

## GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *CISTUS OSBECKIIFOLIUS* WEBB EX CHRIST. (CISTACEAE)

FÉLIX PÉREZ GARCÍA

Departamento de Biología Vegetal, Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Agrícola, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid.

Recibido: octubre 1994

Palabras clave: *Cistus osbeckiifolius*, semillas, germinación, escarificación, Tenerife, islas Canarias.

Key words: *Cistus osbeckiifolius*, seeds, germination, scarification, Tenerife, Canary Islands.

### RESUMEN

En el presente trabajo se ha estudiado el comportamiento germinativo de las semillas de *Cistus osbeckiifolius*, especie endémica de la isla de Tenerife. Los ensayos de germinación se realizaron bajo condiciones controladas de temperatura y luz. Las temperaturas relativamente bajas (15°C y 20°C) se mostraron como las más adecuadas para promover la germinación de estas semillas. Las aplicaciones de ácido giberélico no incrementaron de forma significativa la germinación de las semillas estudiadas. Para los diferentes pretratamientos ensayados, los mayores porcentajes de germinación se obtuvieron con la escarificación de las semillas. Así, con la escarificación con agua caliente y con ácido sulfúrico se consiguieron porcentajes de germinación superiores al 70%, mientras que con pretratamientos con calor seco se incrementó el porcentaje final de germinación hasta un 67%. De los resultados obtenidos parece desprenderse que la dureza de la cubierta seminal y su impermeabilidad al agua podrían ser, al igual que ocurre en numerosas especies del género *Cistus*, las causas principales de la dormición que presentan las semillas de *C. osbeckiifolius*.

### SUMMARY

In the present work, the seed-germination behaviour of *Cistus osbeckiifolius*, an endemic species of the island of Tenerife, has been studied. The germination trials were carried out under controlled conditions of light and temperature. Relatively low temperatures (15°C and 20°C) were the most adequate for the germination of these species. The addition of gibberellic acid did not significantly increase seed germination. From the different pre-treatments assayed, the highest germination percentages were obtained through seed scarification. Thus, germination percentages of over 70% were obtained through hot-water or sulphuric acid scarification whereas the final germination percentage through a dry-heat pretreatment was 67%. From these results, it seems that hardness and impermeability of the seed coat might be the most important causes of the dormancy present in *C. osbeckiifolius* seeds, as occurs similarly in several other species of the genus *Cistus*.

## INTRODUCCIÓN

La germinación de las semillas de diferentes especies del género *Cistus* ha sido estudiada, en sus diferentes aspectos, por varios autores (CORRAL *et al.*, 1990; JUHREN, 1966; PÉREZ GARCÍA *et al.*, 1991; THANOS & GEORGHIOU, 1988; THANOS *et al.*, 1992; TRABAUD & OUSTRIC, 1989a,b; TROUMBIS & TRABAUD, 1987; VUILLEMIN & BULARD, 1981). La mayor parte de las especies del género *Cistus* se comportan como colonizadoras de áreas muy degradadas y, por regla general, el fuego es un factor natural necesario para que esta colonización tenga lugar. Como en otras especies pirófitas, las altas temperaturas que se producen durante los incendios facilitan la germinación de las semillas. Por ello, los pretratamientos con calor seco (80-100°C) suelen incrementar de forma espectacular los porcentajes finales de germinación de estas especies.

*Cistus osbeckiifolius* Webb ex Christ. es una cistácea endémica de la isla de Tenerife. Se trata de una especie subarborescente propia de la zona subalpina de esta isla (BRAMWELL & BRAMWELL, 1990), que llega hasta los 2.400 metros de altura en el interior del Parque Nacional del Teide (BAÑARES *et al.*, 1992). Es un taxon incluido en la categoría E, es decir como especie en peligro de extinción (BARRENO, 1984; IUCN, 1982).

La germinación de las numerosas especies endémicas de las islas Canarias ha sido muy poco estudiada (BAÑARES, 1992; DELGADO, 1986; MAYA, 1989; MAYA & PONCE, 1981; MAYA *et al.*, 1988; PÉREZ GARCÍA & DURÁN, 1989; PITA, 1988, 1989). El estudio de las diferentes técnicas de reproducción sexual y asexual es, sin duda, uno de los puntos fundamentales para la conservación y recuperación de especies vegetales en peligro de extinción. El presente trabajo es una contribución al conocimiento del comportamiento germinativo de *Cistus osbeckiifolius*, para ello se han estudiado los efectos de la temperatura, ácido giberélico (GA<sub>3</sub>), inmersión en agua destilada y diferentes pretratamientos de escarificación (agua caliente, ácido sulfúrico y calor seco) sobre la germinación de las semillas de esta especie.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material vegetal.

Las semillas de *Cistus osbeckiifolius* se recolectaron en el Parque Nacional del Teide (Tenerife) y hasta el momento de su utilización en los ensayos de germinación se conservaron en ambiente seco.

### Condiciones controladas de germinación.

Todos los ensayos de germinación se realizaron siempre en cajas Petri de cristal, de 7 cm de diámetro interior, provistas de dos discos de papel de filtro humedecidos con 3 ml de agua destilada. Se utilizaron 100 semillas por

tratamiento repartidas en cuatro repeticiones de 25 semillas cada una. Las temperaturas de incubación empleadas fueron temperaturas constantes de 15°C, 20°C y 25°C, así como temperaturas alternas de 15/25°C. Las condiciones de iluminación fueron siempre fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad. Cuando se utilizaron temperaturas alternas, la temperatura inferior (15°C) se correspondió con el periodo de oscuridad y la temperatura superior (25°C) con el de iluminación. Los ensayos preliminares de germinación pusieron de manifiesto que las semillas de *C. osbeckiifolius* germinan de forma escalonada y presentan un periodo de germinación muy prolongado, por ello, para todos los ensayos realizados, el tiempo de germinación se estableció en 60 días desde la siembra. El criterio de germinación utilizado en todo momento fue la emergencia de la radícula. Como índices para evaluar la velocidad de germinación de las semillas estudiadas, se calcularon el tiempo necesario para alcanzar el 50% del porcentaje final de germinación ( $T_{50}$ ) y el tiempo necesario para alcanzar entre el 10% y el 90% del porcentaje final de germinación ( $T_{10-90}$ ).

#### **Pretratamientos de germinación:**

##### **1. Ácido giberélico.**

Las semillas se sumergieron en una solución de ácido giberélico ( $GA_3$ ) de 1000 mg.l<sup>-1</sup> durante 24 horas. La imbibición de las semillas en  $GA_3$  se realizó a temperatura ambiente de laboratorio. Tras este tratamiento, las semillas se lavaron al menos cinco veces con agua destilada y se sembraron bajo condiciones controladas de germinación a 15/25°C.

##### **2. Inmersión en agua destilada.**

Las semillas se imbibieron durante 24 y 48 horas en agua destilada a temperatura ambiente de laboratorio. Tras el periodo de imbibición, las semillas se sembraron bajo condiciones controladas de germinación a 15/25°C.

##### **3. Escarificación con calor seco.**

Las semillas, en el interior de frascos de cristal abiertos, se introdujeron en una estufa con temperatura controlada. Las temperaturas utilizadas fueron 50°C, 80°C y 100°C, manteniéndose las semillas a estas temperaturas durante diferentes tiempos: 15, 30 y 60 minutos. Tras los pretratamientos con calor seco, las semillas se sembraron bajo condiciones controladas de germinación a 15/25°C.

##### **4. Escarificación con agua caliente.**

En un primer ensayo, las semillas se sumergieron en un vaso de precipitado con agua caliente próxima al punto de ebullición (95-100°C). Tras la inmersión de las semillas, el recipiente se retiró de la fuente de calor y se dejó enfriar lentamente el agua a temperatura ambiente de laboratorio. Las semillas se

mantuvieron durante 24 horas en el agua y transcurrido este tiempo se sembraron bajo condiciones controladas de germinación a 15/25°C.

En un segundo grupo de ensayos, las semillas se sumergieron en agua calentada a temperatura comprendida entre 85 y 90°C durante tiempos variables (15, 30 y 60 minutos). Tras los tratamientos con agua caliente, las semillas se lavaron al menos cinco veces con agua destilada y se sembraron bajo condiciones controladas de germinación a 15/25°C.

### 5. Escarificación ácida.

En un primer grupo de ensayos, las cubiertas seminales se escarificaron con ácido sulfúrico ( $\text{SO}_4\text{H}_2$ ), diluido al 50% con agua destilada, durante 30 segundos y 1 minuto.

En un segundo grupo de ensayos, las semillas se escarificaron con  $\text{SO}_4\text{H}_2$  durante diferentes tiempos: 15 y 30 segundos y 1, 2.5, 5, 15 y 30 minutos.

Tras el tratamiento de escarificación ácida, en ambos grupos de ensayos, las semillas se lavaron entre 5 y 10 veces con agua destilada y se sembraron bajo condiciones controladas de germinación a 15/25°C.

## RESULTADOS

Los porcentajes de germinación alcanzados, a los 60 días desde la siembra, a diferentes temperaturas (15°C, 20°C, 25°C y 15/25°C) fueron siempre inferiores al 30% (Fig.1). Los mejores resultados se obtuvieron para las temperaturas constantes más bajas (15°C y 20°C). Como se desprende de la observación de la Fig.1, las semillas de *C. osbeckiifolius* germinan de forma muy escalonada, presentando un dilatado periodo de germinación.

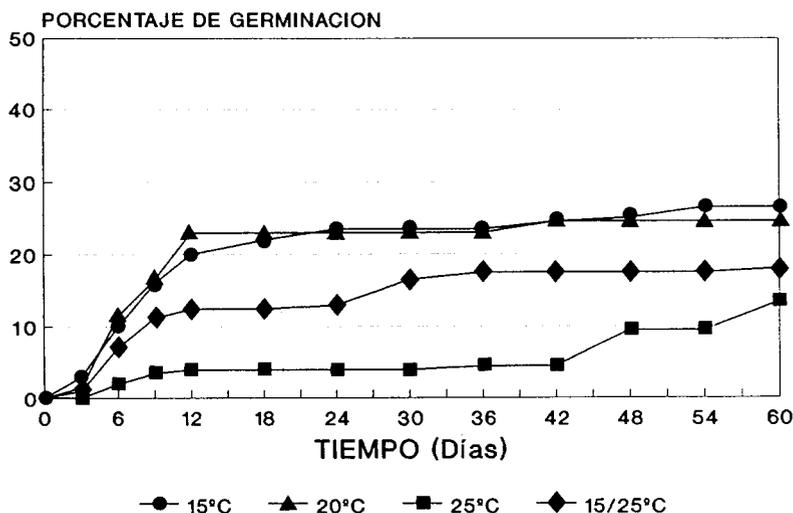


Figura 1.- Efecto de la temperatura de incubación sobre la germinación de semillas de *Cistus osbeckiifolius*.

La inmersión de las semillas en una solución de  $GA_3$  de  $1000 \text{ mg.l}^{-1}$  durante 24 horas no mejoró significativamente el porcentaje final de germinación con respecto a las semillas sumergidas durante el mismo tiempo en agua destilada (control) (Fig.2).

La inmersión, previa a la siembra, de las semillas en agua destilada durante 24 y 48 horas incrementó ligeramente la germinación con respecto a las semillas sembradas directamente (control) (Fig.3). Durante la imbibición de las semillas en agua destilada se observa, en la mayor parte de ellas, la pérdida de la capa más externa de la cubierta seminal.

La Tabla 1 muestra los porcentajes finales de germinación de las semillas estudiadas sometidas a pretratamientos de calor seco. Todos los tratamientos ensayados incrementaron los porcentajes de germinación, obteniéndose los mejores resultados para las combinaciones de temperaturas y tiempos de  $80^\circ\text{C}$  y 15 y 30 minutos.

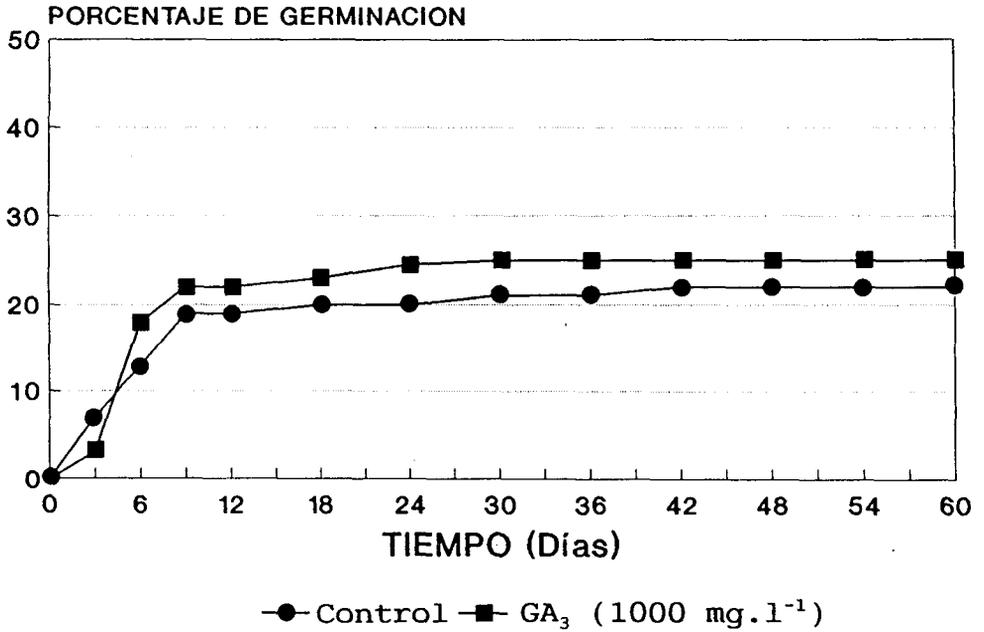
De los dos tipos de ensayos realizados con agua caliente, los mejores resultados se consiguieron cuando las semillas se sumergieron en agua a  $95\text{-}100^\circ\text{C}$  (Tabla 2). El porcentaje de germinación alcanzado por las semillas de *C. osbeckiifolius* con este pretratamiento (79%) fue el más elevado de entre todos los conseguidos con los diferentes ensayos llevados a cabo en este trabajo.

En la Tabla 3 se muestra el efecto de la escarificación ácida sobre las semillas estudiadas. En general, si exceptuamos los tratamientos más suaves o los más drásticos, la germinación se incrementó de forma significativa con la escarificación con  $\text{SO}_4\text{H}_2$ . Los mejores resultados se obtuvieron con la utilización de  $\text{SO}_4\text{H}_2$  y cortos tiempos de aplicación (15 y 30 segundos).

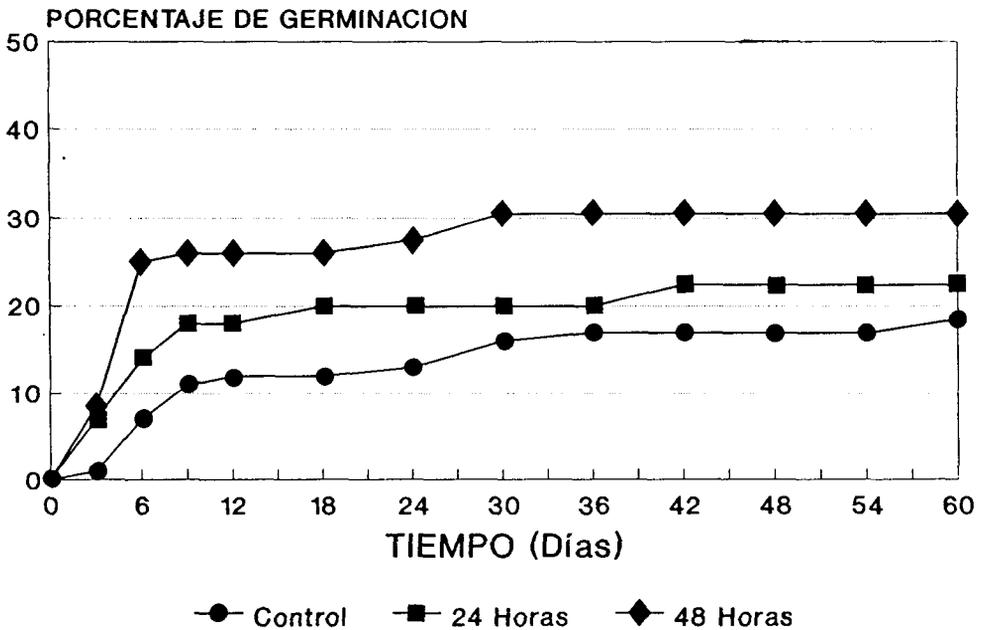
## DISCUSIÓN

Todos los pretratamientos de escarificación utilizados (escarificación con agua caliente, con calor seco y con ácido sulfúrico) tuvieron un efecto positivo sobre la germinación de las semillas estudiadas de *C. osbeckiifolius*. En varios de estos tratamientos, los porcentajes de germinación superaron el 60% a los 60 días desde la siembra en condiciones controladas. Los mayores porcentajes de germinación se obtuvieron precisamente con los pretratamientos de escarificación con agua caliente (79%) y con ácido sulfúrico (71%). La eficacia mostrada por las diferentes técnicas de escarificación utilizadas pone de manifiesto el importante papel que desempeña la cubierta seminal en la germinación de *C. osbeckiifolius*. Al igual que ocurre en otras especies de *Cistus* (CORRAL *et al.*, 1989, 1990; PÉREZ GARCÍA *et al.*, 1991; THANOS & GEORGHIOU, 1988; THANOS *et al.*, 1992; TRABAUD & OUSTRIC, 1989a y b; VUILLEMIN & BULARD, 1981) la dureza de la cubierta seminal y su impermeabilidad al agua, en mayor o menor grado, serían las principales causas de la dormición que manifiestan las semillas estudiadas.

De forma semejante, los pretratamientos con calor seco provocarían daños y fracturas en la cubierta seminal y posibilitarían la absorción de agua por las semillas de *C. osbeckiifolius* y en consecuencia su germinación. El efecto promo-



**Figura 2.-** Efecto del ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) sobre la germinación de semillas de *Cistus osbeckiifolius*. Las semillas se imbibieron durante 24 horas en agua destilada (control) o en una solución de GA<sub>3</sub> de 1000 mg.l<sup>-1</sup>. La incubación posterior de las semillas tuvo lugar a 15/25°C.



**Figura 3.-** Efecto de la imbibición en agua destilada durante 24 y 48 horas sobre la germinación de semillas de *Cistus osbeckiifolius*. La incubación posterior de las semillas se realizó a 15/25°C. Control = semillas no imbibidas en agua destilada.

**Tabla 1.-** Porcentajes finales de germinación (valores medios  $\pm$  error estándar) y valores de  $T_{50}$  y  $T_{10-90}$  alcanzados por semillas de *Cistus osbeckiifolius*. Las semillas fueron pretratadas con calor seco (50°C, 80°C y 100°C) durante diferentes tiempos (15, 30 y 60 minutos). La incubación posterior de las semillas tuvo lugar a 15/25°C.

TEMPERATURA (°C)	TIEMPO (minutos)	PORCENTAJE FINAL DE GERMINACIÓN	$T_{50}$ (días)	$T_{10-90}$ (días)
50	15	34 $\pm$ 2	10	36
	30	30 $\pm$ 5	16	38
	60	21 $\pm$ 5	7	39
80	15	64 $\pm$ 2	6	23
	30	67 $\pm$ 6	18	29
	60	44 $\pm$ 4	15	28
100	15	56 $\pm$ 3	12	32
	30	56 $\pm$ 6	18	31
	60	37 $\pm$ 6	12	29
Control(*)	--	18 $\pm$ 4	6	26

(\*) Control = Semillas sin pretratamiento de calor seco.

**Tabla 2.** Porcentajes finales de germinación (valores medios  $\pm$  error estándar) y valores de  $T_{50}$  y  $T_{10-90}$  alcanzados por semillas de *Cistus osbeckiifolius* escarificadas con agua caliente. (A) Las semillas se sumergieron en agua caliente (85-90°C) durante diferentes tiempos (15, 30 y 60 minutos). (B) Las semillas se sumergieron en agua caliente (95-100°C), que se dejó enfriar lentamente, y se mantuvieron en ella durante 24 horas antes de la siembra. La incubación posterior de las semillas tuvo lugar a 15/25°C.

TRATAMIENTO		PORCENTAJE FINAL DE GERMINACIÓN	$T_{50}$ (días)	$T_{10-90}$ (días)
(A)	15 minutos	27 $\pm$ 5	5	37
	30 minutos	19 $\pm$ 3	5	39
	60 minutos	29 $\pm$ 4	19	37
(B)		79 $\pm$ 5	9	39
Control(*)		18 $\pm$ 4	6	26

(\*) Control = Semillas sin pretratamiento de agua caliente.

**Tabla 3.** Porcentajes finales de germinación (valores medios  $\pm$  error estándar) y valores de  $T_{50}$  y  $T_{10-90}$  alcanzados por semillas de *Cistus osbeckiifolius* escarificadas con ácido sulfúrico ( $\text{SO}_4\text{H}_2$ ). (A) Las semillas se sumergieron en  $\text{SO}_4\text{H}_2$ , diluido al 50% con agua destilada, durante 30 segundos y 1 minuto. (B) Las semillas se sumergieron en  $\text{SO}_4\text{H}_2$  durante diferentes tiempos (15 segundos a 30 minutos). La incubación posterior de las semillas tuvo lugar a 15/25°C.

TRATAMIENTO	PORCENTAJE		
	FINAL DE GERMINACIÓN	$T_{50}$ (días)	$T_{10-90}$ (días)
(A) 30 segundos	22 $\pm$ 4	9	21
1 minuto	13 $\pm$ 3	9	38
(B) 15 segundos	71 $\pm$ 4	13	38
30 segundos	71 $\pm$ 4	18	50
1 minuto	59 $\pm$ 3	28	37
2.5 minutos	41 $\pm$ 10	34	52
5 minutos	60 $\pm$ 4	23	35
15 minutos	19 $\pm$ 3	23	31
30 minutos	20 $\pm$ 2	20	36
Control(*)	18 $\pm$ 4	6	26

(\*) Control = Semillas no escarificadas con  $\text{SO}_4\text{H}_2$ .

tor de las altas temperaturas sobre la germinación de semillas de numerosas especies del género *Cistus* ha sido puesto de manifiesto por distintos autores (CORRAL *et al.*, 1990; JUHREN, 1966; NAVEH, 1974; PÉREZ GARCÍA *et al.*, 1991; THANOS & GEORGHIOU, 1988; THANOS *et al.*, 1992; TRABAUD & OUSTRIC, 1989a y b; VUILLEMIN & BULARD, 1981).

Las aplicaciones de ácido giberélico, al menos con la concentración utilizada (1000 mg.l<sup>-1</sup>), no promueven la germinación de las semillas de *C. osbeckiifolius*. Este hecho ha sido comprobado también en otras especies de *Cistus* (CORRAL *et al.*, 1990) y es una prueba más de que la principal causa de la dormición que presentan las semillas de *C. osbeckiifolius* es la dureza de sus cubiertas seminales.

Como en la mayor parte de las especies del género *Cistus* que se han estudiado, los mayores porcentajes de germinación se obtienen a temperaturas comprendidas entre 15°C y 20°C, presentando una temperatura máxima de germinación relativamente baja. En cualquier caso, las temperaturas superiores a 25°C inhiben prácticamente la germinación de las semillas de las diferentes especies de *Cistus* (CORRAL *et al.*, 1990; THANOS & GEORGHIOU, 1988; VUILLEMIN & BULARD, 1981).

Los resultados obtenidos en este trabajo ponen de manifiesto que las semillas de *C. osbeckiifolius* presentan un comportamiento germinativo muy semejante al de las distintas especies del género *Cistus* ampliamente extendidas por toda la región mediterránea. Las técnicas más adecuadas para romper la dormición que presentan estas semillas se basan en la escarificación de la cubierta seminal

por diferentes métodos: escarificación ácida, con agua caliente y con calor seco. Con el fin de mejorar los porcentajes finales de germinación se deben combinar estos tratamientos con temperaturas bajas de incubación, próximas a los 15°C.

En condiciones naturales, el progresivo deterioro de la cubierta seminal por diversas causas (lavado con agua, temperaturas elevadas de incendios, erosión mecánica, etc.) combinado con las temperaturas relativamente bajas podrían ser los factores que, al igual que ocurre en otras especies del género *Cistus*, promoverían la germinación de las semillas de *C. osbeckiifolius*.

## AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi más profundo agradecimiento al Dr. A. Bañares Baudet del Centro Ecológico de La Laguna (Icna, Tenerife) por haberme proporcionado las semillas, haciendo así posible la realización de este trabajo. De igual manera quiero manifestar mi agradecimiento a Dña. Paloma Maya del Jardín Botánico "Viera y Clavijo" (Gran Canaria) por haber despertado mi interés en la especie objeto del presente trabajo, así como al Dr. José M. Iriondo por la traducción del resumen.

## REFERENCIAS

- BAÑARES BAUDET, A., 1992.- Contribución al conocimiento de la propagación vegetativa y sexual de las especies vegetales de la laurisilva canaria. I. *Bot. Macaronésica*, 19-20: 53-64.
- P. ROMERO MANRIQUE & C. RODRÍGUEZ PIÑERO, 1992.- Adiciones corológicas de algunos endemismos canarios en peligro de extinción. *Bot. Macaronésica*, 19-20: 141-150.
- BARRENO, E., 1984.- *Listado de Plantas Endémicas, Raras o Amenazadas de España*. Información Ambiental nº3: I-XXIV. Ed. Dirección General del Medio Ambiente, Madrid.
- BRAMWELL, D. & Z. BRAMWELL, 1990.- *Flores silvestres de las islas Canarias*. Ed. Rueda y Cabildo Insular de Gran Canaria, Madrid, 376 pp.
- CORRAL, R., F. PÉREZ GARCÍA & J.M. PITA, 1989.- Seed morphology and histology in four species of *Cistus* L. (Cistaceae). *Phytomorphology*, 39: 75-80.
- J.M. PITA & F. PÉREZ GARCÍA, 1990.- Some aspects of seed germination in four species of *Cistus* L. *Seed Science and Technology*, 18: 321-325.
- DELGADO, J.C., 1986.- *Propagación de árboles canarios*. Ed. Cabildo Insular de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, 188 pp.
- IUCN., 1982.- *List of Rare, Threatened and Endemic Plants in Europe*. Council of Europe (Ed.), Strasbourg, 357 pp.
- JUHREN, M.C., 1966.- Ecological observations on *Cistus* in the Mediterranean vegetation. *Forestal Science*, 12: 415-426.
- MAYA, P., 1989.- Notas sobre la germinación de *Arbutus canariensis* Veill. *Bot. Macaronésica*, 17: 27-36.
- & M. PONCE, 1989.- Algunos datos sobre la interacción entre luz y temperatura en la germinación de algunas especies de Asteráceas endémicas de Canarias. *Bot. Macaronésica*, 17: 15-26.
- A. MONZÓN & M. PONCE, 1988.- Datos sobre la germinación de especies endémicas de Canarias. *Bot. Macaronésica*, 16: 67-80.
- NAVEH, Z., 1974. Effects of Fire in the Mediterranean Region. In Eds.T.T. Kozlowski & C.E. Ahlgren. *Fire and Ecosystems*: 401-403. Academic Press, New York.

- PÉREZ GARCÍA, F., R. CORRAL & J.M. PITA, 1991.- Ecofisiología de la germinación de cuatro especies del género *Cistus*. In Eds. F.D. Pineda, M.A.Casado, J.M. de Miguel & J. Montalvo. *Diversidad Biológica-Biological Diversity*: 235-236. Fundación Ramón Areces-ADENA(WWF), Madrid.
- & J.M. DURÁN, 1989.- Germinación de especies endémicas de las regiones mediterránea occidental y macaronésica. *Investigación Agraria: Producción y Protección Vegetales*, 4: 25-33.
- PITA, J.M., 1988.- Germinación en especies endémicas de las islas Canarias. *Investigación Agraria: Producción y Protección Vegetales*, 3: 39-43.
- 1989. Requerimientos de luz para la germinación de algunas especies macaronésicas. *Bot. Macaronésica*, 17: 37-46.
- THANOS, C.A. & K. GEORGHIOU, 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.
- K. GEORGHIOU, C. KADIS, & C. PANTAZI, 1992.- Cistaceae: A plant family with hard seeds. *Israel Journal of Botany*, 41: 251-263.
- TRABAUD, L. & J. OUSTRIC, J. 1989a.- Heat requirements for seed germination of three *Cistus* species in the Garrigue of southern France. *Flora*, 183: 321-325.
- & J. OUSTRIC, 1989b.- Influence du feu sur la germination des semences de quatre espèces ligneuses méditerranéennes à reproduction sexuée obligatoire. *Seed Science and Technology*, 17: 589-599.
- TROUMBIS, A. & L. TRABAUD, 1987.- Dynamique de la banque de graines de deux espèces de cistes dans les maquis grecs. *Acta Oecologica/Oecologia Plantarum*, 8(22): 167-179.
- VUILLEMIN, J. & C. BULARD, 1981.- Ecophysiology of the germination of *Cistus albidus* L. et *Cistus monspeliensis* L. *Naturalia Monspeliensis*, Série Bot., 46: 1-11.