

**Nº REFERENCIA:**  
CGL2006-07126/BOS



**MINISTERIO DE EDUCACIÓN Y CIENCIA**  
**DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN**

**PROYECTOS I+D, ACCIONES ESTRATÉGICAS Y ERANETS**

**INFORME DE SEGUIMIENTO ANUAL**

<b>Investigador Principal:</b> Juli García Pausas
<b>Título del Proyecto:</b> Mecanismos de persistencia tras incendio en plantas mediterráneas: consecuencias ecológicas y evolutivas (PERSIST)
<b>Organismo:</b> Fundación Centro de Estudios Ambientales del Mediterráneo (CEAM)
<b>Centro:</b> Fundación Centro de Estudios Ambientales del Mediterráneo (CEAM)
<b>Departamento:</b> Restauración Forestal
<b>Fecha de inicio del proyecto:</b> 1 Octubre 2006
<b>Fecha de finalización del proyecto:</b> 30 Septiembre 2009

Fecha:

**SR. SUBDIRECTOR GENERAL DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN**  
**C/ Albacete 5, 28071 MADRID**

## A. ACTIVIDADES REALIZADAS Y GRADO DE CONSECUCCIÓN DE LOS OBJETIVOS PROPUESTOS

1. Describa brevemente las actividades realizadas en el pasado año de desarrollo del proyecto. Indique si existe algún resultado a que haya dado lugar el proyecto durante ese periodo.

### Tarea 1. Experimento de rebrote.

Al largo de todo el año de 2007 se han procesado las muestras (separación y cálculo de biomasa) de los individuos adultos cortados en Agosto de 2006.

En Agosto de 2007 (1 año después de la corta) se tomaron las medidas de rebrote de las plantas cortadas (nº de brotes vivos y muertos, altura máxima y media de los brotes, profundidad de los brotes, peso fresco, proyección de la copa y fenología de los individuos) y se recolectaron los rebrotes de cada individuo, que actualmente se están procesando (cálculo de biomasa), para cuantificar el rebrote.

Los individuos se han mantenido protegidos por las jaulas para que se pueda hacer el seguimiento del rebrote, tras esta segunda corta, en Agosto de 2008 (1 año después de la segunda corta).

Además, se ha complementado este experimento con más especies (añadiendo *Thymus piperella* y *Dorycnium pentaphyllum* a las 12 especies iniciales [ver informe del año pasado]) y más individuos (entre 5 y 10). En Agosto de 2008 se tomarán los datos de regeneración vegetativa de estos nuevos individuos cortados en Agosto de 2007.

### Tarea 2. Experimento de germinación.

Selección de especies - Las especies fueron seleccionadas según los criterios referidos en el primer informe (ver criterios de selección de especies en el informe 2006). Especies seleccionadas:

- a) Germinadoras obligadas: *Ulex parviflorus* Pourr., *Genista triacanthos* Brot., *Lavandula latifolia* Medik, *Rosmarinus officinalis* L., *Fumana ericoides* (Cav.) Gand., *Fumana thymifolia* (L.) Spach ex Webb, *Xolantha tuberaria* (L.) Gallego, Muñoz Garm. & C. Navarro, *Helianthemum syriacum* (Jacq.) Dum.-Cours., *Erica umbellata* L., *Cistus albidus* L., *Cistus monspeliensis* L., *Thymus vulgaris* L., *Ononis minutissima* L.
- b) Germinadoras facultativas: *Coronilla minima* L., *Genista scorpius* (L.) DC., *Genista umbellata* (Desf.) Poir., *Anthyllis cytisoides* L., *Sideritis angustifolia* Lag, *Teucrium capitatum* L., *Teucrium ronnigeri* Sennen, *Thymus piperella* L., *Dorycnium pentaphyllum* Scop., *Ulex borgae* Rivas Mart., *Erica multiflora* L., *Erica arborea* L.
- c) Estrategia post-incendio incierta: *Anthyllis lagascana* Benedí, *Astragalus lusitanicus* Lam., *Digitalis obscura* L., *Linum suffruticosum* L., *Lavandula stoechas* L., *Coris monspeliensis* L., *Erica terminalis* Salisb., *Erica scoparia* L.

Recolección, limpieza y almacenamiento de las semillas - Las semillas utilizadas se recogieron a lo largo del año 2007. Se seleccionaron poblaciones de varias zonas del SE de la Península Ibérica (Provincias de Valencia, Alicante, Castellón, Granada y Cádiz). Las semillas se separaron de los restos de ramas, hojas o flores y en la medida de lo posible, se apartaron las semillas viables de las no viables. De cada especie obtuvimos su porcentaje de semillas con y sin embrión de una muestra de 50 semillas y se estimó su viabilidad inicial con la prueba del tetrazolio (TTC). Las especies *Erica arborea* y *Erica scoparia* se han descartado del experimento debido a la baja viabilidad de las semillas. Las semillas se almacenaron en el banco de germoplasma del Jardín Botánico de Valencia en condiciones de baja humedad y temperatura controlada a 20 °C.

Tratamientos - Los ensayos se iniciaron en Noviembre de 2007. Se realizaron 11 pre-tratamientos: 7 de calor, 2 de humo y 2 controles. Basándose en los porcentajes de viabilidad calculados para cada especie, se utilizaron suficientes semillas para que hubiera, al menos, 100 semillas viables en cada prueba. Cada lote se separó en cuatro grupos iguales que fueron sometidos independientemente a cada uno de los tratamientos, para obtener cuatro replicas por prueba. Los pre-tratamientos llevados a cabo fueron los siguientes:

**Tratamientos térmicos:** Las semillas se sometieron a diferentes pre-tratamientos térmicos utilizando una estufa. Se aplicaron las siguientes temperaturas e intervalos de tiempo: 80, 100 y 120 °C durante 5 y 10 minutos y 150 °C durante 5 minutos.

**Tratamiento con humo:** Antes de ser sembradas las semillas fueron sumergidas durante 24 horas en una disolución de extracto líquido de humo. Este extracto líquido fue obtenido a partir de someter material vegetal de *Quercus coccifera* a 198 °C durante 30 minutos, siguiendo las prescripciones de Jäger *et al.* (1996). Este tratamiento se hizo a dos concentraciones 1:1 y 1:10.

**Controles:** Se establecieron dos controles, un control húmedo en el que las semillas permanecieron en agua durante 24 horas (análogo al tratamiento de humo) y un control seco en el que las semillas se sembraron directamente sin remojo previo (análogo al tratamiento con calor).

**Seguimiento** - Durante las dos primeras semanas después de las siembras se realizaron conteos de germinación cada dos días. A partir de ese momento los recuentos se efectuaron cada 7 días. Estos recuentos se prolongaron durante un período total de 2 meses. Al final del experimento las semillas que no habían germinado se sometieron al test del tetrazolio (TTC) para determinar su viabilidad. Esto nos permitió conocer la agresividad de los diferentes pre-tratamientos y comparar la pérdida de viabilidad de las semillas.

**Resultados** - en elaboración

### Tarea 3. Análisis funcional.

**A.- Estudio extensivo de las características funcionales de especies con diferentes estrategias de regeneración.**

El objetivo de este estudio fue conocer la relación entre las características morfo-funcionales y las diferentes estrategias de persistencia al fuego a nivel de planta en 10 especies pertenecientes a diferentes familias ampliamente representativas de las comunidades del matorral mediterráneo (Tabla 1). La hipótesis de partida del presente estudio establece que diferencias en respuestas ecofisiológicas y de crecimiento revelarían atributos de adaptación entre especies con distintas estrategias de regeneración.

En cada individuo se analizó la conductancia de estomas (gs), transpiración (E), tasa de fotosíntesis neta (A) y la capacidad máxima de suministro de agua a la planta por el sistema radical (conductancia hidráulica, Kr). Además, en estos plantones se realizó una caracterización morfológica tanto de la parte aérea (área foliar, biomasa del tallo, biomasa de las hojas y biomasa aérea total) como de la subterránea (biomasa de raíces finas, biomasa de raíces gruesas, área de la superficie absorbente de raíces, longitud de raíces y biomasa subterránea).

Tabla 1. Especies seleccionadas para el estudio y principales características en relación con la estrategia de regeneración y la forma de crecimiento.

Especies	Código	Familia	Forma de crecimiento	Estrategia de regeneración
<i>Anthyllis citisoides</i> L.	Aci	Fabaceae	Leguminosa semi-caducifolia	R+P+
<i>Genista scorpius</i> L. DC.	Gsc	Fabaceae	Leguminosa perennifolia	R+P+
<i>Myrtus communis</i> L.	Mco	Myrtaceae	Leñosa perennifolia	R+P-
<i>Pistacia lentiscus</i> L.	Ple	Anacardiaceae	Leñosa perennifolia	R+P-
<i>Retama sphaerocarpa</i> (L.) B	Rsp	Fabaceae	Leguminosa perennifolia	R+P+
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Rof	Labiatae	Leñosa semi-caducifolia	R-P+
<i>Spartium junceum</i>	Sju	Fabaceae	Leguminosa perennifolia	R+P+
<i>Ulex parviflorus</i> Pourr	Upa	Fabaceae	Leguminosa perennifolia	R-P+

Los resultados más significativos muestran que existen diferentes combinaciones de estrategias funcionales en relación al uso del agua, la biomasa de las especies y la arquitectura hidráulica del sistema radical en especies que coexisten en ambientes mediterráneos. *Pistacia lentiscus*, *Retama sphaerocarpa* y *Myrtus communis* presentan estrategias contrastadas respecto a las variables evaluadas (Figura 1). Valores elevados de A y E fueron asociados con

una menor capacidad de suministro de agua y WUEi. Especies con altos valores de conductividad hidráulica mostraron menor BT y WUEi

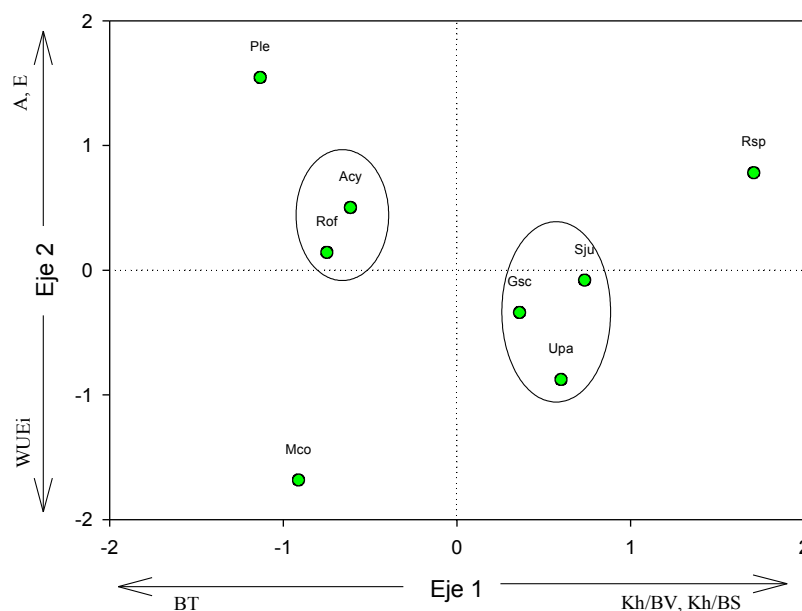


Figura 1. PCA (análisis de componentes principales) para las variables biomasa total (BT), índice biomasa subterránea/ biomasa aérea (R/S), tasa fotosintética (A), transpiración (E), eficiencia instantánea en el uso del agua (WUEi), conductividad hidráulica del sistema radical en función de la biomasa fotosintética (Kh/BV) y en función de la biomasa subterránea (Kh/BS). El primer componente del ACP explica el 45,98% del total de la varianza. Este factor expresa la variación en biomasa total y conductividad hidráulica radical de las especies. El segundo componente explica un 25,73% de la varianza, y está relacionado con las variables de intercambio de gases y eficiencia instantánea en el uso del agua. Especies: *Pistacia lentiscus* (Ple), *Retama sphaerocarpa* (Rsp), *Myrtus communis* (Mco), *Ulex parviflorus* (Upa), *Genista scorpius* (Gsc), *Rosmarinus officinalis* (Rof), *Anthyllis cytisoides* (Acy) y *Spartium junceum* (Sju).

Los patrones de distribución de biomasa mostraron diferencias significativas según las estrategias de regeneración, siendo mayor la biomasa aérea respecto a la subterránea en especies no rebrotadoras. Nuestros resultados sugieren una estrategia ahorradora de agua en especies no rebrotadoras, ya que con mayor capacidad de suministro de agua las tasas de transpiración son menores.

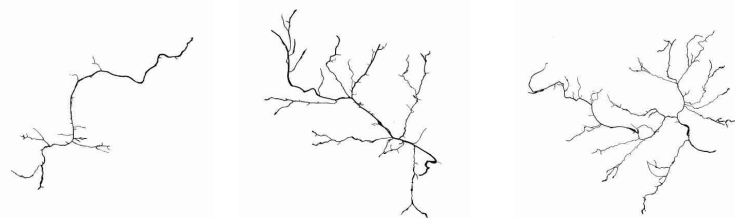
#### B - Estudio de la relación entre la capacidad de transporte de agua por el sistema radical y las características morfológicas de las raíces.

El desarrollo de las raíces es usualmente plástico reflejando la habilidad de las plantas para ajustar su desarrollo a las condiciones ambientales, incluyendo la disponibilidad de nutrientes o agua. Cambios en la morfología radical pueden tener implicaciones importantes en la capacidad para capturar y transportar nutrientes y agua hacia las hojas.

En este trabajo se evaluó el efecto de dosis contrastadas de nutrientes sobre la arquitectura morfológica e hidráulica de plantones de lentisco (*Pistacia lentiscus*).

Se cultivaron plantones de lentisco en envases forestales rellenos con arena de cuarzo y regados en días alternos con 40 mL de solución de Hoagland conteniendo 150 mg nitrógeno L<sup>-1</sup> (Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> y KNO<sub>3</sub>), 80 mg de fósforo L<sup>-1</sup> (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) y 100 mg de potasio L<sup>-1</sup> (tratamiento control, C), o soluciones idénticas sin nitrógeno (tratamiento deficiente en nitrógeno, ND), o sin fósforo (tratamiento deficiente en fósforo, PD).

Los resultados más relevantes mostraron que las plantas deficientes (ND o NP) modificaron la morfología de las raíces finas, observándose una estimulación de la ramificación (Figura 2).



Control

ND

PD

Figura 2. Aspecto del sistema radical en un plantón tipo de cada tratamiento (ND: deficiente en nitrógeno, NP: deficiente en fósforo).

En relación con la capacidad de transporte de agua por el sistema radical, se observó que las morfologías radicales más ramificadas (tratamientos ND y NP) disminuyeron su capacidad de transporte de agua cuando los resultados fueron expresados en función de la superficie radical absorbente ( $K_{RR}$ ). Sin embargo, no se observaron diferencias entre los tratamientos si la conductividad hidráulica se expresa en función del área foliar sustentada ( $K_{RL}$ ). Se observó que  $K_{RR}$  se correlacionaba significativamente con el número de segmentos (número de divisiones total de la raíz) y con la longitud promedio de cada segmento. Los resultados de este trabajo señalan que cambios en la capacidad de transporte de agua debidos a la morfología radical (alta resistencia al flujo de agua,  $K_{RR}$ ) por los tratamientos de deficiencia nutricional resultarían en ajustes significativos a nivel de toda la planta para mantener un suministro adecuado de agua a las hojas (no se observaron cambios en  $K_{RL}$ ).

Los primeros resultados de esta tarea se han presentado a los siguientes congresos:

Hernández, E., Vilagrosa, A., Paula, S., Pausas, J. G. 2008. Características funcionales de especies con diferente estrategia en el uso hídrico. XVII Reunión de la SEFV y X Congreso Hispano-Luso de Fisiología Vegetal, 18-21 septiembre 2007, Alcalá de Henares.

Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2007. Root system architecture and water transport in *Pistacia lentiscus* seedlings subjected to contrasted nutrient availability. 4<sup>th</sup> International Symposium on Physiological Processes in Roots of Woody Plants, 16-19 de septiembre de 2007, Bangor, Gales.

#### Tarea 4. Análisis histológico.

Se ha procedido a la recolección y fijación *in situ* en formaldehído-álcohol-ácido acético (FAA) de las siguientes especies:

*Ceratonia siliqua* L., *Olea europaea* L., *Pinus halepensis* Miller, *Pistacia lentiscus* L., *Arbutus unedo* L., *Juniperus oxycedrus* L., *Quercus coccifera* L., *Rhamnus alaternus* L., *Rhamnus lycioides* L., *Myrtus communis* L., *Fumana ericoides* (Cav.) Gand., *Cistus albidus* L., *Thymus piperella* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Teucrium capitatum* L., *Erica multiflora* L., *Chamaerops humilis* L., *Anthyllis cytisoides* L., *Coronilla minima* L., *Dorycnium pentaphyllum* Scop., *Dorycnium hirsutum* (L.) Ser., *Viburnum tinus* L., *Rubia peregriana* L., *Smilax aspera* L. y *Ulex parviflorus* Pourr.

Para cada una de las especies se han recolectado al menos tres hojas de 5 individuos distantes entre ellos al menos 5 m. Se han efectuado secciones transversales de las hojas o foliolos a las que se les realizó la tinción diferencial Safranina-Verde rápido (Johansen, 1940) que pone de manifiesto las paredes celulósicas así como las lignificadas, dando un contraste que facilita el estudio del número de capas que forman las epidermis adaxial y abaxial, de los parénquimas en empalizada y lagunar y el grosor de las mismas así como de algunos de los contenidos.

Se han realizado micrografías de las secciones transversales de todo el material tratado con la finalidad de realizar dichas mediciones.

En las especies que se consideren más interesantes para el proyecto se efectuarán en el próximo año los cortes semifinos incluidos en resina LR White, London resins siguiendo las

indicaciones de D'Ambrogio (1986) mediante ultramicrotomo. Para ello se ha realizado la fijación *in situ* en una mezcla tipo Karnoski (glutaraldehído y paraformaldehído) al 4% durante 8 horas, para a continuación fueron lavadas en una solución de tampón fosfato de Sorenson 0.1 M pH 7.2, en dos pasos de 30 minutos cada uno de ellos y seguidamente se han conservado en etanol al 70% para proceder en el futuro a su procesado.

En este momento los resultados son preliminares por lo que todavía no se presentan.

*Bibliografía:*

D'Ambrogio de Argueso, A. 1986. Manual de técnicas en histología vegetal. Hemisferio Sur. Buenos Aires.

Johansen, D.A. 1940. Plant microtechnique. Edit. Mc Graw Hill. Londres.

Tarea 5. Análisis de diversificación y diferenciación genética.

Se ha estudiado si los linajes de las especies germinadoras presentan mayor diversificación respecto a los linajes de especies rebrotadoras, tal como se había propuesto en la bibliografía. Mediante métodos filogenéticos y estudios de la velocidades evolutivas a nivel molecula, se ha demostrado que no existe diferencia en la diversificación entro los dos tipos de plantas. Los resultados han sido publicados en:

Verdú M, Pausas JG, Segarra-Moragues JG, Ojeda F. 2007. Burning phylogenies: fire, molecular evolutionary rates and diversification. *Evolution* 61: 2195-2204.

Tarea 6. Compilación y base de datos.

Se ha compilado una base de datos sobre experimentos de germinación con calor realizados para especies de la cuenca Mediterránea. Se ha conseguido información para 164 especies. Con esta base se ha estudiado la diferente respuesta germinativa a tratamientos de calor entre especies rebrotadoras y especies no rebrotadoras. Los resultados van a ser publicados en:

Paula S. & Pausas J.G. (in press). Burning seeds: Germinative response to heat treatments in relation to resprouting ability. *Journal of Ecology* 96: 543 – 552.

2. Si ha encontrado problemas en el desarrollo del proyecto, coméntelos, especificando su naturaleza (de carácter científico, de gestión, etc).