i>S. ramosissima</i>	31

7.2. Eficiência fotossintética de <i>S. ramosissima</i>	34
8. Conclusão.....	35
9. Referências bibliográficas.....	36

Índice de figuras

Figura 1 - <i>Salicornia ramosissima</i> : coloração de a) início de vida e b) fim de vida (fonte: flora on).....	7
Figura 2 – Desenho esquemático da planta <i>S. ramosissima</i> : a) hábito; b) espigão; c) semente. Adaptado de Castroviejo, 1990.	8
Figura 3 – Condições de sombra e sol nas leiras de salicórnia, na estufa da Riasearch, Lda....	12
Figura 4 – Sistemas de cultivo em Israel. A) Em dunas, com rega gota a gota. B) Em calhas de plástico. C) Com efluentes marinhos. D) Depois de colhidas as pontas. E) fibras de coco irrigadas com efluentes de aquacultura. F) Em unidades flutuantes com perlite (adaptado de Ventura & Sagi, 2013).....	13
Figura 5 – Cultivo de <i>S. bigelovii</i> na Baía da Califórnia, México (fonte: saline seed).....	14
Figura 6 – Cultivo de salicórnia ao ar livre nas regiões de Zeeland, Noruega (fonte: Schouwsezeekraal.)	15
Figura 7 – A) Tabuleiro de poliestireno com substrato e as sementes; B) caixa de plástico com água de tratamento; C) Caixas com os diferentes tratamentos em banho-maria.	18
Figura 8 – Desenho experimental: quatro contentores com água do banho-maria (15, 20, 25 e 30 °C). Refrigerador na temperatura de 15 °C.....	19
Figura 9 – A) contabilização das sementes germinadas; B) presença de fungos.....	19
Figura 10 – Estudo preliminar com a) tabuleiros de germinação (n=6) nas b) mesmas condições das leiras de produção industrial.	20
Figura 11 – A) e B) Germinação de <i>Salicornia ramosissima</i> nos tabuleiros; C) Ilustração da divisão da planta em parte aérea e raiz (linha tracejada).....	21
Figura 12 - Leiras utilizadas no estudo com as sementes de Portugal (letra P) e com as sementes de França (letra F).....	21
Figura 13 – Core utilizado para fazer as amostragens no ensaio 3.....	22
Figura 14 - Gráfico do peso médio da parte aérea das plantas de <i>S. ramosissima</i> provenientes de Portugal e França, nos tabuleiros de germinação, após 70 dias da sementeira.....	27
Figura 15 – Gráfico das médias de eficiência fotossintética das plantas dos tabuleiros de germinação das diferentes proveniências, após 70 dias da sementeira	27
Figura 16 - Crescimento nos tabuleiros de germinação das plantas provenientes de a) França e b) Portugal. Nos tabuleiros das plantas com origem francesa apresentavam c) reduzido crescimento e acabavam por d) entrar em senescência.....	28

Figura 17 – Gráfico do peso médio da parte aérea das plantas de *S. ramosissima* provenientes de Portugal e França, na primeira (71 dias) e segunda (93 dias) amostragens nas leiras30

Figura 18 - Gráfico das médias de eficiência fotossintética das plantas das leiras das diferentes proveniências, após 71 e 93 dias da sementeira. Diferenças significativas estão identificadas com diferentes letras ($p < 0,05$).30

Índice de tabelas

Tabela 1 - Taxa média de germinação das sementes totais ($n = 12$), centrais ($n = 6$) e laterais ($n = 6$) de *Salicornia ramosissima*, com origem portuguesa, em tratamentos de diferentes temperaturas vs. salinidades, após 71 dias de sementeira (média \pm desvio padrão).24

Tabela 2 - Taxa média de germinação das sementes totais ($n = 12$), centrais ($n = 6$) e laterais ($n = 6$) de *Salicornia ramosissima*, com origem francesa, em tratamentos de diferentes temperaturas vs salinidades, após 71 dias da sementeira (média \pm desvio padrão; # tratamentos com pelo menos 50% da germinação).25

Tabela 3 - Sucesso de germinação nos tabuleiros de germinação, em condições naturais, após 70 dias da sementeira ($n = 391$; média \pm desvio padrão). Diferenças significativas estão identificadas com diferentes letras ($p < 0,05$).26

Tabela 4 - Sucesso de germinação nas leiras, em condições naturais, após 71 (1ª amostragem) e 93 (2ª amostragem) dias de sementeira ($n = 391$; média \pm desvio p).29

1. Introdução geral

O desafio de providenciar alimento para uma população mundial em crescimento nunca foi tão grande. A forma como os recursos naturais aquáticos e terrestres têm sido utilizados, as pressões demográficas, as alterações climáticas e o aumento da competição por solo e por água aumentam esse desafio. Espera-se que a população seja de cerca de 9 bilhões em 2050, exigindo 70% mais de alimento, globalmente (FAO, 2011). Contudo, com o aumento da urbanização e degradação dos solos existe uma diminuição de terra arável disponível para a agricultura tradicional (Panta *et al.*, 2014). Esta também requer elevadas quantidades de água doce, recurso que é cada vez mais procurado para utilização doméstica e industrial (FAO, 2011). Assim, a água doce de qualidade é cada vez mais um recurso limitado e dispendioso (Rozema & Flowers, 2008; Ventura *et al.*, 2015). À realidade acima descrita, junta-se também a problemática do aumento da proporção de solos afetados pela salinização (Malcolm, 1969; Glenn & O'leary, 1984; Rozema & Flowers, 2008). Nestes solos, a maioria das colheitas agrícolas tradicionais exibe reduções de produtividade, podendo ainda exibir dificuldades em completar o seu ciclo de vida (Rozema & Flowers, 2008; Ventura *et al.*, 2015).

Perante o quadro acima descrito, existe uma necessidade crescente de produzir novas culturas alternativas em recursos habitualmente desperdiçados (p. ex. solos afetados por salinidade ou efluentes da indústria da aquicultura). As plantas halófitas surgem como uma fonte alternativa de alimento, devido à sua capacidade natural de crescer em solos salinos e às suas múltiplas aplicações na indústria alimentar (Ventura & Sagi, 2013).

2. Plantas halófitas

2.1. Alternativa aos cultivos convencionais

A domesticação de plantas halófitas é uma abordagem que deve ser considerada (Glenn & O'leary, 1984) para se conseguir cultivos viáveis e com alto rendimento. Deve-se ter em conta a germinação, a propagação, possíveis doenças, biomassa e a procura de mercado (Rozema & Flowers, 2008; Ventura *et al.*, 2011a). Algumas espécies podem ser cultivadas com sucesso em regiões áridas, usando água do mar para irrigação, representando assim um meio de subsistência para os agricultores menos favorecidos, ficando assim a água doce disponível para outras utilizações (Araus *et al.*, 2021).

As plantas halófitas constituem cerca de 1% da flora mundial e têm a capacidade de crescer e reproduzir-se em ambientes salinos com concentrações acima de 200 mM NaCl (Flowers & Colmer, 2008). Podem ser perenes, quando se reproduzem várias vezes durante a sua vida, ou anuais, quando se reproduzem apenas uma vez (Gul *et al.*, 2013). Além disso, existem ainda duas categorias de halófitas: (1) as que têm resistência ao sal e (2) aquelas que requerem sal para a sua sobrevivência ou crescimento máximo, completando o seu ciclo de vida em solos com elevadas concentrações de sais (Munir *et al.*, 2021; Yuan *et al.*, 2019). Estas plantas são encontradas em zonas intertidais e costeiras (Yuan *et al.*, 2019), sapais, estuários, dunas e desertos (Gul *et al.*, 2013).

Espécies do género *Salicornia* (anual) e *Sarcocornia* (perene) (Barreira *et al.*, 2017) são as halófitas mais produtivas e tolerantes à salinidade, prosperando naturalmente ao longo de salinas desde o Ártico ao Mediterrâneo, sujeitas às marés diárias (Ventura *et al.*, 2011a).

2.2. Estratégias de germinação

As plantas halófitas crescem sob condições muito variáveis de temperatura, disponibilidade de água e salinidade. Face a estas condições, evoluíram de modo a conseguirem perpetuar a sua espécie, seja num evento único de vida (anuais) ou ao longo da sua linhagem (perenes). O mecanismo de dormência nas sementes funciona como uma estratégia das plantas anuais para prevenir que não ocorra a germinação em condições que não são favoráveis para a sobrevivência das sementes, uma vez que estas plantas só se reproduzem uma vez. Em ambientes temperados, após um período de dormência durante o inverno, as sementes das halófitas têm a capacidade de recuperar deste estado e iniciam germinação no início da primavera, a uma temperatura entre 5 – 15 °C (Gul *et al.*, 2013). Nesta

altura, a salinidade do solo diminui depois das chuvas, a temperatura sobe e as sementes menos enterradas no solo conseguem receber mais luminosidade para germinar (Singh *et al.*, 2014). Para a germinação de espécies distribuídas em regiões desérticas subtropicais, a disponibilidade de humidade é o fator mais importante, sem a qual não conseguem sobreviver. O heteromorfismo das sementes também é um fator importante na germinação das plantas anuais e perenes (Gul *et al.*, 2013). Nestes casos, diferentes cores e tamanhos de sementes significam respostas diferentes a estímulos ambientais: sementes mais pequenas e pretas (Harper *et al.*, 1970), produzidas pelas flores laterais, são menos tolerantes à salinidade e têm períodos de dormência maiores do que as sementes produzidas pelas flores centrais, maiores e castanhas. O dimorfismo das sementes das halófitas é considerado uma adaptação à variação de salinidade e stresse provocado pela salinidade e pela temperatura (Orlovsky *et al.*, 2016), enquanto as sementes castanhas são capazes de germinar em locais onde as pretas mostram dormência (Harper *et al.*, 1970). Este fenómeno permite que a população consiga manter a sua continuidade face a variações ambientais (Harper *et al.*, 1970).

2.3. Mecanismos de adaptação ao stress salino

As plantas halófitas, tal como outras plantas, têm as principais características necessárias para a tolerância ao sal: a habilidade de adquirir iões e armazená-los em compartimentos especiais no vacúolo e a discriminação em favor do ião potássio (K^+) sobre o ião sódio (Na^+) (Flowers *et al.*, 2010). Três estratégias principais são propostas: exclusão de sal pelas raízes, excreção de sais através das folhas com glândulas especializadas e a acumulação de sais em compartimentos especiais nos vacúolos (Nikalje *et al.*, 2019).

Equilíbrio osmótico

Quando há uma situação de stresse salino a concentração de iões no solo é maior do que na planta, provocando uma absorção dos iões de sal por parte da planta. Face a este desequilíbrio, a planta absorve os iões do solo e armazena-os nos vacúolos, diminuindo o potencial hídrico da planta. Estes compartimentos especiais nos vacúolos permitem absorver água necessária para sobrevivência, mas também conferem suculência à planta (Li *et al.*, 2020). Em ambientes salinos, onde os iões Na^+ e Cl^- (cloreto) são predominantes, é vital que as halófitas regulem o seu transporte das raízes para as folhas: devem ser acumulados o suficiente para o equilíbrio osmótico, mas o seu excesso deve ser evitado uma vez que se tornam tóxicos (Flowers *et al.*, 2010). A entrada de Na^+ e Cl^- nas células causa desequilíbrio iónico, podendo causar distúrbios fisiológicos significativos. A alta concentração de Na^+ inibe a absorção de iões K^+ , que é um fator essencial para o crescimento e desenvolvimento (Bhaskar

& Bingru, 2014). Como as estruturas químicas do Na⁺ e do K⁺ são idênticas, acredita-se que, em solos salinos, o Na⁺ entra pelos canais de K⁺, provocando o stresse iônico pelo excesso de Na⁺. Isto acaba por afetar o crescimento normal da planta e a manutenção do equilíbrio osmótico. Para atingir um equilíbrio entre estes íons, o excesso de Na⁺ é armazenado dentro do vacúolo, em compartimentos especiais (Li *et al.*, 2020), aumentando a síntese de metabolitos (p. ex. compostos fenólicos e flavonoides, entre outros) e o estabelecimento do equilíbrio osmótico (Flowers *et al.*, 2010). Contudo, o transporte ativo de íons tóxicos na membrana vacuolar constitui um gasto energético considerável (Flowers *et al.*, 2010), o que pode resultar numa redução do crescimento e da produção de biomassa (Ventura *et al.*, 2011a).

Fotossíntese

Geralmente, a fotossíntese é sensível ao aumento da salinidade no solo (Rasool *et al.*, 2019). As plantas halófitas, para sobreviverem em ambientes salinos, têm de ter sistemas fotossintéticos eficazes. A fotossíntese é realizada no cloroplasto, onde ocorre a absorção da luz através de pigmentos fotossintéticos como a clorofila; contudo, o stresse salino pode reduzir o conteúdo deste pigmento como já reportado nas espécies *Salicornia persica* e *Salicornia europaea* (Aghaleh *et al.*, 2009). Segundo Pérez-Romero *et al.* (2019), eventos de temperaturas extremas têm um impacto negativo na capacidade fotossintética de *S. ramosissima*, com este efeito a ser mais evidente em temperaturas extremas baixas, mesmo na presença de condições hipersalinas. A melhor eficiência fotossintética está relacionada com uma melhor funcionalidade de alguns passos da fotossíntese (Pérez-Romero *et al.*, 2019). Os parâmetros de fluorescência da clorofila são um conjunto de variáveis (p. ex. fluorescência no estado estacionário (F') e fluorescência máxima no estado adaptado à luz (F_m')) usados para descrever o mecanismo de fotossíntese das plantas, indicando uma melhor ou pior adaptação da planta ao ambiente (Pérez-Romero *et al.*, 2019).

2.4. Potencialidades das halófitas

Algumas plantas halófitas (p. ex. géneros *Sesuvium*, *Atriplex* e *Salicornia*) demonstram capacidades de fitoremediação de solos dada a sua capacidade para acumular metais pesados na sua biomassa (Mesa-Marín *et al.*, 2020; Nikalje *et al.*, 2018). Outra opção, é a utilização de campos de cultivo para funcionarem como biofiltros, para remoção de nutrientes de efluentes de aquacultura. Neste caso, as plantas são integradas num sistema de aquacultura multi-trófica integrada (IMTA), sendo elementos-chave para recuperar os nutrientes inorgânicos dissolvidos (p. ex. formas contendo azoto e fósforo) e incorporá-los numa biomassa valiosa. Neste caso, o produtor consegue recuperar parte do investimento realizado com o alimento

aquícola introduzido no sistema de produção, cuja parte dos nutrientes tinha sido desperdiçado (fezes e alimento não ingerido), através da venda de biomassa de plantas halófitas, além de ainda permitir economizar no tratamento de água e na rega dos cultivos (Brown *et al.*, 1999; Shpigel *et al.*, 2013). A capacidade de acumulação de altas concentrações de NaCl (cloreto de sódio) nos seus tecidos, associados a uma elevada biomassa, torna as plantas halófitas numa solução biológica para a reabilitação dos solos afetados pela salinização (Ganesh Chandrakant Nikalje *et al.*, 2019). Contudo, é de salientar que a dessalinização não pode ser garantida em todos os casos, uma vez que depende significativamente da salinidade do solo, de condições ambientais, como a quantidade de precipitação, e da irrigação, tornando o processo questionável (Panta *et al.*, 2014). As plantas halófitas também desempenham um papel importante na proteção costeira contra o aumento do nível do mar, a erosão, a ação das ondas e as suas sementes podem servir para uso dos pescadores (Nikalje *et al.*, 2019).

Por outro lado, as plantas halófitas também são ricas em ácidos gordos polinsaturados (Barreira *et al.*, 2017), nutrientes e vitaminas (Antunes *et al.*, 2021), tornando o seu perfil nutricional adequado ao consumo humano (Barreira *et al.*, 2017; Patel, 2016). Têm inúmeras aplicações comerciais como matéria-prima para forragem animal (Bhaskar & Bingru, 2014), óleo vegetal (Reiahisamani *et al.*, 2018), biocombustível (Turcios *et al.*, 2021) e compostos bioativos para aplicações medicinais (Panta *et al.*, 2014). Na medicina tradicional, algumas espécies desempenham um papel importante para tratar doenças como a artrite, reumatismo e diabetes (Panta *et al.*, 2014), devido às suas propriedades anti-bacterianas, anti-diabéticas, imunomoduladoras e osteoprotetivas (Patel, 2016). O cultivo destas em aquaponia permite canalizar os nutrientes inorgânicos dissolvidos desperdiçados pela produção de peixe ou camarão numa biomassa vegetal de elevado valor comercial. No camarão azul *Litopenaeus stylirostris*, dietas com farinha de *Salicornia bigelovii*, são uma solução viável uma vez que são produtos baratos e mostraram ser favoráveis para manter um elevado nível de crescimento e sobrevivência (Acosta-Ruiz *et al.*, 2011). Já em tilápias do Nilo *Oreochromis niloticus*, a farinha de *Salicornia bigelovii* pode substituir até 40% a farinha de peixe nas rações, sem redução do crescimento ou composição corporal. Contudo, quando a quantidade de farinha de *S. bigelovii* aumentou, o crescimento e a gordura corporal da tilápia reduziram significativamente (Belal & Al-Dosari, 1999). Algumas espécies como *Paspalum vaginatum* e *Sporobolus virginicus* são usadas comercialmente como produção de relva para campos de golfe e para paisagismo (Depew & Tilman, 2006). Já *Suaeda monoica* é usada para a indústria do papel na Índia (Rameshkumar & Eswaran, 2013).

3. *Salicornia* L.: potencialidades e cultivo

O género *Salicornia* L. (Amaranthaceae) é uma planta halófito anual, aparentemente sem folhas, com caules carnudos e extremamente ramificados (Davy *et al.*, 2001), crescendo normalmente por volta dos 30 cm (Bhaskar & Bingru, 2014). É encontrada em zonas de sapal distribuída pela Europa, América do Norte e Sul de África, considerada como ausente no sul da América e Austrália (Kadereit *et al.*, 2007). O sistema radicular tende a ser superficial, alcançando cerca de 10 a 20 cm de profundidade no sedimento (Davy *et al.*, 2001). Quando as plantas atingem a maturidade, cada ramo termina numa ponta carnuda de segmentos férteis, mais ou menos cilíndricos, com dois conjuntos opostos de três flores cada, uma central e duas laterais (Davy *et al.*, 2001), que dão origem a três sementes (Ventura *et al.*, 2011b). As espécies de *Salicornia* são verdes, mas vão-se tornando avermelhadas no outono (Bhaskar & Bingru, 2014). As suas pontas carnudas têm uma grande procura pela cozinha gourmet devido ao seu sabor salgado, mas também devido ao seu elevado valor nutricional (Ventura *et al.*, 2011a).

Este género está entre as plantas mais tolerantes à salinidade e ocorre frequentemente em zonas costeiras, zonas intertidais e salinas, desde climas temperados a tropicais (Bhaskar & Bingru, 2014), encontradas em grande parte da costa da Europa (Davy *et al.*, 2001). Geralmente, a germinação na costa europeia costuma ocorrer no início da primavera, quando a salinidade diminui devido ao teor de água doce no solo e ao aumento da temperatura (Singh *et al.*, 2014).

É de salientar que a taxonomia do género *Salicornia* é muito difícil, sendo por vezes complicado diferenciar algumas espécies (Davy *et al.*, 2001; Kadereit *et al.*, 2007). O cruzamento entre espécies geneticamente idênticas, levou ao desenvolvimento de populações localmente diferentes, com uma considerável plasticidade fenotípica (Bhaskar & Bingru, 2014), em resposta às variações abióticas do ambiente (Silva *et al.*, 2007). Um exemplo comum, é o facto das espécies *Salicornia ramosissima* J. Woods e *Salicornia europaea* L. serem classificadas com microespécies e serem incluídas no agregado de espécies *S. europaea agg.*, uma vez que é extremamente difícil diferenciá-las. A diferença morfológica limita-se a décimos de milímetro na largura da borda superior do caule. As duas espécies desenvolvem-se no mesmo habitat, mas *S. europaea* é encontrada no limite inferior da maré e *S. ramosissima* no limite superior, passando períodos do seu desenvolvimento fora de água (Bhaskar & Bingru, 2014).

3.1. *Salicornia ramosissima*

A espécie considerada neste estudo é a halófita anual *Salicornia ramosissima* J. Woods (1851), também conhecida como sal verde ou espargo do mar. Distribuída pelos sapais da Europa (Portugal, Espanha, França, Reino Unido e Alemanha), pode crescer até 40 cm, simples ou muito ramificada. Tem uma coloração verde-escura que se vai tornando verde-amarelada e, por último, avermelhada no fim do seu ciclo de vida (figura 1), depois da floração, entre maio e novembro. Produz um espigão terminal com dois conjuntos opostos de três flores cada (Davy *et al.*, 2001), que dão origem a três sementes dimórficas (figura 2) (Harper *et al.*, 1970). Em algumas espécies da família Amaranthaceae, as sementes maiores e mais escuras estão localizadas em partes específicas do espigão (Harper *et al.*, 1970). Na espécie *Salicornia ramosissima*, a flor central é mais larga do que as flores laterais e é responsável pela produção de uma semente maior. As flores laterais dão origem a duas sementes mais pequenas (Ameixa *et al.*, 2016). Ungar (1979) demonstrou que as sementes centrais de *S. europaea* são mais tolerantes ao sal, e que as sementes tinham melhor taxa de germinação quando tratadas com baixas salinidades e com água destilada. Pelo facto de serem mais tolerantes à salinidade, as sementes centrais de *S. europaea* têm pouca ou nenhuma dormência e não necessitam de luminosidade para germinarem ao contrário das sementes mais pequenas (Carter & Ungar, 2003).



Figura 1 - *Salicornia ramosissima*: coloração de a) início de vida e b) fim de vida (fonte: flora on)

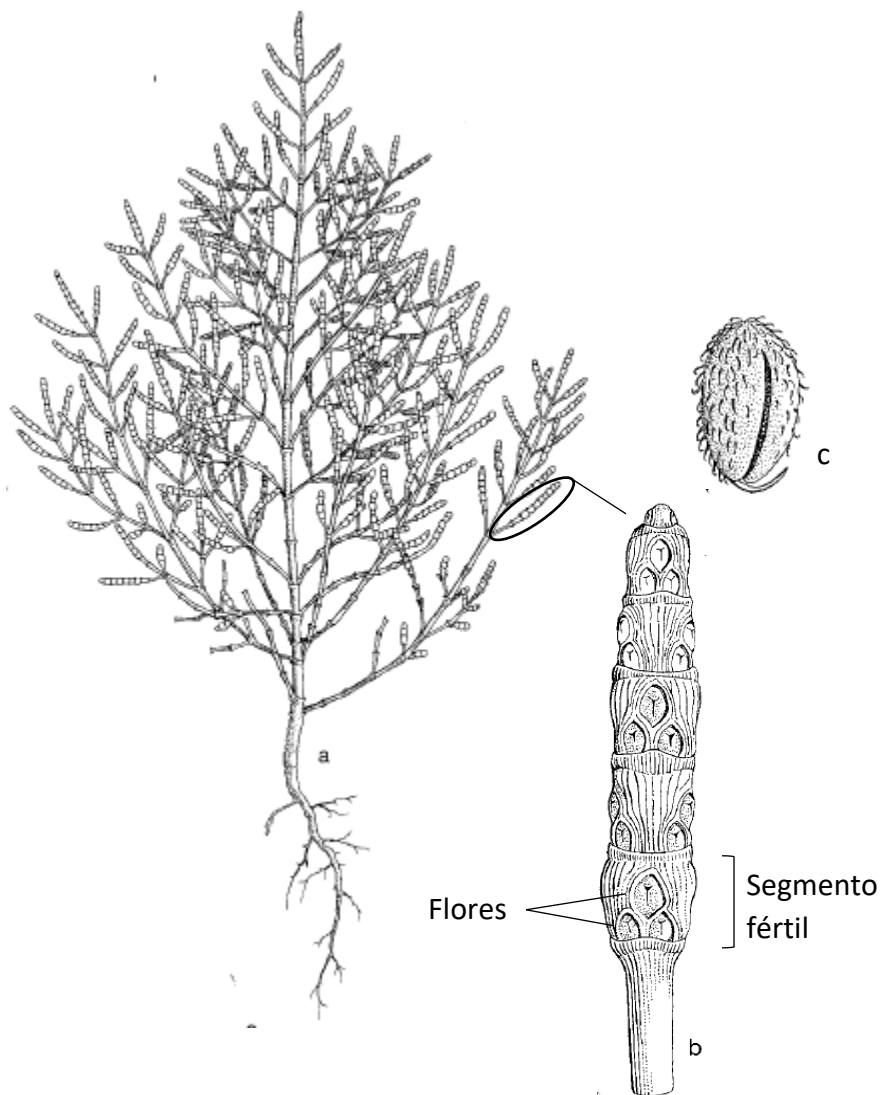


Figura 2 – Desenho esquemático da planta *S. ramosissima*: a) hábito; b) espigão; c) semente. Adaptado de Castroviejo, 1990.

Além deste mecanismo de sobrevivência das espécies, o banco de sementes também é essencial para a resiliência da espécie, especialmente para halófitas anuais como é o caso da *S. ramosissima* (Polo *et al.*, 2021). Este papel torna-se importante uma vez que a presença ou ausência de sementes no banco de sementes de uma comunidade afeta a presença ou ausência da espécie na vegetação acima do solo (Carter & Ungar, 2003). Algumas espécies sobrevivem a condições adversas criando um banco de sementes persistente (> 1 ano), e outras espécies tem um banco de sementes transitório (< 1 ano), como resultado da rápida

germinação ou morte das sementes (Polo *et al.*, 2021). De acordo com Carter & Ungar (2003), as sementes laterais de *S. europaea*, por apresentarem alguma dormência e necessitarem de luminosidade para germinar, formam um banco de sementes persistente, especialmente se estiverem enterradas (Carter & Ungar, 2003). Um estudo mais recente, realizado por Polo *et al.* (2021), mostrou que o banco de sementes de *S. ramosissima* depende mais da densidade populacional do que do número de sementes produzidas individualmente pela planta. Durante condições favoráveis, o banco de sementes é drasticamente reduzido durante o primeiro ano da dispersão de sementes devido à sua alta e rápida germinação ou pela predação das sementes (Polo *et al.*, 2021).

3.2. Potencialidades comerciais

Consumo humano

Já em 1986, Austenfel (1986) analisou as reservas nutricionais de sementes de *Salicornia europaea*. Foi descoberta uma alta percentagem dos ácidos linoléico (77%) e oleico (13%) (Austenfeld, 1986). Porém, pouco são os estudos realizados em *S. ramosissima* sobre o seu completo valor nutricional. Barreira *et al.* (2017) examinaram o valor nutricional em amostras de plantas adultas do Algarve, tendo determinado que *S. ramosissima* é um vegetal rico em proteína (5,20 g/100 g peso seco), baixo em gorduras (1,87 g/100 g peso seco) e uma fonte valiosa de minerais, particularmente o sódio (89,9 mg/g peso seco) e o magnésio (9,43 µg/g peso seco). Esta halófita também tem elevados níveis de ácidos gordos polinsaturados (Barreira *et al.*, 2017) que, adicionados aos benefícios anteriores, a torna adequada para o consumo humano. Recentemente, têm vindo a ser realizados estudos de modo a testar a sua aplicabilidade como um ingrediente funcional na indústria alimentar como um substituto ao sal (Antunes *et al.*, 2021; Pires-Cabral & Quintas, 2021).

Aplicações medicinais

Durante a adaptação ao stresse, as halófitas sintetizam diversos antioxidantes e metabolitos secundários com propriedades medicinais (Munir *et al.*, 2021). Estes compostos são encontrados em maiores concentrações nas plantas maduras do que nas mais jovens (Giordano *et al.*, 2021). Acredita-se que os compostos produzidos por *S. europaea*, como flavonoides, saponinas e alcaloides, tenham propriedades antioxidantes, antimicrobianas, anti-tumorais, anti-diabéticas e potencial neuroprotetor (Patel, 2016). *Salicornia europaea* tem um importante valor nutricional, uma vez que é rica em ácido linoleico conjugado. Este ácido mostrou ter funções anti-tumorais, antioxidantes e de imunidade (Li *et al.*, 2020). Extratos desta halófita também incluíam saponinas e ácido oleanólico, que mostram ser

eficazes na prevenção da diabetes e no tratamento contra a obesidade (Giordano *et al.*, 2021). Barreira *et al.* (2017) também mostrou o potencial de *S. ramosissima* como fonte de compostos antioxidantes devido ao alto conteúdo total em compostos fenólicos e de flavonoides, capazes de minimizar os efeitos do stresse oxidativo (Barreira *et al.*, 2017).

Óleo vegetal e forragem

Em 2005, a composição dos ácidos gordos polinsaturados de *Salicornia europaea* foi analisada por Liu *et al.* (2005), e descobriu que o óleo das sementes era bastante nutritivo. Foram encontrados em maiores concentrações o ácido linoleico (75,62%) e ácido oleico (13,04%) (Liu *et al.*, 2005). Num estudo conduzido por Reiahisamani *et al.* (2018), foi investigada a capacidade de *S. europaea* produzir óleo e forragem em resposta à salinidade. Segundo Reiahisamani (2018), os ácidos gordos linoleico e oleico representam 65 e 20%, respetivamente, do conteúdo total dos ácidos gordos no óleo. Esta composição de ácidos gordos foi fortemente influenciada pela salinidade, com a proporção a ser maior em solos mais salinos. Neste estudo, foi descoberto que, quanto maior era a salinidade, maior o teor de cinzas na forragem, algo que não é desejável uma vez que o teor de cinzas não contribui para energia derivada da digestão e é preciso energia adicional para a excretarem (Reiahisamani *et al.*, 2018).

Fitoremediação

As halófitas têm o potencial de serem utilizadas como espécies extrativas na fitoremediação de efluentes aquícolas, o que permite às empresas reduzir impacto do seu processo produtivo no ambiente beneficiando, ainda, de um rápido crescimento e alta produtividade (Lutts & Lefèvre, 2015; Nikalje & Suprasanna, 2018). *Salicornia ramosissima* é uma potencial candidata à fitoestabilização (estabilização dos contaminantes tóxicos na vegetação, diminuindo a sua mobilidade) do Cd (Cádmio), uma vez que atua como um reservatório deste metal. Esta acumulação deve-se pelo facto de várias etapas essenciais da fotossíntese serem tolerantes ao excesso Cd (Pérez-Romero *et al.*, 2016), prevenindo que o Cd se torne disponível para outros organismos (Pedro *et al.*, 2013). Um outro estudo, realizado por Mesa-Marín *et al.* (2019), demonstrou que *S. ramosissima* era capaz de acumular concentrações elevadas de metais pesados, maioritariamente nas raízes, com a bioadição de bactérias promotoras de crescimento para melhorar o potencial de fitoremediação e o crescimento das plantas. *Salicornia ramosissima* é assim uma excelente candidata para a restauração de ecossistemas degradados devido ao seu potencial de fitoremediação (Mesa-Marín *et al.*, 2020). Porém, a acumulação de metais pesados nas raízes pode constituir um

risco de poluição, por causa da decomposição das plantas, se a raiz não for colhida (Lutts & Lefèvre, 2015).

3.3. Cultivo comercial

Tendo em conta o interesse em espécies de *Salicornia*, torna-se importante a domesticação e cultivo destas espécies (Ventura & Sagi, 2013). As plantas halófitas, podem ser colhidas de populações selvagens ou podem ser cultivadas ao ar livre/estufas. O cultivo em estufas pode ser uma alternativa rentável e ecológica relativamente à colheita feita de populações selvagens (Rozema & Flowers, 2008; Araus *et al.*, 2021). Apesar da comunidade científica entender a importância de selecionar e tornar viável o cultivo de plantas halófitas, a maioria dos estudos é focado na tolerância destas ao sal, negligenciando o potencial comercial do seu cultivo (Ventura & Sagi, 2013). Um outro aspeto importante que não tem sido considerado, é o facto dos rendimentos de um cultivo serem geralmente apresentados como biomassa fresca ou seca por vaso ou por plantas individuais, negligenciando a densidade das plantas no cultivo (Ventura & Sagi, 2013).

O cultivo destas plantas requer uma redefinição das práticas agrícolas, que por sua vez têm de ser adaptadas a cada cultura específica (Santos *et al.*, 2017). Uma melhor compreensão dos níveis de salinidade adequados durante a irrigação para melhores taxas de germinação, crescimento, rendimento de sementes e a qualidade do produto final é fundamental (Araus *et al.*, 2021). É essencial otimizar a quantidade de rega em cada nível de salinidade (água salobra ou do mar) para evitar a salinização do solo e para manter uma salinidade adequada ao tipo de cultivo (Glenn & O’Leary, 1984). O uso de halófitas para combater a salinização do solo e a escassez de água doce em regiões áridas e semi-áridas é inevitável (Ventura & Sagi, 2013). Halófitas como *Sesuvium portulacastrum*, *Spartina marítima* e *Portulaca olerácea* são exemplos de potenciais candidatos para a dessalinização. Contudo esta técnica ainda está pouco desenvolvida (Nikalje *et al.*, 2019). A salinidade durante a germinação em espécies de *Salicornia* diminui a taxa de germinação (Santos *et al.*, 2017; Ventura *et al.*, 2011a), particularmente com nível de salinidade semelhante ao da água do mar (Araus *et al.*, 2021). O crescimento e a produção de sementes de *S. europaea* foram favorecidos quando cultivada com água salobra (Araus *et al.*, 2021; Flowers & Colmer, 2008). A variação anual da sobrevivência e crescimento da planta também depende das condições meteorológicas de cada ano. Apesar da intensidade luminosa não aparentar ter um efeito direto no crescimento da planta, a implementação de sombra nos campos de cultivo (figura 3), possivelmente, aumenta a biomassa de *S. ramosissima*, uma vez que altas temperaturas podem afetar o seu crescimento (Santos *et al.*, 2017).

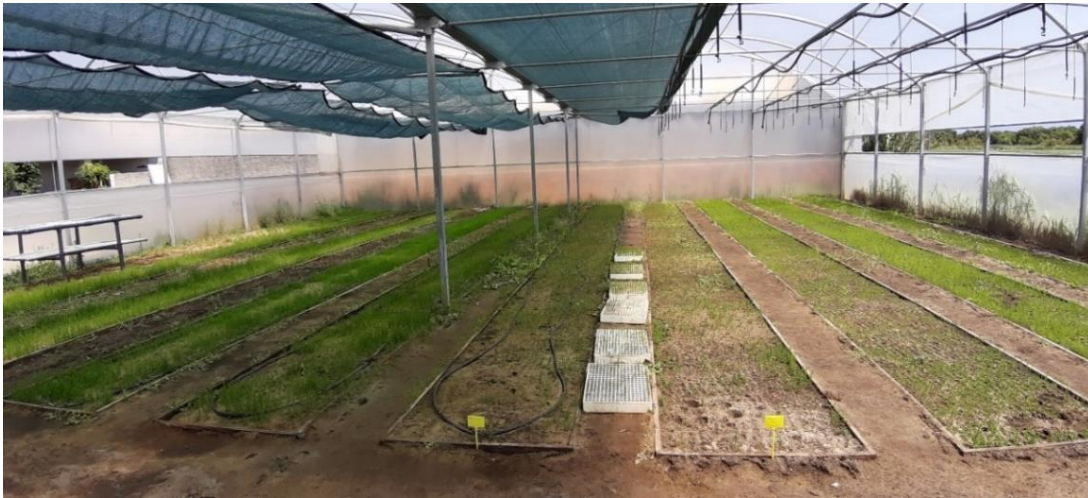


Figura 3 – Condições de sombra e sol nas leiras de salicórnia, na estufa da Riasearch, Lda.

A colheita também se torna um fator decisivo. Durante a produção de salicórnia, a floração é indesejada uma vez que só a planta jovem e tenra tem valor de mercado (Santos *et al.*, 2017; Ventura *et al.*, 2011b). Depois da floração iniciar, o crescimento decresce rapidamente, resultando na redução de produtividade (Ventura & Sagi, 2013). O estudo de Ventura *et al.* (2011b) sugere que a indução à floração é sensível à origem geográfica, baseada na latitude, com o fotoperíodo a ter um papel importante no atraso da floração das plantas. Neste último estudo referido foi demonstrado que um período de 13,3 horas diárias foi capaz de prevenir a floração nas variedades de *Salicornia* provenientes de Israel, mas para evitar a indução de flores em duas espécies originárias de latitudes mais a norte (França) foram necessárias mais de 18 horas diárias. Contudo, este último estudo ainda mostrou que a irrigação de *Salicornia* com água do mar (condutividade elétrica 48 dS m⁻¹) e água com salinidade moderada (condutividade elétrica 10 dS m⁻¹) não tem efeitos sob a floração (Ventura *et al.*, 2011b). Para entrar no mercado, o produto tem de ser visualmente atraente em termos de cor e embalagem e tem que chegar de forma consistente, com o sabor reconhecido pelo consumidor e com valor nutricional elevado para ser considerado *gourmet*. A alta quantidade de clorofila e carotenoides fornece uma medida da frescura da planta, através da sua cor verde (Barreira *et al.*, 2017). A salicórnia é consumida crua ou cozinhada, em saladas, como acompanhamento ou em pratos de carne e peixe devido ao seu sabor salgado e à sua textura crocante (Antunes *et al.*, 2021; Patel, 2016).

Embora o cultivo de espécies como *Salicornia bigelovii* (Brown *et al.*, 1999; Troyo-Diéguez *et al.*, 1994; Zerai *et al.*, 2010) tenha sido amplamente investigado, outras espécies tiveram pouca atenção (Araus *et al.*, 2021). Relativamente à *Salicornia ramosissima*, apesar de ser uma biomassa muito procurada pelo mercado, atualmente ainda existe pouca informação

sobre o seu cultivo e produtividade (Ventura *et al.*, 2011a). Os tópicos seguintes retratam os maiores produtores de salicórnia e a informação disponibilizada.

Médio oriente

Em Israel, a salicórnia é produzida em escala comercial para mercados internacionais e locais (Ventura & Sagi, 2013), com companhias como *Flora Export S.E Israel Ltd*, *Farmers Direct Ltd*, *Agrexco and Bacto Sil Ltd*. a serem responsáveis pela exportação (Gunning, 2016). O cultivo de salicórnia é, tipicamente, feito em estufas de 0,5-1 ha. O método mais comum para o crescimento de *Salicornia* em Israel é o cultivo em dunas, com rega gota a gota. É necessário colher manualmente as plantas mais jovens, uma vez que só a parte mais tenra e fresca da planta é aceite no mercado. Quando não é possível fazê-lo em dunas, usam zonas de produção artificiais com o fundo coberto por plástico e cheias de substrato. Sistemas de aquaponia com (p. ex. fibra de coco, perlite, areia) e sem substrato também tem sido testados na filtração de efluentes de aquacultura marinha (figura 4) (Ventura & Sagi, 2013). O maior produtor em Israel, “*Ein Mor Crops Ltd*”, tem mais de 15 anos de experiência no cultivo de salicórnia em estufa, exportando todos os anos cerca de 150 toneladas para a Europa através de várias companhias.

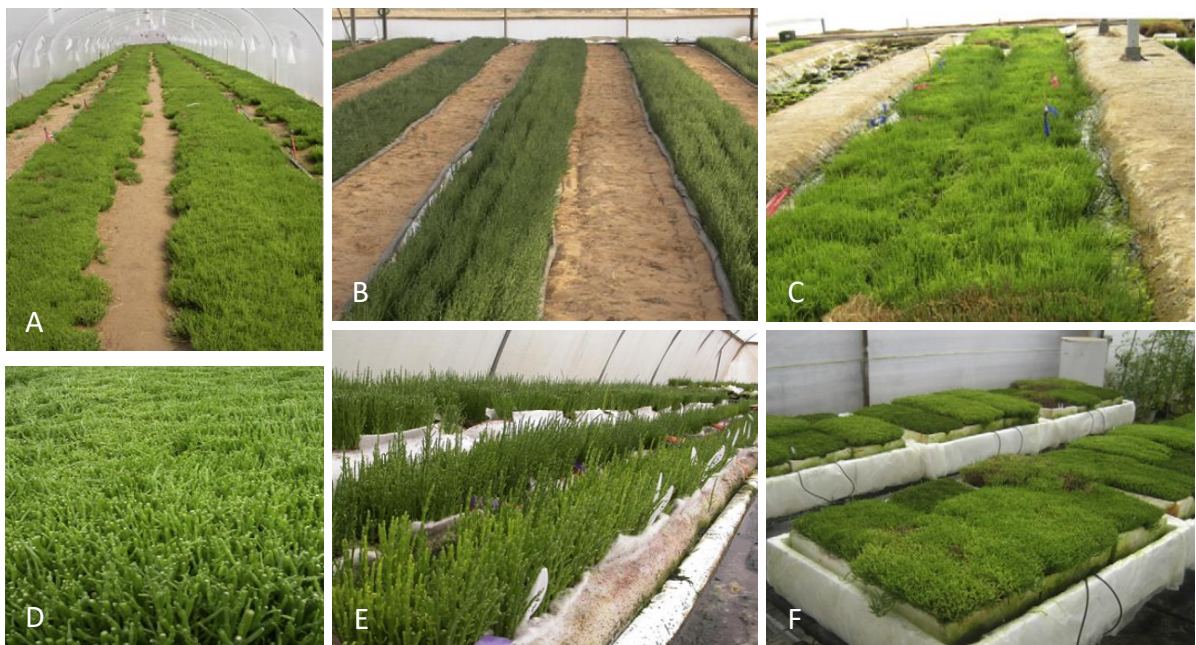


Figura 4 – Sistemas de cultivo em Israel. A) Em dunas, com rega gota a gota. B) Em calhas de plástico. C) Com efluentes marinhos. D) Depois de colhidas as pontas. E) fibras de coco irrigadas com efluentes de aquacultura. F) Em unidades flutuantes com perlite (adaptado de Ventura & Sagi, 2013).

No Kuwait, as regas dos campos de cultivo estão limitadas a água do mar dessalinizada, água salobra ou água tratada. São processos caros e que, por vezes, não estão disponíveis, levando à escassez dos recursos para o desenvolvimento da agricultura. De modo a haver uma expansão da agricultura no ambiente hostil em Kuwait, o Instituto de Pesquisa Científica de Kuwait, em cooperação com a Universidade do Arizona, realizou estudos em campos de ensaio com *Salicornia* spp., incluindo *Salicornia herbacea* nativa daquela zona. Foi estudado o potencial da biomassa da salicórnia, baseado em diferentes datas de sementeira e no potencial para forragem para os animais. Estes ensaios indicaram que a melhor sementeira para ter o máximo de biomassa seria no início de outubro. Também foi feito um ensaio com ovelhas para avaliar o sucesso da incorporação da salicórnia nas dietas, descobrindo-se que pode ser incorporada até 25% de salicórnia na dieta das ovelhas. A dieta com uma taxa de 12,5% de salicórnia foi a que obteve melhor taxa de crescimento, com um aumento de 154,7 g por ovelha por dia. Apesar de serem necessários mais estudos, o cultivo de salicórnia com água salgada parece ser promissor no Kuwait para a forragem animal, diminuindo assim a importação de forragem e a autossuficiência na alimentação animal (Abdal, 2009).

México

A Baía da Califórnia e Sonora são dos Estados mais áridos do México. Nestas zonas, torna-se importante a introdução de plantas halófitas como alternativa para o cultivo convencional de modo a assegurar a economia e para conservar água doce. As sementes de *Salicornia bigelovii*, natural do México, têm um elevado potencial como fontes alternativas de óleo e farinha, com um teor elevado de ácidos gordos polinsaturados (Troyo-Diéguez *et al.*, 1994). Saline seed, é uma companhia dedicada ao cultivo de *Salicornia bigelovii*, criada em 1997 e foi pioneira na distribuição de salicórnia no mundo. Está localizada no estuário de Moneadero, na Baía da Califórnia, sendo capaz de produzir salicórnia durante todo o ano, usando água do mar e solos com alto teor de sal, de modo a criar projetos sustentáveis (figura 5). Os produtos finais são salicórnia crua ou processada, em pó para ser usado como um suplemento mineral e também em sal (<https://www.salineed.com>).



Figura 5 – Cultivo de *S. bigelovii* na Baía da Califórnia, México (fonte: saline seed).

Europa

Na Europa, a salicórnia é cultivada ao ar livre ou em estufas para abastecer, principalmente, mercados locais ou restaurantes. Informações ou dados ao nível de produção ou métodos de produção são escassos ou inexistentes (Gunning, 2016).

A empresa “*De Schorreblomme*” tem vindo a cultivar salicórnia ao ar livre há seis anos. A salicórnia cresce selvagem nas regiões de Zeeland e do Mar de Wadden, na Noruega (figura 6). São os únicos produtores da região e vendem salicórnia a particulares, restaurantes e mercados locais (<https://www.schouwsezeekraal.nl>).



Figura 6 – Cultivo de salicórnia ao ar livre nas regiões de Zeeland, Noruega (fonte: Schouwsezeekraal.)

Em França, a salicórnia colhida na Baía de Somme representa quase 90% da produção. É colhida à mão pelos pescadores no final de maio até ao final de agosto e estima-se que 400-500 toneladas por ano distribuídas pelo país e pela Europa. Um outro produtor de França é a microempresa Corinne, da quinta “*Les Douceurs du Marais*”, que produz *Salicornia europaea*. A biomassa, apanhada à mão, é transformada localmente para vender ao natural, em marinada, como mostarda e também como sal (<http://www.lesdouceursdumarais.fr/>).

4. Objetivos

A espécie *S. ramosissima* tem elevados potenciais económicos e ambientais, com principal interesse na indústria alimentar para a substituição do sal ou na cozinha *gourmet*. Apesar de haver uma grande variedade de estudos em espécies do género *Salicornia*, estudos feitos sobre a espécie *S. ramosissima* são escassos, particularmente estudos sobre a germinação e a produtividade a nível industrial. Estes estudos são importantes uma vez que se torna necessária a produção de salicórnia ao longo de todo ano, de modo a fornecer biomassa para os mercados.

Tendo em vista este propósito, é importante que se conheçam estratégias de germinação e cultivo desta halófita. Assim, o trabalho experimental desta dissertação divide-se em duas partes. O primeiro ensaio, com duração de um mês, teve como principal objetivo encontrar condições ótimas de temperatura e salinidade para a germinação de *S. ramosissima*, utilizando sementes de diferentes origens (Portugal e França). Assim, testaram-se diferentes combinações de valores de temperatura e salinidades (15, 20, 25 e 30 °C e 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40) para a germinação de sementes de *S. ramosissima*, em banho-maria, no escuro. Nos ensaios seguintes, foram realizados dois trabalhos em ambiente de estufa, com o objetivo de determinar a eficiência de germinação e produtividade de *S. ramosissima* das duas proveniências referidas acima. Assim, foi realizado um trabalho preliminar em tabuleiros de germinação, passando depois para a testagem de produtividade em condições industriais em leiras. Nestes últimos trabalhos, utilizaram-se condições naturais de temperatura e luminosidade.

5. Material e métodos

5.1. Local de estudo

A germinação/produção das plantas de salicórnia foi feita na empresa RiaSearch, Lda., situada na Murtosa, Aveiro. A Riasearch é uma empresa de inovação e desenvolvimento em aquacultura, que se dedica, fundamentalmente, à realização de ensaios nutricionais, para validação de dietas destinadas a organismos aquáticos. A otimização da produção de plantas halófitas, como por exemplo *Salicornia ramosissima*, também entra nos objetivos de investigação e desenvolvimento da empresa, cuja biomassa pode ser canalizada para nutrição humana ou animal.

5.2. Origem das sementes

As sementes de *S. ramosissima* usadas neste estudo provêm de dois locais diferentes. Foram usadas sementes provenientes de Portugal, das Quintas do Norte, situadas na vila da Torreira, e sementes provenientes de França, La Turballe, “Les Douceurs du Marais”. Foram designadas por “sementes de Portugal” e “sementes de França”, respetivamente, para as várias etapas realizadas. As sementes, constituídas pelas sementes centrais e laterais, foram recolhidas após a secagem das plantas, no ano de 2020.

5.3. Ensaio 1 – Germinação de *Salicornia ramosissima* em condições controladas

Na primeira etapa do trabalho, foi avaliado o processo de germinação das diferentes sementes em condições controladas. Durante um mês, com início a 12 de fevereiro e fim a 12 de março, as sementes foram submetidas a diferentes combinações de salinidades e temperaturas durante o processo de germinação, de modo a investigar as condições ótimas para este processo. Tanto as sementes de Portugal como as sementes de França, foram separadas em sementes grandes e pequenas, as quais se assumiram serem as sementes centrais e laterais da planta, respetivamente. Foram usadas 36 combinações de diferentes valores de salinidade (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40) e temperatura (15, 20, 25 e 30 °C). As sementes foram colocadas em tabuleiros de poliestireno com 24 (6 x 4) poços no total. Foram formados quatro tratamentos correspondentes aos grupos de sementes (Grandes França, Pequenas Portugal, Pequenas França, Grandes Portugal). Cada tratamento foi avaliado com 6 réplicas (poços), tendo sido semeadas 3 sementes em cada uma destas réplicas. Em cada poço

utilizou-se substrato (areia) (figura 7A), previamente queimado na mufla durante 4h a 500 °C. Para a preparação das diferentes salinidades, foi preparada água a 40 de salinidade, com água doce filtrada por osmose inversa e sal sintético (RedSea Coral Pro salt), e posteriormente foi feita a diluição com água doce filtrada até se obterem as salinidades restantes. Os tabuleiros de poliestireno com substrato e sementes foram postos dentro de caixas de plástico com a respetiva água de cada tratamento (figura 7B), as quais posteriormente foram colocadas em banho-maria em contentores com água nas diferentes temperaturas (figura 7C).

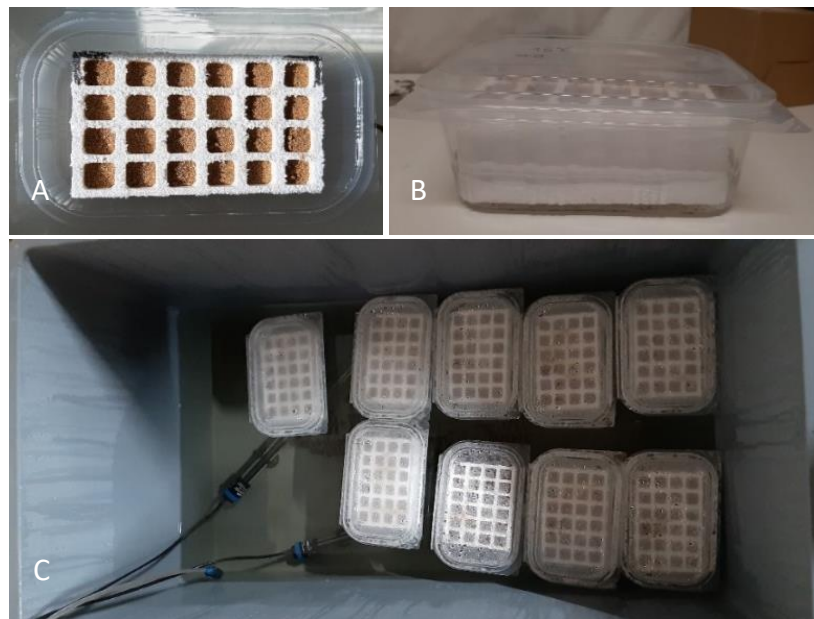


Figura 7 – A) Tabuleiro de poliestireno com substrato e as sementes; B) caixa de plástico com água de tratamento; C) Caixas com os diferentes tratamentos em banho-maria.

Para as temperaturas de 20, 25 e 30 °C, a água foi aquecida com recurso a resistências com termóstato, enquanto na temperatura de 15 °C, além da resistência estar presente, a água também circulou por um refrigerador de forma a garantir o controlo da temperatura estabelecida. Para a distribuição de calor nos contentores ser homogénea foi utilizado um arejador. Por fim, foram tapados com uma placa de esferovite de modo a manter a temperatura para o banho-maria o que implicou que este ensaio de germinação tenha decorrido sem luz (figura 8).



Figura 8 – Desenho experimental: quatro contentores com água do banho-maria (15, 20, 25 e 30 °C). Refrigerador na temperatura de 15 °C.

A renovação total da água de tratamento foi feita uma vez por semana. As temperaturas foram medidas diariamente com uma sonda multi-paramétrica portátil (HANNA instruments, Portugal) de modo a controlar possíveis variações de temperatura, e as sementes germinadas eram contabilizadas e retiradas três vezes por semana (figura 9A) (segundas, quartas e sextas). As sementes germinadas onde se detetou a presença de fungos (figura 9B) foram retiradas e contabilizadas.



Figura 9 – A) contabilização das sementes germinadas; B) presença de fungos.

5.4. Ensaio 2 – Germinação de *Salicornia ramosissima* em tabuleiros de germinação

No segundo ensaio, um teste preliminar, foi avaliada a germinação da salicórnia em tabuleiros de germinação em ambiente de estufa. Foram utilizados seis tabuleiros de poliestireno para a germinação (figura 10A) de sementes de Portugal e seis tabuleiros para germinação de sementes de França (n=6; cada tabuleiro era composto por 391 poços). Os tabuleiros foram colocados no meio das leiras de produção industrial (avaliadas no ensaio 3) para terem as mesmas condições de rega e de luminosidade (figura 10B).

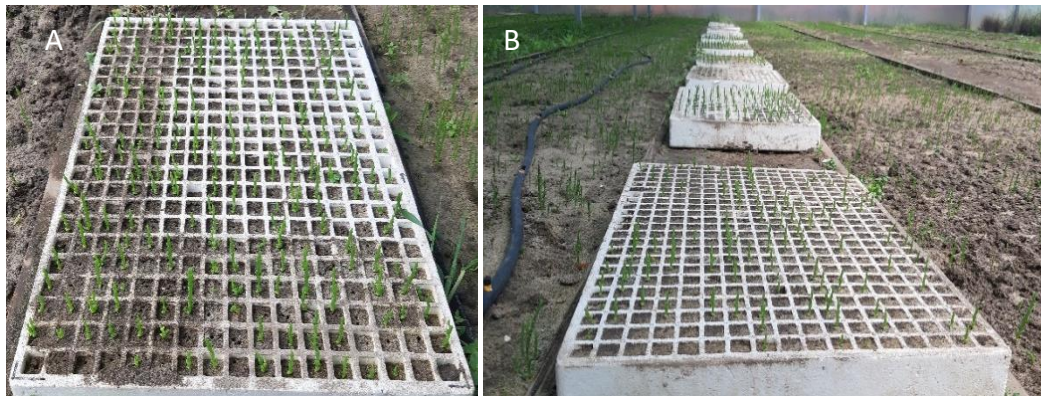


Figura 10 – Estudo preliminar com a) tabuleiros de germinação (n=6) nas b) mesmas condições das leiras de produção industrial.

Nos tabuleiros, o processo de germinação das sementes de França teve início a 25 de fevereiro e os restantes a 1 de março. No dia 6 de maio de 2021 (70 dias após sementeira), foi feita a amostragem das plantas de *S. ramosissima* dos tabuleiros com as sementes de França. Foram recolhidas aleatoriamente quinze plantas de cada tabuleiro (figura 11), passadas por água e divididas em parte aérea e raiz com uma tesoura (figura 11C). A parte aérea e a raiz foram pesadas separadamente para se obter a biomassa de cada parte da planta. No dia 10 de maio (70 dias após sementeira), o processo repetiu-se para as sementes de Portugal. No final foi calculado o sucesso de germinação.

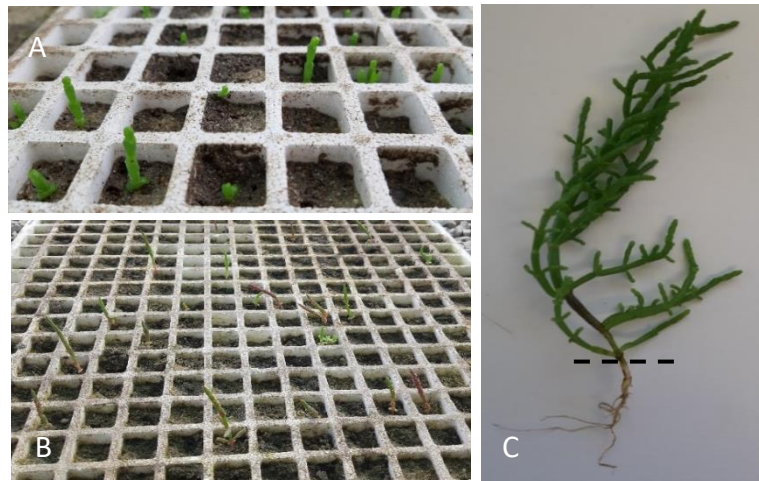


Figura 11 – A) e B) Germinação de *Salicornia ramosissima* nos tabuleiros; C) Ilustração da divisão da planta em parte aérea e raiz (linha tracejada).

5.5. Ensaio 3 – Germinação e produtividade de *Salicornia ramosissima* em leiras industriais de produção

Para avaliar a biomassa de *S. ramosissima* em condições industriais, foi feita a sementeira de salicórnia, proveniente de Portugal e de França, nas leiras da estufa. Neste ensaio foram utilizadas 2 leiras de 15m² (figura 12). Cada leira foi dividida em 3 com 5m², 3 com sementes de Portugal e 3 com sementes de França.

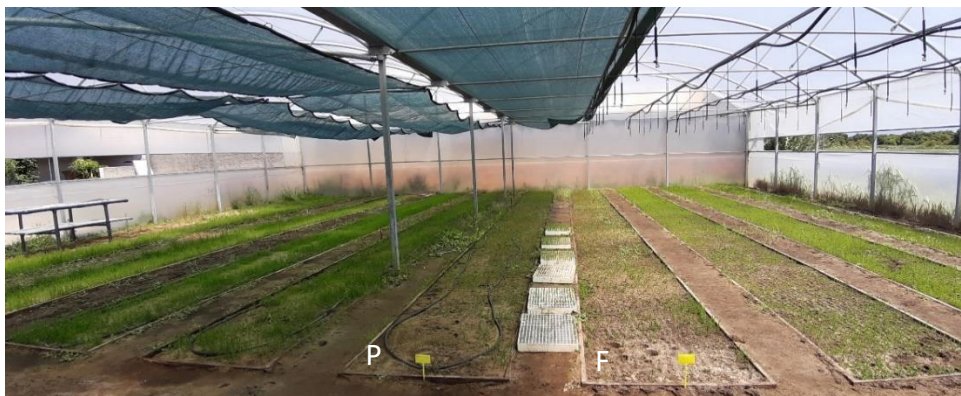


Figura 12 - Leiras utilizadas no estudo com as sementes de Portugal (letra P) e com as sementes de França (letra F).

Em cada leira foram usadas 10 g de sementes de salicórnia, ou seja, um total de 119.700 sementes. As leiras foram semeadas a 16 de fevereiro e beneficiaram do mesmo tipo de rega. Durante a fase de germinação, de 16 de fevereiro até 25 de março, foram regadas com água doce, três vezes por dia, de modo a humedecer o solo. Na fase de crescimento, as plântulas passaram a ser regadas com água salgada intervalado com água doce, através de alagadores, duas vezes por dia. O valor de salinidade das leiras foi mantido a 12, variando o fornecimento de água doce ou salgada consoante maior ou menor salinidade. Esta salinidade era medida com um refratômetro digital (HI 96822 HANNA instruments), através da água proveniente do sedimento que se recolhia nos MacroRhizon. A primeira amostragem teve lugar no dia 28 de abril de 2021, 71 dias após terem sido semeadas. Dentro de cada réplica, foram realizados, aleatoriamente, três cores de 15,5 cm x 20,5 cm (figura 13) tendo sido recolhidas todas as plantas dentro destas unidades. Estas plantas foram posteriormente lavadas e divididas em parte aérea e raiz para determinação de biomassa produzida. Na segunda amostragem, 20 de maio de 2021, após 93 dias, o procedimento realizado foi o mesmo referido anteriormente. No final, foi estimada a taxa de germinação.



Figura 13 – Core utilizado para fazer as amostragens no ensaio 3.

5.6. Determinação de eficiência fotossintética

A atividade fotossintética foi determinada com um fluorímetro de pulso modelado portátil (Mini-PAM, Walz). Uma vez que não se fez a adaptação das plantas ao escuro, foi determinada a eficiência fotoquímica do fotossistema II (PSII), calculado através de $(F'_m - F') / F'_m$, onde F'_m é o valor da fluorescência máxima no estado adaptado à luz e F' é o nível de fluorescência no estado estacionário, na luz (Genty *et al.*, 1989). Este valor, fornecido pelo Mini-Pam, indica a eficiência máxima do PSII. Estes valores foram medidos perpendicularmente à folha, em 3 pontos não sobrepostos, em quinze plantas selecionadas aleatoriamente de cada réplica no final dos ensaios 2 e 3.

5.7. Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o programa MINITAB 18 Software (State College, PA). Uma análise de variância de 1 fator (One-Way ANOVA) foi realizada para determinar a existência de diferenças significativas na taxa de germinação de sementes de origem portuguesa e francesa avaliada nos 3 ensaios realizados, nomeadamente: 1) em diferentes combinações de temperatura (15, 20, 25, 30) e salinidade (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40) (n=6); 2) em tabuleiros germinação (n=6); 3) em leiras industriais de germinação (n=3). De referir que no primeiro ensaio (Ensaio 1) a taxa de germinação de ambas as proveniências nas diferentes combinações de temperatura e salinidade foi avaliada independentemente, ou seja, análise estatística para as sementes de Portugal e outra para as sementes de França. De referir ainda que decidiu-se analisar estatisticamente apenas os tratamentos que exibiram germinação em pelo menos 50% das réplicas. Uma análise de variância de 1 fator (One-Way Anova) foi também realizada para avaliar a existência de diferenças significativas nas eficiências fotossintéticas e na biomassa produzida pelas plantas germinadas em tabuleiros e leiras industriais de produção (ensaio 2 e 3). Todos os dados foram previamente avaliados para a normalidade (Teste de Anderson-Darling) e homogeneidade de variâncias (testes de Bartlett, Levene e F, consoante exibiam distribuição normal e não-normal). Para os dados percentuais, foi sempre realizada transformação *arcsen*. Quando a normalidade dos dados não foi verificada, as hipóteses foram testadas utilizando teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Diferenças significativas foram sempre consideradas com $p < 0,05$.

6. Resultados

6.1. Ensaio 1 - Germinação de *Salicornia ramosissima* em condições controladas

Na tabela 1, está representada a média da taxa de germinação de sementes de *Salicornia ramosissima*, de origem portuguesa. Nos valores de germinação total (sementes centrais e laterais), é possível observar que não houve qualquer germinação nas salinidades de 30, 35 e 40, nem à temperatura de 15 °C. Para estas sementes, a melhor eficiência de germinação foi conseguida no tratamento que combinou uma temperatura de 30 °C e uma salinidade 0, onde houve 11% de germinação. De referir ainda que as sementes centrais exibiram germinação em maior número de combinações de temperatura e salinidade do que as sementes laterais. No entanto, os tratamentos testados exibiram taxas de germinação inferiores a 50%, ou seja, mais de metade das réplicas não exibiram germinação, não tendo sido realizada análise estatística por este motivo.

Tabela 1 - Taxa média de germinação das sementes totais (n = 12), centrais (n = 6) e laterais (n = 6) de *Salicornia ramosissima*, com origem portuguesa, em tratamentos de diferentes temperaturas vs. salinidades, após 71 dias de sementeira (% média ± desvio padrão).

		Salinidade								
		0	5	10	15	20	25	30	35	40
		Sementes totais (%)								
	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	6 ± 9	0	0	3 ± 7	3 ± 7	3 ± 7	0	0	0
	25	6 ± 14	0	6 ± 9	3 ± 7	0	0	0	0	0
	30	11 ± 17	8 ± 14	8 ± 9	3 ± 7	0	3 ± 7	0	0	0
		Sementes centrais (%)								
Temperatura (°C)	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	6 ± 14	0	0	0	6 ± 14	6 ± 14	0	0	0
	25	6 ± 14	0	11 ± 17	6 ± 14	0	0	0	0	0
	30	17 ± 18	17 ± 18	17 ± 18	6 ± 14	0	0	0	0	0
		Sementes laterais (%)								
	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	6 ± 14	0	0	0	0	0	0	0	0
	25	6 ± 14	0	0	0	0	0	0	0	0
	30	6 ± 14	0	0	0	0	6 ± 14	0	0	0

Relativamente às sementes totais provenientes de França, é possível observar na tabela 2 que não houve germinação apenas em seis tratamentos: salinidade 20 e temperaturas 15 e 25 °C e salinidade 40 combinada com temperaturas de 15 e 20 °C. Neste caso, maior taxa de germinação volta a ser à temperatura de 30 °C, mas na salinidade 5. No entanto, a análise estatística aos tratamentos que exibiram germinação em pelo menos 50% das réplicas (valores assinalados com #) mostra que não existem diferenças significativas entre tratamentos (kruskall-Wallis; $p = 0,513$). As sementes centrais foram as que tiveram maior taxa de germinação, ocorrendo em 27 dos 36 tratamentos, enquanto nas sementes laterais houve germinação apenas em 12 dos 36 tratamentos, como mostra a tabela 2.

Tabela 2 - Taxa média de germinação das sementes totais ($n = 12$), centrais ($n = 6$) e laterais ($n = 6$) de *Salicornia ramosissima*, com origem francesa, em tratamentos de diferentes temperaturas vs salinidades, após 71 dias da sementeira (% média \pm desvio padrão; # tratamentos com pelo menos 50% da germinação).

		Salinidade								
		0	5	10	15	20	25	30	35	40
		Sementes totais (%)								
	15	19 \pm 16 [#]	6 \pm 14	3 \pm 7	3 \pm 7	0	3 \pm 7	3 \pm 7	3 \pm 7	0
	20	8 \pm 14	7 \pm 3	11 \pm 14 [#]	3 \pm 7	8 \pm 9 [#]	11 \pm 14 [#]	0	3 \pm 7	0
	25	19 \pm 19 [#]	0	3 \pm 7	6 \pm 9	0	6 \pm 9	6 \pm 9	3 \pm 7	3 \pm 7
	30	19 \pm 13 [#]	25 \pm 17 [#]	14 \pm 16 [#]	8 \pm 14	8 \pm 9 [#]	3 \pm 7	3 \pm 7	3 \pm 7	3 \pm 7
		Sementes centrais (%)								
Temperatura (°C)	15	28 \pm 14	11 \pm 27	6 \pm 14	6 \pm 14	0	6 \pm 14	0	0	0
	20	11 \pm 17	6 \pm 14	22 \pm 27	6 \pm 14	22 \pm 27	11 \pm 14	0	6 \pm 14	0
	25	33 \pm 42	0	0	6 \pm 14	0	6 \pm 9	6 \pm 9	6 \pm 14	6 \pm 14
	30	33 \pm 21	50 \pm 35	22 \pm 27	6 \pm 14	17 \pm 18	6 \pm 14	3 \pm 7	6 \pm 14	6 \pm 14
		Sementes laterais (%)								
	15	11 \pm 27	0	0	0	0	0	6 \pm 14	6 \pm 14	0
	20	6 \pm 14	0	0	0	0	0	0	0	0
	25	6 \pm 14	0	6 \pm 14	6 \pm 14	0	11 \pm 17	6 \pm 14	0	0
	30	6 \pm 14	0	6 \pm 14	11 \pm 17	0	0	0	0	0

De acordo com os dados apresentados, o sucesso de germinação das sementes de *S. ramosissima* de França (7%) foi maior do que o de Portugal (2%). Além disto, as sementes de

origem francesa germinaram em 30 condições diferentes, ao contrário das de origem portuguesa onde só houve germinação em 12 condições.

6.2. Ensaio 2 - Germinação de *Salicornia ramosissima* em tabuleiros de germinação.

No ensaio 2, preliminar ao realizado em condições industriais de produção em leiras, as sementes de origem portuguesa tiveram maior taxa de germinação nos tabuleiros de germinação, cerca de $48 \pm 25\%$, por oposição às sementes provenientes de França que apenas tiveram $13 \pm 5\%$ (tabela 3). Foram verificadas diferenças significativas entre as taxas de germinação das diferentes proveniências (One-Way ANOVA; $p = 0,009$).

Tabela 3 - Sucesso de germinação nos tabuleiros de germinação, em condições naturais, após 70 dias da sementeira ($n = 6$; média \pm desvio padrão). Diferenças significativas estão identificadas com diferentes letras ($p < 0,05$).

	Portugal	França
Sucesso de germinação (plantas/tabuleiro)	188 ± 97	50 ± 19
Sucesso de germinação (%)	48 ± 25^a	13 ± 5^b

No gráfico da figura 14 é possível observar que a biomassa nas plantas de Portugal ($0,685 \pm 0,327$ g) foi superior às plantas de origem francesa ($0,232 \pm 0,109$ g), após 70 dias. Foram identificadas diferenças significativas na biomassa aérea produzida nas plantas das diferentes proveniências (One way ANOVA; $p = 0,009$). No final do ensaio, a raiz representava apenas cerca de 4% do peso total das plantas de origem portuguesa e cerca de 6% do peso total nas de origem francesa.

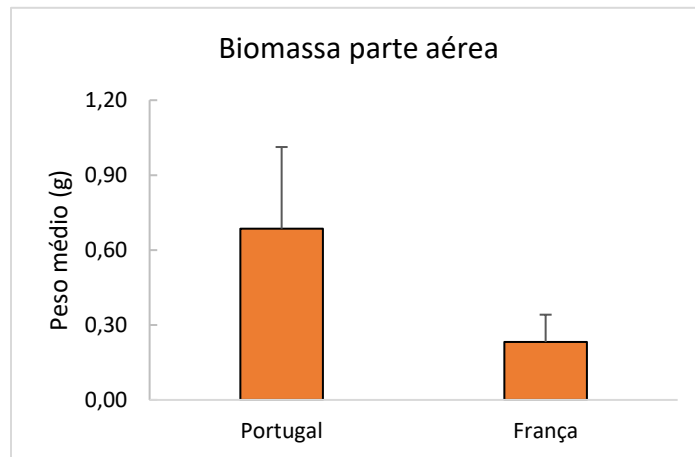


Figura 14 - Gráfico do peso médio da parte aérea das plantas de *S. ramosissima* provenientes de Portugal e França, nos tabuleiros de germinação, após 70 dias da sementeira.

No final da amostragem, foi determinado o valor médio de eficiência fotossintética das plantas, encontrando-se os valores representados na figura 15. A análise deste gráfico permite verificar que as plantas provenientes de sementes de Portugal exibiam uma eficiência fotossintética superior à apresentada pelas plantas francesas, tendo sido determinadas diferenças significativas entre as proveniências (One-Way ANOVA; $p = 0,028$). As primeiras tinham uma eficiência fotossintética média de $0,704 \pm 0,012 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e as segundas uma média de $0,687 \pm 0,022 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

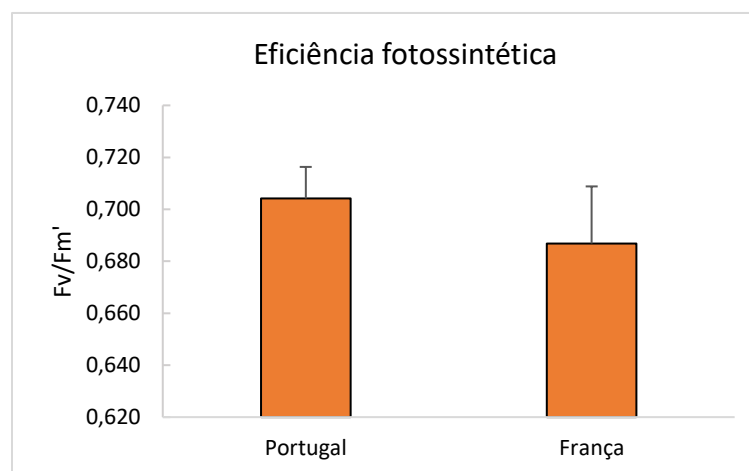


Figura 15 – Gráfico das médias de eficiência fotossintética das plantas dos tabuleiros de germinação das diferentes proveniências, após 70 dias da sementeira.

Como é possível observar na figura 16, a taxa de germinação das sementes com origem francesa (figura 16C) foi inferior às de origem portuguesa (figura 16B). Não foi possível realizar uma 2ª amostragem deste ensaio, uma vez que passado algum tempo após o início da floração, as plântulas com origem das sementes francesas entraram em senescência, secando por completo (figuras 16A e B).

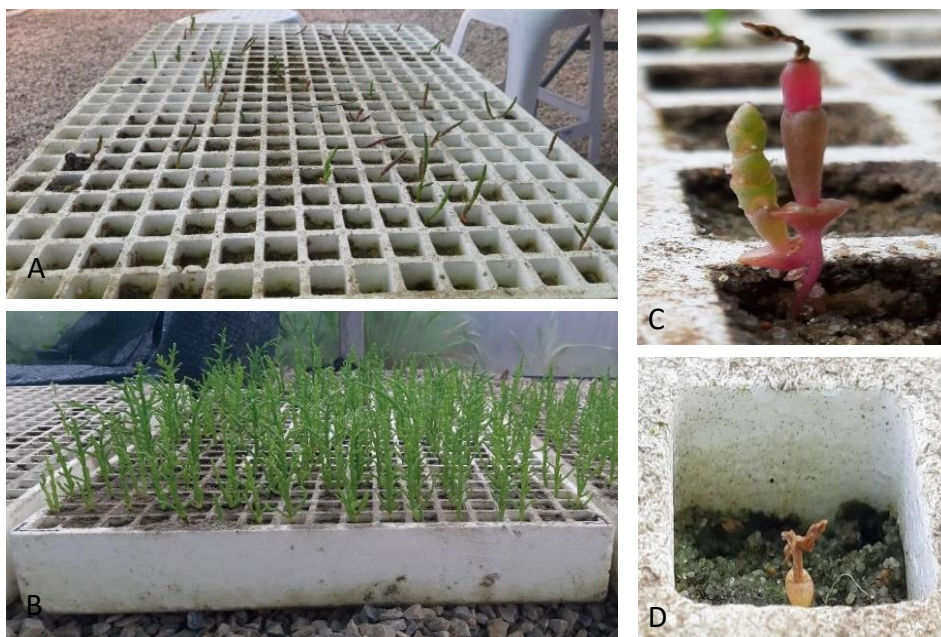


Figura 16 - Crescimento nos tabuleiros de germinação das plantas provenientes de a) França e b) Portugal. Nos tabuleiros das plantas com origem francesa apresentavam c) reduzido crescimento e acabavam por d) entrar em senescência.

6.3. Ensaio 3 - Germinação e produtividade de *Salicornia ramosissima* em leiras industriais de produção.

No ensaio 3, que visou avaliar a germinação e produtividade a uma escala industrial de produção em leiras em ambiente de estufa. Setenta e um dias após sementeira as sementes de Portugal exibiram um sucesso de germinação de $14 \pm 4\%$, enquanto nas de França foi de $12 \pm 3\%$. Posteriormente, numa segunda amostragem, este sucesso de germinação aumentou para $20 \pm 2\%$ nas sementes de Portugal e $15 \pm 6\%$ nas sementes de França. O número total de sementes germinadas por área com as sementes de Portugal foi de 1616 plantas/m² e 1213 plantas/m² com as sementes de França, como representado na tabela 4. No entanto, a análise estatística mostrou que não existem diferenças significativas nas produtividades mencionadas acima (One-Way ANOVA; $p = 0,222$). É de salientar, que a floração das plântulas provenientes de França começou a 19 de abril, 50 dias depois de semeadas, enquanto nas plântulas de Portugal não foi registado nenhum sinal de floração.

Tabela 4 - Sucesso de germinação nas leiras, em condições naturais, após 71 (1ª amostragem) e 93 (2ª amostragem) dias de sementeira (n = 6; média \pm desvio padrão).

Amostragem	Portugal		França	
	1	2	1	2
Sucesso de germinação (plantas/m ²)	1087 \pm 334	1616 \pm 143	925 \pm 234	1213 \pm 461
Sucesso de germinação (%)	14 \pm 4	20 \pm 2	12 \pm 3	15 \pm 6

No gráfico da figura 17, é possível observar que a biomassa aumentou na segunda amostragem, principalmente nas plantas de Portugal. Apesar das variações observadas, não foram identificadas diferenças significativas na biomassa aérea produzida nas plantas das diferentes proveniências em ambas as amostragens (Kruskall-Wallis; $p=0,827$ e $p=0,275$, respetivamente). No final do ensaio, a raiz representava apenas cerca de 3% do peso total das plantas, tanto na salicórnia de origem portuguesa como de origem francesa.

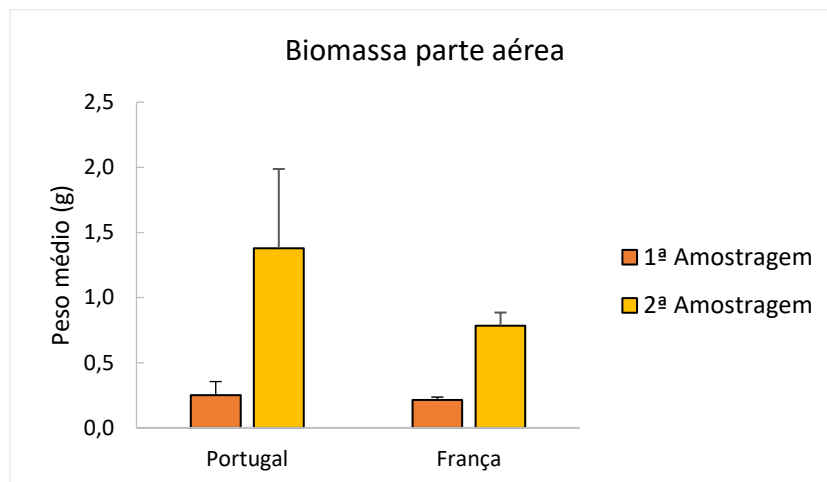


Figura 17 – Gráfico do peso médio da parte aérea das plantas de *S. ramosissima* provenientes de Portugal e França, na primeira (71 dias) e segunda (93 dias) amostragens nas leiras

Neste ensaio também se determinou a eficiência fotossintética das plantas cultivadas nas leiras industriais de produção. Na figura 18 encontram-se representados os valores médios determinados para as plantas de origem portuguesa e francesa, em amostragens realizadas 71 e 93 dias após sementeira. Apenas na 1ª amostragem se detetaram diferenças significativas nas eficiências fotossintéticas, com as plantas de origem portuguesa a exibirem valores superiores (One-Way ANOVA; $p = 0,023$ e $p = 0,054$ respetivamente). De referir ainda que os valores determinados na 2ª amostragem, para cada um dos grupos, foram muito superiores aos determinados na 1ª amostragem.

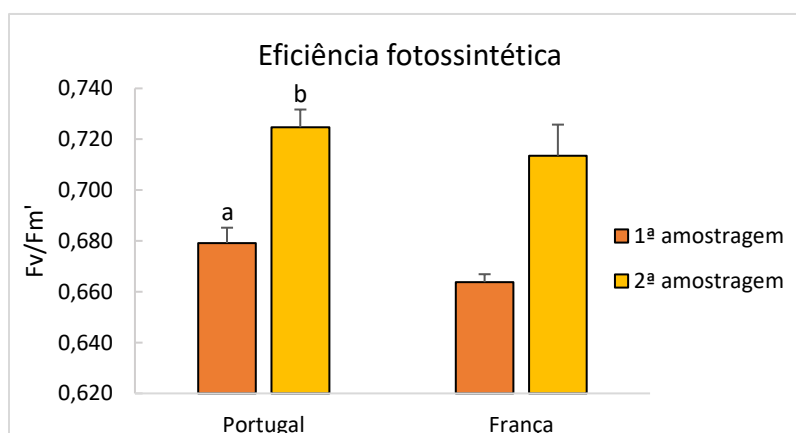


Figura 18 - Gráfico das médias de eficiência fotossintética das plantas das leiras das diferentes proveniências, após 71 e 93 dias da sementeira. Diferenças significativas estão identificadas com diferentes letras ($p < 0,05$).

7. Discussão

7.1. Germinação de sementes de *S. ramosissima*

De modo a determinar condições favoráveis para a germinação e crescimento de *S. ramosissima* em condições industriais de produção, foram desenvolvidos ensaios de germinação em condições de temperatura e salinidade controladas. Posteriormente, foram desenvolvidos ensaios de crescimento desta planta halófito em estufa, primeiro em tabuleiros de germinação e posteriormente em leiras à escala industrial. Para a germinação em condições controladas de temperatura e salinidade, os resultados obtidos mostraram uma tendência decrescente da germinação com um aumento da salinidade, seja em sementes provenientes de Portugal ou de França. A diminuição da germinação com o aumento da salinidade está de acordo com o indicado em outros estudos realizados previamente (Aghaleh *et al.*, 2009; Ameixa *et al.*, 2016; Araus *et al.*, 2021), sugerindo que as sementes (centrais e laterais) de *S. ramosissima* têm um maior sucesso de germinação a baixas salinidades ou água doce. Estes resultados encontram-se também de acordo com o observado com o ciclo natural desta planta, onde é no início da primavera, após as chuvas de inverno, que os solos apresentam condições ótimas de temperatura e salinidade para que a germinação ocorra (Gul *et al.*, 2013). A taxa média de germinação das sementes de origem portuguesa foi de 2%, enquanto as de origem francesa exibiram uma taxa de 7%. Neste estudo, foi ainda possível observar que as sementes de origem francesa exibiram germinação num maior número de combinações de temperatura e salinidade o que poderá ser indicativo de que estas sementes estão mais preparadas para suportar uma gama mais larga de temperatura e salinidade. A ausência de diferenças significativas entre tratamentos não permitiu determinar condições ótimas de germinação. Contudo, apesar das sementes não terem germinado nas salinidades mais elevadas, tanto as sementes de origem portuguesa como de origem francesa germinaram em quase todas as temperaturas entre os 20 – 35 °C, sugerindo que neste caso a salinidade tem uma maior influência no sucesso da germinação do que a temperatura.

Estas plantas exibem sementes dimórficas que têm períodos de germinação diferentes: as sementes centrais (grandes) no início da primavera e as laterais (mais pequenas) no fim da primavera/início de verão (Gul *et al.*, 2013). Neste estudo, as sementes centrais foram as que tiveram valores superiores de germinação, que se pode justificar pelo facto de apresentarem pouca ou nenhuma dormência e de não necessitarem de luz para germinar (Carter & Ungar, 2003). Este caso está de acordo com um estudo realizado por Orlovsky *et al.* (2016), onde a percentagem de germinação de sementes centrais foi maior do que das sementes pequenas, que poderá dever-se ao facto das sementes laterais apresentarem dormência sob condições não favoráveis (Orlovsky *et al.*, 2016).

Considerando o potencial desta planta halófito no mercado, é essencial desenvolver técnicas de cultivo que sejam adaptadas a *S. ramosissima* e para que o produto final seja viável e de alto rendimento. Para se tentar perceber a produtividade a uma escala menor, foi feito um estudo preliminar de germinação em tabuleiros de germinação, com as condições naturais de temperatura e luminosidade presentes nas estufas de produção. Nestas condições, os tabuleiros com as sementes de Portugal tiveram um sucesso de germinação de 48%, em contraponto com os tabuleiros com as sementes de França que só tiveram 13% de sucesso de germinação. Estes resultados foram contraditórios relativamente aos alcançados no primeiro ensaio experimental, muito provavelmente porque neste caso as sementes germinaram num substrato mais seco (apenas se procedeu a rega duas vezes por dia). No primeiro ensaio experimental, o substrato com sementes esteve sempre parcialmente submerso no meio aquoso de cultivo e, como já foi referido anteriormente, estas condições provavelmente beneficiaram mais a germinação de sementes de origem francesa, enquanto as condições mais secas beneficiaram as sementes de origem portuguesa. Para além disso, as plantas de *S. ramosissima* germinadas a partir das sementes de Portugal cresceram saudáveis e com uma cor verde-escura, típica da planta, até ao dia da amostragem. A baixa taxa de germinação das sementes de França poderá ter-se devido ao facto de não terem as condições ideais de germinação e crescimento, numa região geográfica diferente. Esta hipótese está de acordo com Ventura *et al.* (2011b), onde espécies de salicórnia originárias de latitudes como a de França (~48 °N) precisavam de 18 horas de luz diárias para prevenir, temporariamente, a floração. A floração tardia de espécies de salicórnia, com um aumento de luz diária, tornam estas espécies mais atrativas para a produção comercial, para um melhor crescimento e rendimento das partes comestíveis (Ventura *et al.*, 2011b; Izadi *et al.*, 2020). Depois de algum tempo após o início da floração, estas plântulas entraram em senescência, secando por completo. Este facto também teve interferência na contabilização menor determinada para este grupo de plantas na amostragem final. Um outro aspeto é a intensidade de luz diária que as plantas recebem. Para a planta halófito *Salicornia europaea*, as densidades de fluxo radiante encontradas no seu habitat natural parecem ser necessárias para prevenir a floração (Davy *et al.*, 2001), o que poderia não ter acontecido neste estudo com as plântulas de origem francesa. Estas diferenças refletiram-se estatisticamente, com as plantas de origem portuguesa a revelarem uma melhor adaptação e a exibirem germinações e eficiências fotossintéticas significativamente superiores.

Posteriormente ao trabalho de pequena escala feita nos tabuleiros de germinação, foi feito um estudo a uma escala industrial da germinação de *S. ramosissima* em leiras de 5 m², semelhantes aos obtidos anteriormente. A maioria das plantas de França começou a floração cinquenta dias após a germinação, diminuindo o seu crescimento a partir daqui. Esta diminuição de crescimento tem como consequência uma menor produção de biomassa e da produtividade do campo de cultivo, como foi possível observar pelos dados obtidos. É de

salientar que quando se fez a segunda amostragem nas leiras de *S. ramosissima* de Portugal, ainda havia bastantes sementes a germinar, ao contrário da leira com as plantas de origem francesa. Isto sugere que a taxa de germinação e a produtividade de *S. ramosissima* proveniente de Portugal seria ainda maior se o estudo se prolongasse no tempo, enquanto a de origem francesa iria manter-se sensivelmente nos mesmo valores. A diferença de germinação e desenvolvimento das plântulas destas diferentes origens deve-se ao ótimo de condições características de cada uma das proveniências geográficas das sementes em reconhecer o ótimo das condições. Este ensaio volta a estar de acordo com Ventura *et al.* (2011b), onde a floração é sensível à origem geográfica. Apesar das diferenças de temperatura ao longo do dia entre Aveiro e Nantes, cidades próximas da origem geográfica das sementes, serem semelhantes ao longo do ano (temperaturas médias anuais entre 9,8 – 21,8 °C e 6 – 19,5 °C, respetivamente), quando se iniciou a floração (abril) em Aveiro havia cerca de 13 horas de luz solar, e nesta mesma altura em Nantes existia apenas mais 1 hora de luz solar. Provavelmente, a floração precoce das sementes originárias de França está relacionada com as diferenças de horas de luz solar diárias e a intensidade luminosa, induzindo a planta a reproduzir-se mais cedo do que as plantas de origem portuguesa.

Neste trabalho foram realizadas várias abordagens para tentar perceber quais as melhores condições de germinação e crescimento inicial de sementes de diferentes origens de *S. ramosissima*. Com o primeiro ensaio (germinação controlada em diferentes condições de temperatura e salinidade) percebeu-se que, muito provavelmente, as sementes de origem francesa se encontram preparadas para germinar numa gama mais ampla de condições do que as sementes portuguesas. Sem existirem diferenças significativas evidentes, apenas foi possível comprovar que existe uma tendência para que a germinação ocorra melhor a salinidades mais baixas e valores de temperatura mais altos. Nos ensaios seguintes (ensaio 2 e 3) a germinação ocorreu num substrato com condições mais próximas do que ocorre com os espécimes selvagens de salicórnia. Nestes ensaios, foi evidente que as sementes de origem portuguesa exibiram uma melhor performance do que as de origem francesa, muito provavelmente devido à incapacidade das de origem francesa tolerarem diferentes condições ao seu habitat natural (fotoperíodo, temperatura, humidade, etc.). As plântulas de origem francesa, muito provavelmente devido ao facto de não estarem preparadas para as condições de cultivo testadas, entraram em floração e senescência prematura. É importante referir que, apesar de não se ter explorado este tema durante este trabalho, a produção de plantas halófitas utilizando recursos habitualmente não aproveitados pela agricultura tradicional (solos afetados pela salinidade, efluentes de aquacultura) é importante face à necessidade urgente de produzir alimentos para uma população em crescimento. No presente estudo, nos ensaios 2 e 3, a rega das plântulas foi realizada com água salobra proveniente de um sistema de recirculação de produção de camarão. Esta água encontra-se enriquecida com nutrientes

que podem assim ser incorporados em biomassa valiosa de plantas halófitas seguindo um conceito de aquacultura multi-trófica integrada (IMTA).

Relativamente à biomassa produzida, em ambos os ensaios, a tendência observada foi a mesma, ou seja, a taxa de germinação das sementes de Portugal foi superior. Relativamente à biomassa edível produzida (biomassa aérea) no presente estudo é importante referir que as plântulas com 93 dias após germinação de ambas as proveniências, exibiam um tamanho superior do que as germinadas na mesma localização por Jerónimo *et al.* (2020) em fibra de coco em condições naturais (sem estufa). De referir ainda que para diversas espécies de *Salicornia* tem sido reportados produtividades entre 17-21 Kg m⁻² (Webb *et al.*, 2012; Shpigel *et al.*, 2013; Webb *et al.*, 2013).

7.2. Eficiência fotossintética de *S. ramosissima*

Para avaliar a eficiência dos fotossistemas das plantas de Portugal e de França, determinou-se a fluorescência máxima no estado adaptado à luz (F_m'). Para plantas que não estão sujeitas a qualquer tipo de stress são de esperar valores de cerca 0,83, que corresponde ao rendimento máximo da fotossíntese (Björkman & Demmig, 1987). Com plantas adaptadas ao escuro, é obtida uma resposta máxima dos fotossistemas (F_m), pelo que é de esperar que o valor de fluorescência máxima adaptada à luz (F_m') seja menor. Relativamente à eficiência dos fotossistemas, tanto no ensaio preliminar como no ensaio à escala industrial, foi possível observar que o valor de eficiência fotossintética das plantas com origem de Portugal foi superior ao obtido pelas plantas de origem francesa. No ensaio preliminar, na primeira amostragem, houve diferenças significativas entre as diferentes proveniências, com as plantas de origem portuguesa a refletirem uma melhor eficiência fotossintética. Apesar dos valores determinados nas duas amostragens serem altos em ambas as proveniências, os valores um pouco mais baixos nas plântulas francesas muito provavelmente são o reflexo da condição de stress em que estas plântulas se encontravam, comprovado pela floração e senescência precoce das plântulas. Para a planta halófito *Salicornia europaea*, as densidades de fluxo radiante encontradas no seu habitat natural parecem ser necessárias para prevenir a floração (Davy *et al.*, 2001). Os valores superiores determinados na segunda amostragem, poderá estar relacionado com o facto de neste dia as plantas estarem expostas a condições naturais com maior intensidade luminosa do que o verificado na primeira amostragem. Contudo, apesar de as plantas de França já estarem na fase de floração e com uma coloração avermelhada, a eficiência fotossintética revelou-se eficaz, com valores semelhantes às plantas de origem portuguesa, aparentemente saudáveis e a crescer.

8. Conclusão

No presente estudo não foi possível determinar dados conclusivos sobre quais as melhores combinações de temperatura × salinidade para a germinação da halófito *Salicornia*

ramosissima. Contudo, foi possível concluir que as sementes exibem uma taxa de germinação superior em salinidades baixas, germinando em toda a gama de temperaturas avaliada. De referir ainda que, foram as sementes centrais que germinaram primeiro, em maior número, comparativamente com as sementes laterais.

Este trabalho demonstrou a potencialidade em campos de cultivo em estufa das sementes de *S. ramosissima* provenientes de Portugal, com as condições naturais de temperatura e regas com baixos valores de salinidade. O facto de haver uma baixa taxa de germinação de sementes de origem francesa, demonstra que estas plantas não se encontram tão adaptadas às condições de intensidade luminosa de uma localização geográfica semelhante a Aveiro. Esta diferença de germinação também teve um grande impacto na biomassa produzida pelos dois ecótipos de plantas, sendo claramente o cultivo com plantas de Portugal o que teve a maior produtividade.

Os dados de eficiência fotossintética mostram que as plantas das duas origens estavam saudáveis, com um índice de fluorescência elevado para plantas com intensidade luminosa realista, sem serem adaptadas ao escuro. Apesar das plantas com origem francesa já estarem no fim de ciclo de vida, a sua eficiência fotossintética foi inferior às de origem portuguesa, mas com valores superiores ao esperado.

A domesticação destas plantas com múltiplos potenciais e alto valor nutricional mostra-se uma excelente alternativa aos campos de cultivo convencionais, com práticas agrícolas sustentáveis. Além do mais, a investigação em sistemas de aquacultura multi-trófica deve ser de primordial importância no futuro próximo para que o desenvolvimento da aquacultura e agricultura salina se faça satisfazendo os objetivos de desenvolvimento sustentável.

9. Referências bibliográficas

- Aart-Jan & Mirjam Bil-Hekman. *De Schorreblomme, Schouwse Zeegroenten*. Disponível em <https://www.schouwsezeekraal.nl/>.
- Abdal, M. S. (2009). Salicornia production in Kuwait. *World Applied Sciences Journal*, 6(8), 1033–1038.
- Acosta-Ruiz, M. de J., Paniagua-Michel, J., Olmos-Soto, J., & Paredes-Escalona, E. (2011). First

- record on the use of *Salicornia bigelovii* and *Scomber japonicus* fishmeals as feed for *Litopenaeus stylirostris* under super-intensive farming. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 39(3), 409–415. <https://doi.org/10.3856/vol39-issue3-fulltext-2>
- Aghaleh, M., Niknam, V., Ebrahimzadeh, H., & Razavi, K. (2009). Salt stress effects on growth, pigments, proteins and lipid peroxidation in *Salicornia persica* and *S. europaea*. *Biologia Plantarum*, 53(2), 243–248. <https://doi.org/10.1007/s10535-009-0046-7>
- Ameixa, O. M. C. C., Marques, B., Fernandes, V. S., Soares, A. M. V. M., Calado, R., & Lillebø, A. I. (2016). Dimorphic seeds of *Salicornia ramosissima* display contrasting germination responses under different salinities. *Ecological Engineering*, 87, 120–123. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.11.019>
- Antunes, M. D., Gago, C., Guerreiro, A., Sousa, A. R., Julião, M., Miguel, M. G., Faleiro, M., L., & Panagopoulos, T. (2021). Nutritional characterization and storage ability of *salicornia ramosissima* and *sarcocornia perennis* for fresh vegetable salads. *Horticulturae*, 7(1), 1–12. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7010006>
- Araus, J. L., Rezzouk, F. Z., Thushar, S., Shahid, M., Elouafi, I. A., Bort, J., & Serret, M. D. (2021). Effect of irrigation salinity and ecotype on the growth, physiological indicators and seed yield and quality of *Salicornia europaea*. *Plant Science*, 304(December 2020). <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2021.110819>
- Austenfeld, F. -A. (1986). Nutrient reserves of *Salicornia europaea* seeds. *Physiologia Plantarum*, 68(3), 446–450. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1986.tb03380.x>
- Barreira, L., Resek, E., Rodrigues, M. J., Rocha, M. I., Pereira, H., Bandarra, N., Silva, M., M., Varela, J., & Custódio, L. (2017). Halophytes: Gourmet food with nutritional health benefits? *Journal of Food Composition and Analysis*, 59, 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.02.003>
- Belal, I. E. H., & Al-Dosari, M. (1999). Replacement of fish meal with *salicornia* meal in feeds for Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 30(2), 285–289. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1999.tb00877.x>
- Bhaskar, G., & Bingru, H. (2014). Mechanism of Salinity Tolerance in Plants: Physiological, Biochemical, and Molecular Characterization. *International Journal of Genomics*, 2014, 19. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1155/2014/701596>
- Björkman, O., & Demmig, B. (1987). Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta*, 170(4), 489–504. <https://doi.org/10.1007/BF00402983>
- Brown, J. J., Glenn, E. P., Fitzsimmons, K. M., & Smith, S. E. (1999). Halophytes for the treatment of saline aquaculture effluent. *Aquaculture*, 175(3–4), 255–268.

[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00084-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00084-8)

- Castroviejo, S. (1990). Chenopodiaceae. In: *Flora Iberica* Vol II. Castroviejo S., Laínz, M., González, G., Montserrat, P., Garmendia, F., Paiva, J. & Vilar, L. (Eds.). Real Jardín Botánico, C. S. I. C. Madrid
- Carter, C. T., & Ungar, I. A. (2003). Germination response of dimorphic seeds of two halophyte species to environmentally controlled and natural conditions. *Canadian Journal of Botany*, 81(9), 918–926. <https://doi.org/10.1139/b03-086>
- Corinne Lucas. *Les Douceurs du Marais*. Disponível em: <http://www.lesdouceursdumarais.fr/>
- Davy, A. J., Bishop, G. F., & Costa, C. S. B. (2001). *Salicornia* L. (*Salicornia pusilla* J. Woods, *S. ramosissima* J. Woods, *S. europaea* L., *S. obscura* P.W. Ball & Tutin and *S. dolichostachya* Moss), 89, 681–707.
- Depew, M.W., Tillman, P.H. (2006). Commercial application of halophytic turfs for golf and landscape developments utilizing hyper-saline irrigation. In: *M.A. Khan and D.J. Weber (eds.), Ecophysiology of High Salinity Tolerant Plants*, 255-278
- FAO. (2011). Chapter 1 STATUS AND TRENDS IN LAND. Retrieved from <http://www.fao.org/3/i1688e/i1688e03.pdf>
- Flowers, T. J., & Colmer, T. D. (2008). Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist*, 179(4), 945–963. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02531.x>
- Flowers, T. J., Galal, H. K., & Bromham, L. (2010). Evolution of halophytes: Multiple origins of salt tolerance in land plants. *Functional Plant Biology*, 37(7), 604–612. <https://doi.org/10.1071/FP09269>
- Genty, B., Briantais, J. M., & Baker, N. R. (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 990(1), 87–92. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(89\)80016-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(89)80016-9)
- Giordano, R., Saii, Z., Fredsgaard, M., Hulkko, L. S. S., Poulsen, T. B. G., Thomsen, M. E., Henneberg, N., Zucolotto, S., M., Arendt-Nielsen, L., Papenbrock, J., Thomsen, M., H., & Stensballe, A. (2021). Pharmacological insights into halophyte bioactive extract action on anti-inflammatory, pain relief and antibiotics-type mechanisms. *Molecules*, 26(11). <https://doi.org/10.3390/molecules26113140>
- Glenn, E. P., & O’Leary, J. W. (1984). Relationship between salt accumulation and water content of dicotyledonous halophytes. *Plant, Cell & Environment*, 7(4), 253–261. <https://doi.org/10.1111/1365-3040.ep11589448>
- Gul, B., Ansari, R., Flowers, T. J., & Khan, M. A. (2013). Germination strategies of halophyte

- seeds under salinity. *Environmental and Experimental Botany*, 92, 4–18. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.11.006>
- Gunning, D. (2016). Cultivating *Salicornia europaea* (Marsh Samphire). Daithi O' Murchu Marine Research Station & University College Cork: Dublin, Ireland, 2016; pp. 1–50
- Harper, J. L., Lovell, P. H., & Moore, K. G. (1970). The Shapes and Sizes of Seeds. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1(1), 327–356. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.01.110170.001551>
- Izadi, Y., Nabipour, M., & Ranjbar, G. H. (2020). Growth, development, and flowering responses of *Salicornia* genotypes to photoperiod. *International Journal of Vegetable Science*, 00(00), 1–19. <https://doi.org/10.1080/19315260.2020.1825149>
- Kadereit, G., Ball, P., Beer, S., Mucina, L., Sokoloff, D., Teege, P., ... Freitag, H. (2007). A taxonomic nightmare comes true: Phylogeny and biogeography of glassworts (*Salicornia* L., Chenopodiaceae). *Taxon*, 56(4), 1143–1170. <https://doi.org/10.2307/25065909>
- Li, L., Zhao, Y., Han, G., Guo, J., Meng, Z., & Chen, M. (2020). Progress in the Study and Use of Seawater Vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(22), 5998–6006. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00346>
- Liu, X.G.; Xia, Y.G.; Wang, F.; Sun, M.; Jin, Z.J.; Wang, G.T. (2005). Analysis of fatty acid composition of *Salicornia europaea* L. seed oil. *Food Sci.*, 2, 42.
- Lutts, S., & Lefèvre, I. (2015). How can we take advantage of halophyte properties to cope with heavy metal toxicity in salt-affected areas? *Annals of Botany*, 115(3), 509–528. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu264>
- Jose R. Noriega & Dan Murphy (1997). Saline Seed. Disponível em <https://www.salineseed.com>
- Malcolm CV. (1969). Use of halophytes for forage production on saline wastelands. *Journal of the Australian Institute of Agricultural Science* 35: 38–49
- Mesa-Marín, J., Pérez-Romero, J. A., Redondo-Gómez, S., Pajuelo, E., Rodríguez-Llorente, I. D., & Mateos-Naranjo, E. (2020). Impact of Plant Growth Promoting Bacteria on *Salicornia ramosissima* Ecophysiology and Heavy Metal Phytoremediation Capacity in Estuarine Soils. *Frontiers in Microbiology*, 11(September), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.553018>
- Munir, N., Hasnain, M., Roessner, U., & Abideen, Z. (2021). Strategies in improving plant salinity resistance and use of salinity resistant plants for economic sustainability. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 0(0), 1–47. <https://doi.org/10.1080/10643389.2021.1877033>
- Nikalje, Ganesh C., & Suprasanna, P. (2018). Coping with metal toxicity – cues from halophytes.

Frontiers in Plant Science, 9(June), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00777>

- Nikalje, Ganesh Chandrakant, Bhaskar, S. D., Yadav, K., & Penna, S. (2019). Halophytes: Prospective plants for future. *Ecophysiology, Abiotic Stress Responses and Utilization of Halophytes*, 221–234. https://doi.org/10.1007/978-981-13-3762-8_10
- Orlovsky, N., Japakova, U., Zhang, H., & Volis, S. (2016). Effect of salinity on seed germination, growth and ion content in dimorphic seeds of *Salicornia europaea* L. (Chenopodiaceae). *Plant Diversity*, 38(4), 183–189. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2016.06.005>
- Panta, S., Flowers, T., Lane, P., Doyle, R., Haros, G., & Shabala, S. (2014). Halophyte agriculture: Success stories. *Environmental and Experimental Botany*, 107, 71–83. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.05.006>
- Patel, S. (2016). *Salicornia*: Evaluating the halophytic extremophile as a food and a pharmaceutical candidate. *3 Biotech*, 6(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0418-6>
- Pedro, C. A., Santos, M. S. S., Ferreira, S. M. F., & Gonçalves, S. C. (2013). The influence of cadmium contamination and salinity on the survival, growth and phytoremediation capacity of the saltmarsh plant *Salicornia ramosissima*. *Marine Environmental Research*, 92, 197–205. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2013.09.018>
- Pérez-Romero, J. A., Barcia-Piedras, J. M., Redondo-Gómez, S., & Mateos-Naranjo, E. (2019). Impact of short-term extreme temperature events on physiological performance of *Salicornia ramosissima* J. Woods under optimal and sub-optimal saline conditions. *Scientific Reports*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37346-4>
- Pérez-Romero, J. A., Redondo-Gómez, S., & Mateos-Naranjo, E. (2016). Growth and photosynthetic limitation analysis of the Cd-accumulator *Salicornia ramosissima* under excessive cadmium concentrations and optimum salinity conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 109, 103–113. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.09.011>
- Pires-Cabral, P., Pires-Cabral, P., & Quintas, C. (2021). *Salicornia ramosissima* as a salt substitute in the fermentation of white cabbage. *Journal of Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05047-y>
- Polo, A., Fragoso, A., Infante-Izquierdo, M. D., Nieva, F. J. J., Muñoz-Rodríguez, A. F., & Castillo, J. M. (2021). Seed bank dynamics of the annual halophyte *Salicornia ramosissima*: towards a sustainable exploitation of its wild populations. *Plant Ecology*, 222(5), 647–657. <https://doi.org/10.1007/s11258-021-01134-4>
- Rasool, S. G., Gulzar, S., Hameed, A., Edwards, G. E., Khan, M. A., & Gul, B. (2019). Maintenance of photosynthesis and the antioxidant defence systems have key roles for survival of *Halopeplis perfoliata* (Amaranthaceae) in a saline environment. *Plant Biology*, 21(6),

1167–1175. <https://doi.org/10.1111/plb.13033>

- Reiahisamani, N., Esmaeili, M., Khoshkholgh Sima, N. A., Zaefarian, F., & Zeinalabedini, M. (2018). Assessment of the oil content of the seed produced by *Salicornia* L., along with its ability to produce forage in saline soils. *Genetic Resources and Crop Evolution*, *65*(7), 1879–1891. <https://doi.org/10.1007/s10722-018-0661-2>
- Rozema, J., & Flowers, T. (2008). Crops for a salinized World, *322*(December), 1478–1480. <https://doi.org/10.1126/science.1168572>
- Santos, E. S., Salazar, M., Mendes, S., Lopes, M., Pacheco, J., & Marques, D. (2017). Rehabilitation of abandoned areas from a Mediterranean nature reserve by *Salicornia* crop: Influence of the salinity and shading. *Arid Land Research and Management*, *31*(1), 29–45. <https://doi.org/10.1080/15324982.2016.1230796>
- Shpigel, M., Ben-Ezra, D., Shauli, L., Sagi, M., Ventura, Y., Samocha, T., & Lee, J. J. (2013). Constructed wetland with *Salicornia* as a biofilter for mariculture effluents. *Aquaculture*, *412–413*, 52–63. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.06.038>
- Silva, H., Caldeira, G., & Freitas, H. (2007). *Salicornia ramosissima* population dynamics and tolerance of salinity. *Ecological Research*, *22*(1), 125–134. <https://doi.org/10.1007/s11284-006-0008-x>
- Singh, D., Buhmann, A. K., Flowers, T. J., Seal, C. E., & Papenbrock, J. (2014). *Salicornia* as a crop plant in temperate regions: Selection of genetically characterized ecotypes and optimization of their cultivation conditions. *AoB PLANTS*, *6*. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plu071>
- Troyo-Diéguez, E., Ortega-Rubio, A., Maya, Y., & León, J. L. (1994). The effect of environmental conditions on the growth and development of the oilseed halophyte *Salicornia bigelovii* Torr. In arid Baja California Sur, México. *Journal of Arid Environments*, *28*(3), 207–213. [https://doi.org/10.1016/S0140-1963\(05\)80058-8](https://doi.org/10.1016/S0140-1963(05)80058-8)
- Turcios, A. E., Cayenne, A., Uellendahl, H., & Papenbrock, J. (2021). Halophyte plants and their residues as feedstock for biogas production—chances and challenges. *Applied Sciences (Switzerland)*, *11*(6). <https://doi.org/10.3390/app11062746>
- Ungar, I. A. (1979). Seed Dimorphism in *Salicornia europaea* L. *Botanical Gazette*, *140*(1), 102–108. <http://www.jstor.org/stable/2473971>
- Ventura, Y., Eshel, A., Pasternak, D., & Sagi, M. (2015). The development of halophyte-based agriculture: Past and present. *Annals of Botany*, *115*(3), 529–540. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu173>
- Ventura, Y., & Sagi, M. (2013). Halophyte crop cultivation: The case for *salicornia* and *sarcocornia*. *Environmental and Experimental Botany*, *92*, 144–153.

<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.07.010>

- Ventura, Y., Wuddineh, W. A., Myrzabayeva, M., Alikulov, Z., Khozin-Goldberg, I., Shpigel, M., Samocha M. T., & Sagi, M. (2011a). Effect of seawater concentration on the productivity and nutritional value of annual *Salicornia* and perennial *Sarcocornia* halophytes as leafy vegetable crops. *Scientia Horticulturae*, *128*(3), 189–196. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.02.001>
- Ventura, Y., Wuddineh, W. A., Shpigel, M., Samocha, T. M., Klim, B. C., Cohen, S., Shemer Z., Santos R., & Sagi, M. (2011b). Effects of day length on flowering and yield production of *Salicornia* and *Sarcocornia* species. *Scientia Horticulturae*, *130*(3), 510–516. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.08.008>
- Webb, J. M., Quintã, R., Papadimitriou, S., Norman, L., Rigby, M., Thomas, D. N., & Le Vay, L. (2012). Halophyte filter beds for treatment of saline wastewater from aquaculture. *Water Research*, *46*(16), 5102–5114. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.06.034>
- Webb, J. M., Quintã, R., Papadimitriou, S., Norman, L., Rigby, M., Thomas, D. N., & Le Vay, L. (2013). The effect of halophyte planting density on the efficiency of constructed wetlands for the treatment of wastewater from marine aquaculture. *Ecological Engineering*, *61*, 145–153. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.09.058>
- Yuan, F., Guo, J., Shabala, S., & Wang, B. (2019). Reproductive physiology of halophytes: Current standing. *Frontiers in Plant Science*, *9*(January), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01954>
- Zerai, D. B., Glenn, E. P., Chattervedi, R., Lu, Z., Mamood, A. N., Nelson, S. G., & Ray, D. T. (2010). Potential for the improvement of *Salicornia bigelovii* through selective breeding. *Ecological Engineering*, *36*(5), 730–739. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2010.01.002>