

**ECOLOGÍA GERMINATIVA DE LOS ESPINOS  
*RHAMNUS LYCIOIDES* SUBSP. *LYCIOIDES* Y *RH.*  
*SAXATILIS* (*RHAMNACEAE*)**

Por

Raquel HERRANZ FERRER <sup>1</sup>

Miguel A. COPETE CARREÑO <sup>1,\*</sup>

José M.<sup>a</sup> HERRANZ SANZ <sup>1</sup>

Pablo FERRANDIS GOTOR <sup>1</sup>

\* miguel.copete@uclm.es

Recibido: 2 de junio de 2017

Aprobado: 19 de abril de 2019

---

<sup>1</sup> Dpto. Producción Vegetal y Tecnología Agraria. Escuela T.S. de Ingenieros Agrónomos y de Montes. Campus Universitario, s/n. 02071. Albacete



## RESUMEN

Se analiza la ecología germinativa del espino negro (*Rhamnus lycioides* subsp. *lycioides*) y del espino de tintoreros (*Rh. saxatilis*) mediante ensayos realizados en laboratorio en cámaras de germinación bajo condiciones de temperatura e iluminación controladas. Los ensayos se han realizado a la temperatura constante de 5°C y a las temperaturas fluctuantes de 15/4, 20/7, 25/10 y 28/14°C simulando condiciones naturales en ambientes submediterráneos a lo largo del año.

Las semillas de *Rh. lycioides* subsp. *lycioides* no sometidas a estratificación fría (5°C luz) germinaron  $\geq 80$  % al incubarlas a 20/7, 25/10 y 28/14°C, tanto en luz como en oscuridad. La estratificación fría durante 2 meses estimuló significativamente la germinación a 15/4°C. En las semillas de *Rh. saxatilis* no sometidas a estratificación fría el porcentaje de germinación más alto (49,3 %) se alcanzó a 25/10°C luz, pero tras 2 meses de estratificación fría se superó el 80 % de germinación a 20/7 y 25/10°C. El ácido giberélico no estimuló la germinación. Las semillas de ambas especies tienen latencia fisiológica condicionada no profunda.

**Palabras clave:** temperatura, iluminación, estratificación fría, GA<sub>3</sub>, velocidad de germinación, latencia fisiológica no profunda.

## ABSTRACT

We investigated the germination ecology of *Rhamnus lycioides* subsp. *lycioides* and *Rh. saxatilis* by means of laboratory tests in germination chambers under controlled conditions of temperature and light. Tests were carried out at constant 5°C and fluctuating 15/4, 20/7, 25/10, and 28/14°C temperatures, simulating natural conditions throughout the year in sub-Mediterranean environments.

Seeds of *Rh. lycioides* subsp. *lycioides* which were not submitted to cold stratification (5°C in light) germinated  $\geq 80$  % when incubated at 20/7, 25/10 y 28/14°C. Cold stratification during 2 months significantly promoted germination at 15/4°C. In non-cold-stratified *Rh. sa-*

*xatilis* seeds, the highest germination value (49.34 %) was achieved at 25/10°C-incubation in light. However, cold stratification during 2 months enhanced germination over 80 % at 20/7 and 25/10°C. Gibberellic acid did not stimulate germination. Seeds of both species have conditional non-deep physiological dormancy.

**Keywords:** temperature, illumination, cold stratification, gibberellic acid, germination rate, non-deep physiological dormancy.

## 0. INTRODUCCIÓN

La germinación es el conjunto de acontecimientos metabólicos que ocurren escalonadamente desde la absorción de agua por parte de los diferentes tejidos que forman la semilla hasta el crecimiento de la radícula. La dormición o latencia se define como un estado fisiológico en el cual una semilla viable, dispersada naturalmente de la planta madre, no germina aunque se coloque en condiciones ambientales adecuadas de temperatura, iluminación, humedad y aireación (Bacchetta y cols., 2008).

Dado que la semilla es el órgano de la planta especialmente adaptado para la dispersión, cualquier mecanismo que tienda a posponer, diferir o escalonar la germinación en el tiempo será positivo en cuanto que facilitará una máxima dispersión en el espacio. Asimismo, una cohorte de semillas sufrirá menos riesgos si germina gradualmente en varias etapas que si lo hace en su totalidad en un solo evento. La consecuencia ecológica más importante de la latencia radica en que previene la germinación hasta que en la naturaleza se dan unas condiciones ambientales adecuadas para garantizar una mayor probabilidad de supervivencia de plántulas y reclutamiento de individuos juveniles (Pérez-García y cols., 1993).

Al ser la germinación uno de los momentos más críticos en el ciclo vital de una planta, especialmente en climas como el mediterráneo con periodos secos muy marcados, el conocimiento de las condiciones ambientales (temperatura, iluminación) que favorecen la misma es fun-

damental para conocer su adaptación a diferentes hábitats (Pérez-García y cols., 1995). De la misma manera, es también muy importante para producir planta en vivero destinada a reforzamientos poblacionales cuando se trata de especies integrantes de hábitats de conservación prioritaria, como es el caso de las especies objeto de estudio.

De las diferentes clases de latencia conocidas, la presente en la familia *Rhamnaceae*, con cubiertas de semillas permeables al agua y embriones desarrollados al madurar, suele ser la fisiológica (Baskin y Baskin, 2014). En este estudio se evalúa el nivel de latencia fisiológica presente en las semillas de *Rhamnus lycioides* L. subsp. *lycioides* y *Rh. saxatilis* Jacq.

El conocimiento de la ecología germinativa de las especies objeto de este trabajo es muy limitado. De *Rh. saxatilis* desconocemos la existencia de estudios previos referidos a este taxon en concreto. Para *Rh. lycioides* subsp. *lycioides*, Ayerbe y Ceresuela (1982) alcanzaron porcentajes de germinación del 58 % tras 6 semanas de incubación a las temperaturas constantes de 16 y 21°C. Obtener información sobre *Rh. saxatilis* y mejorar los resultados de germinación obtenidos hasta la fecha para *Rh. lycioides* subsp. *lycioides* es el objetivo general de este trabajo. Para alcanzar este objetivo general es preciso lograr previamente una serie de objetivos parciales:

- Evaluar el efecto de distintas temperaturas de incubación y condiciones de iluminación (fotoperiodo, oscuridad completa) sobre la facultad germinativa en ensayos control con semillas de diferentes edades no sometidas a estratificación previa.
- Analizar el efecto de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) en la eliminación de la latencia fisiológica y promoción de la germinación.
- Analizar la influencia de la estratificación fría en la eliminación de la latencia fisiológica y estimulación de la germinación.

## 1. MATERIAL Y MÉTODOS

### 1.1. Material vegetal y procedencia de las semillas

#### *Rhamnus lycioides* L. subsp. *lycioides*

El espino negro es un arbusto perennifolio espinoso, de 1-3 m de talla, endémico de la Península Ibérica. Se distribuye preferentemente en el cuadrante suroriental. En Castilla- La Mancha es muy abundante en la provincia de Albacete, sobre todo en las comarcas de Hellín y Sierra del Segura y relativamente frecuente en Cuenca, Toledo y Ciudad Real.

Habita en claros de encinares, pinares de pino carrasco, coscojares y garrigas, preferentemente sobre sustratos pedregosos calcáreos, siendo muy escaso sobre sustratos silíceos. Se halla entre 0-1.000 m de altitud, ya que además de xerófilo (zonas con ombroclima semiárido a seco) es relativamente termófilo. En Albacete en enclaves térmicos de los valles del Júcar y Cabriel, asociado a *Rhamnus alaternus*, *Quercus coccifera*, *Pistacia lentiscus*, *Smilax aspera*, *Juniperus phoenicea*, *J. oxycedrus*, *Ephedra fragilis*, etc. es un integrante importante del hábitat de protección especial “garrigas calcícolas y termófilas levantinas” (Martín-Herero y cols., 2003) (figura 1).

Los frutos (drupáceos o nuculanios) para la realización del estudio se recolectaron el 28 de julio de 2015 en La Gineta (Albacete), a 600 m y UTM: 30SWJ8937, en claros de un pinar de pino carrasco con matorral mixto calcícola tipo garriga integrado por *Quercus coccifera*, *Rosmarinus officinalis*, *Genista scorpius*, *Juniperus oxycedrus* y *Bupleurum fruticosens*.

Una vez recogidos los frutos drupáceos (unos 3000) se procedió a la maceración de éstos en laboratorio y, con ayuda de tamices y chorro de agua, y se separaron los pirenos (1-4 por fruto drupáceo) de la pulpa. Una vez liberados de la pulpa los pirenos monospermos son dehiscentes y se desprende la semilla que contienen con una leve presión. De esta forma, se obtuvieron unas 5000 semillas que una vez bien secas se guar-



Figura 1. Hábitat del espino negro en laderas de pino carrasco con romero en Sierra de Abenuj (Tobarra, Albacete) y maduración de los frutos a mediados de julio.

daron en sobres de papel en cámara frigorífica (6°C) hasta que se requirieron para la realización de los ensayos de germinación.

### ***Rhamnus saxatilis***

El espino de tintoreros es un arbusto caducifolio espinoso, de 1-2 m de talla, que se distribuye por el centro y sur de Europa. En la Península Ibérica abunda más en la mitad oriental dadas sus preferencias por sustratos calizos o dolomíticos. En la reciente revisión de Rivas-Martí-



Figura 2. Hábitat del espinero de tintoreros en sabinares de paramera de Buenache de la Sierra (Cuenca) y maduración de los frutos a mediados de julio.

nez y Pizarro (2015) la mayoría de las poblaciones de este ámbito geográfico han sido adscritas a *Rh. infectoria* L. No obstante, para este estudio hemos considerado que *Rh. infectoria* entra dentro del rango de variabilidad morfológica de *Rh. saxatilis* y no se sigue el criterio de la revisión citada. En Castilla-La Mancha *Rh. saxatilis* es abundante en las sierras de la mitad oriental de la provincia de Guadalajara, Serranía de Cuenca, así como en las Sierras de Alcaraz y Segura. En los sabinares albares de parameras, hábitat de protección especial en Castilla-La Mancha, se asocia a otras especies de matorral como *Rosa micrantha*, *Berberis vulgaris* subsp. *seroi*, *Erinacea anthyllis*, *Genista pumila* subsp. *rigidissima* y *Prunus spinosa* (Martín-Herrero y cols., 2003) (figura 2).

Los frutos drupáceos para el estudio se recolectaron el 24 de julio de 2015 en el Alto Tajo, Orea (Guadalajara), a 1540 m s.n.m. y UTM: 30TXK0891, en repisas de roquedos calizos junto a *Juniperus sabina*, *Berberis vulgaris* subsp. *seroi*, *Prunus spinosa*, *Anthyllis montana* y *Thymus bracteatus*.

Una vez recogidos los frutos (unos 3000) se procedió de la forma indicada anteriormente para el espinero negro, obteniendo unas 5500 semillas que se guardaron en sobres de papel a 6°C hasta la realización de los ensayos.

## 1.2. Condiciones generales de los ensayos

Los ensayos se realizaron bajo condiciones de temperatura e iluminación controladas mediante cámaras de germinación (IBERCEX, modelo F-4) equipadas con control digital programable. Las semillas se dispusieron sobre dos láminas de papel de filtro humedecido dentro de placas Petri selladas con parafilm para evitar la pérdida de agua. Además, las placas Petri cuyas semillas iban a recibir el tratamiento en oscuridad fueron envueltas con una lámina de papel de aluminio para evitar la iluminación de 1250 lux a la que estaban expuestas el resto de las semillas (tratamiento en luz con un fotoperiodo de 12 horas de iluminación y 12 horas de oscuridad).

Los experimentos se llevaron a cabo a la temperatura constante de 5°C y a un régimen de 12/12h diarias con temperaturas fluctuantes de 15/4, 20/7, 25/10 y 28/14°C. En este régimen fluctuante la temperatura más alta coincidió con la fase de luz de la cámara y la más baja con la fase de oscuridad, simulando las condiciones día/noche. Para cada temperatura y condición de iluminación ensayada se utilizaron 4 réplicas de 25 semillas cada una.

Las temperaturas utilizadas en los ensayos tratan de simular las condiciones climáticas existentes en ambientes submediterráneos ubicados entre 1000-1500 m de altitud a lo largo del año: la temperatura constante de 5°C se aproxima a la temperatura media durante los meses invernales (diciembre, enero, febrero), 15/4°C (noviembre y marzo), 20/7°C (octubre y abril), 25/10°C (septiembre y mayo) y 28/14°C (junio, julio, agosto), y se han empleado previamente en otros trabajos de ecología germinativa (Copete y cols., 2005).

La duración de los ensayos de germinación ha sido de 30 días, siguiendo las recomendaciones de Baskin y Baskin (2014), efectuando el control de la germinación cada 3-4 días en los ensayos realizados en condiciones de fotoperiodo, y al final de los mismos en los realizados en oscuridad completa. En cada control periódico de la germinación se han anotado y retirado de las placas las semillas germinadas (semillas con radícula emergida  $\geq 1$  mm).

Al final de cada ensayo se ha verificado que todas las semillas restantes eran viables aunque no hubiesen germinado, mediante un procedimiento consistente en abrir la semilla con bisturí para comprobar visualmente el estado del embrión. Los embriones con aspecto blanquecino y turgente corresponden a semillas viables y los embriones con aspecto marrón oscuro y blando a semillas inviables. En cada réplica el porcentaje de germinación se ha calculado sobre semillas viables.

### **1.3. Ensayos control con semillas sin estratificación previa**

Con el fin de conocer el nivel de latencia fisiológica existente en cada especie y de planificar mejor los tratamientos de estratificación a ensayar posteriormente, primeramente se ejecutan una serie en ensayos control.

El primer ensayo control se inició al alcanzar las semillas la edad de 1 mes (1 septiembre de 2015) a las cinco combinaciones de temperatura e iluminación indicadas en el apartado 1.2 y sin haber recibido ningún tipo de estratificación previa. Este primer ensayo control arrojó en ambas especies porcentajes de germinación  $\geq 40\%$  a temperaturas intermedias (20/7°C) pero nulos o muy bajos a temperaturas extremas (5°C y 28/14°C), apuntando a la existencia de latencia fisiológica condicionada no profunda.

Dado que en este nivel de latencia el almacenaje en seco de las semillas contribuye a eliminar la dormición y a aumentar considerablemente los porcentajes de germinación a todas las temperaturas (Baskin y Baskin, 2014; Copete y cols., 2005), el 10 de enero de 2015 (edad de las semillas: 5 meses) se inició un segundo ensayo control utilizando exactamente las mismas condiciones que en el primero.

### **1.4. Influencia del ácido giberélico en la rotura de latencia**

La finalidad de este ensayo ha sido evaluar la eficacia del ácido giberélico (GA3) en la eliminación de la latencia y estimulación de la germinación, dado que es conocido que provoca la germinación en especies con niveles de latencia fisiológica no profunda o intermedia (Baskin

y Baskin, 2014). Se inició el 1 de diciembre de 2015, a fin de tener una idea fiable sobre la temperatura óptima de germinación de cada especie en función del ensayo control previo. Las semillas fueron incubadas sobre dos capas de papel de filtro humedecido con una disolución de ácido giberélico (1500 ppm) en agua destilada. Tras 30 días de incubación a 20/7°C para *Rh. lycioides* y a 25/10°C para *Rh. saxatilis* los resultados obtenidos se compararon con los de los ensayos control.

### **1.5. Influencia de tratamientos de estratificación sobre la rotura de la latencia y facultad germinativa**

En ambas especies el 1 de octubre de 2015 se inició un tratamiento de estratificación fría a 5°C luz durante 60 días (tratamiento A), colocando 1100 semillas de cada especie en sendas placas Petri de 16 cm de diámetro sobre dos capas de papel de filtro humedecido. Finalizada la estratificación las semillas se incubaron en las cinco condiciones de temperatura definidas en luz y en oscuridad.

### **1.6. Tratamiento estadístico de los resultados**

Para cada especie, la respuesta germinativa en función de las condiciones utilizadas en cada ensayo se ha evaluado mediante el análisis de dos parámetros: a) el porcentaje final de germinación sobre semillas viables, y b) la velocidad de germinación medida por el parámetro  $T_{50}$ , que se define como el tiempo preciso (expresado en días) para lograr la mitad del porcentaje final de germinación alcanzado (Thanos y Georgiou, 1988).

El parámetro  $T_{50}$  **sólo se evaluó en las placas incubadas en luz cuya germinación final sobre semillas viables fue  $\geq 10$  %**, ya que valores inferiores se consideran poco representativos. Con los resultados obtenidos en cada ensayo se han calculado la media aritmética y el error estándar de las 4 réplicas utilizadas.

La evaluación del efecto de los diferentes factores considerados en el estudio sobre el porcentaje final y velocidad de germinación se ha realizado mediante un ANOVA multifactorial, a fin de detectar diferen-

cias significativas entre los distintos ensayos realizados con cada especie. Así, para analizar el porcentaje final de germinación sobre semillas viables los factores considerados han sido: temperatura de incubación (5 niveles), condiciones de iluminación (2 niveles: luz y oscuridad) y tipo de ensayo (control, estratificación fría). Los casos responsables de efectos principales significativos se detectaron mediante una prueba múltiple de Tukey. Previamente a la realización del análisis, se comprobaron la homogeneidad de la varianza (prueba de David) y la normalidad (prueba de Cochran) de los datos. Los valores de germinación (en porcentaje) se sometieron a una transformación de tipo arco-seno para su inclusión en el análisis (Copete y cols., 2005).

Los resultados de estos tratamientos estadísticos no se detallan en el texto ya que se muestran directamente en las figuras correspondientes.

## 2. RESULTADOS

### 2.1. *Rhamnus lycioides* subsp. *lycioides*

En el ensayo Control-1 (edad de las semillas: 1 mes) se obtuvieron porcentajes de germinación  $\geq 80\%$  a las temperaturas de incubación de 20/7°C, 25/10°C y 28/14°C, tanto en luz como en oscuridad. El tiempo de inicio de la germinación fue de 8 días a 25/10°C y 28/14°C luz, y el parámetro  $T_{50}$  a estas temperaturas fue de  $15,75 \pm 0,65$  días y  $15 \pm 0$  días, respectivamente. A la temperatura de 15/4°C el porcentaje de germinación fue  $24,02 \pm 1,18\%$  en luz y  $29,25 \pm 2,48\%$  en oscuridad. A 5°C no se produjo germinación (figura 3).

En el ensayo Control-2 (edad de las semillas: 5 meses) los porcentajes de germinación obtenidos a las temperaturas de 20/7, 25/10 y 28/14°C, tanto en luz como en oscuridad, fueron muy parecidos a los alcanzados en el ensayo Control-1. Sin embargo, a la temperatura de 15/4°C se alcanzaron porcentajes de germinación significativamente más altos que en el primer ensayo control, llegando a  $69,22 \pm 4,24$  en luz y a  $74,45 \pm 1,44$  en oscuridad. A 5°C tampoco hubo germinación.

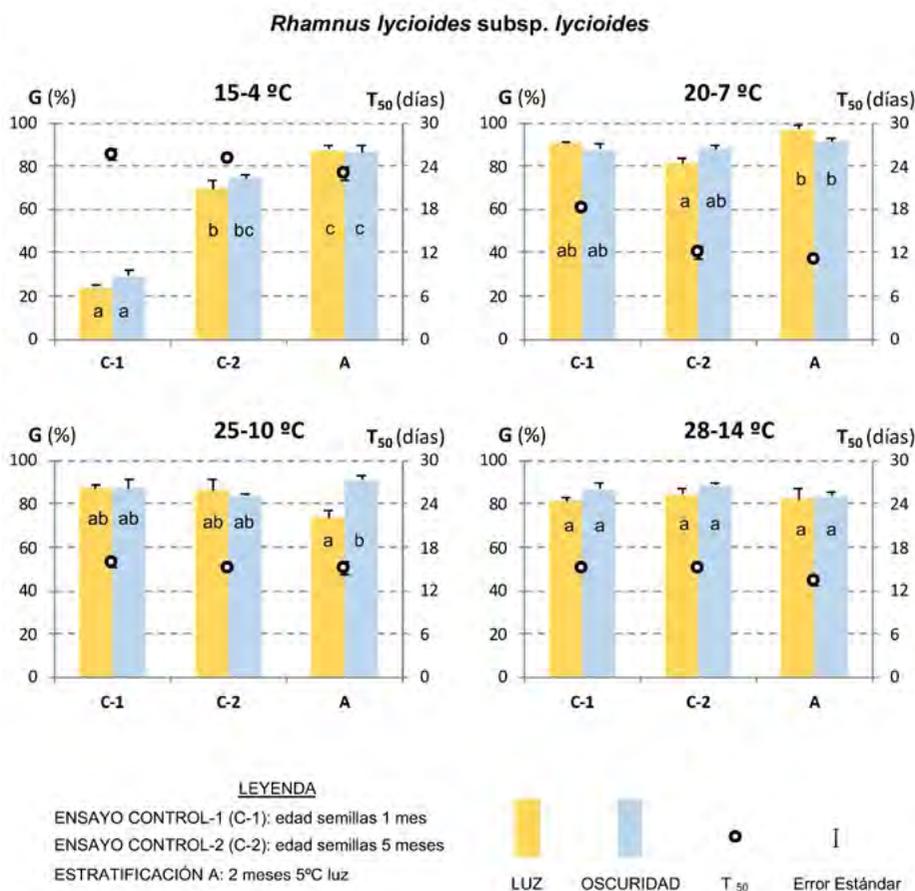


Figura 3. Porcentajes finales de germinación (media ± error estándar) y velocidades de germinación (T<sub>50</sub> en días) en *Rhamnus lycioides* subsp. *lycioides* tras incubación a diferentes temperaturas durante 30 días tras diferentes tratamientos (ensayos control C-1 y C-2, estratificación A). Dentro de cada temperatura, letras minúsculas diferentes entre tratamientos o condiciones de iluminación indican diferencias significativas (p < 0,05).

Las velocidades de germinación fueron muy parecidas a las del primer ensayo control, excepto a 20/7°C que fue más rápida, pasando el T<sub>50</sub> de 18 días en el primer ensayo control a 12 días en el segundo (figura 3).

El tratamiento de estratificación fría (5°C) durante 2 meses (tratamiento A) permitió un aumento significativo de los porcentajes de germinación en las semillas incubadas a 15/4°C con relación a los ensayos

control, pero al resto de temperaturas los porcentajes de germinación fueron muy similares. Las velocidades de germinación fueron similares a las obtenidas en el ensayo Control-2. Tras este tratamiento A se alcanzaron los porcentajes de germinación más altos,  $96,87 \pm 1,73$  %, y velocidades de germinación más rápidas ( $T_{50} = 11$  días), a  $20/7^{\circ}\text{C}$  luz (figura 3).

Se han representado las curvas de progreso de la germinación para los ensayos Control-1 y Control-2 (figura 4) habiendo omitido las mismas tras el tratamiento A por ser muy parecidas a las del ensayo Control-2. En ellas se pone de manifiesto el aumento significativo de la velocidad de germinación a  $20/7^{\circ}\text{C}$  en el ensayo Control-2, así como el aumento significativo del porcentaje de germinación a  $15/4^{\circ}\text{C}$  en este ensayo.

El ácido giberélico no tuvo efecto promotor de la germinación y tras la incubación a  $20/7^{\circ}\text{C}$  luz el porcentaje de germinación alcanzado fue  $87,54 \pm 2,31$  %, similar al obtenido en los ensayos control, aunque la velocidad de germinación ( $T_{50} = 16$  días) fue más lenta que la obtenida en el segundo ensayo control (datos no mostrados en las figuras).

Con los resultados obtenidos se considera que el tratamiento A es el más adecuado para obtener planta en vivero, al permitir alcanzar los porcentajes de germinación más altos en el menor tiempo posible.

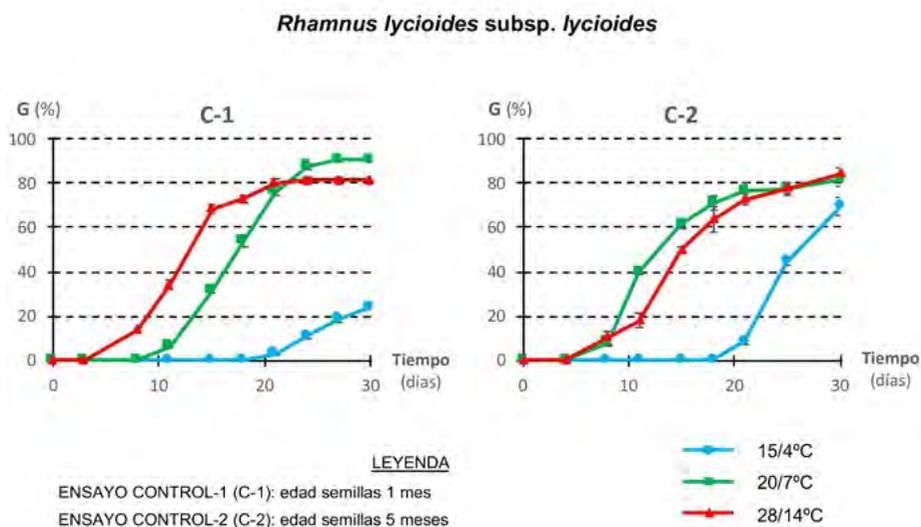


Figura 4. Curvas de progreso de la germinación (media  $\pm$  error estándar) en *Rhamnus lycioides* subsp. *lycioides* a diferentes temperaturas de incubación tras diferentes ensayos control.

## 2.2. *Rhamnus saxatilis*

En esta especie los porcentajes de germinación alcanzados en los ensayos control han sido notablemente más bajos que los logrados para su congénere *Rh. lycioides*, no llegando en ninguna temperatura al 50 % ( $49,34 \pm 1,02$  % a  $25/10^{\circ}\text{C}$  luz). Además de a  $5^{\circ}\text{C}$ , la germinación también ha sido nula a  $15/4^{\circ}\text{C}$ . La velocidad de germinación también ha sido más lenta y en ninguna temperatura se ha iniciado la germinación antes de los 15 días, siendo el  $T_{50}$  a la temperatura más favorable ( $25/10^{\circ}\text{C}$  ensayo Control-1) de  $21,75 \pm 0,65$  días. Por otra parte, al aumentar la edad de las semillas (5 meses en ensayo Control-2) no han aumentado los porcentajes de germinación, e incluso a  $25/10^{\circ}\text{C}$  han disminuido (figura 5).

El tratamiento de estratificación fría a  $5^{\circ}\text{C}$  luz durante 2 meses (tratamiento A) ha tenido un efecto estimulador de la germinación a todas las temperaturas con respecto a los ensayos control (excepto a  $5^{\circ}\text{C}$ ), e incluso tras la incubación a  $15/4^{\circ}\text{C}$  se ha alcanzado un  $36,49 \pm 3,51$  % de germinación en luz y un  $52,63 \pm 0,86$  % en oscuridad, frente a 0 % en

los ensayos control. Tras el tratamiento A los porcentajes de germinación más altos se han alcanzado a 20/7°C (80,36 ± 5,11 % en luz y 82,45 ± 2,45 % en oscuridad). Sin embargo, la velocidad de germinación se ha seguido manteniendo lenta y aunque a los 13 días se han producido ya algunas germinaciones, el valor del parámetro  $T_{50}$  a la temperatura más favorable (20/7°C) ha sido de 22 ± 0,87 días. Únicamente a 28/14°C se

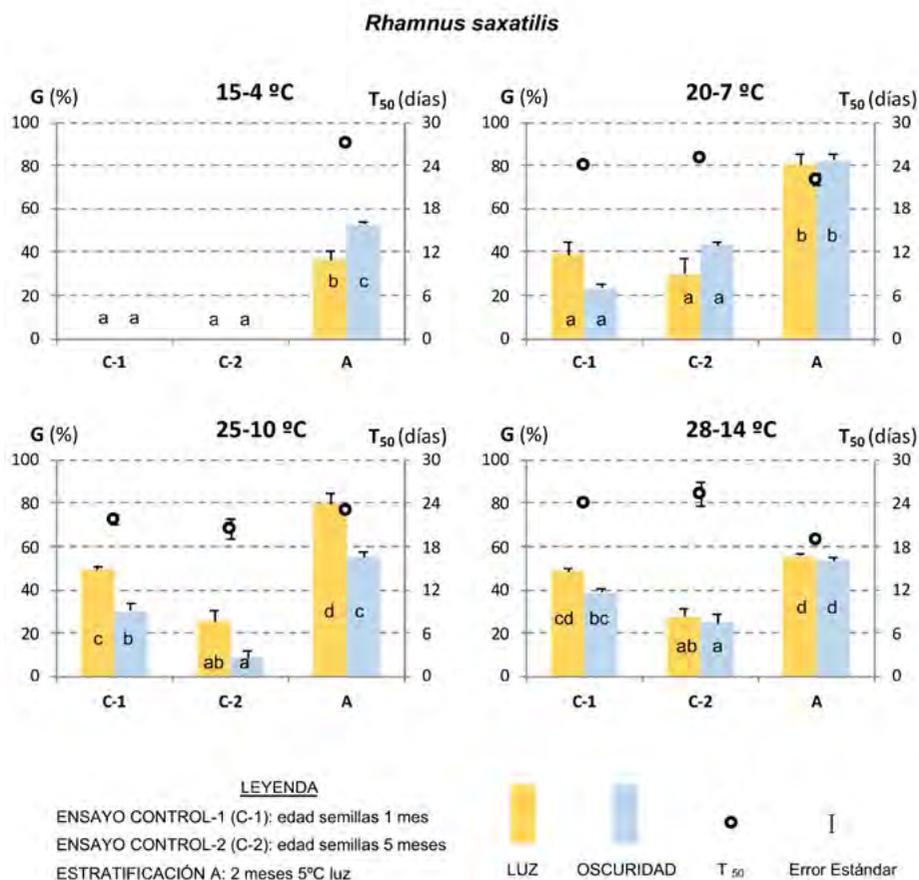


Figura 5. Porcentajes finales de germinación (media ± error estándar) y velocidades de germinación ( $T_{50}$  en días) en *Rhamnus saxatilis* tras incubación a diferentes temperaturas durante 30 días tras diferentes tratamientos (ensayos control C-1 y C-2, estratificación A). Dentro de cada temperatura, letras minúsculas diferentes entre tratamientos o condiciones de iluminación indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

ha producido un descenso significativo de este parámetro pasando de 25 días a 19 días (figura 5).

En las curvas de progreso de la germinación se han representado las obtenidas tras el ensayo Control-1 y tras el tratamiento A (figura 6), omitiendo las del ensayo Control-2 por ser muy similares a las del primero. Dichas curvas ponen de manifiesto el aumento significativo de los porcentajes y velocidades de germinación tras el tratamiento A en relación al ensayo Control-1. Se han representado las únicas tres temperaturas a las que se produce germinación en todos los tratamientos.

El ácido giberélico no ha promovido la germinación y tras la incubación a 25/10°C luz el porcentaje de germinación alcanzado fue del  $51,63 \pm 2,70$  %, muy similar al logrado en el ensayo Control-1. La velocidad de germinación fue incluso más lenta que en el Control-1, con un  $T_{50}$  de 25 días frente a  $21,75 \pm 0,65$  días (datos no mostrados en las figuras).

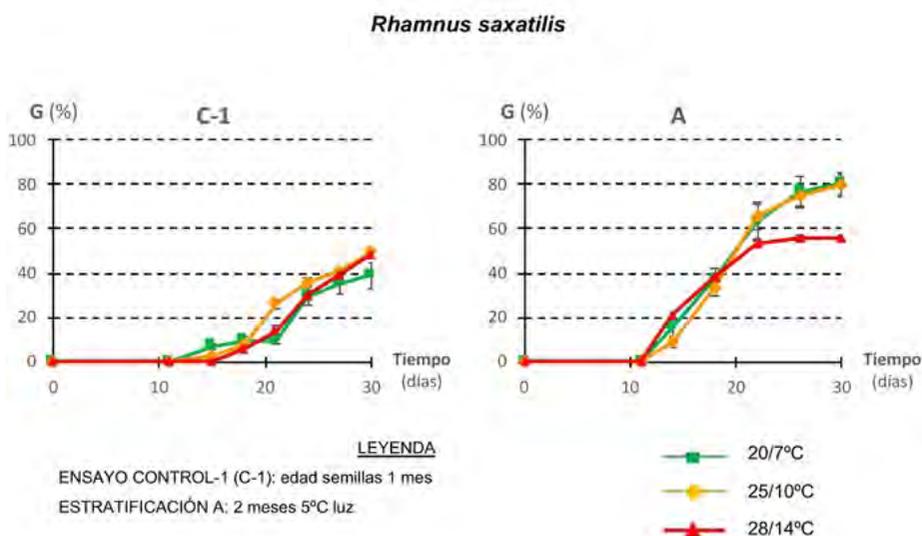


Figura 6. Curvas de progreso de la germinación (media  $\pm$  error estándar) en *Rhamnus saxatilis* a diferentes temperaturas de incubación tras el ensayo Control-1 y tras el tratamiento de estratificación A.

El tratamiento de estratificación A se considera también el más adecuado para producir planta en vivero, ya que permite que un 80 % de las semillas empleadas den lugar a plántulas.

### 3. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

#### 3.1. *Rhamnus lycioides* subsp. *lycioides*

Las semillas de espino negro tienen embriones desarrollados al dispersar y se hidratan en contacto con el agua, por lo que la latencia existente es fisiológica. Recién dispersadas (edad: 1 mes) germinan > 80 % a 20/7, 25/10 y 28/14°C, pero < 30 % a 15/4 y 5°C, por lo que esta latencia fisiológica es condicionada en función de la temperatura. Dado que el almacenaje en seco de las semillas hasta alcanzar la edad de 5 meses provocó un aumento del porcentaje de germinación hasta el 70 % a 15/4°C (postmaduración), el nivel de latencia fisiológica es no profundo, lo que se confirma también por el incremento del porcentaje de germinación obtenido a 15/4°C cuando las semillas se estratifican en frío (5°C luz) durante un periodo relativamente corto de 2 meses (Baskin y Baskin, 2014).

Los resultados obtenidos en este estudio mejoran sensiblemente los porcentajes de germinación del 58 % obtenidos por Ayerbe y Ceresuela (1982), ya que tras 2 meses de estratificación fría y posterior incubación a 20/7°C luz se ha alcanzado el  $96,87 \pm 1,73$  % de germinación (figura 3). El alto porcentaje logrado en estas condiciones justifica el empleo de estratificación fría durante 2 meses para la producción de planta en vivero, al optimizar la eficacia de las semillas empleadas para producir plántulas.

Con los resultados obtenidos puede deducirse que el inicio del otoño, hacia el mes de octubre (con temperaturas de 20/7°C), es el periodo más adecuado para la emergencia y establecimiento de plántulas de espino negro en su hábitat natural. Aunque las semillas de esta especie, poco tiempo después de su dispersión, presentan porcentajes de

germinación >80 % a 28/14 y 25/10°C (temperaturas propias de agosto y septiembre, respectivamente), es poco probable que lleguen a germinar en la naturaleza en esta época del año ya que su lenta velocidad de germinación dificulta que puedan llegar a disponer de la humedad edáfica necesaria el tiempo que hace falta para que se produzca el inicio de la germinación (8 días). En el ámbito mediterráneo en el que habita *Rh. lycioides* subsp. *lycioides* las precipitaciones estivales ocasionales de los meses de agosto y septiembre no suelen garantizar que las capas superficiales del suelo permanezcan húmedas más allá de 3-4 días. En cambio en octubre, con el descenso de temperaturas y aumento de precipitaciones, el suelo puede permanecer húmedo ininterrumpidamente durante los 12 días precisos para alcanzar el valor del parámetro  $T_{50}$ . Las semillas que no germinen en otoño y experimenten un tratamiento de estratificación fría durante el invierno, podrán germinar en marzo a 15/4°C (figura 3). Comportamientos de germinación similares han sido citados en otras especies del entorno geográfico mediterráneo (Pérez-García y cols., 1995; Schütz, 1999).

### 3.2. *Rhamnus saxatilis*

La clase de latencia presente en las semillas de *Rh. saxatilis* es también fisiológica, ya que presentan embriones desarrollados al dispersar y embeben agua en contacto con el papel de filtro humedecido. De la misma forma que en el caso del espino negro, es también una latencia fisiológica condicionada, ya que semillas no estratificadas previamente en frío germinan hasta un  $49,34 \pm 1,02$  % a 25/10°C luz y un 0 % a 15/4°C. Por otra parte, el aumento significativo de los porcentajes de germinación a todas las temperaturas (excepto 5°C) tras un periodo relativamente corto de 2 meses de estratificación fría (5°C), indica que se trata de una latencia fisiológica de nivel no profundo (Baskin y Baskin, 2014).

Por las mismas razones indicadas en el caso de *Rh. lycioides* subsp. *lycioides*, la época del año más probable para la germinación y emergencia de plántulas en la naturaleza es el inicio del otoño, hacia el mes de octubre. En el caso de *Rh. saxatilis*, al tratarse de una especie de zonas algo más húmedas y frías que las propias de *Rh. lycioides* subsp. *lycioides*, es

probable que las precipitaciones durante los meses de agosto y septiembre sean algo más abundantes pero su velocidad de germinación es más lenta y hacen falta 15 días para que se inicie el proceso de emergencia de las radículas. Asimismo, y dado el aumento tan significativo en los porcentajes de germinación producido cuando las semillas se han sometido durante 2 meses a una estratificación fría (5°C) previa, es probable que un alto porcentaje de semillas germinen durante marzo y abril, siguiendo una estrategia similar a la descrita para otras especies de ambientes submediterráneos características de sabinares albares, quejigares, pinares negrales y albares (Herranz y cols., 2002).

Tanto en el caso de *Rh. saxatilis* como de *Rh. lycioides* subsp. *lycioides*, los elevados porcentajes de germinación obtenidos con las temperaturas fluctuantes utilizadas en este estudio indican la adaptación de ambas especies para colonizar los espacios abiertos y claros de la cubierta arbórea (Kos y Poschlod, 2007). Asimismo, los elevados porcentajes de germinación obtenidos en condiciones de iluminación también se pueden interpretar en el mismo sentido (Thanos y cols., 1991).

Como principales conclusiones obtenidas en este estudio cabe destacar:

- Las semillas de *Rh. lycioides* subsp. *lycioides* y de *Rh. saxatilis* tienen latencia fisiológica condicionada de nivel no profundo.
- Tras un periodo de 2 meses de estratificación fría (5°C luz) se pueden alcanzar porcentajes de germinación  $\geq 80\%$  tanto en *Rh. lycioides* subsp. *lycioides* (incubación a 15/4, 20/7, 25/10 ó 28/14°C) como en *Rh. saxatilis* (incubación a 20/7 ó 25/10°C).

## BIBLIOGRAFÍA

- Ayerbe, L. y J.L. Ceresuela (1982). Germinación de especies endémicas españolas. *Anales del INIA, Serie Forestal*, 6: 17-41.
- Baccheta, G., A. Bueno, G. Fenu, B. Jiménez, E. Mattana, B. Piotto y M. Vivevaire (eds.) (2008). *Conservación ex situ de plantas*

- silvestres*. Principado de Asturias. La Caixa. 375 pp.
- Baskin, C.C. y J.M. Baskin (2014). *Seeds. Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination*. 2<sup>a</sup> Ed. Academic Press. San Diego. 1586 pp.
- Copete, M.A., J.M. Herranz y P. Ferrandis (2005). Seed dormancy and germination in threatened Iberian *Coincya* (Brassicaceae) taxa. *Écoscience*, 12(2): 257-266.
- Herranz, J.M., P. Ferrandis, M.A. Copete y J.J. Martínez-Sánchez (2002). Influencia de la temperatura de incubación sobre la germinación de 23 endemismos vegetales ibéricos o iberoafricanos. *Investigación Agraria. Producción y Protección Vegetales*, 17(2): 229-245.
- Kos, M. y P. Poschlod (2007). Seeds use temperature cues to ensure germination under nurse-plant shade in xeric Kalahari savannah. *Annals of Botany*, 99: 667-675.
- Martin-Herrero, J., S. Cirujano, M. Moreno, J.B. Peris y G. Stübing (2003). *La vegetación protegida en Castilla- La Mancha*. Junta de Comunidades de Castilla- La Mancha. Madrid. 375 pp.
- Pérez-García, F., J.M. Iriondo, M.E. González, L.F. Carnes, J. Tapia, C. Prieto, R. Plaza y C. Pérez (1995). Germination studies in endemic plant species of the Iberian Peninsula. *Israel Journal of Plant Sciences*, 43: 239-247.
- Pérez-García, F., J.M. Pita y C. Gómez-Campo (1993). *Fisiología de semillas*. Escuela T.S. Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica. Madrid. 49 pp.
- Rivas-Martínez, S. y J.M. Pizarro (2015). *Rhamnus* L. En F. Muñoz, C. Navarro, A. Quintanar y A. Buirra (eds.): *Flora Iberica*, Vol. IX; pp. 11-50. Real Jardín Botánico, CSIC. Madrid. 564 pp.
- Schütz, W. (1999). Germination ecology and early seedling performance

in *Nerium oleander* L. (Apocynaceae), a Mediterranean stream bank shrub. *Journal of Mediterranean Ecology*, 1: 117-128.

Thanos, C.A. y K. Georghiou (1988). Ecophysiology of fire stimulated seed germination in *Cistus incanus* subsp. *creticus* (L.) Heywood and *C. salvifolius* L. *Plant, Cell & Environment*, 11: 841-849.

Thanos, C.A., K. Gerghiou, D.J. Douma y C.J. Marangaki (1991). Photoinhibition of seed germination in mediterranean maritime plants. *Annals of Botany*, 68: 469-475.