

EFFECTO DEL PRETRATAMIENTO TÉRMICO Y DE LA TEMPERATURA DE INCUBACIÓN SOBRE LA GERMINACIÓN EN ESPECIES DEL GÉNERO *CISTUS* L. (CISTACEAE)

F. BASTIDA; E. VÁZQUEZ; I. BUTLER; F. J. MONTEAGUDO

Departamento de Ciencias Agroforestales. Universidad de Huelva

RESUMEN

Se estudió el efecto del pretratamiento térmico (80-100 °C durante 15 minutos) y de la temperatura de incubación (7, 13, 17, 20 y 28 °C) sobre la germinación de tres especies del género *Cistus*: *C. ladanifer*, *C. crispus* y *C. albidus*. Los resultados mostraron que el efecto del pretratamiento térmico no sólo determina un incremento en el porcentaje de germinación sino que también afecta a la velocidad de germinación. Por otro lado, las temperaturas óptimas para la germinación en *C. ladanifer* y *C. crispus* se situaron entre los 13 y los 20 °C, y en *C. albidus* entre los 17 y los 20 °C. No obstante, las tres especies mostraron capacidad para germinar en un amplio rango de temperaturas. Los resultados se discuten en relación con la estrategia de reinstauración de las poblaciones tras perturbación, característica de *Cistus*.

P.C.: germinación, latencia física, *Cistus ladanifer*, *Cistus albidus*, *Cistus crispus*

SUMMARY

We studied the effect of thermal shock treatments (80-100 °C for 15 minutes) and incubation temperature (7, 13, 17, 20 and 28 °C) on seed germination of three *Cistus* species: *C. ladanifer*, *C. crispus* and *C. albidus*. Results showed that, in addition to increased germination percentages, thermal shock influences germination rates. Optimal temperatures for seed germination were 13 to 20 °C in *C. ladanifer* and *C. crispus* and 17-20 °C in *C. albidus*. Moreover, the three *Cistus* species were able to germinate over a wide range of temperatures. Results are discussed in terms of the recruitment strategy following disturbance characteristic of *Cistus* stands.

K.W.: germination, physical dormancy, *Cistus ladanifer*, *Cistus albidus*, *Cistus crispus*

INTRODUCCIÓN

Las semillas de las especies del género *Cistus* y de las Cistáceas en general se caracterizan por presentar latencia física impuesta por la impermeabilidad de la testa (Aronne & Mazzoleni, 1989; Thanos & Georghiou, 1988; Vuillemin & Bulard, 1981). El factor más relevante en la inducción de salida de latencia de las semillas de *Cistus* es la acción de las temperaturas moderadamente elevadas (80-150 °C) que se generan en el suelo durante los incendios forestales. De hecho, el aumento drástico en el porcentaje de germinación de la semillas de distintas especies de *Cistus* sometidas a pretratamiento térmico está muy documentado (véase revisión en Trabaud, 1995). Otros aspectos de la germinación en *Cistus* resultan menos conocidos, como los relacionados con el efecto del pretratamiento térmico sobre la velocidad de germinación, o la influencia de la temperatura de incubación en la germinación. Estos aspectos constituyen los objetivos del presente trabajo. Para ello se estudió la germinación en *C. ladanifer*, *C. crispus* y *C. albidus*.

MATERIAL Y MÉTODOS

En julio de 2000 se recogieron frutos maduros en una población de cada una de las especies: *C. ladanifer* (Palos de la Frontera, Huelva), *C. crispus* (Aljaraque, Huelva) y *C. albidus* (Priego, Córdoba). Los frutos procedieron de al menos 30 individuos de cada población y se conservaron en bolsas de papel a la temperatura de laboratorio hasta octubre-febrero, periodo en el que se realizaron los ensayos de germinación. Los ensayos se llevaron a cabo en cámara de germinación (KBW 240, $\pm 0,5$ °C) bajo condiciones de temperatura constante (7, 13, 17, 20 y 28 °C) y fotoperiodo de 16 horas de luz (radiación PAR 12,5 W.m⁻²). Las semillas fueron sometidas a alguno de los siguientes pretratamientos térmicos: ausencia de tratamiento, 80 °C o 100 °C. Los pretratamientos se realizaron en estufa previamente calentada a la temperatura seleccionada (± 2 °C) y se prolongaron durante 15 minutos. Para la incubación, las semillas se dispusieron en placa Petri de plástico de 9 cm de diámetro, sobre papel de filtro Whatman 1 y se añadió agua destilada hasta saturar completamente el papel de filtro. El agua se repuso siempre que fue necesario. El diseño experimental fue

completamente al azar, con cuatro repeticiones de 100 semillas cada una por tratamiento y especie. Las placas fueron extraídas puntualmente de las cámaras, para recuento, generalmente cada 2 días. Tras cada operación de recuento, las semillas fueron reposicionadas al azar. Los ensayos se prolongaron durante 24-26 días. Este periodo fue suficiente para asegurar, en la mayor parte de los ensayos, la germinación completa (salvo germinación errática) de todas las semillas germinables de cada placa. En cada caso se determinó el porcentaje final de germinación y la velocidad de germinación, estimada por el valor t_{50} , es decir, el tiempo invertido en alcanzar el 50% de la germinación final. En los casos en los que no se verificó la conclusión de la germinación al finalizar el ensayo, el valor t_{50} se estimó ajustando los datos de germinación a la función Weibull, tomando como valor final de germinación el valor medio observado por las semillas de cada especie y tratamiento en los ensayos en los que se constató la conclusión de la germinación. La estimación de los parámetros de la función Weibull se llevó a cabo por el método Simplex, utilizando el programa estadístico Statistica 5.1 ed. 97 (Statsoft, Inc.). El análisis estadístico para evaluar el efecto de la especie, pretratamiento y/o temperatura de incubación sobre los porcentajes finales de germinación y los valores t_{50} , consistió en análisis de varianza de una vía y factoriales. Los valores porcentuales fueron sometidos previamente a transformación angular. La separación de medias se realizó mediante el test Tukey para $p=0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del pretratamiento térmico sobre el porcentaje de germinación

En la Tabla 1 se muestran los valores de germinación final observados en el ensayo a 20 °C. La duración del ensayo fue suficiente en todos los casos como para permitir que la germinación resultase esencialmente completa, es decir, todas las semillas germinables manifestaron germinación antes de la finalización del ensayo, apreciándose sólo germinación errática en los últimos días de cada ensayo. En ausencia de pretratamiento térmico la germinación media fue del 6,3 % en *C. crispus*, del 10,0 % en *C. albidus* y del 24,8% en *C. ladanifer*. Los pretratamientos térmicos conllevaron un incremento muy significativo de la germinación en las tres especies. El efecto promotor de la germinación resultó especialmente notable en *C. ladanifer*, en particular para el pretratamiento a 80 °C, que elevó la germinación hasta el 90,8% (Tabla 1). El tratamiento a 100 °C fue significativamente menos efectivo, alcanzándose un valor final del 72,0%, lo que sugiere que estas condiciones de pretratamiento térmico resultaron excesivamente severas para las semillas de *C. ladanifer*, ocasionando efectos deletéreos. En el caso de *C. albidus* y *C. crispus*, el efecto de inducción a la germinación de los pretratamientos fue menos acusado que en *C. ladanifer*, alcanzándose en ambos casos valores del 62,5-65,0%, similares para las dos temperaturas de pretratamiento (Tabla 1). La elevada presencia de semillas duras a la presión del punzón entre las que no germinaron, en ambas especies, indicó que los pretratamientos térmicos no fueron suficientemente efectivos para promover la germinación de todas las semillas viables. Los porcentajes de germinación alcanzados en los ensayos a 13 y 17 °C en los que la germinación resultó completa (todos a excepción de los realizados tras pretratamiento térmico en *C. albidus*) no difirieron significativamente de los observados a 20 °C (ANOVA dos factores, pretratamiento y temperatura: *C. ladanifer*, $p_{\text{temperatura}}=0,077$, $p_{\text{interacción}}=0,303$; *C. crispus*, $p_{\text{temperatura}}=0,258$, $p_{\text{interacción}}=0,102$; ANOVA una vía, factor temperatura, para ausencia de pretratamiento: *C. albidus*, $p=0,760$).

Tabla 1. Porcentaje final de germinación (media \pm error estándar) alcanzado por las semillas de las especies estudiadas en ausencia de pretratamiento y tras pretratamiento a 80 o 100 °C durante 15 minutos. La temperatura de incubación fue 20 °C. Para cada especie los valores acompañados por una misma letra no resultan significativamente diferentes (test Tukey para $p=0,05$).

especie	pretratamiento	germinación (%)
<i>C. ladanifer</i>	ausente	24,8 \pm 1,6 a
	80 °C	90,8 \pm 4,1 b
	100 °C	72,0 \pm 5,7 c
<i>C. albidus</i>	ausente	10,0 \pm 1,2 a
	80 °C	62,8 \pm 3,4 b

	100 °C	62,5 ± 1,9 b
<i>C. crispus</i>	ausente	6,3 ± 0,5 a
	80 °C	64,3 ± 4,9 b
	100 °C	65,0 ± 5,8 b

La estimulación de la germinación por exposición de las semillas a temperaturas moderadamente elevadas (80-120 °C durante 1-30 minutos) es un hecho ampliamente documentado en el género *Cistus* (Castro & Romero-García, 1999; Corral *et al.*, 1990; Roy & Sonié, 1992; Trabaud & Oustric, 1989a; Troumbis & Trabaud, 1986; Valbuena *et al.*, 1992; Vuillemin & Bulard, 1981) y en las Cistáceas en general (Thanos *et al.*, 1992). Los valores encontrados en este trabajo son concordantes con los expuestos por otros autores en relación con otras poblaciones de las mismas especies. El calor parece actuar rompiendo la latencia primaria impuesta por la impermeabilidad de la testa (Aronne & Mazzoleni, 1989). Esta respuesta a la temperatura explica la rápida reinstauración de las poblaciones que, tras incendio forestal, manifiestan las especies de *Cistus* (Martín-Bolaños & López-Guinea, 1949; Roy & Sonié, 1992; Trabaud, 1995).

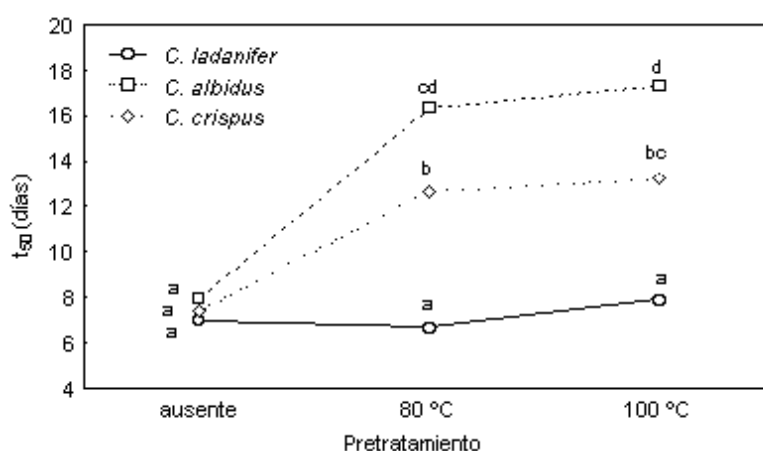


Figura 1. Efecto del pretratamiento térmico sobre la tasa de germinación en tres especies del género *Cistus*. Se muestran los valores medios obtenidos en el ensayo de germinación a 20 °C. Los valores acompañados por una misma letra no son significativamente diferentes (test Tukey HSD para $p=0,05$).

Efecto del pretratamiento térmico sobre la velocidad de germinación

En la Figura 1 se muestran, para las tres especies y los distintos pretratamientos aplicados, los valores t_{50} medios correspondientes al ensayo a 20 °C. En ausencia de pretratamiento las semillas de las tres especies mostraron un valor t_{50} similar, en torno a 7,5 días. Por el contrario, tras pretratamiento térmico aparecieron marcadas diferencias entre especies. Así, mientras que el pretratamiento no tuvo influencia sobre la tasa de germinación en *C. ladanifer*, en el caso de *C. crispus* y *C. albidus* los valores t_{50} aumentaron muy significativamente (Figura 1), alcanzando valores de 13,0 y 17,0 días en *C. crispus* y *C. albidus*, respectivamente. No se registraron diferencias significativas entre los dos niveles de pretratamiento térmico en ninguna de las especies (Figura 1). El comportamiento de las semillas en los ensayos a 13 y 20 °C mantuvo la misma tendencia (ANOVA tres factores, temperatura, pretratamiento, especie: $p_{\text{temp} \times \text{pretrat}}=0,800$, $p_{\text{temp} \times \text{pretrat} \times \text{esp}}=0,067$). Estos resultados pueden explicarse considerando que el pretratamiento térmico pudo tener distinto efecto sobre la integridad de la testa de las semillas de cada una de las especies. Así, el pretratamiento resultó particularmente efectivo sobre las semillas de *C. ladanifer*, determinando no sólo la salida de latencia de prácticamente todas las semillas viables (véase epígrafe anterior) sino que, además, habría eliminado por completo el obstáculo tegumentario a la imbibición en toda la población de semillas, lo que explicaría que la velocidad de germinación no difiriese de la manifestada por las semillas no pretratadas, que sería la propia de la fracción no latente de las semillas. Por el contrario, en *C. crispus* y *C. albidus*, la menor efectividad de los pretratamientos térmicos no sólo explicaría el menor porcentaje de germinación alcanzado (véase epígrafe anterior) sino también la menor velocidad de germinación, vía eliminación únicamente parcial de la barrera tegumentaria que determinaría que, al menos cierta proporción de la población de semillas, requiera más tiempo para germinar. De hecho,

Aronne y Mazzoleni (1989), comparando el incremento en la velocidad de imbibición de semillas pretratadas térmicamente en relación a semillas no pretratadas entre *C. monspeliensis* y *C. incanus*, observaron que en la primera especie el aumento en la velocidad de imbibición fue menor que en la segunda y, correspondientemente, constataron un menor cambio estructural en la testa de las semillas pretratadas de *C. monspeliensis* que en las de *C. incanus*. Por otro lado, la influencia de la temperatura de pretratamiento sobre la velocidad de germinación en *Cistus*, permite especular sobre sus consecuencias en relación con los procesos de reinstauración de las poblaciones tras incendio. En hábitats caracterizados por la incertidumbre en las condiciones ambientales, como sucede bajo clima mediterráneo en relación con la ocurrencia de los periodos de lluvia, resulta favorable la existencia de heterogeneidad en la germinación, pues constituye un modo de distribuir el riesgo de la germinación en el tiempo (Ellner, 1985). Además, también contribuye a reducir el riesgo de mortalidad debida a la competencia intraespecífica, que en las poblaciones de *Cistus* puede ser relevante, pues producen grandes cantidades de semillas cada año y presentan dispersión fundamentalmente barócora, de modo que las semillas se incorporan al suelo constituyendo bancos de semillas permanentes de magnitud considerable (Trabaud & Renard, 1999). En *Cistus*, la respuesta de germinación ante pretratamientos térmicos depende tanto de la temperatura como del tiempo de exposición (Trabaud & Oustric, 1989b; Castro & Romero-García, 1999). Como las temperaturas generadas a nivel de suelo por un incendio forestal son altamente variables en el espacio (Trabaud, 1979; Whelan, 1995), es factible suponer que contribuyan a la heterogeneidad espacial en la respuesta de germinación de las semillas de *Cistus* presentes en el banco edáfico. Tal heterogeneidad se produce no sólo en la magnitud de la germinación, es decir, en el grado de inducción a la salida de la latencia de las semillas, sino también en la velocidad de germinación. La manifestación de esta germinación polifénica (con variación en el momento en que las semillas se vuelven germinables) puede permitir repartir la germinación a lo largo de la estación favorable, que, en *Cistus*, corresponde al periodo principios de otoño-primavera, distribuyendo efectivamente el riesgo de mortalidad por estrés ambiental y de competencia.

Efecto de la temperatura de incubación sobre la velocidad de germinación

La Figura 2 muestra la influencia de la temperatura de incubación en la velocidad de germinación (medida por el valor t_{50}) de semillas pretratadas a 80 °C, en las tres especies estudiadas. Como se observa, el comportamiento resultó similar en las tres especies. En *Cistus ladanifer* y en *C. crispus* las temperaturas de 13, 17 y 20 °C fueron las más favorables para la germinación, determinando valores t_{50} estadísticamente similares (Figura 2). En *C. albidus* la velocidad de germinación resultó máxima para las temperaturas de incubación de 17 y 20 °C, mientras que a 13 °C el valor t_{50} fue significativamente mayor (Figura 2). El rango de temperaturas óptimas para la germinación observado en las especies estudiadas es coincidente con el descrito en trabajos previos para otras especies o poblaciones de *Cistus* (Thanos y Georghiou, 1988; Vuillemin & Bulard, 1981) y para otras especies mediterráneas (Thanos & al., 1991, Thanos & Skordilis, 1987). Por otra parte, resulta destacable la capacidad de germinar a baja temperatura manifestada por las semillas de las tres especies de *Cistus* (Figura 2). Así, por ejemplo, a 7 °C la germinación de *C. ladanifer* progresó hasta niveles comparables a los alcanzados a temperatura óptima, aunque valor t_{50} fue aproximadamente el doble que el manifestado a 17-20 °C (Figura 2). El amplio rango de temperaturas en el que es posible la germinación de las tres especies de *Cistus* contribuye a la estrategia oportunista que permite aprovechar los momentos de disponibilidad hídrica que ocurren de modo impredecible durante el periodo otoño-primavera bajo las condiciones de clima mediterráneo en las que las especies de *Cistus* han evolucionado.

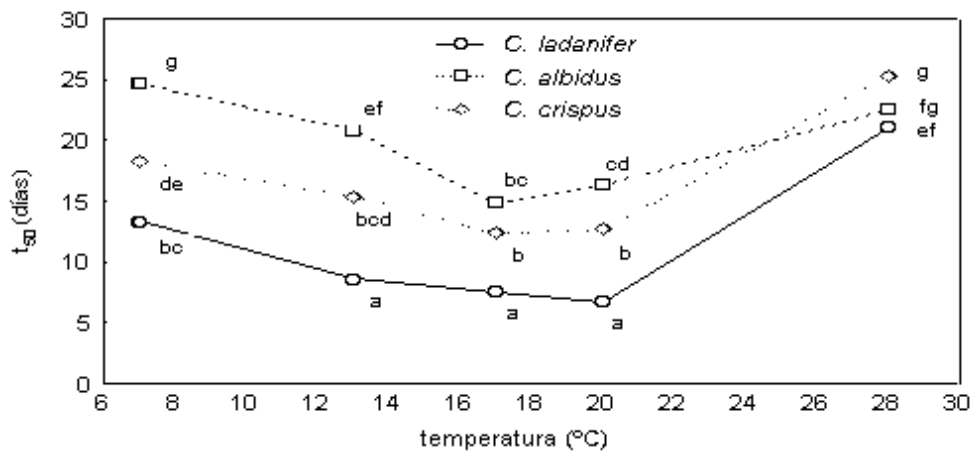


Figura 2. Efecto de la temperatura de incubación sobre la tasa de germinación en tres especies de *Cistus*. Las semillas fueron pretratadas a 80 °C durante 15 minutos. Se indican los valores medios. Los valores acompañados por una misma letra no son significativamente diferentes (test Tukey HSD para $p=0,05$).

CONCLUSIONES

Los pretratamientos térmicos determinan un aumento drástico de la germinación en las poblaciones estudiadas de *Cistus ladanifer*, *C. crispus* y *C. albidus*, hecho ampliamente documentado en otras poblaciones y especies del género. No obstante, el efecto del pretratamiento térmico afecta también a la velocidad de germinación, que puede disminuir en relación con la manifestada por las semillas sin tratar. Este comportamiento puede resultar favorable para distribuir el riesgo de la germinación en el tiempo bajo las condiciones de incertidumbre sobre la disponibilidad hídrica que impone el clima mediterráneo. Asimismo permitiría disminuir el riesgo de mortalidad de plántulas por estrés de competencia intraespecífica que podría originarse por los eventos de germinación y emergencia masivos tras incendio forestal. Por otro lado, las especies estudiadas manifiestan una temperatura óptima para la germinación en el rango 13-20 °C (17-20 °C en *C. albidus*), pero resulta destacable la capacidad para germinar a temperaturas bajas (7 °C al menos), lo cual es un factor de plasticidad que permite promover germinación en los momentos de disponibilidad hídrica.

BIBLIOGRAFÍA

- ARONNE, G. & MAZZOLENI, S.; (1989). *The effects of heat exposure on seeds of Cistus incanus L. and Cistus monspeliensis L.* Giornale Botanico Italiano 123: 283-289.
- CASTRO, J. & ROMERO-GARCÍA, A. T.; (1999). *Dormancy and germination in Cistus clusii (Cistaceae): effect of biotic and abiotic factors.* Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie) 54: 19-28.
- CORRAL, R., PITA, J. M. & PÉREZ-GARCÍA, F.; (1990). *Some aspects of seed germination in four species of Cistus L.* Seed Science and Technology 18: 321-325.
- ELLNER, S.; (1985). *ESS germination strategies in randomly varying environments. I. Logistic-type models.* Theoretical Population Biology 28: 50-79.
- MARTÍN BOLAÑOS, M. & LÓPEZ-GUINEA, E.; (1949). *Jarales y jaras (Cistografía hispánica).* Instituto Forestal de Investigaciones y Experiencias. Madrid.
- ROY, J. & SONIÉ, L.; (1992). *Germination and population dynamics of Cistus species in relation to fire.* Journal of Applied Ecology 29: 647-665.
- THANOS, C. A., GEORGHIOU, K.; (1988). *Ecophysiology of fire-stimulated seed germination in Cistus incanus ssp. creticus (L.) Heywood and C. salvifolius L.* Plant, Cell and Environment 11: 841-849.
- THANOS, C. A., GEORGHIOU, K., DOUMA, D. J. & MARANGAKI, C. J.; (1991). *Photoinhibition of seed germination in Mediterranean maritime plants.* Annals of Botany 68: 469-475.
- THANOS, C. A., GEORGHIOU, K., KADIS, C. & PANTAZI, C.; (1992). *Cistaceae: a plant family with hard seeds.* Israel Journal of Botany 41: 251-263.
- THANOS, C. A. & SKORDILIS, A.; (1987). *The effects of light, temperature and osmotic stress on the germination of Pinus halepensis and P. brutia seeds.* Seed Science and Technology 15:

163-174.

- TRABAUD, L.; (1979). *Étude du comportement du feu dans la garrigue de Chênes kermes à partir des températures et des vitesses de propagation*. Annales des Sciences Forestières 36: 13-38.
- TRABAUD, L.; (1995). Modalités de germination des cistes et des pins méditerranéens et colonisation des sites perturbés. Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie) 50: 3-14.
- TRABAUD, L. & OUSTRIC, J.; (1989a). *Heat requirement for seed germination of three Cistus species in the garrigues of southern France*. Flora 183: 321-325.
- TRABAUD, L. & OUSTRIC, J.; (1989b). *Comparaison des stratégies de régénération après incendie chez deux espèces de cistes*. Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie) 44: 3-13.
- TRABAUD, L. & RENARD, P.; (1999). *Do light and litter influence the recruitment of Cistus spp. stands?*. Israel Journal of Plant Sciences 47: 1-9.
- TROUMBIS, A. & TRABAUD, L.; (1986). *Comparison of reproductive biological attributes of two Cistus species*. Acta Oecologica. Oecologia Plantarum 7: 235-250.
- VALBUENA, M. L., TÁRREGA, R. & LUIS, E.; (1992). *Influence of heat on seed germination of Cistus laurifolius and C. ladanifer*. Journal of Wildland Fire 2: 15-20.
- VUILLEMIN, J. & BULARD, C.; (1981). *Ecophysiologie de la germination de Cistus albidus L. et Cistus monspeliensis L.* Naturalia Monspeliensia, Série botanique 46: 1-11.
- WHELAN, R. J.; (1995). *The ecology of fire*. Cambridge University Press.