

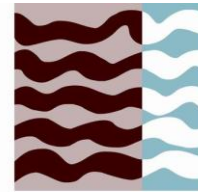
# UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CARTAGENA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Departamento de Producción Vegetal



Universidad  
Politécnica  
de Cartagena



ETSIA  
Cartagena

## PROYECTO FIN DE CARRERA:

“EFECTO DE LA LUZ, TEMPERATURA Y SALINIDAD EN LA  
GERMINACIÓN DE *HYPERICUM ERICOIDES*“

### Alumna:

Marta Armero Rosique

### Directoras:

M<sup>a</sup> José Vicente Colomer

Eulalia Martínez Díaz

Cartagena, Julio 2014



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CARTAGENA  
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN VEGETAL

María José Vicente Colomer, Profesora Titular de Universidad, adscrita al Departamento de Producción Vegetal de la Universidad Politécnica de Cartagena,

CERTIFICA:

Que el presente Trabajo Fin de Carrera, titulado “Efecto de la luz, temperatura y salinidad sobre la germinación de *Hypericum ericoides*”, presentado por D<sup>a</sup>. Marta Armero Rosique, ha sido realizado bajo su dirección.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firma el presente documento en Cartagena a 9 de julio de dos mil catorce.

Fdo.: María José Vicente Colomer

## **AGRADECIMIENTOS**

Me gustaría expresar mi agradecimiento a todas esas personas que han hecho posible que este proyecto saliera adelante.

Al Departamento de Producción Vegetal, a mis directoras María José Vicente y Ely Martínez por su inestimable ayuda y constante apoyo y muy especialmente a Ely por su dedicación.

A Desirée Naveira y Mayra López por su colaboración en el trabajo de laboratorio.

Y por sus pequeñas pero enormes e incondicionales aportaciones, a Alberto D. Gómez y a mi familia, por estar siempre ahí.

# ÍNDICE GENERAL

# ÍNDICE

## **CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN**

I.1- GERMINACIÓN DE SEMILLAS.....	8
I.1.1 INTRODUCCIÓN.....	8
I.1.2 ANATOMÍA DE LA SEMILLA.....	9
I.1.3 PROCESO DE GERMINACIÓN.....	10
I.1.4 FACTORES QUE AFECTAN A LA GERMINACIÓN.....	13
I.1.4.1 FACTORES INTERNOS.....	14
I.1.4.2 FACTORES EXTERNOS.....	16
I.2- <i>HYPERICUM ERICOIDES</i> .....	21
I.2.1 INTRODUCCIÓN AL GÉNERO.....	21
I.2.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	22
I.2.3 DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE.....	22
I.2.4 DISTRIBUCIÓN.....	26
I.2.5 ECOLOGÍA.....	27
I.2.6 USOS.....	28

## **CAPÍTULO II: OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN**

II- OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN.....	31
------------------------------------	----

## **CAPÍTULO III: MATERIAL Y MÉTODOS**

III.1 MATERIAL VEGETAL.....	33
III.2 MATERIAL DE LABORATORIO.....	35

III.2.1	CONDICIONES ÓPTIMAS DE GERMINACIÓN.....	35
III.2.2	GERMINACIÓN EN NaCl Y PEG.....	36
III.3	ENSAYOS.....	36
III.3.1	CONDICIONES ÓPTIMAS DE GERMINACIÓN.....	36
III.3.2	GERMINACIÓN EN NaCl Y PEG.....	38
III.3.3	RECUPERACIÓN DE LA GERMINACIÓN.....	41

#### **CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

IV.1	CONDICIONES ÓPTIMAS DE GERMINACIÓN.....	43
IV.2	GERMINACIÓN EN NaCl Y PEG.....	46
IV.3	RECUPERACIÓN DE LA GERMINACIÓN.....	49
IV.4	TIEMPO MEDIO DE GERMINACIÓN.....	51

#### **CAPÍTULO V: CONCLUSIONES**

V-	CONCLUSIONES.....	58
----	-------------------	----

#### **CAPÍTULO VI: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA**

VI-	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
-----	---------------------------------	----

CAPÍTULO I:  
INTRODUCCIÓN

## I.1 GERMINACIÓN DE SEMILLAS

### I.1.1 INTRODUCCIÓN

La semilla es uno de los principales recursos para el manejo agrícola y silvícola de las poblaciones de plantas, para la reforestación, para la conservación del germoplasma vegetal y para la recuperación de especies valiosas. Las semillas pueden almacenarse vivas por largos periodos, asegurándose así la preservación de especies y variedades de plantas valiosas.

La ciencia de las semillas se ha desarrollado a lo largo de muchos años, acumulándose hasta la fecha un importante volumen de conocimientos acerca de muchos aspectos de su biología y manejo.

Como parte del estudio de las plantas es necesario intensificar la investigación de las semillas, sus características fisiológicas, sus mecanismos de latencia y germinación, su longevidad (ecológica y potencial) y su posible uso para la propagación y conservación de las plantas.

En su 'Diccionario de Botánica', de 1953, el Dr. Pío Font Quer define el fenómeno de la germinación (del latín *germinare*, brotar o echar vástagos la planta) como la acción que ocurre en los espermatófitos cuando el embrión contenido en la semilla recobra su actividad vital, amortiguada durante más o menos tiempo. Está provocada por la absorción de agua y una temperatura adecuada. El embrión y el tejido nutricio embeben el agua y se hinchan; actúan las zimasa y moviliza las reservas; la plúmula despierta de nuevo a la vida y reviven todos los meristemas.

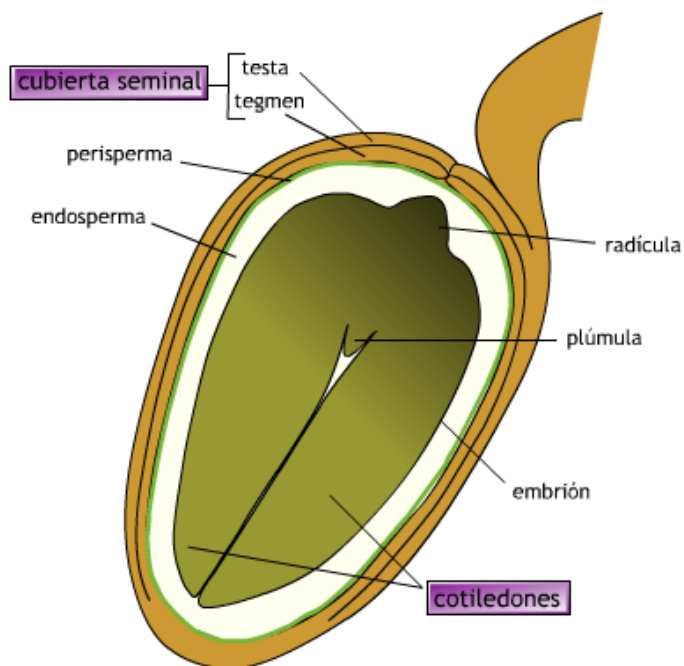
En este mismo volumen se puede encontrar la definición de semilla (del latín *seminilla*, dim. pl. de *semen*, -inis) en los antófitos, como el embrión en estado de vida latente o amortiguada, acompañado o no de tejido nutricio y protegido por el episperma. Ésta procede del rudimento seminal, que experimenta profundas transformaciones después de fecundado el óvulo que en él se contiene.





## I.1.2 ANATOMÍA DE LA SEMILLA

La semilla consta esencialmente de un embrión, una provisión de reservas nutritivas que pueden almacenarse en un tejido especializado para ello o en el propio embrión y unas cubiertas protectoras que recubren y protegen a ambos (Figura 1).



**Figura 1.** Anatomía de la semilla; corte longitudinal

### **Embrión**

El embrión está formado por un eje embrionario y un cotiledón (monocotiledóneas) o dos cotiledones (dicotiledóneas). En el eje embrionario se diferencian la radícula (situada en uno de los extremos del eje embrionario), que dará lugar a la raíz embrionaria de la planta; y el hipocotilo y la plúmula (situados en el extremo opuesto) que originarán la parte aérea. Por debajo de la plúmula y por encima del hipocotilo se sitúan las hojas embrionarias o cotiledones.



### **Endospermo**

Los tejidos especializados de la semilla reciben el nombre de endospermo o albumen. Son tejidos que tienen por función la acumulación de sustancias de reserva, que serán metabolizadas durante el proceso de germinación y durante las primeras etapas del desarrollo de la plántula.

### **Cubiertas seminales**

Los tegumentos o cubiertas seminales provienen de los tegumentos del rudimento seminal y son dos, testa y tegmen.

La testa es el tegumento exterior de la semilla. En algunas semillas puede ser extraordinariamente dura, estando formada por abundante tejido esclerenquimático. A veces puede presentar modificaciones estructurales y diversas sustancias, que facilitan la dispersión de la semilla como pelos, ganchos, espinas, sustancias mucilaginosas, excrecencias carnosas, etc.

El tegmen es el tegumento interno de la semilla. En algunas semillas este tegumento está muy poco desarrollado o incluso puede llegar a faltar.

## **I.1.3 PROCESO DE GERMINACIÓN**

Para que el proceso de germinación tenga lugar es necesario que se den una serie de condiciones ambientales favorables como son un sustrato húmedo, suficiente disponibilidad de oxígeno que permita la respiración aerobia y una temperatura adecuada para los distintos procesos metabólicos y para el desarrollo de la plántula.

La absorción de agua por la semilla desencadena una secuencia de cambios metabólicos, que incluyen la respiración, la síntesis proteica y la movilización de reservas.

A su vez, la división y el alargamiento celular en el embrión, provoca la rotura de las cubiertas seminales, que generalmente se produce por la



emergencia de la primera estructura de la mayoría de las especies, la radícula.

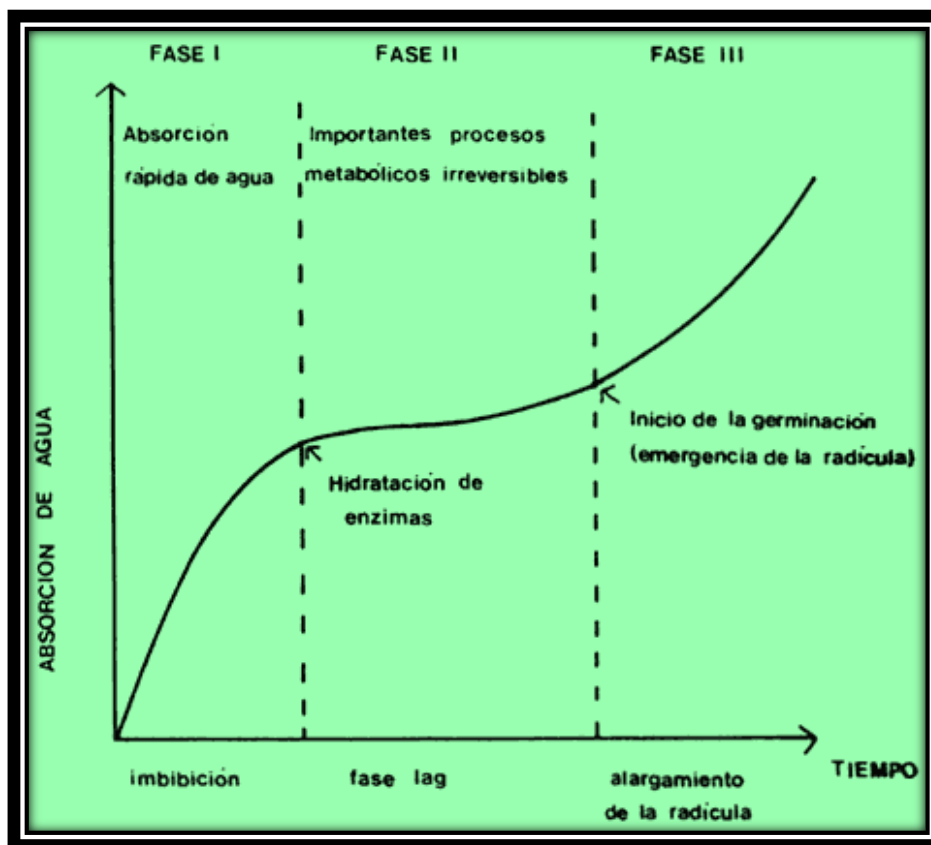
Este proceso de germinación de las semillas comprende tres fases sucesivas que se superponen parcialmente (Figura 2):

**I. Fase de hidratación:** El primer paso es la imbibición de agua, por parte de la semilla, sin el cual, el proceso de germinación no puede darse. Durante esta fase se produce una intensa absorción de agua por parte de los distintos tejidos que forman la semilla provocando su hinchamiento. Dicho incremento va acompañado de un aumento proporcional en la actividad respiratoria.

**II. Fase de germinación:** Representa el verdadero proceso de la germinación. En ella se producen el inicio de la actividad enzimática y del metabolismo respiratorio, la translocación y asimilación de las reservas alimentarias en las regiones en crecimiento del embrión. En esta fase la absorción de agua se reduce considerablemente, llegando incluso a detenerse.

**III. Fase de crecimiento:** Es la última fase de la germinación. Esta fase se caracteriza porque la absorción de agua vuelve a aumentar, así como la actividad respiratoria y por el crecimiento y la división celular que provoca la emergencia de la radícula y posteriormente de la plúmula. En la mayoría de las semillas el agua penetra inicialmente por el micrópilo y la primera manifestación de la germinación exitosa, morfológicamente visible, es la emergencia de la radícula.





**Figura 2.** Fases de la germinación en función de la absorción de agua en el tiempo

Cuando llegan las semillas al suelo, el recurso clave para iniciar los cambios fisiológicos que conducen a la germinación es el agua, que resulta indispensable para activar el metabolismo y el crecimiento de las células vivas de los tejidos de las semillas.

La cantidad de agua que absorbe una semilla y la velocidad a la que lo hace, es decir, la duración de cada una de las fases anteriores, varía con la especie, la permeabilidad del tegumento, la disponibilidad de agua, la temperatura, la presión hidrostática, el área de contacto semilla-agua, las fuerzas intermoleculares, la composición química y la condición fisiológica.

Otro aspecto interesante es la relación de estas fases con el metabolismo de la semilla. La primera fase se produce tanto en semillas vivas y muertas y, por tanto, es independiente de la actividad metabólica de la semilla. La



segunda fase constituye un período de metabolismo activo previo a la germinación en las semillas viables. La tercera fase se produce sólo en las semillas que germinan y obviamente se asocia a una fuerte actividad metabólica que comprende el inicio del crecimiento de la plántula y la movilización de las reservas.

Por tanto los factores externos que activan el metabolismo, como la temperatura, tienen un efecto estimulante en la última fase.

En las dos primeras fases de la germinación los procesos son reversibles, a partir de la fase de crecimiento se entra en una situación fisiológica irreversible.

La semilla que haya superado la fase de germinación tendrá que pasar a la fase de crecimiento y originar una plántula, o por el contrario morir.

#### **I.1.4 FACTORES QUE AFECTAN A LA GERMINACIÓN**

La germinación se ve afectada por una serie de factores que podemos clasificar en dos grandes grupos:

- **Factores internos:** son intrínsecos a la semilla. Entre los factores internos que afectan al proceso de germinación se encuentran la madurez y viabilidad de las semillas.
- **Factores externos:** son dependientes del ambiente en el que la semilla se sitúa, siendo principalmente influyentes, el agua, la temperatura, luz, los gases y la salinidad.



### I.1.4.1 FACTORES INTERNOS

#### ➤ **Maduración de la semilla**

Se habla de madurez de la semilla cuando ésta ha alcanzado su completo desarrollo tanto desde el punto de vista morfológico como fisiológico. Es decir, cuando su embrión ha completado su proceso de diferenciación, cuando ha alcanzado su tamaño máximo y dispone de las suficientes reservas nutritivas y por tanto es capaz de germinar, siempre y cuando no presente mecanismos de dormición.

Como criterio práctico se suele fijar el final del periodo de maduración de la semilla con el momento en el que ésta alcanza su máximo peso fresco.

- Madurez morfológica: se corresponde con el desarrollo completo de las distintas estructuras que constituyen la semilla, dándose en general por concluida cuando el embrión alcanza su máximo desarrollo. A menudo, está también relacionada con la deshidratación de los diferentes tejidos que forman la semilla. Generalmente se considera que una semilla ha completado su desarrollo cuando termina el periodo de deshidratación de sus diferentes tejidos.

Normalmente, la madurez morfológica se suele alcanzar sobre la misma planta, pero existen, sin embargo, algunas especies donde la dispersión de las semillas o diseminación tiene lugar antes de que se alcance.

- Madurez fisiológica: como es lógico, para que una semilla pueda germinar tiene que ser morfológicamente madura, pero, incluso cuando han alcanzado este tipo de madurez, muchas semillas pueden seguir siendo incapaces de germinar porque necesitan experimentar aún una serie de procesos y transformaciones fisiológicos. La madurez fisiológica puede alcanzarse al mismo tiempo que la morfológica, lo que ocurre normalmente en las



semillas de especies cultivadas, o bien puede haber una diferencia de semanas, meses y hasta años entre ambas.

Lo más corriente es que la madurez fisiológica implique la pérdida de sustancias inhibitoras de la germinación o la acumulación de sustancias promotoras. En general supone reajustes en el equilibrio hormonal de la semilla y/o en la sensibilidad de sus tejidos para las distintas sustancias activas.

### ➤ **Viabilidad de la semilla**

La viabilidad de las semillas es el período de tiempo durante el cual las semillas conservan su capacidad para germinar. Es un período variable y depende del tipo de semilla y de las condiciones de almacenamiento.

Atendiendo a la longevidad de las semillas, es decir, el tiempo que las semillas permanecen viables, hay semillas que no sobreviven más que algunos días o meses y semillas que germinan, todavía, después de decenas o centenas de años. Pero, en general, la vida media de una semilla se sitúa entre 5 y 25 años.

Las semillas pierden su viabilidad por causas muy diversas y aunque se puede pensar que mueren porque agotan sus reservas nutritivas, no es así, sino que conservan la mayor parte de las mismas cuando ya han perdido su capacidad germinativa.

Una semilla será más longeva cuanto menos activo sea su metabolismo. Esto, a su vez, origina una serie de productos tóxicos que al acumularse en las semillas produce, a la larga, efectos letales para el embrión. Para evitar la acumulación de esas sustancias bastará con disminuir aún más su metabolismo, con lo cual se verá incrementada la longevidad de la semilla. Ralentizar el metabolismo puede conseguirse bajando la temperatura y/o deshidratando la semilla. Las bajas temperaturas dan lugar a un metabolismo mucho más lento, por lo que las semillas conservadas en esas condiciones viven más tiempo que las conservadas a temperatura ambiente. La deshidratación también alarga la vida de las semillas, más que si se conservan con su humedad normal, pero la desecación tiene unos límites;



por debajo del 2%-5% en humedad se ve afectada el agua de constitución de la semilla siendo perjudicial para la misma.

En resumen, para alargar más tiempo la vida de una semilla, ésta debe conservarse en las siguientes condiciones: mantenerla seca, dentro de unos límites; temperaturas bajas y reducir al mínimo la presencia de oxígeno en el medio de conservación.

#### **I.1.4.2 FACTORES EXTERNOS**

##### **➤ Temperatura**

Las diversas fases de la germinación de las semillas se ven individualmente afectadas por la temperatura y por tanto ésta es un factor decisivo en el proceso de la germinación. La temperatura influye sobre las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en las semillas después de la rehidratación y su efecto se expresa en la capacidad germinativa o en la velocidad de germinación. La actividad de cada enzima tiene lugar entre un máximo y un mínimo de temperatura, existiendo un óptimo intermedio óptimo. Por tanto, se pueden identificar tres puntos críticos de temperatura que afectan a la germinación:

- **Temperatura mínima:** aquella por debajo de la cual la germinación no es visible por tiempo razonable.
- **Temperatura máxima:** por encima de la cual no hay germinación.
- **Temperatura óptima:** aquella a la cual germina el mayor número de semillas en un período de tiempo mínimo.

Estas temperaturas cardinales de la germinación y el intervalo térmico en el que las semillas germinan son características sujetas a la selección natural. Por esto, con frecuencia se presentan como adaptaciones muy claras a los hábitats en los que las plantas se desarrollan, y hay diferencia





entre las especies, incluso entre distintas poblaciones de la misma especie de acuerdo con su distribución geográfica.

### **Termoperiodo**

El estudio de las temperaturas cardinales o del intervalo térmico de germinación es insuficiente para conocer la respuesta germinativa de especies que producen semillas cuya germinación se ve favorecida por una alternancia de temperatura, como la que se produce por el calentamiento del suelo soleado durante el día. Las semillas que responden a este cambio ambiental pueden presentar diversos mecanismos para detectar este factor, por ejemplo, la presencia de una testa impermeable que se hace permeable al calentarse, o la existencia de un mecanismo químico endógeno que sólo puede activar el proceso de germinación cuando ocurren fluctuaciones de temperatura.

Muchos fisiólogos han experimentado con termoperiodos en pruebas de germinación y en muchas especies se ha observado que una o varias alternancias de temperatura pueden favorecer o disparar la germinación. El efecto de la alternancia de temperatura parece tener relación con la hidratación de las semillas, pues la escarificación de éstas es suficiente para permitir la germinación a una temperatura constante. Los cambios fisicoquímicos producidos por el termoperiodo en las semillas, que conducen a la desaparición de la latencia, son de muy diversa naturaleza según la especie. En general se piensa que la fluctuación de temperatura permite la activación de ciertas enzimas y hace permeables a algunas membranas, lo que finalmente trae consigo el desencadenamiento de la germinación.

### **➤ Humedad**

La absorción de agua es el primer paso, y el más importante, que tiene lugar durante la germinación; porque para que la semilla recupere su metabolismo es necesaria la rehidratación de sus tejidos.



La entrada de agua en el interior de la semilla se debe exclusivamente a una diferencia de potencial hídrico entre la semilla y el medio que le rodea. En condiciones normales, este potencial hídrico es menor en las semillas secas que en el medio exterior. Por ello, hasta que emerge la radícula, el agua llega al embrión a través de las paredes celulares de la cubierta seminal; siempre a favor de un gradiente de potencial hídrico.

Aunque es necesaria el agua para la rehidratación de las semillas, un exceso de la misma actuaría desfavorablemente para la germinación, pues dificultaría la llegada de oxígeno al embrión.

### ➤ **Cases**

La mayor parte de las semillas requieren para su germinación un medio suficientemente aireado que permita una adecuada disponibilidad de  $O_2$  y  $CO_2$ . De esta forma el embrión obtiene la energía imprescindible para mantener sus actividades metabólicas.

Para que la germinación tenga éxito, el  $O_2$  disuelto en el agua de imbibición debe poder llegar hasta el embrión. A veces, algunos elementos presentes en la cubierta seminal como compuestos fenólicos, capas de mucílago, macroesclereidas, etc. pueden obstaculizar la germinación de la semilla por que reducen la difusión del  $O_2$  desde el exterior hacia el embrión.

Además, hay que tener en cuenta que, la cantidad de  $O_2$  que llega al embrión disminuye a medida que aumenta la disponibilidad de agua en la semilla.

A todo lo anterior hay que añadir que la temperatura modifica la solubilidad del  $O_2$  en el agua que absorbe la semilla, siendo menos la solubilidad a medida que aumenta la temperatura.



## ➤ Sales

Existen numerosos trabajos que demuestran los efectos perjudiciales de las sales para la germinación de las semillas, y en concreto lo del NaCl.

En experimentos comparativos donde las especies son incubadas con soluciones de NaCl y PEG (Katembe et al., 1998; Fenner y Tompson, 2005), se ha observado que las soluciones de NaCl en el medio radical ejercen un efecto combinado en las semillas (Bradford, 1995). Por un lado, provocan un estrés en la semilla generando un efecto osmótico, y por otro, una toxicidad iónica específica induciendo además desequilibrios nutricionales.

## **NaCl**

### Efecto osmótico

El principal efecto del estrés salino es la reducción de los potenciales osmóticos del medio por la elevada presencia de sales, lo que se traduce en una disminución de la disponibilidad de agua que provoca la reducción o el cese de la hidratación del embrión. El efecto osmótico afecta tanto a los porcentajes como a las tasas de germinación convirtiéndose, por tanto, en un factor controlador de la germinación de las semillas (Khan y Ungar, 1984, 1986; Okusanya 1977; Ungar, 1978a; Woodell, 1985).

### Efecto tóxico

La tendencia general de la reducción en la germinación con el aumento de la concentración de iones en la solución de riego es una respuesta frecuentemente observada en varias especies.

El efecto iónico creado por la entrada y/o acumulación de iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en la semilla puede causar una toxicidad en ésta disminuyendo los porcentajes de germinación o incluso provocar la muerte del embrión.



## **PEG**

Las soluciones del poliéter Polietilenglicol (PEG) han sido usadas como control para los potenciales hídricos en numerosas investigaciones de germinación.

Es químicamente inerte y no tóxico, parece no penetrar la cubierta seminal y es estable osmóticamente (Parmar y Moore 1966, Thill et al. 1979).

Diversos estudios han demostrado la inexistencia de daños metabólicos en la semilla provocados por PEG, por lo que es utilizado como inductor inerte de sequía en ensayos de germinación en sal.



## **I.2 HYPERICUM ERICOIDES**

### **I.2.1 INTRODUCCIÓN AL GÉNERO**

El género *Hypericum* L. incluye, en el estudio más reciente, 469 especies que poseen una distribución prácticamente cosmopolita ya que, o bien de origen natural, o que se han introducido, se encuentra en todos los continentes del mundo, faltando solamente en las tierras bajas tropicales, en los desiertos y en las regiones árticas.

Según Robson (1981), Estas especies presentan un amplio rango de hábitos desde herbáceos y arbustivos hasta arbóreos, aunque éste último se encuentra con poca frecuencia. Entre las especies arbustivas se encuentra *H. ericoides*, pinillo de oro o hierba de San Juan, que se cría en las grietas de peñascos calcáreos del sur y levante de España.

Dentro de los usos de este género cabe destacar que numerosos híbridos y cultivares se han desarrollado en horticultura, para empleo ornamental como plantas de jardín y que muchas otras especies se han incorporado en los sistemas de medicina tradicional en países de todo el mundo.

Varias clases de interesantes metabolitos bioactivos secundarios, incluyendo naftodiantronas, glucósidos de flavonoides, biflavonoides, xantonas, taninos, hipericina, ácidos clorogénico y cafeico, vitamina C, carotenoides y aceites esenciales, han sido identificados a partir de los miembros este género.



## I.2.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

**Reino:** *Plantae*

**División:** *Magnoliophyta*

**Clase:** *Magnoliopsida*

**Orden:** *Malpighiales*

**Familia:** *Guttiferae (Clusiaceae), Hypericaceae \**

**Subfamilia:** *Hypericoidea*

**Género:** *Hypericum*

**Especie:** *H. ericoides* L.

**Nombre común de la especie:** Pinillo de oro, Corazón de peña, Cor de roca, Trencapedres, Hierba de San Juan.

\*Hypericaceae: anteriormente se encontraban encuadradas en su propia familia, Hypericaceae.

## I.2.3 DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

### **Planta:**

Pequeña planta leñosa glauca de 2 a 40 cm de altura, a veces glabra, que posee tallos erectos y articulados muy ramificados desde la base, con 4 líneas longitudinales en los entrenudos. (Figuras 3 y 4)

### **Hojas:**

Hojas ericoides, de ahí el nombre de la especie, que recuerdan a las de los brezos. Son papilosas, muy pequeñas, angostas y cortas con un tamaño que oscila entre 1-4,5x0.5 - 0.8 mm y una relación longitud/anchura de 3-7.



Su forma varía de lineares a lanceoladas y se sitúan en verticilos de 4 densamente imbricadas. (Figura 5)

### **Flor:**

Flores actinomorfas dispuestas en corimbos o panículas en el extremo de los tallos.

Las brácteas pueden medir de 1-2 mm, son opuestas con glándulas negras sólo marginales y glándulas translúcidas lineares.

Poseen 4 sépalos de 1,5 – 3 mm de longitud cuya forma está entre elípticos y obovados, presentan glándulas negras sólo marginales, a veces escasas, e irregularmente dispuestas. (Figura 6)

Los pétalos, normalmente 4 y de color amarillo, miden entre 4 -7 mm.

Presentan un ovario súpero y un pistilo con tres estigmas. (Figura 7)

### **Fruto:**

Cápsula septicida de 3 – 4mm de cónica a ovoide, con vetas longitudinales. (Figura 8)

### **Semillas:**

Semillas muy pequeñas, con un tamaño que oscila entre 0,9-1,5 mm, con forma cilíndrica, algo curvada, y de coloraciones pardas a negras. Presentan un aspecto algo rugoso y brillante bajo la luz de la lupa. (Figura 9)





**Figura 3.** Planta de *H. ericoides*, vista frontal. **Figura 4.** Planta de *H. ericoides*, vista superior.



**Figura 5.** Hojas de *Hypericum ericoides*.



**Figura 6.** Flores en panícula y detalle de los sépalos de *H. ericoides*.

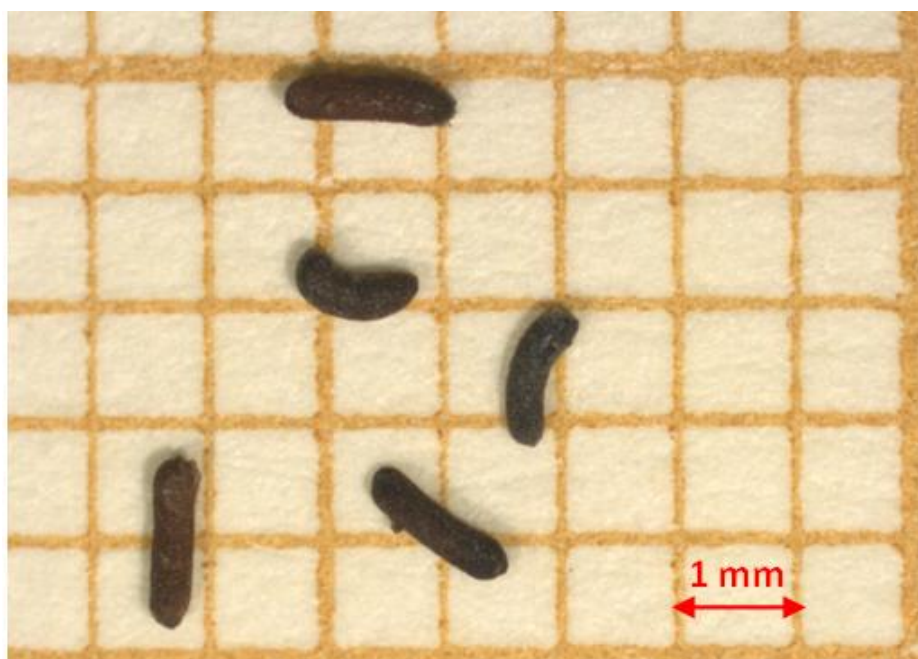


**Figura 7.** Pistilo con tres estigmas y ovario de *H. ericoides*.





**Figura 8.** Fruto, cápsula septicida, de *Hypericum ericoides*.



**Figura 9.** Semillas de *Hypericum ericoides*.

## I.2.4 DISTRIBUCIÓN

### EN LA PENÍNSULA IBÉRICA

Su área de distribución se extiende por el este y sudeste de la Península Ibérica. Desde la Comunidad Valenciana, este de Castilla la Mancha, Murcia, Andalucía oriental, hasta parte del norte de África. (Figura 10)



**Figura 10.** Distribución de *Hypericum ericoides* en la península.

### RESTO DE EUROPA

Puede encontrarse la especie ericoides en gran parte de Europa, excepto en el noreste, Siberia, el Cáucaso, Irán y Argelia.



## I.2.5 ECOLOGÍA

### **HÁBITAT**

Vive en fisuras y pequeñas grietas de roquedos calizos, dolomíticos o yesosos sin inclinación o con pendientes suaves. Áreas secas y soleadas de 0-1900 m de altitud de pisos bioclimáticos mediterráneos como el termomediterráneo y mesomediterráneo seco y subhúmedo.

Convive con plantas de los matorrales circundantes, aunque le suelen acompañar algunas típicamente rupícolas como *Jasonia glutinosa*.

### **BIOLOGÍA**

*Hypericum ericoides* es una especie perenne hermafrodita con una biología reproductiva alógama, presenta una floración que abarca desde finales de junio hasta agosto y su polinización es entomófila, principalmente por abejas (Izco, 1998).

A menudo es fácil encontrar en un mismo individuo la coexistencia de flores y frutos en maduración. Incluso, si la climatología ha sido favorable, es decir, se han producido abundantes lluvias durante la primavera, la floración puede alargarse y se pueden encontrar algunos individuos en antesis y frutos en dispersión.

La multiplicación vegetativa no es frecuente encontrarla en esta especie, pero se han observado en algunos casos desarrollo de estolones cuando la grieta donde habita es alargada.

Las plantas de clase de edad juvenil son capaces de producir flores, apenas una o dos, por lo que prácticamente todos los individuos son reproductores, aunque aparecen muy pocas plántulas.



## I.2.6 USOS

### **ORNAMENTAL**

Es una planta poco estudiada, por lo que sus usos aún no son ampliamente conocidos, pero dentro del género *Hypericum* podemos encontrar numerosos híbridos y cultivares que se han desarrollado en horticultura para empleo ornamental debido a su llamativa floración amarilla y la coloración rojiza de sus frutos.

Es el caso, por ejemplo, de *Hypericum 'Hidcote'*, *Hypericum calycinum*, *Hypericum x moserianum*, *Hypericum androsaemum*, etc.

### **MEDICINAL**

Como ya se nombró en el apartado I.II.1 Introducción, son importantes los principios activos que han sido identificados dentro de los miembros de este género.

Es muy abundante la bibliografía que se refiere a las propiedades medicinales de otras especies de *Hypericum*, en especial de *Hypericum perforatum*, muy utilizadas en herboristería para tratar de forma eficaz llagas, quemaduras y úlceras, gota reumatismos y dolores de ciática, asma, catarro bronquial e inflamaciones de la tráquea, dolores de cabeza, intoxicaciones y malas digestiones debidas al mal funcionamiento del hígado, incontinencia infantil y regulación de menstruaciones irregulares.

A pesar, de que *Hypericum ericoides* ha sido menos estudiada, se le atribuyen propiedades diuréticas, vulnerarias y antisépticas análogas a las anteriores. Es también muy utilizada en la disolución de cálculos renales.

Para estos tratamientos las partes utilizadas de la planta son las flores, recogidas cuando acaban de abrirse, y las hojas. Deben secarse deprisa en un lugar resguardado de la luz y conservarse por separado en frascos vidrio o bolsas de papel.



El empleo de la planta suele hacerse en forma de infusión, aunque también como unguento para el caso de las úlceras y quemaduras, y como tintura para la gota, reumatismos, ciática y llagas.



CAPÍTULO II:

OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

## II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

*Hypericum ericoides* es una especie silvestre con gran potencial ornamental debido a su follaje y floración por lo que se le ha considerado como una buena candidata para su empleo en tejados verdes con aplicaciones de aguas de mala calidad como riego.

Dado que los niveles de sales presentes en estas aguas pueden ser perjudiciales para las plantas más sensibles a la salinidad, y puesto que no se conoce el grado de tolerancia de esta especie, el objeto del presente estudio consiste en conocer los factores que pueden afectar a la germinación de *H. ericoides*. Para ello, se estudiarán sus condiciones óptimas de germinación en cuanto a las necesidades de luz y temperatura, y su respuesta germinativa en diferentes condiciones de salinidad.

Debido a que el NaCl puede presentar dos efectos negativos para la germinación, como son la toxicidad y el estrés osmótico, para determinar cuál de los dos supone mayor afectación en la germinación de *H. ericoides* se realizará un ensayo paralelo con Polietilenglicol 8000 (PEG). El PEG crea el efecto de sequía simulada del mismo modo que NaCl, pero sin presentar toxicidad alguna para la semilla.

En el proceso germinativo no sólo es importante el porcentaje final de germinación que presenta cada especie, sino también la tasa o velocidad con la que lo alcanzan, por lo que también será calculado el parámetro "tiempo medio de germinación" o TMG, para determinar la velocidad con la que germinan las semillas de *H. ericoides*.



CAPÍTULO III:

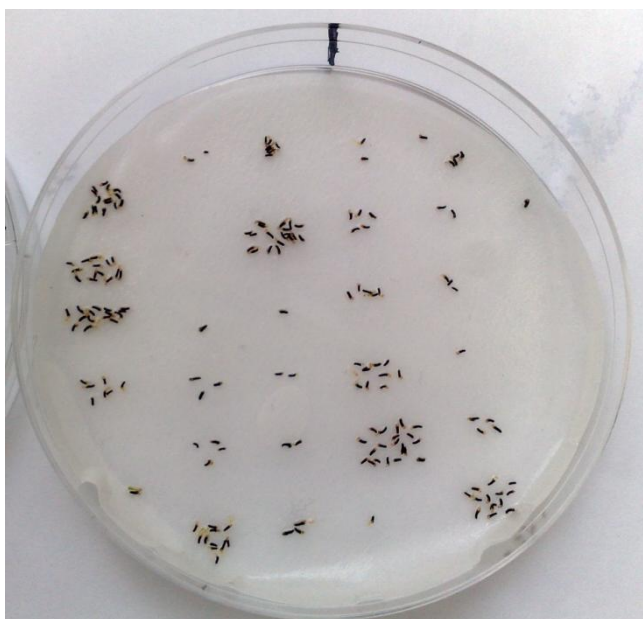
MATERIAL Y MÉTODOS



### III. MATERIAL Y MÉTODOS

#### III.1 MATERIAL VEGETAL

Para llevar a cabo el presente estudio se han utilizado semillas de *Hypericum ericoides* (Figura 11) pertenecientes al Banco de Germoplasma del Departamento de Producción Vegetal de la ETSIA, de la Universidad Politécnica de Cartagena.



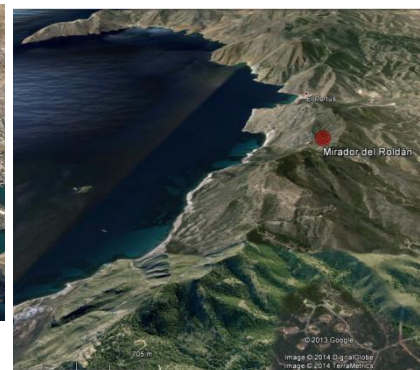
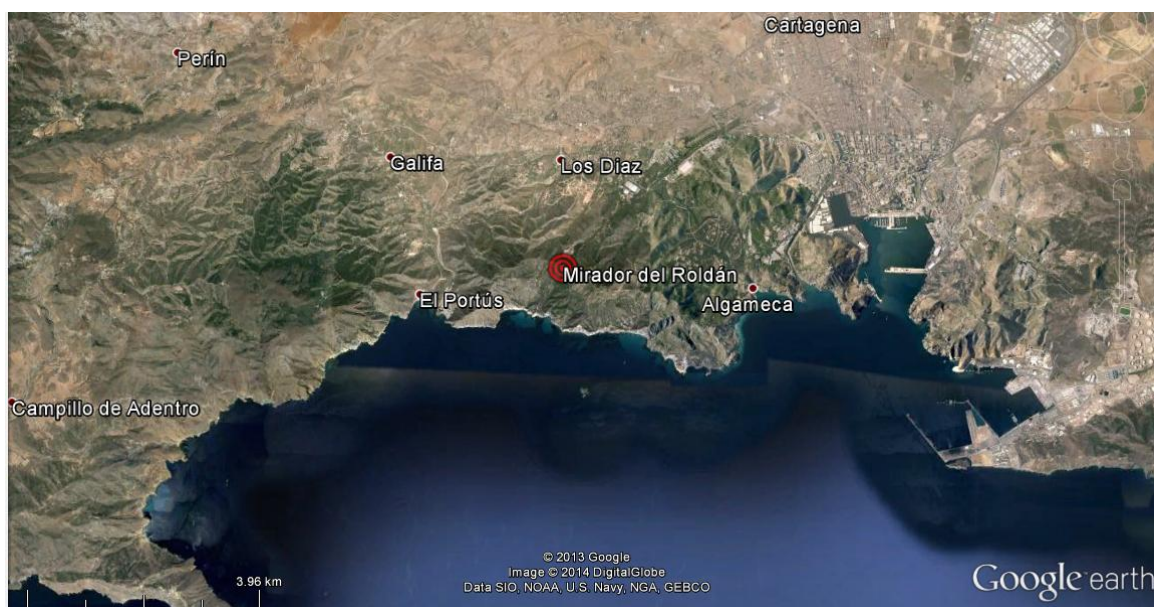
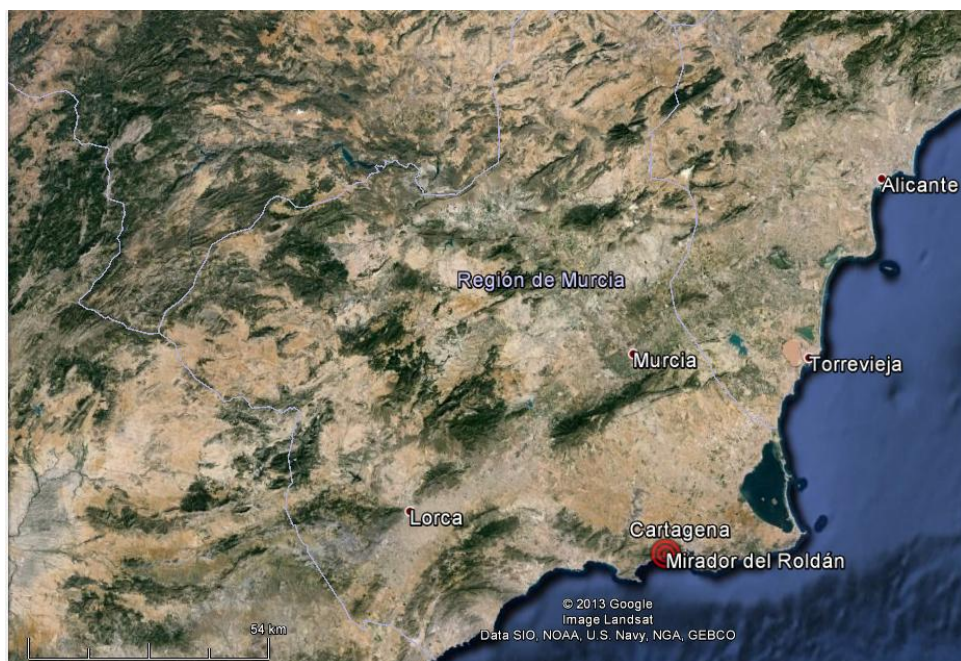
**Figura 11.** Placa con el material biológico.

Éste material vegetal se obtuvo de la población de *H. ericoides* situada en el Mirador del Monte Roldán (Cartagena) (Figuras 12 y 13).



**Figura 12.** Monte Roldán desde el mirador.





**Figura 13.** Localización del Mirador del Monte Roldán en la Región de Murcia



La colecta del material vegetal se realizó el día 18/10/2011, en forma de semilla de origen silvestre, y se incluyó en el Banco de Germoplasma de la ETSIA, cód. 10715, siguiendo el siguiente proceso:

Una vez que las semillas fueron recolectadas en el campo y llegaron al banco, se limpiaron y se pusieron en cuarentena en una cámara a temperatura ambiente. A continuación se desecaron con gel de sílice hasta un contenido de humedad de 3-7 % (FAO e IPGRI, 1994), para analizar su calidad y viabilidad para poder almacenarse o, como en el caso que nos ocupa, ser utilizadas en proyectos de investigación.

## **III.2 MATERIAL DE LABORATORIO**

### **III.2.1 CONDICIONES ÓPTIMAS DE GERMINACIÓN**

Para el cálculo de la temperatura óptima de germinación de la especie *H. ericoides* fueron necesarios los siguientes materiales:

- ❖ Placas Petri de 9mm
- ❖ Papel de filtro
- ❖ Agua destilada
- ❖ Pipetas
- ❖ Pinzas
- ❖ Parafilm
- ❖ Papel de aluminio
- ❖ Cámaras de germinación (Sanyo MLR-351H, Osaka, Japan)



### **III.2.2 GERMINACIÓN EN NaCl y PEG**

Los materiales utilizados en este ensayo fueron los que se enumeran a continuación:

- ❖ Placas Petri de 9cmØ
- ❖ Papel de filtro
- ❖ Agua destilada
- ❖ Pipetas
- ❖ Pinzas
- ❖ Parafilm
- ❖ Vaso de precipitados
- ❖ Matraz aforado
- ❖ Báscula de precisión
- ❖ Sal (NaCl)
- ❖ Polietilenglicol 8000 (PEG)
- ❖ Microscopio estereoscópico (Olympus SZ61)
- ❖ Cámaras de germinación (Sanyo MLR-351H, Osaka, Japan)

### **III.3 ENSAYOS**

#### **III.3.1 CONDICIONES ÓPTIMAS DE GERMINACIÓN**

Para conocer las condiciones óptimas de germinación las semillas se colocaron en lotes de 25 semillas sobre papel de filtro humedecido, con 5mL agua destilada, dentro de placas de Petri de 9cm de diámetro y se incubaron a distintas condiciones de luz y temperatura, en cámaras de germinación (Sanyo MLR-351H, Osaka, Japan), realizando 4 réplicas por tratamiento. Las temperaturas utilizadas fueron 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 12/20°C y 21/30°C, todas ellas se ensayaron dos condiciones de luz: un fotoperiodo de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad y oscuridad total. En los tratamientos con fotoperiodo fluctuante, la temperatura más alta se hizo coincidir con la fase de luz, así como, la más baja con el periodo de oscuridad. En resumen, las semillas se distribuyeron de la siguiente forma:



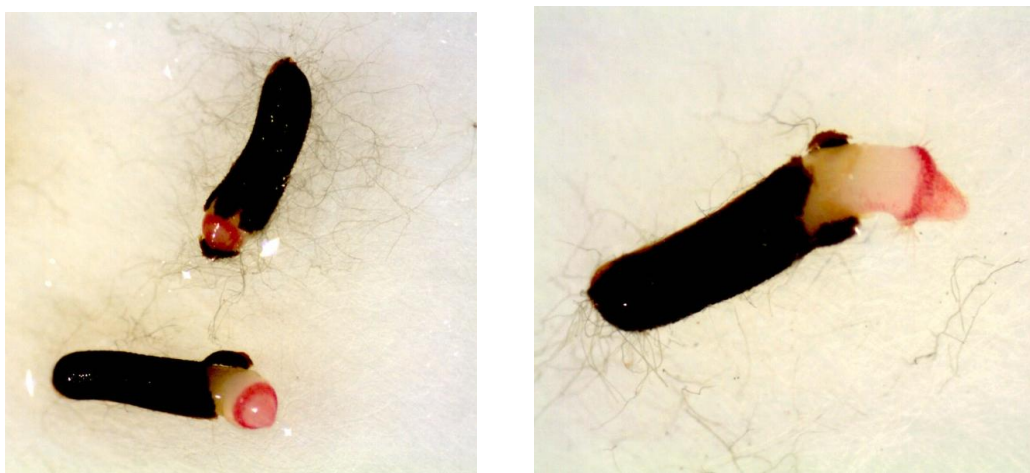
- 🔪 25 semillas/placa x 4 réplicas a 10°C en Luz y 4 réplicas en Oscuridad = 200 semillas
- 🔪 25 semillas/placa x 4 réplicas a 15°C en Luz y 4 réplicas en Oscuridad = 200 semillas
- 🔪 25 semillas/placa x 4 réplicas a 20°C en Luz y 4 réplicas en Oscuridad = 200 semillas
- 🔪 25 semillas/placa x 4 réplicas a 25°C en Luz y 4 réplicas en Oscuridad = 200 semillas
- 🔪 25 semillas/placa x 4 réplicas a 30°C en Luz y 4 réplicas en Oscuridad = 200 semillas
- 🔪 25 semillas/placa x 4 réplicas a 12/20°C en Luz y 4 réplicas en Oscuridad = 200 sem.
- 🔪 25 semillas/placa x 4 réplicas a 21/30°C en Luz y 4 réplicas en Oscuridad = 200 sem.

Las placas de semillas que fueron utilizadas para los tratamientos en oscuridad se cerraron con Parafilm y fueron envueltas en una doble capa de papel de aluminio para evitar el paso de la luz.

En los tratamientos con fotoperiodo de 12 horas de luz el recuento de las semillas germinadas se realizó cada 2-3 días, retirando de las placas las semillas que iban germinando, durante un periodo de 30 días.

Las semillas que permanecieron en completa oscuridad durante todo el periodo sólo se observaron una vez, a los 15 días, para comprobar el nivel de humedad de las placas, bajo luz verde para no interrumpir la exposición a la oscuridad. El recuento de semillas germinadas se realizó al final del ensayo.

El criterio seguido para decidir que se había producido la germinación fue la emergencia y elongación ( $\geq 1\text{mm}$ ) de la radícula. (Figura 14)



**Figura 14.** Semillas de *Hypericum ericoides* germinadas

Una vez terminado el ensayo de germinación fueron calculados los porcentajes finales de germinación en cada tratamiento y el tiempo medio de germinación (TMG), índice que indica la velocidad de germinación de las semillas y que se obtiene calculando la media ponderada de las semillas germinadas de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{TMG(días)} = \frac{\sum (D \cdot n_D)}{\sum n}$$

D: días transcurridos desde el inicio del ensayo

n: número de semillas germinadas para cada valor de D

Un análisis multivariante de la varianza se utilizó para evaluar la influencia sobre la germinación de las condiciones utilizadas en cada ensayo. Los datos fueron analizados con el programa estadístico SPSS 19.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, EE.UU.). La normalidad y homocedasticidad de los datos fueron verificadas, y los porcentajes de germinación se transformaron en arcoseno. Cuando los efectos principales eran significativos, las diferencias fueron probadas por la prueba de comparación múltiple de Tukey a  $P < 0,05$

### III.3.2 GERMINACIÓN EN NaCl Y PEG

El método seguido para el ensayo de germinación en NaCl y Polietilenglicol de las semillas de *H. ericoides* fue similar al realizado para Germinación óptima.

#### **NaCl**

Se colocaron lotes de 50 semillas sobre papel de filtro dentro de placas de Petri de 9cm de diámetro y se humedecieron con 4-5 ml de diferentes soluciones salinas correspondientes a los potenciales: -0.24, -0.48, -0.72, -0.96, -1.2, -1.44 y -1.68.



Las equivalencias de tales potenciales se muestran en la siguiente tabla:

Potencial osmótico (MPa)	Molaridad(M)	g/L	%sal	Conductividad (mS/cm)
-0.24	0,05	2,92	0,2925	4,63
-0.48	0,1	5,85	0,5849	10,03
-0.72	0,15	8,77	0,8774	13,22
-0.96	0,2	11,70	1,1698	16,85
-1,2	0,25	14,62	1,4623	18,55
-1,44	0,3	17,55	1,7547	19,28
-1,68	0,35	20,47	2,0472	25,9

**Figura 15.** Equivalencias de potenciales osmóticos aplicados en los ensayos en sal

Fueron realizadas 4 réplicas de cada placa, cerradas con Parafilm e incubadas en cámaras de germinación durante un periodo de 30 días, con un fotoperiodo de 12h luz/ 12h oscuridad a temperatura alterna 12/20°C, por resultar éstas las condiciones idóneas para la germinación en el ensayo anterior.

En resumen:

- ☛ 50 semillas/placa x 4 réplicas de cada placa en NaCl (-0,24MPa) = 200 semillas
- ☛ 50 semillas/placa x 4 réplicas de cada placa en NaCl (-0,48 MPa) = 200 semillas
- ☛ 50 semillas/placa x 4 réplicas de cada placa en NaCl (-0,72 MPa) = 200 semillas
- ☛ 50 semillas/placa x 4 réplicas de cada placa en NaCl (-0,96 MPa) = 200 semillas
- ☛ 50 semillas/placa x 4 réplicas de cada placa en NaCl (-1,20 MPa) = 200 semillas
- ☛ 50 semillas/placa x 4 réplicas de cada placa en NaCl (-1,44 MPa) = 200 semillas
- ☛ 50 semillas/placa x 4 réplicas de cada placa en NaCl (-1,68 MPa) = 200 semillas

El recuento de las semillas germinadas se realizó cada 2-3 días, retirando éstas de las placas bajo el mismo criterio de germinación anteriormente descrito.



## **PEG**

Del mismo modo que con NaCl se prepararon las placas del ensayo de las semillas en Polietilenglicol 8000.

Para preparar las soluciones de PEG se siguió el método propuesto por Michel y Kaufmann (1973) obteniendo las mismas presiones osmóticas que en NaCl, es decir, los potenciales osmóticos -0.24, -0.48, -0.72, -0.96, -1.2, -1.44 y -1.68 (ver Figura 15).

Las semillas fueron incubadas a las mismas condiciones de luz y temperatura durante 30 días y extrayendo las semillas germinadas cada 2-3 días siguiendo el criterio de germinación establecido en los apartados anteriores.

Las semillas quedaron distribuidas de la siguiente manera:

- 🌱 50 semillas/placa x 4 réplicas de cada placa en PEG (-0,24 MPa) = 200 semillas
- 🌱 50 semillas/placa x 4 réplicas de cada placa en PEG (-0,48 MPa) = 200 semillas
- 🌱 50 semillas/placa x 4 réplicas de cada placa en PEG (-0,72 MPa) = 200 semillas
- 🌱 50 semillas/placa x 4 réplicas de cada placa en PEG (-0,96 MPa) = 200 semillas
- 🌱 50 semillas/placa x 4 réplicas de cada placa en PEG (-1,20 MPa) = 200 semillas
- 🌱 50 semillas/placa x 4 réplicas de cada placa en PEG (-1,44 MPa) = 200 semillas
- 🌱 50 semillas/placa x 4 réplicas de cada placa en PEG (-1,68 MPa) = 200 semillas

Transcurridos los 30 días y concluida la incubación tanto en NaCl como en PEG, se procedió a calcular los porcentajes finales de germinación en cada tratamiento así como el índice de velocidad de germinación TMG.





### **III.3.3 ENSAYO DE RECUPERACIÓN DE LA GERMINACIÓN**

Concluidos los ensayos de germinación en NaCl y PEG se procedió a realizar la recuperación en agua destilada de las semillas no germinadas al final del ensayo, con el objetivo de comprobar su viabilidad.

Para ello, las semillas fueron lavadas una a una en agua destilada para eliminar las sales y colocadas sobre papel de filtro humedecido con 4-5 ml de agua de destilada en nuevas placas de Petri de 9cm de diámetro.

A continuación fueron incubadas en cámaras de germinación a las mismas condiciones óptimas durante 30 días, observando y extrayendo el número de semillas germinadas cada 2-3 días.

Una vez finalizado el periodo de incubación se analizaron el porcentaje final de geminación y TMG del mismo modo que en los casos anteriores.



CAPÍTULO IV:

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### IV.1 CONDICIONES ÓPTIMAS DE GERMINACIÓN

El estudio estadístico realizado demostró que tanto las temperaturas como las condiciones de luz a las que fueron sometidas las semillas de *H. ericoides*, afectaron a su germinación (Tabla 1).

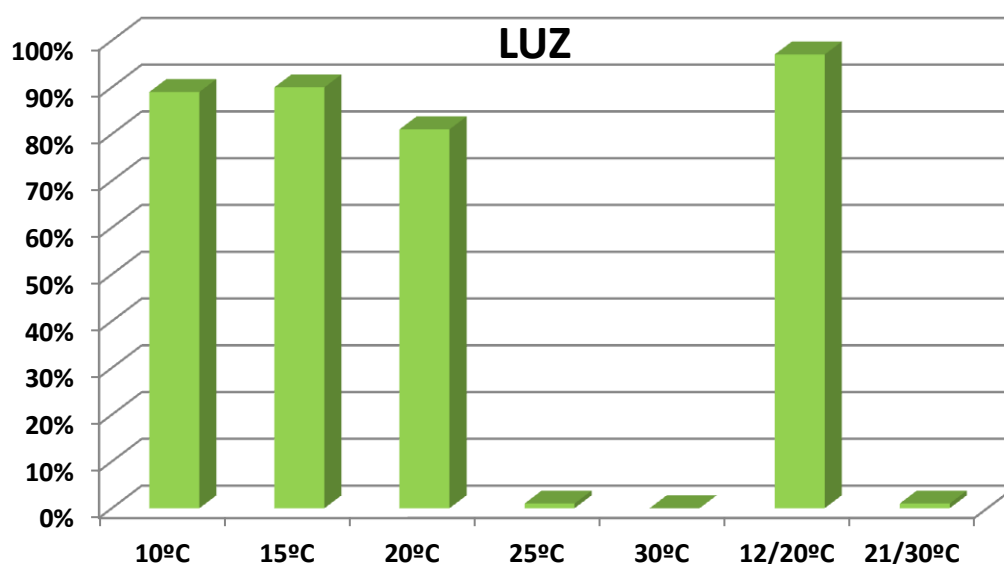
	LUZ	OSCURIDAD	
<b>10°C</b>	89 ± 8,25 bc A	84 ± 4,62 b A	F= 1,38 P= 0,285
<b>15°C</b>	90 ± 5,16 bc A	88 ± 0,00 b A	F= 0,799 P= 0,409
<b>20°C</b>	81 ± 3,83 b A	91 ± 2,00 bc B	F= 24,760 P= 0,003
<b>25°C</b>	1 ± 2 a A	0 ± 0 a A	F= 1,000 P= 0,356
<b>30°C</b>	0 ± 0 a	0 ± 0 a	- -
<b>12/20°C</b>	97 ± 2,00 c A	95 ± 3,83 c A	F= 0,256 P=0,639
<b>21/30°C</b>	1 ± 2a A	0 ± 0 a A	F= 1,000 P=0,356
	F= 205,09 P= 0,000	F= 543,13 P= 0,000	

**TABLA 1.** Efecto de la temperatura y fotoperiodo sobre la germinación de *Hypericum ericoides* (porcentaje de germinación ± desviación típica). Letras mayúsculas diferentes para valores dentro de una fila y letras minúsculas diferentes para valores dentro de una columna indican una diferencia significativa (Tukey test;  $p < 0.05$ ).



En las semillas expuestas a luz el porcentaje de germinación fue significativamente afectado por las distintas temperaturas aplicadas, resultando el mayor valor a la temperatura alterna de 12/20°C en la que se obtuvo un  $97 \pm 2,00$  % de semillas germinadas, pero sin mostrar diferencias estadísticas con las temperaturas de 10°C y 15°C.

Por contraposición, los valores de germinación obtenidos a las temperaturas de 30°C, 25°C y 21/30°C fueron del 0%,  $1 \pm 2\%$  y  $1 \pm 2\%$  respectivamente (Figura 16).

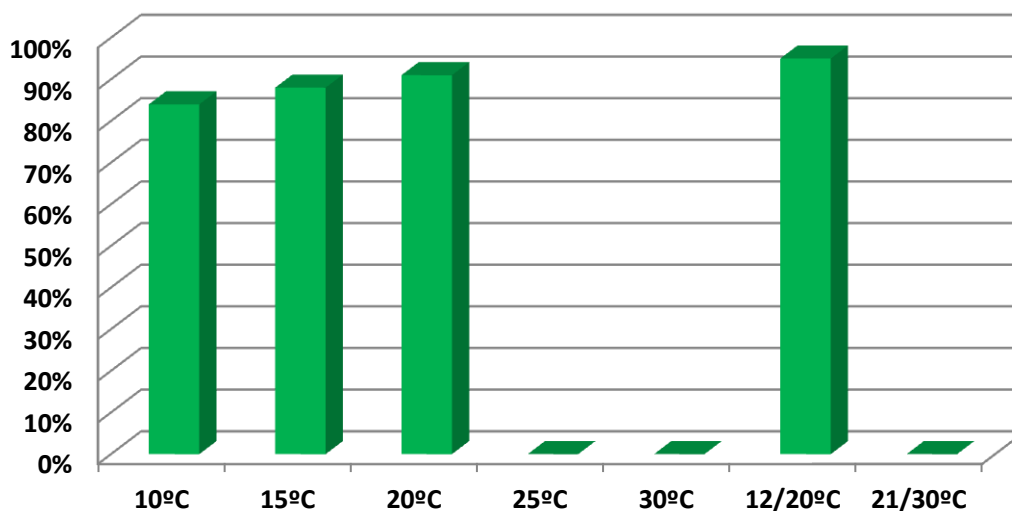


**Figura 16.** Efecto de la temperatura en el porcentaje de germinación de semillas de *H. ericoides* incubadas en condiciones de luz.

Del mismo modo, las semillas incubadas en oscuridad presentan unos resultados muy similares a las expuestas a la luz. El mayor porcentaje de germinación, un  $95 \pm 3,83\%$ , fue obtenido a la temperatura alterna 12/20°C, así como a las temperaturas de 25°C, 30°C y 21/30°C el porcentaje de germinación resultó del 0% (Figura 17; Tabla 1).

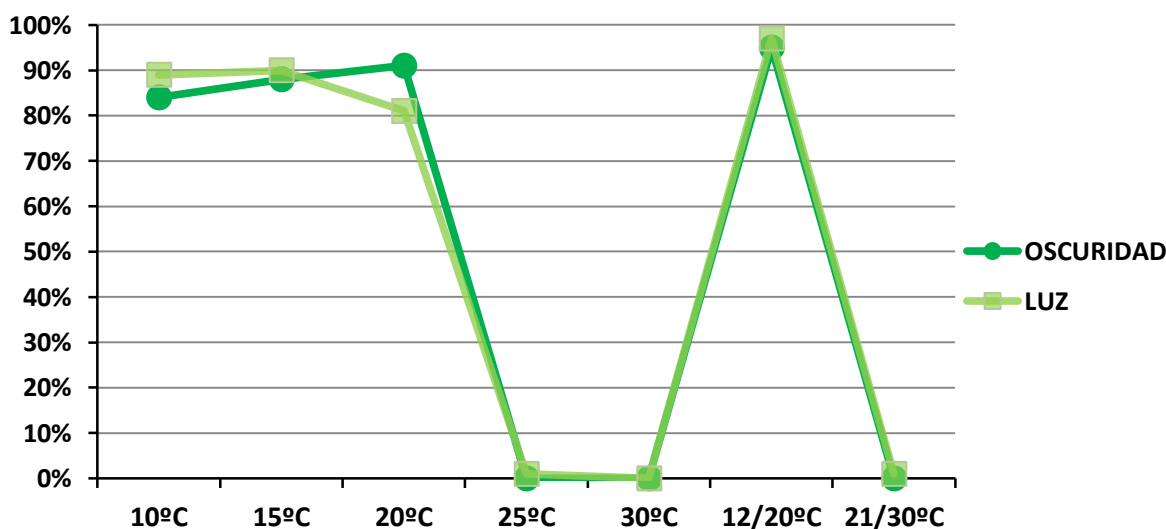


## OSCURIDAD



**Figura 17.** Efecto de la temperatura en el porcentaje de germinación de semillas de *H.ericoides* tratadas en condiciones de oscuridad.

A la hora de comparar los dos tratamientos de luz (Figura 18) únicamente a 20°C se observaron diferencias significativas entre ambos tipos de tratamientos, obteniéndose una mayor germinación en oscuridad. Sin embargo, con independencia del tratamiento de luz aplicado, resultan los mayores porcentajes de germinación a la temperatura de 12/20°C.



**Figura 18.** Diferencias de germinación de *H. ericoides* entre los tratamientos de luz y oscuridad.



## IV.2 GERMINACIÓN EN NaCl y PEG

El SPSS muestra cómo los porcentajes de germinación fueron significativamente modificados por los diferentes potenciales osmóticos aplicados tanto en el tratamiento con NaCl como en el realizado con PEG (P=0.00) (Tabla 2).

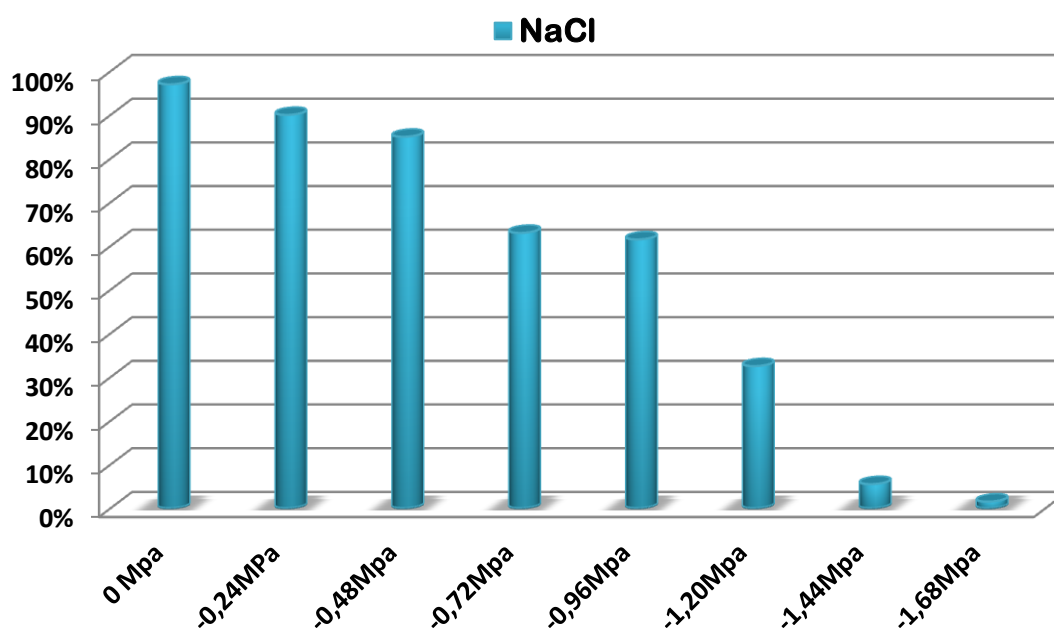
	NaCl	PEG	
<b>0 MPa</b>	97 ± 2,00 d	97 ± 2,00 e	F= 0,000
			P=1,000
<b>-0,24 MPa</b>	90 ± 5,16 d	86,50 ± 8,22 d e	F= 0,459
			P=0,523
<b>-0,48 MPa</b>	85 ± 12,70 d	57 ± 20,56 c d	F= 5,694
			P= 0,054
<b>-0,72 MPa</b>	63 ± 15,19 c	71 ± 19,90 d e	F= 0,504
			P= 0,504
<b>-0,96 MPa</b>	61,5 ± 4,12 c	31,5 ± 25,53 b c	F= 3,850
			P= 0,097
<b>-1,20 MPa</b>	32,50 ± 6,61 b B	13,5 ± 10,50 ab A	F=8,7272
			P= 0,025
<b>-1,44 MPa</b>	5,5 ± 3,00 a	1,5 ± 1,91 a b	F= 6,047
			P= 0,049
<b>-1,68 MPa</b>	1,5 ± 3,00 a	0 ± 0 a	F= 1,000
			P=0,356
	F= 80,113 P= 0,000	F= 29,003 P= 0,000	

**TABLA 2.** Efecto de los potenciales osmóticos (MPa) de NaCl y Polietilenglicol a temperatura alterna 12/20 °C sobre la germinación de *Hypericum ericoides* (porcentaje de germinación ± desviación típica). Letras mayúsculas diferentes para valores dentro de una fila y letras minúsculas diferentes para valores dentro de una columna indican una diferencia significativa (Tukey test; p < 0.05).



En el ensayo en NaCl, los potenciales  $-0,24\text{MPa}$  ( $90\pm 2,00\%$ ) y  $-0,48\text{MPa}$  ( $85\pm 12,7\%$ ) arrojan los mayores porcentajes de germinación, sin diferencias entre ellos ni con el control. A pesar de producirse germinación hasta  $-1,20\text{MPa}$ , el aumento del potencial osmótico generó una disminución de la germinación llegando casi a inhibirla en los dos últimos, donde el porcentaje cayó del  $97\pm 2\%$  en el control a un  $5,5\pm 3\%$  en  $-1,44\text{MPa}$  y a  $1,5\pm 3\%$  en  $-1,68\text{MPa}$  (Figura 19). Por lo tanto, se considera que un potencial osmótico inferior a  $-1,44\text{MPa}$  ( $1,7\%$ ) resulta perjudicial para la germinación de *H. ericoides*.

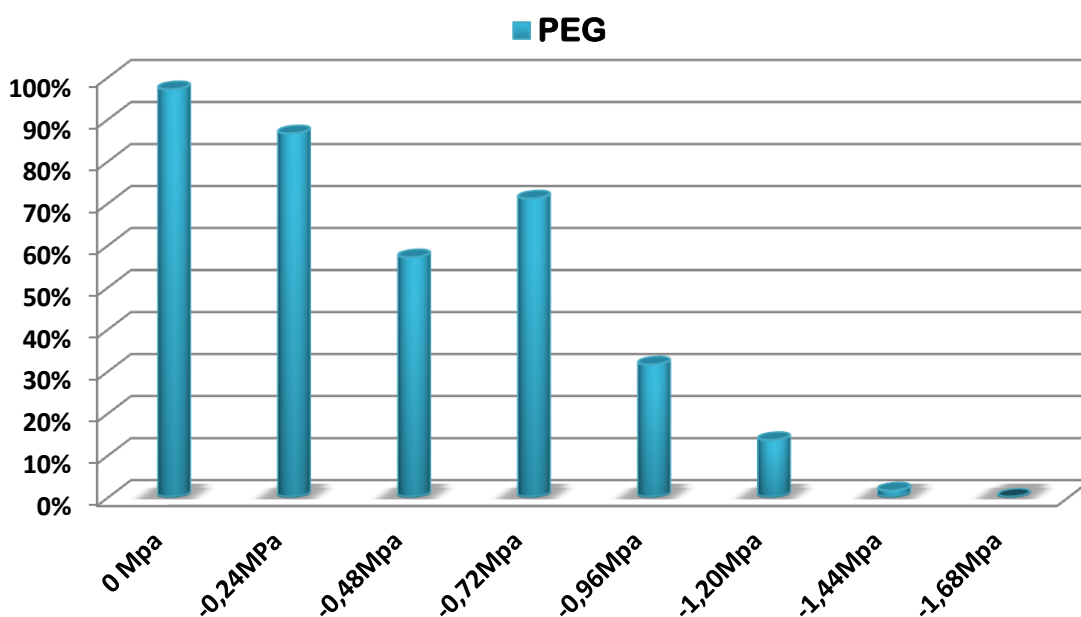
No obstante, en comparación con estudios de germinación de algunas especies halófitas (Vicente et al., 2009), *Hypericum ericoides* se puede considerar como una especie moderadamente tolerante a la salinidad ya que hasta una concentración de  $1,46\%$  de NaCl ( $-1,20\text{MPa}$ ) se obtiene una germinación significativa ( $32,5\%$ ).



**Figura 19.** Efecto del potencial osmótico de NaCl sobre el porcentaje de semillas germinadas en *H. ericoides*.

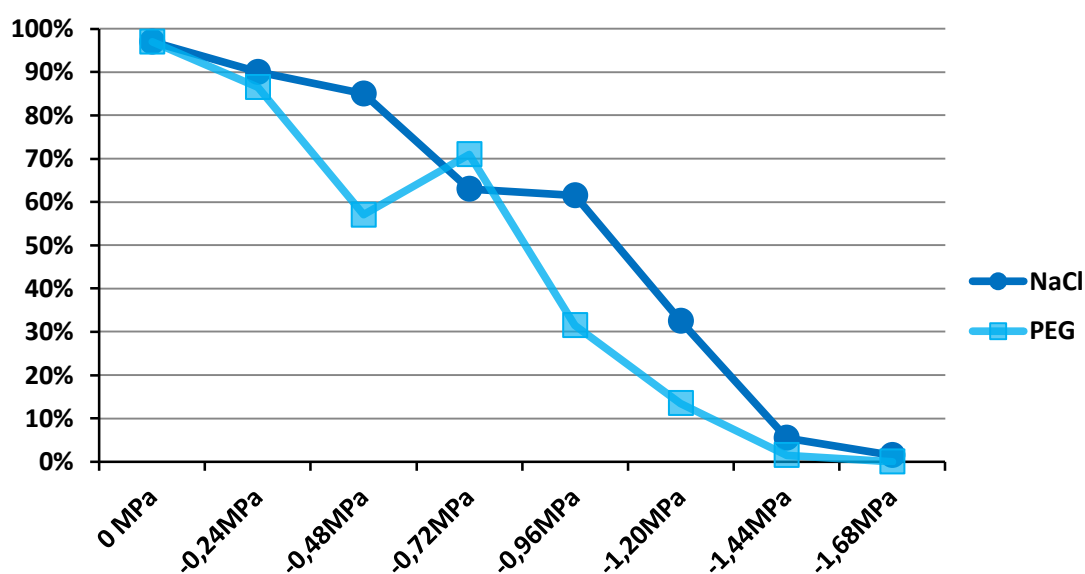
Del mismo modo, aunque de forma algo más pronunciada, las semillas tratadas con PEG sufrieron una disminución de la germinación inversamente proporcional al aumento del potencial osmótico generado por el PEG (Figura 20; Tabla 2), reduciéndose el porcentaje de  $97\pm 2\%$  en el control al  $1,5\pm 1,9\%$  y al  $0\pm 0\%$  en los dos potenciales mayores ( $-1,44$  y  $-1,68\text{MPa}$ ).





**Figura 20.** Efecto del potencial osmótico de PEG sobre el porcentaje de semillas germinadas en *H. ericoides*.

Comparando ambos ensayos (Figura 21; Tabla 2) para los potenciales -1.20MPa y -1.44MPa se advierten diferencias significativas entre ambos tratamientos presentando porcentajes de germinación más altos en NaCl que en PEG en ambos casos.



**Figura 21.** Diferencias de germinación de *H. ericoides* entre los tratamientos de NaCl y PEG.





### IV.3 GERMINACIÓN EN LA RECUPERACIÓN

Tras realizar la recuperación en agua destilada de las semillas no germinadas en los tratamientos de NaCl y PEG, la estadística revela que las diferencias entre los porcentajes de germinación obtenidos para los diferentes potenciales osmóticos no son relevantes dentro de ninguno de los tratamientos (Tabla 3).

	NaCl	PEG	
<b>-0,72*</b>	31,30 ± 15,93 a	51,12 ± 34,20 a	F = 0,303 P = 0,602
<b>-0,96</b>	48,39 ± 36,44 a	69,41 ± 12,99 a	F = 0,361 P = 0,570
<b>-1,20</b>	43,27 ± 15,27 a	77,46 ± 7,33 a	F = 8,681 P = 0,026
<b>-1,44</b>	24,93 ± 13,15 a	81,34 ± 9,41 a	F = 39,789 P = 0,001
<b>-1,68</b>	33, 51 ± 10,88 a	81,00 ± 3,46 a	F = 61,546 P = 0,000
	F= 1,168 P= 0,364	F= 1,998 P= 0,147	

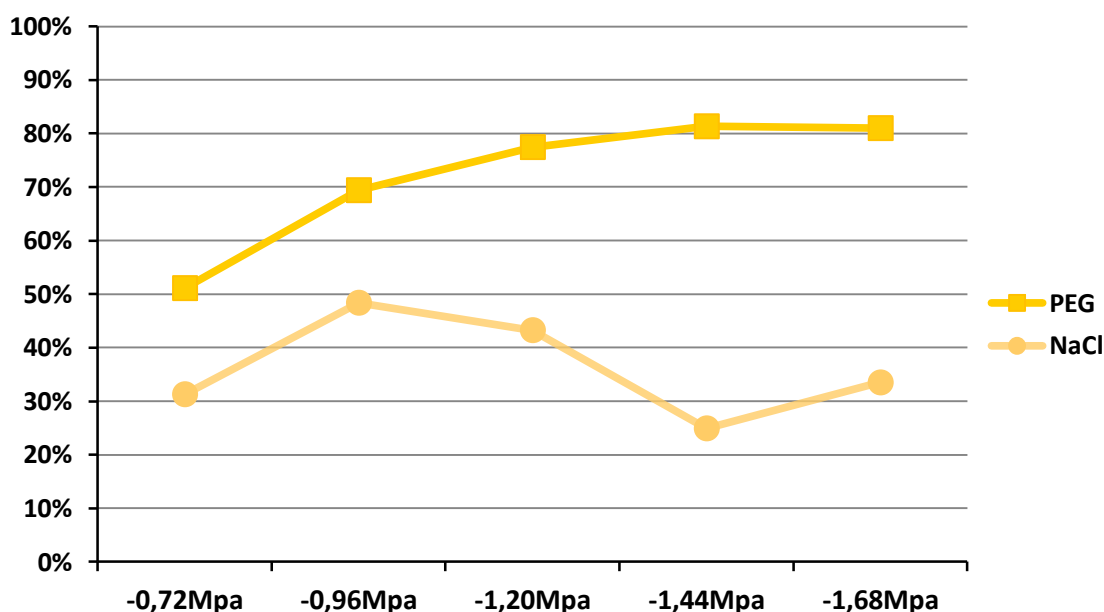
**TABLA 3.** Germinación de semillas recuperadas de los tratamientos de NaCl y PEG (porcentaje de germinación ± desviación típica). Letras mayúsculas diferentes para valores dentro de una fila y letras minúsculas diferentes para valores dentro de una columna indican una diferencia significativa (Tukey test;  $p < 0.05$ ).

\*La recuperación no fue realizada para los potenciales osmóticos -0,24MPa y -0,48MPa debido a que los porcentajes de germinación en sal resultaron  $\geq 85\%$



Analizando individualmente cada potencial osmótico de PEG a los que previamente habían sido sometidas las semillas de *H.ericoides* se observa que después de la recuperación de éstas, su germinación experimenta un crecimiento paulatino proporcional al aumento de los potenciales, pasando de un  $51,12 \pm 34,20\%$  en el menor potencial (-0,72 MPa) a un  $81,00 \pm 3,46\%$  en el mayor (-1,68 MPa).

Comparando estos valores de germinación con los resultantes de la recuperación de las semillas tratadas con NaCl (Figura 21), donde la germinación no presenta un crecimiento proporcional a los potenciales previos aplicados, si no que, fluctúa entre  $43,27 \pm 15,27\%$  (-0,96 MPa) y  $24,93 \pm 13,15\%$  (-1,44 MPa), se observa cómo los valores de germinación son considerablemente mayores en las semillas recuperadas del tratamiento de PEG llegando a ser significativas las diferencias entre NaCl y PEG en los potenciales -1,20 MPa, -1,44 MPa y -1,68 MPa.



**Figura 22.** Diferencias de germinación de *H. ericoides* entre los tratamientos de NaCl y PEG tras la recuperación.



## IV.4 TIEMPO MEDIO DE GERMINACIÓN

### CONDICIONES ÓPTIMAS DE GERMINACIÓN

En los ensayos de condiciones óptimas para la germinación de semillas de *H. ericoides* el cálculo del tiempo medio de germinación, en adelante TMG, se realizó únicamente para las semillas expuestas a luz, debido a que el tratamiento en oscuridad no fue interrumpido hasta el final del ensayo y por lo tanto solo han sido calculados los porcentajes de germinación finales.

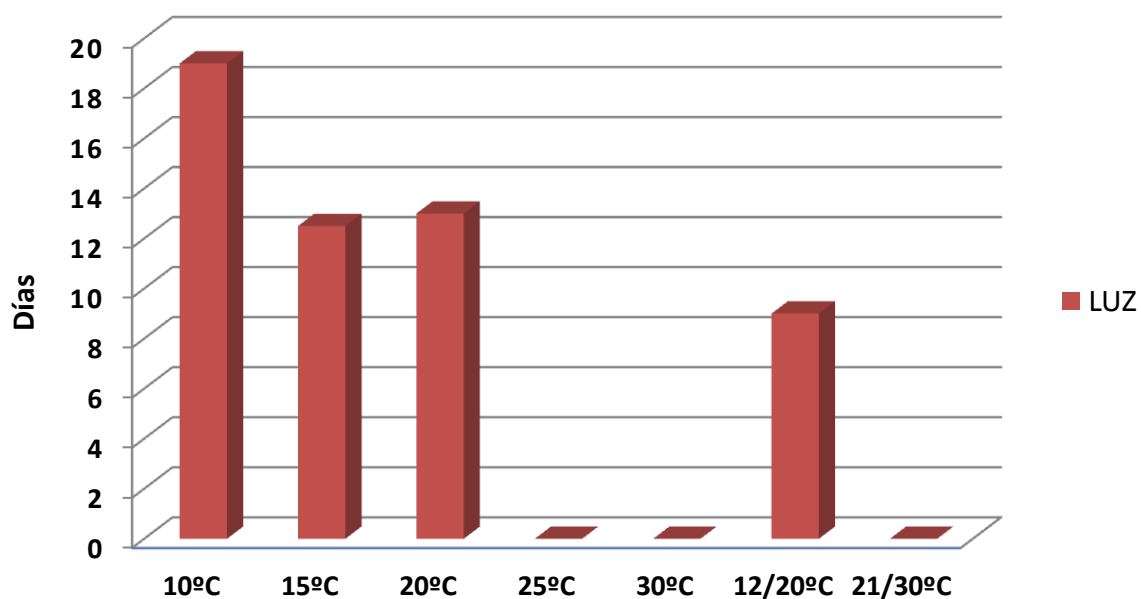
La estadística realizada sobre los TMG calculados para las diferentes temperaturas aplicadas (Tabla 4; Figura 23) revela una influencia significativa de la temperatura en los tiempos de germinación. El menor TMG obtenido para dichas temperaturas que presentaron germinación resulta de  $9,00 \pm 2,00$  días a  $12/20^{\circ}\text{C}$ .

	TMG(días)
10°C	19,00 ± 2,45 c
15°C	12,50 ± 0,58 b
20°C	13,00 ± 2,00 b
25°C	-
30°C	-
12/20°C	9,00 ± 0,00 a
21/20°C	-
	F= 161,839
	P= 0,000

**TABLA 4.** Influencia de la temperatura en los tiempos medios de germinación (días) de las semillas de *Hypericum ericoides* (porcentaje de germinación ± desviación típica). Letras minúsculas diferentes indican una diferencia significativa (Tukey test;  $p < 0.05$ ).



### TMG



**Figura 23.** Efecto de la temperatura en el tiempo medio de germinación de semillas de *H. ericoides* incubadas en condiciones de luz.



## **GERMINACIÓN EN NaCl y PEG**

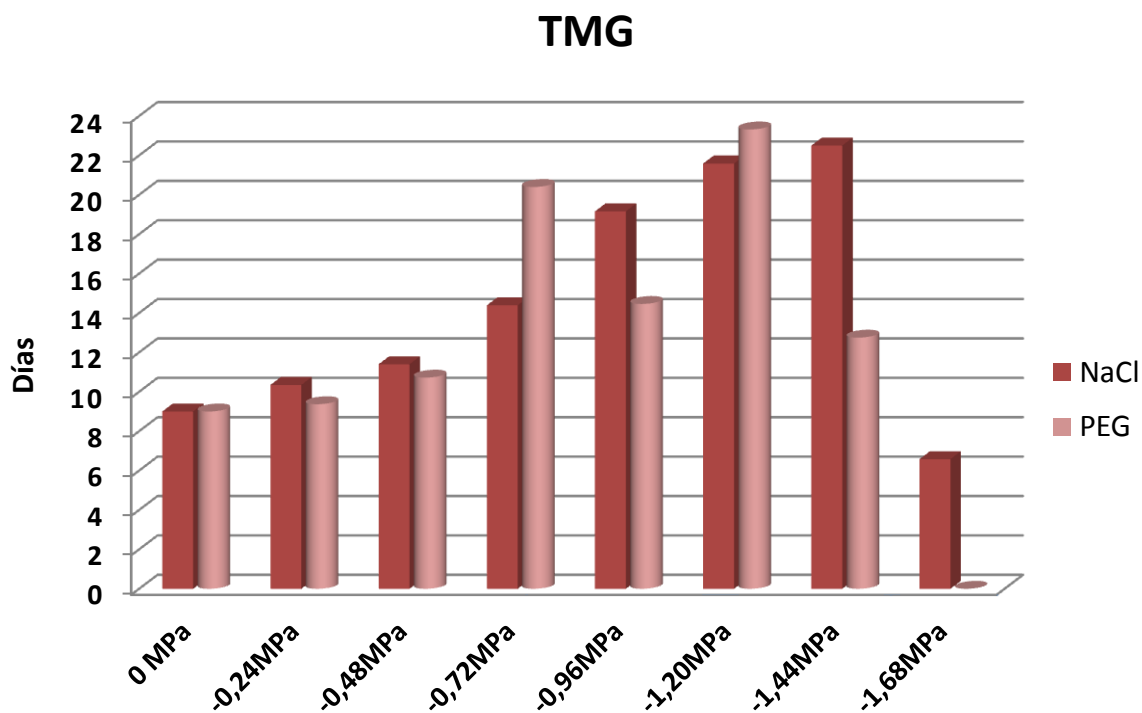
En las semillas pretratadas con NaCl y PEG la aplicación de potenciales osmóticos más negativos se traduce en un retraso significativo del tiempo de germinación de dichas semillas (Tabla 5; Figura 24).

	<b>NaCl</b>	<b>PEG</b>	
<b>0°C</b>	9 ±0 ab	9 ±0 ab	-
			-
<b>-0,24°C</b>	10,35±0,89 abA	9,37 ±0,43 abA	F=3,92
			P=0,095
<b>-0,48°C</b>	11,40±1,13 abcA	10,72 ±0,51 abA	F=1,21
			P=0,314
<b>-0,72°C</b>	14,39±0,56 abcdA	20,40 ±1,86 bB	F=38,19
			P=0,001
<b>-0,96°C</b>	19,16±0,48 bcdA	14,46 ±9,67 abA	F=0,942
			P=0,369
<b>-1,20°C</b>	21,59±0,97 cdA	23,32 ±2,33 bA	F=1,881
			P=0,219
<b>-1,44°C</b>	22,50±1,00 cA	12,75 ±14,77 abA	F=1,734
			P=0,236
<b>-1,68°C</b>	6,58±13,16 aA	0 ±0 aA	F=1,00
			P=0,356
	F=6,57	F=5,19	
	P=0,000	P=0,001	

**TABLA 5.** Efecto de los potenciales osmóticos de NaCl y PEG (MPa) en los tiempos medios de germinación de las semillas de *Hypericum ericoides* expuestas a un fotoperiodo de 12 horas y temperatura alterna de 12/20°C



Tomando como control el TMG menor obtenido en condiciones óptimas ( $9,00 \pm 2,00$  días a  $12/20^\circ\text{C}$ ) el potencial osmótico que menos difiere de este valor es  $-0,24$  MPa en ambos casos, NaCl y PEG, al cual se obtiene un TMG de  $10,35 \pm 0,89$  días y  $9,37 \pm 0,43$  días respectivamente.



**Figura 24.** Efecto del potencial osmótico de NaCl y PEG sobre el tiempo medio de germinación en semillas de *H. ericoides*.

Los tiempo de germinación resultantes para el potencial  $-1,68$  MPa no son considerados porque la germinación de las semillas a ese potencial es escasa o inexistente (Figura 21).



## RECUPERACIÓN DE LA GERMINACIÓN

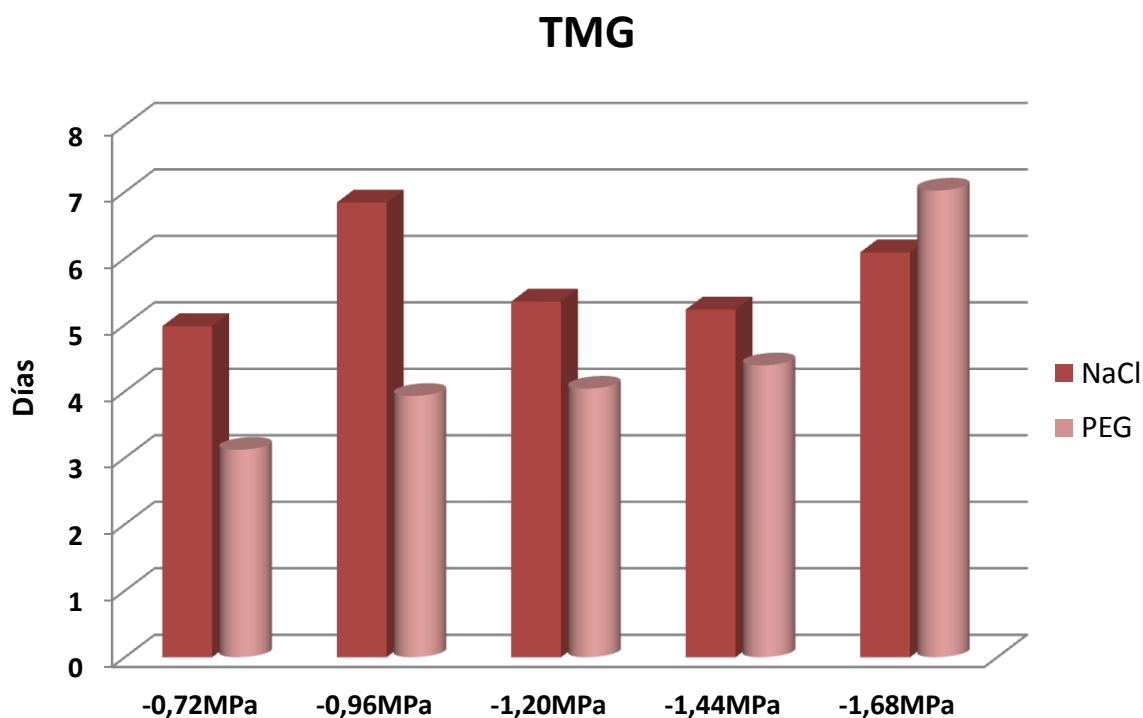
Recuperadas las semillas de los tratamientos de NaCl y PEG, la estadística indica que no hay diferencias importantes entre los TMG resultantes a los distintos potenciales osmóticos en ninguno de los tratamientos (Tabla 6).

	<b>NaCl</b>	<b>PEG</b>	
<b>-0,72 MPa</b>	4,98±1,14 aA	3,12 ±2,53 aB	F=1,797
			P=0,229
<b>-0,96 MPa</b>	6,84±2,74 aA	3,93 ±0,19 abA	F=4,513
			P=0,078
<b>-1,20 MPa</b>	5,35±0,94 aA	4,04 ±0,62 abA	F=5,453
			P=0,058
<b>-1,44 MPa</b>	5,23±0,81 aA	4,39 ±0,62 abA	F=2,712
			P=0,151
<b>-1,68 MPa</b>	6,09±2,02 aA	7,05 ±1,95 bA	F=0,409
			P=0,546
	F=0,801	F=3,68	
	P=0,543	P=0,28	

Comparando ambos tratamientos, tampoco son estadísticamente significativas las diferencias en las velocidades de germinación.



Para las semillas anteriormente tratadas con NaCl, se obtienen unos TMG que fluctúan entre  $4,98 \pm 1,14$  (- 0,72 MPa) y  $6,84 \pm 2,74$  (-0,96MPa) días y las que fueron tratadas con PEG la velocidades de germinación varían entre  $3,12 \pm 2,53$  (-0,72MPa) y  $7,02 \pm 1,95$  (-1,68MPa) días, presentando estas dos algunas diferencias estadísticas, aunque no significativas del resto de los potenciales (Figura 25).



**Figura 25.** Tiempos medios de germinación de *H. ericoides* tras la recuperación de los tratamientos de NaCl y PEG.





# CAPÍTULO V: CONCLUSIONES

## V. CONCLUSIONES

La germinación de *Hypericum ericoides* se ve influenciada por la temperatura, de forma que altas temperaturas (25-30°C) inhiben la germinación y por el contrario, temperaturas bajas y moderadas (10-20°C) presentan altos porcentajes de germinación, con valores comprendidos entre el 80% y 90%.

Las condiciones de luz sólo afectan a las semillas expuestas a temperaturas moderadas (20°C), donde el porcentaje de germinación es considerablemente más reducido en el tratamiento de luz que en el de oscuridad (81% germinación en luz; 91% germinación en oscuridad).

Con independencia del tratamiento de luz aplicado, a la temperatura alterna 12/20°C se obtuvieron los mayores porcentajes de germinación de semillas, 97% en luz y 95% en oscuridad.

La exposición de las semillas a NaCl inhibió progresivamente su germinación. Del mismo modo, aunque de forma algo más pronunciada, ocurre con las semillas tratadas con PEG.

En los dos potenciales más altos, - 1,44 y -1,68 MPa, la germinación de las semillas tratadas con NaCl fue prácticamente inhibida (5,5% y 1,5% germinación) por lo que una salinidad inferior a -1,44 MPa (1,7%) resulta perjudicial para la germinación de *H. ericoides*.

No obstante, *Hypericum ericoides* se puede considerar como una especie moderadamente tolerante a la salinidad ya que hasta una concentración de 1,46% de NaCl (-1,20MPa) se obtiene una germinación significativa (32,5%).

La mayor recuperación de semillas obtenida después del tratamiento con PEG respecto al tratamiento con NaCl revela la existencia simultánea de un efecto tóxico producido por el NaCl, pero sin llegar a dañar la totalidad de las semillas ya que se obtiene un porcentaje de supervivencia y recuperación del 33,5 % para el potencial osmótico más elevado (-1,68MPa ó 2,05% sal).



El tiempo medio de germinación de *H. ericoides* depende de las condiciones a las que estén expuestas las semillas y oscila entre 9 y 23 días.



CAPÍTULO VI:

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## VI. REFERENCIAS

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ❖ **CARLOS VÁZQUEZ YANES, ALMA OROZCO, MARIANA ROJAS, MARÍA ESTHER SÁNCHEZ, VIRGINIA CERVANTES,** La reproducción de las plantas: semillas y meristemos, Primera edición, 1997. México, D.F.
- ❖ **ELENA SARRIA PEREA,** Trabajo final de carrera sobre los efectos de los cationes calcio y magnesio sobre la germinación de semillas de *Juncus* en condiciones de estrés salino. Gandía, 2010.
- ❖ **FRANCISCO JOSÉ GARCÍA BREIJO, JOSEFA ROSELLÓ CASELLES, M<sup>a</sup> PILAR SANTAMARINA SIURANA,** Introducción al funcionamiento de las plantas, Ed. Universidad Politécnica de Valencia, 2006.
- ❖ **G. DI GIAMBATISTA, M. GARBERO, M. RUIZ, A. GIULIETTI Y H. PEDRANZANI,** Germinación de *Trichloris crinita* y *Digitaria eriantha* en condiciones de estrés abiótico, 2010.
- ❖ **J. BORRÁS BLASCO, A. NAVARRO RUIZ, M. GONZÁLEZ DELGADO.** Hierba de San Juan (*Hypericum perforatum* sp.), 2001.
- ❖ **JOSE MANUEL PITA VILLAMIL, FÉLIX PÉREZ GARCÍA,** Germinación de semillas, Universidad politécnica de Madrid 1998.
- ❖ **JUAN ANTONIO PUJOL FRUCTUOSO,** Tesis Doctoral de la ecología de la germinación de semillas y del crecimiento de plántulas de especies halófitas del SE Ibérico, 2000.
- ❖ **LISJAK, GASTÓN I. 2012.** Evaluación de la germinación de semillas de *cynara cardunculus* (L.) y *panicum virgatum* (L.) en soluciones de trehalosa. Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina.
- ❖ **M. GONZALEZ-MARTIN, 1995,** Germinación y requerimientos de luz de especies del género *Hypericum* L. en las Islas Canarias.



- ❖ **MARTINEZ-DÍAZ, E., AGUADO, M., BAÑÓN, S., VICENTE, M.J. y MARTINEZ-SANCHEZ, J.J., 2013**, Multiplicación en vivero de dos especies silvestres de *Allium* vulnerables en la Región de Murcia: *A. melananthum* y *A. chrysonemum*. Departamento de Producción Vegetal Instituto de Biotecnología Vegetal, Universidad Politécnica de Cartagena.
- ❖ **MÓNICA B. RUIZ, M. Sc.; CARLOS A. PARERA, Ph. D. , 2013**, Efecto del estrés hídrico y salino sobre la germinación *Deatriplex nummularia* (Chenopodiaceae)
- ❖ **PÍO FONT QUER**, Diccionario de botánica. Ediciones Península, Octubre de 2000.
- ❖ **RUIZ M. Y O TERENTI. , 2012**, Germination of four grasses under salt stress.
- ❖ **SANTIAGO CASTROVIEJO, REAL JARDÍN BOTÁNICO DE MADRID, 2005**, Flora ibérica: plantas vasculares de la Península Ibérica es Islas Baleares.
- ❖ **SARA L. CROCKETT AND NORMAN K.B.ROBSON, 2011**, Taxonomy and Chemotaxonomy of the Genus *Hypericum*.
- ❖ **VICENTE, MARÍA JOSÉ, CONESA, ENCARNACIÓN, ÁLVAREZ-ROGEL, JOSÉ ANTONIO AND MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, JUAN JOSÉ(2009)**, Relationships Between Salt Type and Seed Germination in Three Plant Species Growing in Salt Marsh Soils of Semi-Arid Mediterranean Environment's Arid Land Research and Management, 23:2, 103--- 114



## PÁGINAS WEB

- ❖ **ATLAS Y LIBRO ROJO DE LA FLORA VASCULAR AMENAZADA DE ESPAÑA,**  
[http://www.magrama.gob.es/es/biodiversidad/temas/inventarios-nacionales/697\\_tcm7-149482.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/biodiversidad/temas/inventarios-nacionales/697_tcm7-149482.pdf)
- ❖ **BANCO DE DATOS DE BIODIVERSIDAD DE LA COMUNIDAD VALENCIANA,** <http://bdb.cma.gva.es/ficha.asp?id=13635>
- ❖ **BANCO DE GERMOPLASMA DE LA ESCUELA TÉCNICA Y SUPERIOR DE INGENIERIA AGRÓNOMA DE LA UPCT, DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN VEGETAL:**  
[http://www.upct.es/~dpv/banco\\_germoplasma\\_presentacion.html](http://www.upct.es/~dpv/banco_germoplasma_presentacion.html)
- ❖ **FÉLIX PÉREZ,** Germinación y dormición de semillas  
[http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/consolidado/publicacionesdigitales/80-402\\_MATERIAL\\_VEGETAL\\_DE\\_REPRODUCCION\\_MANEJO\\_CONSERVACION\\_Y\\_TRATAMIENTO/80-402/7\\_GERMINACION\\_Y\\_DORMICION\\_DE\\_SEMILLAS.PDF](http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/consolidado/publicacionesdigitales/80-402_MATERIAL_VEGETAL_DE_REPRODUCCION_MANEJO_CONSERVACION_Y_TRATAMIENTO/80-402/7_GERMINACION_Y_DORMICION_DE_SEMILLAS.PDF)
- ❖ **FLORA IBÉRICA, *HYPERICUM L.***  
[http://www.floraiberica.es/floraiberica/texto/pdfs/03\\_058\\_01\\_Hypericum.pdf](http://www.floraiberica.es/floraiberica/texto/pdfs/03_058_01_Hypericum.pdf)
- ❖ **HERBARIO VIRTUAL DE LA UNIDAD DE BOTÁNICA DE LA UNIVERSIDAD DE ALICANTE,**  
[http://www.herbariovirtual.ua.es/hoja\\_hypericum\\_ericoides.htm](http://www.herbariovirtual.ua.es/hoja_hypericum_ericoides.htm)
- ❖ <http://www.menudanatura.com/2011/10/hypericum-ericoides-l.html>
- ❖ **UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA**  
[http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2000024/lecciones/cap02/02\\_04\\_14.htm](http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2000024/lecciones/cap02/02_04_14.htm)
- ❖ **UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA, ÁREA DE BIOLOGÍA,**  
[http://www.euita.upv.es/varios/biologia/Temas/tema\\_17.htm#Proceso de Germinación](http://www.euita.upv.es/varios/biologia/Temas/tema_17.htm#Proceso de Germinación)



## IMÁGENES

**Figura 1:**

<http://www.biologia.edu.ar/botanica/animaciones/ciclos/paraiso/paginas/se-milla-clong.html>

**Figura 2:** Figura modificada de [Azcón-Bieto, J. y Talón, M. 1993. "Fisiología y Bioquímica Vegetal". Interamericana/ McGraw-Hill. \).](#)

**Figura 3:** © Textos-fotos-videos: Merche S. Calle / Juan Enrique Gómez / Waste <http://waste.ideal.es/hypericumericoides.htm>

**Figura 4:** <http://www.projectnoah.org/spottings/1878022/fullscreen>

**Figura 5 y 6:** © Textos-fotos-videos: Merche S. Calle / Juan Enrique Gómez / Waste <http://waste.ideal.es/hypericumericoides.htm>

**Figura 7:** <http://www.menudanatura.com/2011/10/hypericum-ericoides-1.html>

**Figura 8:** <http://www.menudanatura.com/2011/10/hypericum-ericoides-1.html> / Laboratorio de Producción Vegetal de la ETSIA Cartagena.

**Figura 9:** Laboratorio de Producción Vegetal de la ETSIA Cartagena.

**Figura 10:**

<http://www.floravascular.com/index.php?spp=Hypericum%20ericoides>

**Figura 11:** Laboratorio de Producción Vegetal de la ETSIA Cartagena.

**Figura 12:**

[http://www.panoramio.com/user/2086376?with\\_photo\\_id=45485022](http://www.panoramio.com/user/2086376?with_photo_id=45485022)

**Figura 13:** Google earth

**Figura 14:** Laboratorio de Producción Vegetal de la ETSIA Cartagena.

