

# UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA  
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



*ESTUDIOS SOBRE LA IMBIBICIÓN DE AGUA POR PARTE  
DE LAS SEMILLAS DE ALCAPARRA.*

*(Capparis spinosa L.)*

**Trabajo Final de Máster**

Presentada por:

D. Eduardo Josué Córdova Arévalo

**Dirigida por:**

Dra. D<sup>a</sup>. Nuria Pascual Seva

Dr. D. Bernardo Pascual España

VALENCIA, septiembre 2017

## RESUMEN

La semilla de alcaparra (*Capparis spinosa* L.) presenta unos bajos porcentajes de germinación, lo que en la bibliografía científica se ha relacionado con una hipotética latencia física de las mismas, debido a la existencia de cubiertas duras (impermeables al agua), dado que ha sido superada con distintos tratamientos de escarificación. En los últimos estudios realizados por el equipo de investigación en el que se engloba este Trabajo Final de Máster, se pone en duda esta afirmación, por lo que se consideró oportuno comprobar la existencia de la impermeabilidad de cubiertas de las semillas de alcaparra, determinando si las semillas son capaces de embeber agua.

Se estudió el proceso de imbibición. La normativa establecida por la ISTA (*International Seed Testing Association*) establece que, para determinar la humedad de algunas semillas con cubiertas duras, estas deben de ser troceadas antes de ser introducidas en la estufa para su desecación. No obstante, no hace ninguna referencia a las semillas de la alcaparra. Se realizó un ensayo para determinar si el troceado de las semillas es necesario o no, en la determinación de la humedad de estas semillas, en el que se concluye que no es recomendable el troceado de las mismas.

También se determinó la imbibición de agua por parte de las semillas en distintas condiciones: distintas columnas de agua (10 mm y 100 mm) y un sustrato húmedo (método de germinación oficial *Between Paper*), utilizando agua destilada y agua corriente, tanto en cámara de germinación como en laboratorio. A los 8 días de remojo, únicamente existieron diferencias significativas entre el efecto del agua destilada y del agua corriente. Por tanto, en cuanto a imbibición, las condiciones en que se realizan los ensayos de germinación no resultan más restrictivas que las del remojo.

Paralelamente, se comprobó que la imbibición alcanza al endospermo (y al embrión), y que una cierta cantidad de agua queda retenida entre la cubierta y el endospermo.

Palabras clave: latencia física, humedad, cubierta dura, endospermo, germinación.

## RESUM

La llavor de tàpera (*Capparis spinosa* L.) presenta uns baixos percentatges de germinació, el que en la bibliografia científica s'ha relacionat amb una hipotètica latència física de les mateixes, a causa de l'existència de cobertes dura (impermeables a l'aigua), ja que ha estat superada amb diferents tractaments d'escarificació. En els darrers estudis realitzats per l'equip d'investigació en què es troba aquest Treball Final de Màster, es posa en dubte aquesta afirmació, pel que es va considerar oportú comprovar la existència de la impermeabilitat de les cobertes de les llavors de tàpera, determinant si les llavors són capaços d'embeure aigua.

Es va estudiar el procés d'imbibició. La normativa establerta per l'ISTA (*International Seed Testing Association*) estableix que, per determinar la humitat d'algunes llavors amb cobertes dures, aquestes han de ser tallades abans de ser introduïdes a l'estufa per a la seua dessecació. No obstant això, no fa cap referència a les llavors de tàpera. Es va realitzar un assaig per determinar si el tallat de les llavors és necessari o no, en la determinació de la humitat d'aquestes llavors, en el qual es conclou que no és recomanable el tallat de les mateixes.

També es va determinar la imbibició d'aigua per part de les llavors en diferents condicions: diferents columnes d'aigua (10 mm i 100 mm) i un substrat humit (mètode de germinació oficial *Between Paper*), utilitzant aigua destil·lada i aigua corrent, tant en càmera de germinació com a laboratori. Als 8 dies de remull, solament existien diferències significatives entre l'efecte de l'aigua destil·lada i l'aigua corrent. Per tant, en quant a imbibició, les condicions en què es realitzen els assaigs de germinació no resulten més restrictives que les del remull.

Paral·lelament, es va comprovar que la imbibició s'aconsegueix a l'endosperma (i a l'embrió), i que una certa quantitat d'aigua queda retinguda entre la coberta i l'endosperma.

Paraules clau: latència física, humitat, coberta dura, endosperma, germinació

## ABSTRACT

Caper seeds (*Capparis spinosa* L.) present a low percentage of germination, which in the scientific bibliography has been related to a hypothetical physical latency, due to the existence of hard covers (waterproof), since it has been overcome with different scarification treatments. In the latest studies carried out by the research team in which this Final Master's Work is included, this statement is questioned, thus it was considered opportune to verify the existence of the waterproofing of covers of the caper's seeds, determining whether the seeds are able to soak up water.

The imbibition process was studied. The standards established by the ISTA (International Seed Testing Association) establish that, to determine the moisture of some seeds with hard covers, they must be chopped before being introduced to the stove for drying. However, it makes no reference to the caper's seeds. An essay was carried out to determine if the seed chopping is necessary or not, in the determination of the moisture of these seeds, in which it is concluded that it is not advisable to chop them.

The water imbibition by the seeds was also determined in different conditions: different water columns (10 mm and 100 mm) and a wet substrate (official germination method Between Paper), using distilled water and running water, both in chamber of germination as in laboratory. At 8 days of soaking, there were only significant differences between the effect of distilled water and running water. Therefore, in relation to the imbibition, the conditions in which the tests of germination are carried out are not more restrictive than those of the soaking.

At the same time, it was found that the imbibition reaches the endosperm (and the embryo), and that a certain amount of water is retained between the cover and the endosperm.

Key words: physical latency, moisture, hard cover, endosperm, germination.

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Origen y Generalidades .....	1
1.2. Clasificación Taxonómica .....	1
1.3. Descripción Botánica .....	1
1.3.1. Tallo y ramas .....	1
1.3.2. Raíz .....	2
1.3.3. Hojas .....	2
1.3.4. Flores .....	3
1.3.5. Fruto .....	3
1.3.6. Semillas .....	4
1.4. Requerimientos Climáticos .....	4
1.4.1. Exigencias Térmicas .....	5
1.4.2. Exigencias en humedad y luminosidad .....	5
1.5. Plagas y Enfermedades .....	5
1.5.1. Plagas .....	5
1.5.2. Enfermedades .....	6
1.6. Aprovechamiento .....	7
1.6.1. Gastronomía .....	7
1.6.2. Farmacología .....	8
1.7. Importancia Económica .....	8
1.8. Propagación .....	9
1.8.1. Asexual o propagación vegetativa .....	10
1.8.2. Sexual o propagación por semilla .....	10
1.8.2.1. Germinación .....	10
1.8.2.2. Latencia .....	11
1.8.2.3. Tratamiento para superar la latencia .....	12
1.9. Antecedentes .....	13
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>15</b>
3.1. Establecimiento del procedimiento para la determinación de la humedad de la semilla. ....	16
3.2. Determinación de Imbibición bajo diferentes condiciones. ....	17
3.3. Análisis de la absorción de agua en la cubierta y en el endospermo. .	21

3.4. Ensayo de germinación.....	22
3.5. Análisis estadístico .....	24
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>24</b>
4.1. Establecimiento del procedimiento para la determinación de la humedad de la semilla. ....	24
4.2. Determinación de Imbibición bajo diferentes condiciones. ....	25
4.3. Análisis de la absorción de agua en la cubierta y en el endospermo. .	33
4.4. Ensayo de germinación de semillas enteras y de endospermos. ....	35
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>37</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>38</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Espinas de la alcaparra.....	2
Figura 1.2 Flor y botones florales de la alcaparra.....	3
Figura 1.3 Fruto de la alcaparra.....	4
Figura 1.4 Semilla de alcaparra.....	4
Figura 1.5 Uso de la alcaparra en la gastronomía.....	7
Figura 3.1 a) Vista en planta de la parcela, b) Planta de alcaparra.....	15
Figura 3.2 Semillas de alcaparra troceadas.....	16
Figura 3.3 Estufa para desecar.....	17
Figura 3.4: Cámara de germinación.....	18
Figura 3.5 Balanza analítica.....	19
Figura 3.6 Recipientes para colocar las semillas.....	19
Figura 3.7 Vista del ensayo en laboratorio y cámara de germinación.....	20
Figura 3.8 Estufa con las semillas en los recipientes adecuados.....	20
Figura 3.9 Semillas separadas la cubierta del endospermo.....	21
Figura 3.10 Escala de colores del tetrazolio a) Tejidos sanos, b) Tejidos débiles y viables, c) Tejidos teñidos débiles, no viables, d) Tejidos no teñidos, muertos.....	24
Figura 4.1 Representación gráfica de la evolución de la absorción de agua de semilla entera y troceada.....	25
Figura 4.2 a Representación gráfica de la influencia del tipo de agua y la altura de la columna de agua a temperatura de laboratorio, en la humedad de la semilla.....	26
Figura 4.2 b Representación gráfica de la influencia del tipo de agua y la altura de la columna de agua a temperatura de cámara de germinación, en la humedad de la semilla.....	27
Figura 4.3 a Representación gráfica de la influencia del tipo de agua y la altura de la columna de agua a temperatura de laboratorio, en la imbibición de la semilla.....	29
Figura 4.3 b Representación gráfica de la influencia del tipo de agua y la altura de la columna de agua a temperatura de cámara de germinación, en la imbibición de la semilla.....	29
Figura 4.4 Representación gráfica de la evolución de la absorción de colorante por el hilo de la semilla.....	32

Figura 4.5 Descripción gráfica de la diferencia de humedad de las semillas enteras y sus partes.....	34
Figura 4.6 Endospermo necrosado.....	35
Figura 4.7 Resultados de test de viabilidad (Tetrazolium).....	36



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1: Principales aprovechamientos de la Alcaparra.....	7
Tabla 3.1: Diseño experimental para determinar la imbibición.....	18
Tabla 4.1: Influencia de la semilla previo a la desecación. ....	25
Tabla 4.2: Resultados estadísticos de las diferentes condiciones a las que se sometieron las semillas para determinar la humedad.....	28
Tabla 4.3: Resultados estadísticos de las diferentes condiciones a las que se sometieron las semillas para determinar la imbibición.....	30
Tabla 4.4: Resultados estadísticos de absorción de agua de semillas enteras y sus partes.....	34

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Origen y Generalidades

La alcaparra, tapenera o alcaparro (*Capparis spinosa* L.), es una planta rastrera, leñosa y caducifolia, originaria de Asia, que está presente a lo largo de toda la costa del mediterráneo. Es una especie colonizadora, al ser capaz de desarrollarse en lugares donde incluso casi no existe suelo, como entre las piedras. (Melgarejo, 2000).

La palabra *Capparis* proviene de Kápparis, nombre griego de esta planta derivado del árabe Kabar. El término *spinosa* es por las espinas que presenta en la base del peciolo de las hojas (Luna y Pérez, 1985).

Este género se debe a Joseph Pitton de Tournefort (1656-1708), aunque actualmente y por motivos legales se le atribuye a Linneo (López, 2001).

## 1.2. Clasificación Taxonómica

Según el sistema de clasificación APG III la alcaparra está clasificada de la siguiente manera:

<b>Clado:</b>	Angiospermae
<b>Clado:</b>	Eudicotiledoneae
<b>Clado:</b>	Gunneridae
<b>Clado:</b>	Rosidae
<b>Clado:</b>	Malvidae
<b>Orden:</b>	Brassicales
<b>Familia:</b>	Capparaceae
<b>Género:</b>	Capparis
<b>Especie:</b>	<i>spinosa</i>

## 1.3. Descripción Botánica

Es un arbusto perenne de hoja caduca, que se desarrolla muy bien en seco (Luna y Pérez, 1985). Su madera se renueva cada año, a partir de las yemas que se encuentran en la corona de la planta y desde las yemas de las bases de las ramas que fueron podadas en invierno (Melgarejo, 2000).

### 1.3.1. Tallo y ramas

Al ser una planta cuyas ramas se renuevan constantemente, no existe un verdadero tronco; las ramas pueden llegar a medir más de

3 m de largo, de forma rastrera y tienen diferentes ramificaciones, dependiendo de la variedad, algunas de ellas generan ramas erectas al principio de su desarrollo vegetativo y mientras que al aumentar su longitud tiende a caer al suelo, con lo que es muy eficaz para reducir la evaporación del agua y erosión del suelo (Melgarejo, 2000).

### 1.3.2. Raíz

Como en estado natural procede de semilla, su raíz es pivotante. Cuando la planta está cultivada y tiene un riego constante su raíz no se desarrolla por completo (Melgarejo, 2000). La raíz es medianamente ramificada, gruesa, fuerte y muy profunda, que se han encontrado plantas con raíces hasta de 10 m de largo. La separación entre el tallo y la raíz forma un muñón que puede llegar a medir entre 20 y 25 centímetros de ancho en algunas plantas (Luna y Pérez, 1985).

### 1.3.3. Hojas

Las hojas son gruesas, de color verde y de una consistencia crasa, tienen una forma más o menos oval, presentan filotaxia helicoidal y enteras, poseen un peciolo corto, en cuya base nacen apéndices transformados en espinas más o menos curvadas y con una consistencia leñosa. (Luna y Pérez, 1985). La longitud del peciolo suele ser inferior a un centímetro de longitud, junto al que se forman dos espinas (Figura 1.1). Posee nervadura central y varios nervios secundarios, que nacen en el principal y terminan en el borde del limbo. Las hojas suelen medir 3-5 centímetros de longitud y de 2-3 centímetros de ancho, teniendo una mayor superficie del limbo en plantas cultivadas que en las silvestres o en las de secano en el sureste de España Algunas pueden ser mucronadas.



*Figura 1.1 Espinas de la alcaparra*

### 1.3.4. Flores

Las flores son bastante grandes y muy atractivas, miden alrededor de 6 cm de diámetro, son hermafroditas, zigomorfas, tetrámeras y solitarias. El ovario está sostenido por el ginóforo, una prolongación del eje floral o pedúnculo de consistencia robusta, tan largo como los estambres que apenas se alarga con la presencia del fruto, pero a menudo se vuelven más gruesos. El cáliz está formado de 4 sépalos de color violáceo o verdoso, 4 pétalos de color blanco ligeramente rosado y numerosos estambres largos filamentosos y con un color violáceo (Figura 1.2). Tienen 2 tecas en cada antera y en cada una de estas tecas dos sacos polínicos, los que, tienen dehiscencia longitudinal (Inocencio *et al.*, 2002). La alcaparra es una planta noctiflora, que florece durante aproximadamente 16 h al día, concretamente desde las 18:00 hasta las 10:00 de la mañana siguiente (Juan, 2017).



*Figura 1.2 Flor y botones florales de la alcaparra*

### 1.3.5. Fruto

El fruto es una baya con un pedúnculo largo de 3 a 5 cm de longitud, es coriáceo en su exterior y carnoso en el interior. Tiene una forma ova en la inserción y un poco más ancho en la parte apical, mide de dos a cuatro centímetros de longitud, dependiendo de la variedad y el lugar de origen. Es de color verde en edades tempranas y en su madurez toma un color algo rojizo dependiendo del material vegetal; en este estado, en la mayoría de los casos el fruto se abre, dejando a la vista las semillas que poseen dentro (Figura 1.3), que quedan a disposición de hormigas o de ciertos fenómenos naturales para ser diseminadas naturalmente (Luna y Pérez, 1985).



*Figura 1.3 Fruto de la alcaparra*

### **1.3.6. Semillas**

Las semillas son reniformes, de dos a tres milímetros en su tamaño final y cuando llega al final de su desarrollo toma un color marrón oscuro (Luna y Pérez, 1985) (Figura 1.4). Las semillas se van endureciendo mientras avanza su desarrollo del fruto, no contienen alburmen ni látex (Melgarejo, 2000).



*Figura 1.4 Semilla de alcaparra*

## **1.4. Requerimientos Climáticos**

La alcaparra es una especie que tolera sequías, que no tiene una especial preferencia en cuanto a suelos, se adapta fácilmente a los

suelos calizos. Es sensible a las heladas y a la humedad en exceso (Maroto, 2002).

Se puede desarrollar hasta unos 900 a 1000 m sobre el nivel del mar (López, 2001).

#### **1.4.1. Exigencias Térmicas**

Es una planta termófila, necesitando una gran cantidad de calor para tener un desarrollo y producción óptima. Tiene un buen crecimiento en climas templados y suaves como los que existen en la costa del mediterráneo, aunque necesita altas temperaturas durante su periodo vegetativo para obtener buenos rendimientos.

Durante sus diferentes etapas de desarrollo a lo largo del año precisa:

- Temperaturas moderadas durante la germinación.
- Durante el verano son necesarias altas temperaturas para alcanzar el mejor desarrollo y producción, siempre que tenga agua disponible.
- Temperaturas suaves durante la temporada invernal, ya que las bajas temperaturas, por debajo de 0°C pueden provocar heladas en la cepa. En lugares donde se registran bajas temperaturas es conveniente cubrir la cepa después de la poda con unos 10 cm de tierra para protegerlas de las heladas (Melgarejo, 2000).

#### **1.4.2. Exigencias en humedad y luminosidad**

La baja humedad relativa del ambiente durante el verano favorece a la producción, mientras que el exceso de humedad sobre el tronco en plantas jóvenes puede provocar la muerte por infecciones fúngicas. Por esta razón al instalar el sistema de riego localizado, se debe evitar que el emisor esté junto al tronco y que se encharque a su alrededor.

En cuanto a la luminosidad en las zonas de cultivo, se puede decir que se obtienen mejores rendimientos en zonas donde el verano es caluroso, con alta luminosidad y largos días (Melgarejo, 2000).

### **1.5. Plagas y Enfermedades**

#### **1.5.1. Plagas**

Las plantas de alcaparra son atacadas por algunas plagas, que en sus primeras fases son leves, pero que en otras plantaciones son potencialmente graves. Las plagas más comunes que afectan a la

alcaparra son las siguientes: Orugas de la col: *Pieris brassicae* L. y *Pieris rapae* L., minador de botones florales: *Capparinia savastanoi* y Chinche verde o pudenta, *Nezara viridula* L. (García Marí, 2002).

Las larvas de las orugas de la col proceden de grandes puestas que, en sus primeras fases, generalmente viven en grupos y se alimentan del limbo de las hojas en cantidades pequeñas al principio de su desarrollo. Cuando ya llegan a desarrollarse por completo, el daño que causan al alimentarse es mucho mayor, llegando a comerse casi toda la hoja, a excepción de los nervios más gruesos. Al tener estas un comportamiento gregario, los daños suelen ser de forma localizada, por lo que podemos encontrar plantas completamente afectadas y que las plantas cercanas no presenten ninguna afectación (García Marí, 2002).

*Nezara viridula* L., chinche verde o pudenta es un himenóptero de la familia *Pentatomidae*. Es polífago, en su estado adulto inverna, por esa razón lo puede hacer en muchas especies de cultivos e incluso en vegetación espontánea. Las picaduras de estos himenópteros producen una desecación en las plántulas y en ciertos frutos detiene su crecimiento en la zona de la picadura, lo que provoca manchado y deformaciones (García Marí, 2002).

### **1.5.2. Enfermedades**

Las enfermedades tienen un efecto muy grave, sobre todo cuando aún está en el vivero, la afectación por hongos de los géneros *Pythium*, *Verticillium*, *Fusarium*, etc., atacan al cuello de la planta, lo cual a temprana edad provoca la muerte rápidamente.

En algunas plantaciones se ha observado que algunas plantas aisladas, con buen desarrollo vegetativo, se empiezan a secar y con un estrangulamiento en la zona radical que puede llegar a matar a la planta. Esto se puede corregir podando adecuadamente las raíces e impregnando de un producto a base de cobre la zona afectada de la raíz.

Cuando la planta de alcaparra llega a su edad de madurez también puede ser atacada por enfermedades criptogámicas que, en general, no es un problema mayor (Luna y Pérez, 1985).

## 1.6. Aprovechamiento

Según Luna y Pérez (1985) los principales aprovechamientos de la alcaparra se presentan en la tabla 1.1.

*Tabla 1.1 Principales aprovechamientos de la alcaparra*

<b>ALCAPARRA</b>	BOTONES FLORALES (Alcaparras o Tápenas)	ENCURTIDOS EN SALUERA O VINAGRE
	BROTOS Y HOJAS TIERNAS (Tallos)	
	FRUTOS (Caparrones o alcaparrones)	
	MADURACION (semillas)	VIVERO

Otros autores le atribuyen más aprovechamientos, como el uso de las semillas para la alimentación al tener una alta proporción de ácidos grasos insaturados y ser ricas en proteínas, lípidos y fibra (Akgül y Özcan, 1999; Yuldasheva et al., 2008).

### 1.6.1. Gastronomía

La parte de la planta más consumida son los botones florales, que también se los conoce como alcaparras o tápenas, comercializadas en encurtidos. Estos tienen un sabor fuerte por lo que lo usan como condimento para ensaladas, realizar salsas, colocarlos sobre las pizzas (Figura 1.5), también con carnes de pollo, cordero y cerdos (Sozzi y Vicente, 2006).



*Figura 1.5 Uso de la alcaparra en la gastronomía (Herráez, 2014)*



También se consumen sus frutos en encurtidos, sirviéndolos como aperitivos. Los frutos son conocidos y comercializados con el nombre de alcaparrones o caparrones y se recolectan antes de su maduración. Otra de las partes que se consumen, en menor cantidad, son los brotes y hojas tiernas como aperitivos o en ensaladas, sobre todo en la zona de Murcia (Fernández, 2016).

### 1.6.2. Farmacología

Se han utilizado diferentes partes de la planta de alcaparra como remedios naturales para diferentes enfermedades como la raíz y la corteza del tallo que favorecen la diuresis (Torres y Herráiz, 2009).

Fernández (2016), hace un breve análisis de diferentes estudios del uso farmacológico de la alcaparra en el que expresa que actualmente se han realizado muchos estudios en cuanto a la composición y las propiedades de las diferentes partes de la planta. Como el de Sze-Kwan y Tzi-Bun (2009) que le atribuyen propiedades antimicóticas, Otros estudios atribuyen compuestos bioactivos de alto interés nutracéutico como son: los glucosinolatos, flavonoides y alcaloides (Fu *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2010; Argentieri *et al.*, 2012; Khatib *et al.*, 2016). También se ha determinado que algunos de sus compuestos pueden ser usados como antihiperoglucémicos (Eddouks *et al.*, 2004), antioxidantes, antiescleróticos, antihepatotoxicos, antiulcerosos y antibacterianos (Rajesh *et al.*, 2009) antivirales, antitumorales (Tlili *et al.*, 2011) y antiinflamatorios (Zhou *et al.*, 2010).

### 1.7. Importancia Económica

Algunas partes de la planta también se pueden usar como cosméticos (Dursun y Dursun, 2005). Las alcaparras que son descartadas para usos gastronómicos por su forma o tamaño, pueden ser aprovechables en la cosmética, elaboración de productos nutracéuticos o en productos farmacéuticos. Domínguez (2013), expresa que la alcaparra se cultiva con propósitos diversos en el mundo desde hace muchos años atrás (Rodrigo *et al.*, 1992; Matthäus y Özcan, 2002; Pascual *et al.*, 2009). Como ya se ha mencionado antes las partes de las plantas que son para consumo humano, también en varios artículos estudian la composición de los botones florales de las distintas especies de alcaparras (Özcan y Akgül, 1998; Matthäus y Özcan, 2002)

El principal productor y exportador de alcaparra en el mundo es Marruecos, con una producción cercana a  $47 \times 10^6$  Kg/año. Como

segundo productor está Turquía, que en los últimos años ha incrementado sus exportaciones acercándose a los valores anuales de Marruecos. Otro exportador, aunque con menor importancia es Siria (MAGRAMA, 2016).

Como importadores, los principales países son Italia, que importa  $4 \times 10^6$  kg/año; España, que importa anualmente entre  $0.3$  y  $0.4 \times 10^6$  kg/año y E.E.U.U., con  $2 \times 10^6$  kg/año (MAGRAMA, 2016).

Por otro lado, según Navarro (2016), en España en 1986 el cultivo de alcaparra tenía una representación económica local en el litoral mediterráneo, pero a partir de los años 90 desapareció de la economía local por varias razones:

- Duras condiciones laborales del cultivo, debido a que la recolección se la hacía en la época más caliente (verano) y era una tarea difícil debido a las características de las plantas al ser rastreras y en algunas variedades la presencia de estipulas lignificadas.
- Era imposible competir con los precios del mercado marroquí, sobre todo por el costo de la mano de obra.
- Por la aparición de otros cultivos más rentables.
- Por el desarrollo de otros sectores económicos más potentes.

Tomando como referencia los datos del MAGRAMA (2016), el área destinada a la plantación de este cultivo descendió un 88,8% entre 1999 y 2009, pasando de una superficie cultivada de 4.487 ha a solo 501 ha. Con lo que, la producción se redujo en un 92% durante ese periodo, bajando de  $765 \times 10^3$  kg a  $61 \times 10^3$  kg. En cuanto a su valor en el mercado, se redujo un 91,9%, es decir de  $1,53 \times 10^6$  € a tan solo 123.000 € en 2009. En España existen dos zonas altamente especializadas, aunque no importantes por la producción total, pero sí por la elevada calidad de su producción, Llubí y Campos en Mallorca y Ballobar en Huesca.

## **1.8. Propagación**

La alcaparra presenta una adaptación especial a las condiciones ecológicas del sureste de España. Sin embargo, su propagación se puede realizar de diferentes maneras, dependiendo de las condiciones que se disponga en el lugar donde se vaya a realizar la propagación, estos pueden ser: propagación por semilla (sexual) y propagación vegetativa (asexual) (Melgarejo, 2000).

En los últimos años se ha usado también la micro propagación a partir de diferentes partes del tejido vegetal (Khalaf, 2011).

### **1.8.1. Asexual o propagación vegetativa.**

El método más utilizado para la propagación asexual de la alcaparra es el estaquillado de los tallos, para ello se deben usar tallos con madera dura o semidura. (Pascual *et al.*, 2007). En la alcaparra se ha demostrado que, ya sean estaquillas duras o semiduras, poseen un comportamiento similar y solo es viable con estaquillas tomadas de la parte basal de la rama, si existe una yema activa. (Ibáñez, 2015).

Otro método utilizado en la actualidad es la reproducción *in vitro*, que ha alcanzado una gran importancia para la obtención de material vegetal libre de patógenos en especies propagadas vegetativamente. (Fernández *et al.*, 2008). Este tipo de propagación se realiza en cuatro etapas: Establecimiento del cultivo, desarrollo y multiplicación de vástagos o embriones, enraizamiento y aclimatación de las plántulas. (Hartmann *et al.*, 2011).

### **1.8.2. Sexual o propagación por semilla.**

#### **1.8.2.1. Germinación**

La germinación es un proceso que empieza con la imbibición y termina con la emergencia, es decir, se inicia cuando la semilla absorbe agua y termina cuando el eje embrionario crece y rompe la cubierta (Matilla, 2003).

Según Pascual *et al.* (2009), se pueden apreciar tres fases en la germinación de las semillas de alcaparra:

- Fase de Hidratación. La imbibición se produce por la diferencia de potencial hídrico entre la semilla y el sustrato. Durante esta fase se produce una gran absorción de agua por parte de los distintos tejidos que forman la semilla. Dicho incremento va acompañado de un aumento proporcional en la actividad respiratoria.
- Fase de Germinación. Representa el verdadero proceso de la germinación. En ella se producen las transformaciones

metabólicas necesarias para el correcto desarrollo de la plántula. En esta fase la absorción de agua se reduce considerablemente, llegando incluso a detenerse.

- Fase de Crecimiento. Es la última fase y se asocia con la emergencia de la radícula. Se caracteriza porque la absorción de agua vuelve a aumentar, así como la actividad respiratoria.

También aclaran que la germinación de las semillas es irregular, que puede ser atribuida a la dureza de la cubierta, que puede resultar poco permeable al agua. Para que la germinación se produzca con normalidad, Pascual *et al.* (2007), se deben tener en cuenta estos 3 requisitos:

1. Que la semilla sea viable.
2. Que la semilla no esté latente.
3. Que las condiciones ambientales sean las adecuadas en humedad, oxígeno y temperatura.

### **1.8.2.2. Latencia**

Derek (2013) menciona que la latencia es el fracaso temporal de las semillas para completar la germinación, aunque las condiciones sean las idóneas para que se dé este proceso. La latencia es un bloqueo específico de la germinación y no una disminución de las funciones vitales de la semilla. La semilla al estar en latencia o dormición puede realizar ciertas funciones como la respiración, síntesis de nucleótidos y proteínas, regeneración de membranas, entre otras funciones, en rangos menores a los necesarios para la germinación.

Pueden definir dos tipos de latencias (Pascual *et al.* 2007):

- La latencia primaria es una condición común en algunas semillas cuando se separan de la planta madre; previene de la germinación inmediata y controla el cuándo, dónde y en qué condiciones germinará la semilla. La latencia primaria puede ser exógena, provocada por factores exteriores al embrión; puede ser física (impermeabilidad al agua y gases, resistencia física de las cubiertas) o química, por la presencia de inhibidores de la germinación en la cubierta. También puede ser

endógena, condicionada por factores del propio embrión, por inmadurez morfológica o inhibición fisiológica.

- La latencia secundaria es un mecanismo que se induce bajo condiciones ambientales desfavorables y pospone la germinación. Puede ocurrir después de romperse la latencia primaria y prolongar la latencia.

En el caso de la semilla de la alcaparra, la latencia aparentemente está provocada de manera exógena (dureza de las cubiertas) y de manera endógena (inhibición fisiológica).

Los factores que producen una inhibición fisiológica podrían encontrarse en los cotiledones y/o en el eje embrionario, y el ácido abscísico que se encuentra en estos lugares, podría ser el responsable de la inhibición de la germinación (Taiz y Zeiger, 2010).

### **1.8.2.3. Tratamiento para superar la latencia**

Existen varios tratamientos que ayudan a superar la latencia primaria y/o secundaria y así favorecer la germinación.

La escarificación es cualquier proceso de rayar, romper, ablandar o alterar mecánicamente las cubiertas de las semillas para hacerlas permeables a los gases y al agua, y se diferencian cinco tipos: mecánica, térmica, química, física y enzimática (Hartmann et al., 2011). Otros tratamientos utilizados son la lixiviación, con el propósito de eliminar los inhibidores, el remojo con el fin de reblandecer la cubierta, la alternancia diurna de la temperatura y la exposición a la luz ya que en muchas semillas mejora la germinación (Pascual et al., 2007).

La estratificación es un tratamiento en el cual, las semillas embebidas de agua son sometidas a diferentes temperaturas durante cierto tiempo para que se realice la postmaduración del embrión. En la estratificación refrigerada, las semillas húmedas se colocan en sustrato húmedo a una temperatura de 0 a 10°C, durante un periodo variable según la especie entre 1 y 4 meses; el objetivo es superar la latencia por inhibición fisiológica. En la estratificación cálida, en lugar de someter las semillas a bajas temperaturas, se someten a temperaturas cálidas; el objetivo puede ser doble, que se produzca la maduración de los embriones

con inmadurez morfológica y que se reblandezcan las cubiertas debido a la actividad de los microorganismos (Pascual et al., 2007).

De forma conjunta a estos tratamientos se pueden usar hormonas de forma exógena y otros estimulantes químicos que faciliten la germinación aplicándolos al sustrato o colocando en remojo las semillas. Unos ejemplos de estas son las giberelinas, que ayudan a superar el letargo fisiológico, las citoquininas, el etileno o compuestos nitrogenados estimulan la germinación (Hartmann et al., 2011). La germinación de las semillas puede requerir giberelinas en alguna etapa; como la activación del crecimiento vegetativo del embrión, el debilitamiento de la capa de endospermo micropilar o la movilización de las reservas almacenadas, por este motivo se realiza la adición exógena de giberelinas (Taiz, 2010).

## **1.9. Antecedentes**

El equipo de investigación en el que se engloba el presente Trabajo de Fin de Máster estudia desde hace algunos años la mejora de la propagación de la alcaparra, tanto vegetativa como por semilla. Ya que ambas presentan dificultades, reconocidas también por viveristas y distribuidores de semillas.

Aspectos estudiados por el equipo de investigación son la influencia del tamaño, del peso unitario, de la posición del fruto y de su estado de maduración en el porcentaje de germinación (Pascual et al., 2003). En otros estudios se intentó romper la dureza de la cubierta de las semillas mediante escarificaciones físicas, químicas y mecánicas e inhibir la latencia fisiológica con la aplicación de ácido giberélico (Pascual et al., 2004). Posteriormente se estudiaron los efectos del envejecimiento acelerado en las semillas (Pascual-Seva et al., 2009) y más recientemente las escarificaciones con rayo láser (Domínguez, 2013) y enzimática (Mantilla, 2015).

Ante los previos estudios realizados, algunos de los aspectos que menos información se encuentra, es el de la influencia de cubierta dura frente a la imbibición. Según referencias bibliográficas (Hartmann et al., 2014; Pascual et al., 2007) se trata de una semilla con una cubierta dura, que impide o al menos dificulta la imbibición, que a su vez podría dificultar la germinación. Por eso en el presente trabajo se estudia el proceso de absorción de agua.

## 2. OBJETIVOS

El objetivo general de este Trabajo Final de Máster (TFM) es estudiar la posible existencia de la impermeabilidad de las cubiertas de las semillas de *Capparis spinosa* L., determinando si las semillas son capaces de embeber agua.

Los objetivos específicos son:

- Profundizar en el conocimiento de los procesos de absorción de agua en la semilla.
- Comparar el ritmo de imbibición de semillas de alcaparra bajo diferentes condiciones.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Para conseguir estos objetivos que se han mencionado anteriormente, se han planteado los siguientes experimentos:

- Establecimiento del procedimiento para la determinación de la humedad de la semilla.
- Determinación de Imbibición bajo diferentes condiciones.
- Análisis de la absorción de agua en la cubierta y en el endospermo.

Además, se ha realizado un ensayo para analizar la germinación de las semillas con y sin cubierta.

Los ensayos se realizaron en los laboratorios de Fitotecnia General del Departamento de Producción Vegetal de la Universitat Politècnica de València, situados en la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural.

Las semillas utilizadas en los ensayos se obtuvieron de frutos producidos por las plantas de alcaparra (Figura 3.1.b) en una parcela situada junto al Campus de Vera, en el término municipal de València, polígono 27, parcela 214 (Figura 3.1.a). La recolección se realizó durante la cuarta semana de septiembre de 2014. Tras la cosecha se extrajeron las semillas de los frutos, se eliminaron los restos de pulpa y se limpiaron minuciosamente. Por decantación se eliminaron las semillas inmaduras, ya que estas flotan y se pueden separar con facilidad. Para evitar problemas fúngicos, se desinfectaron las semillas sumergiéndolas en una solución de hipoclorito sódico al 25% durante 2 minutos y después se lavaron con agua destilada. Por último, se dejaron secar sobre papel de filtro en un lugar protegido y a temperatura ambiente, antes de ser almacenadas en recipientes herméticos.



Figura 3.1 a) Vista en planta de la parcela, b) Planta de alcaparra

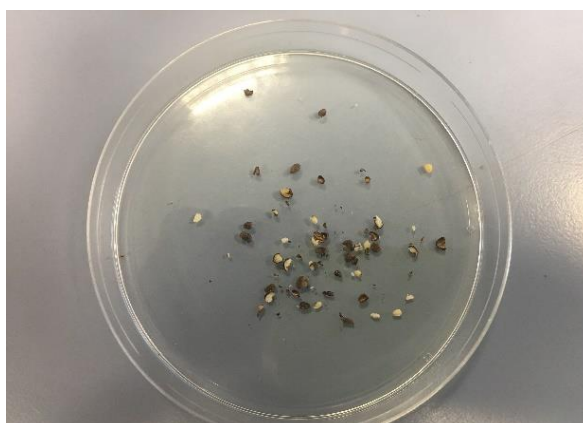


### 3.1. Establecimiento del procedimiento para la determinación de la humedad de la semilla.

Las normas ISTA (ISTA, 2007) establecen que, para la determinación de la humedad de las semillas de diversas especies con cubierta dura, éstas deben ser troceadas antes de proceder a su desecación, no indicándose nada al respecto en el caso de la alcaparra. Con la finalidad de conocer si el troceado de las semillas influye, o no, en el valor obtenido de la humedad de las semillas, se planteó el presente experimento.

Para este experimento se utilizaron un total de 320 semillas de alcaparra (160 enteras y 160 para trocear), determinando la humedad de 80 semillas al día (40 enteras y 40 troceadas), con 4 repeticiones de 10 semillas. Las semillas se mantuvieron en periodos de 0, 1, 4 y 8 días sumergidas en agua destilada. Transcurrido este tiempo, se eliminó el agua superficial de las semillas, con ayuda de papel secante de laboratorio. A continuación, las semillas fueron pesadas con balanza analítica de laboratorio con una resolución de 0,1 mg de la marca Sartorius, modelo B 120 S y separadas en dos lotes (partidas en 4 trozos, y enteras).

Para el troceado de las semillas, cada semilla se cortó en 4 partes, con la ayuda de un bisturí y una pinza metaliza. Tras el troceado las semillas fueron colocadas en una placa de Petri (Figura 3.2).



*Figura 3.2 Semillas de alcaparra troceadas.*

Luego, se pesaron de nuevo las semillas, tanto enteras como troceadas, y se colocaron en recipientes resistentes al calor y membretado.

Seguido a esto, una vez hechos los procesos anteriores a las 4 repeticiones se las colocó en una estufa *MEMMERT OVEN UF260* hasta peso constante (103°C durante 24 horas; ISTA, 2007) (Figura 3.3).



Figura 3.3 Estufa para desecar

Tras el secado se volvieron a pesar por separado cada una de las repeticiones (enteras y troceadas).

Los resultados se presentan en términos de humedad, expresada como contenido de agua de la semilla (%; ISTA, 2007).

$$\text{Humedad (\%)} = \left( \frac{\text{Peso fresco} - \text{Peso seco}}{\text{Peso Fresco}} \right) \times 100$$

### 3.2. Determinación de Imbibición bajo diferentes condiciones.

Según el diccionario de la lengua española (RAE, 2017) imbibición es la acción y el efecto de embeber, este diccionario menciona también que, desde el punto de vista de un sólido, embeber es absorber un líquido. Cuando se refiere a las semillas, se denomina imbibición la absorción inicial de agua por parte de la semilla seca a partir del medio circundante (Bewley y Bradford, 2006).

En este ensayo se utilizaron 480 semillas de *Capparis spinosa* L., sumergidas en dos tipos de agua (corriente y destilada), a dos temperaturas [ambiente de laboratorio y de cámara de germinación (Figura 3.4), 30°C durante el día y 20°C durante la noche] y 3 alturas de columna de agua [en placa Petri con papel de filtro húmedo (método de germinación *Between*

*Paper -BP-; ISTA, 2007), con una columna de agua de 1 cm de altura y una columna de agua de 10 cm de altura], con 4 repeticiones de 10 semillas cada una.*



*Figura 3.4: Cámara de germinación*

Las distintas combinaciones de tratamientos se muestran en la tabla 3.1:

*Tabla 3.1: Diseño experimental para determinar la imbibición*

<b>Temperatura de Laboratorio</b>				<b>Temperatura de Cámara</b>			
AG.10.1	AG.10.2	AG.10.3	AG.10.4	AG.10.1	AG.10.2	AG.10.3	AG.10.4
AG.1.1	AG.1.2	AG.1.3	AG.1.4	AG.1.1	AG.1.2	AG.1.3	AG.1.4
AG.P.1	AG.P.2	AG.P.3	AG.P.4	AG.P.1	AG.P.2	AG.P.3	AG.P.4
AD.10.1	AD.10.2	AD.10.3	AD.10.4	AD.10.1	AD.10.2	AD.10.3	AD.10.4
AD.1.1	AD.1.2	AD.1.3	AD.1.4	AD.1.1	AD.1.2	AD.1.3	AD.1.4
AD.P.1	AD.P.2	AD.P.3	AD.P.4	AD.P.1	AD.P.2	AD.P.3	AD.P.4

AG = Agua Corriente, AD = Agua destilada, 10 = columna de agua de 100 mm, 1 = columna de agua de 10 mm y P = Placa Petri.

Para determinar la capacidad de imbibición de agua por parte de la semilla se siguieron los siguientes pasos:

Se pesó cada repetición (grupos de 10 semillas secas), usando una balanza analítica de laboratorio indicada anteriormente. (Figura 3.5)



*Figura 3.5 Balanza analítica*

Cada una de las repeticiones fueron colocadas en los recipientes adecuados con las columnas de agua correspondientes (Figura 3.6)



*Figura 3.6 Recipientes para colocar las semillas*

Seguidamente los recipientes con las semillas fueron colocados en los lugares correspondientes (laboratorio y cámara de germinación). (Figuras 3.7).



*Figura 3.7 Vista del ensayo en laboratorio y cámara de germinación.*

Tras cada día de remojo, las 10 semillas de cada recipiente fueron secadas superficialmente con papel secante de laboratorio y pesadas en la balanza antes mencionada.

Una vez transcurridos los 8 días y después de haber pesado por última vez las semillas, se colocaron todas las repeticiones (grupos de 10 semillas) en recipientes resistentes al calor y membretados con la nomenclatura correspondiente, desecándose en estufa como se ha observado en el apartado anterior (Figura 3.8).



*Figura 3.8 Estufa con las semillas en los recipientes adecuados*

Los resultados se presentan en términos de humedad y de imbibición, expresada esta última, como incremento de peso fresco (%) en cada período (i) respecto al peso inicial de la semilla (Orozco-Segovia, 2017).

$$\text{Imbibición}(\%) = \left( \frac{\text{Peso fresco}_i - \text{Peso fresco}_{\text{inicial}}}{\text{Peso fresco}_{\text{inicial}}} \right) \times 100$$

Puesto que el agua no tiene color, el proceso de imbibición no se puede determinar visualmente, por lo que paralelamente a este experimento se colocaron a remojo 140 semillas en vasos de precipitados con el colorante azul de metileno al 100%; 70 semillas bajo columna de colorante de 20 mm de altura y 70 semillas bajo columna de 100 mm, durante 8 días, de los cuales se hizo la evaluación visual en los días del 1 al 6 y el día 8, de la siguiente manera.

Diariamente, se tomaron 10 semillas de cada recipiente (columna de colorante de 20 mm y 100 mm) con la ayuda de pinzas metálicas, luego fueron colocadas en un recipiente con agua destilada para retirar el exceso

de colorante, inmediatamente después con la ayuda de papel secante de laboratorio se retiró el agua libre y finalmente, con unas pinzas y bisturí, se realizó un corte longitudinal desde la parte opuesta al hilo de la semilla para poder visualizar el avance del frente del colorante.

### **3.3. Análisis de la absorción de agua en la cubierta y en el endospermo.**

Para este ensayo se utilizaron 720 semillas (360 semillas enteras y 360 para separar sus partes) de *Capparis spinosa* L. de las cuales se usaron 80 semillas al día en 8 repeticiones (4 de semillas enteras y 4 de semillas para separar sus partes) de 10 semillas, durante 9 días (contando desde el día 0 al 8). Tras el pesado del día 0, se colocaron en recipientes con agua destilada para ser evaluadas los días del 1 al 8.

Para separar las partes de las semillas se realizaron los siguientes pasos:

Se tomaron una a una las repeticiones y con la ayuda de un bisturí y una pinza metálica, se realizó un corte desde la parte opuesta al hilo de cada una de las semillas, de tal manera que al realizar el corte se podía separar la cubierta, del endospermo, y fueron colocadas por separado en dos placas de Petri cerradas inmediatamente para evitar el intercambio de humedad con el ambiente (Figura 3.9).



*Figura 3.9 Semillas separadas la cubierta del endospermo.*

Una vez separadas dichas partes, cada repetición fue pesada por separado en la balanza analítica de laboratorio antes mencionada.

Tras la pesada de las semillas y sus partes, se colocaron en recipientes resistentes al calor membretados, secándose en la estufa antes mencionada durante 24 horas a 103°C (ISTA, 2007). Este proceso se repitió los 8 días restantes. Tras el secado se determinó el peso seco correspondiente.



### 3.4. Ensayo de germinación

Este ensayo de germinación se realizó en placas de Petri, en una cámara de germinación, Climatronic, con control de fotoperiodo, temperatura y humedad. El fotoperiodo se fijó en 12 horas, aportándose una densidad de flujo de fotones fotosintéticos de  $324 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  desde las 7.00 hasta las 19.00 horas, con tubos fluorescentes de luz blanca y fría, con régimen térmico diurno de  $30^{\circ}\text{C}$  y nocturno de  $20^{\circ}\text{C}$ . La humedad relativa se estableció en 85%. Se utilizó un total de 96 semillas: 48 semillas enteras agrupadas en repeticiones de 6 semillas, de las cuales 4 repeticiones fueron hidratadas con agua destilada y 4 repeticiones con una solución de ácido giberélico ( $\text{AG}_3$ ) a una concentración de  $500 \text{ mg L}^{-1}$ . En las 48 semillas restantes se separó el endospermo de la cubierta, para analizar la germinación de la semilla sin la cubierta, es decir, del embrión rodeado por el endospermo; 4 repeticiones de 6 semillas fueron hidratadas con agua destilada y las otras 4 repeticiones con una solución de  $\text{AG}_3$  a una concentración de 500 ppm.

Para realizar este ensayo se utilizó el método *Between Paper* (BP; ISTA, 2007), consistente en colocar las semillas entre dos papeles de filtro, que deben permanecer en todo momento húmedos, dentro de una placa de Petri, en este caso eran de poliestireno cristal, con 90 mm de diámetro, y el papel de filtro fue esterilizado previamente en autoclave.

Las semillas enteras que no germinaron en el ensayo anterior (de las que se desconocía la posible viabilidad) fueron sometidas al test de viabilidad. Para este test de viabilidad se aplicaron los procedimientos indicados en el Manual de ensayos al tetrazolio del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (Moore, 1985) y el manual publicado por la Asociación Internacional de Ensayo de Semillas (ISTA, 2003). El producto comercial empleado fue tetrazolio (Tetrazolium Red. 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride, de la marca Sigma-Aldrich) diluido al 1%. Se diluyó 1 g del producto comercial en 100 ml de agua destilada.

Para la realización del test se realizó una incisión en la cubierta de la semilla, en la parte opuesta al hilo, con la ayuda de un bisturí para hacer el corte y unas pinzas para sujetar la semilla, de manera que solo afectara a la cubierta para que pudiera penetrar sin problema el tetrazolio. A continuación, se pusieron a remojo en la solución de tetrazolio, en vasos de precipitado de vidrio y se sometieron a una temperatura de  $30^{\circ}\text{C}$  durante 8 días, realizando evaluaciones a los 2, 6 y 8 días.

Según el criterio fijado en el Manual de ensayos al tetrazolio del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (Moore, 1985), existen cuatro categorías de indemnidad del tejido: sano; débil, pero viable; débil, no viable; y muerto. Las características del tejido varían según especie, duración del remojo y temperatura.

-Tejidos sanos (A). Tienden a teñirse gradual y uniformemente desde las superficies externas hacia el interior. Dentro de los tejidos, el color rojo es brillante y lustroso, especialmente si no están excesivamente teñidos. Las superficies cortadas se tiñen más fácilmente que los tejidos con las membranas intactas. Los tejidos internos tienden a ser de color rosado-amarillo o amarillento-blanco, ya que el color no ha tenido tiempo de formarse. Los tejidos sanos y húmedos presentan una elevada turgencia (Figura 3.10a).

-Tejidos débiles y viables (B). Varían en grados de deterioro, desde los casi totalmente sanos hasta los tejidos teñidos débiles y no-viables, o tejidos muertos no-teñidos. La tinción y las características del tejido también varían con la naturaleza y el grado del deterioro. Las superficies de corte de los tejidos teñidos tienden a ser más brillante de lo normal (Figura 3.10b).

-Tejidos teñidos débiles, no viables (C). Incluyen un embrión completo, o pueden estar rodeados de tejidos viables sanos y/o débiles. El color puede ser rojo purpúreo, o grisáceo y puede variar en intensidad desde el rojo oscuro a rojo pálido o rosáceo. Las superficies cortadas en el eje del embrión anteriormente a la tinción pueden aparecer blanquecinas, mientras que los tejidos interiores pueden aparecer de color rojo oscuro (Figura 3.10c).

-Tejidos no teñidos, muertos (D). De manera habitual pueden surgir dudas acerca de si los tejidos no-teñidos son viables o si son tejidos muertos. Las características del tejido proporcionan, generalmente esta respuesta. Los tejidos muertos son flácidos, borrosos o grisáceo-blancos y sin brillo. Los tejidos no-teñidos y viables, suelen ser turgentes, brillantes y rosados o blanco amarillento (Figura 3.10d).



*Figura 3.10 Clave utilizada en el ensayo del tetrazolio a) Tejidos sanos, b) Tejidos débiles y viables, c) Tejidos teñidos débiles, no viables, d) Tejidos no teñidos, muertos (Fernández A. 2016).*



### **3.5. Análisis estadístico**

Los resultados fueron analizados mediante análisis factorial de la varianza, utilizando el programa STATGRAPHICS Centurion XVI (StatPoint Technologies, 2013). Cuando un resultado fue significativo ( $p < 0,05$ ), se realizó la separación de medias mediante el test LSD ( $p < 0,05$ ). En todos los procesos, anteriores a la realización del análisis de la varianza se comprobó que las series de datos siguiesen una distribución normal, y en el caso particular de aquellas en que los datos se presentaban en porcentaje, se transformó mediante la expresión:  $\text{arc sen } \sqrt{x}$ .

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1. Establecimiento del procedimiento para la determinación de la humedad de la semilla.**

En la figura 4.1 se muestra la evolución de la humedad de las semillas de alcaparra a lo largo de 8 días de remojo. Se observa que el día 0, los valores de la humedad son idénticos puesto que las semillas parten de las mismas condiciones, al provenir todas ellas del mismo lote. A lo largo de los periodos analizados se observa un aumento del contenido de agua tanto en las semillas enteras como en las troceadas.

En la tabla 4.1, se observa que los valores de la humedad de las semillas troceadas son menores ( $p \leq 0,01$  a 1 y 8 días de remojo) que los valores de las semillas enteras, probablemente debido a que, en el lapso de tiempo comprendido entre la realización del corte a cada una de las semillas y el pesado de las mismas, su interior quedó expuesto al ambiente y podría haber una pérdida de agua por evaporación, que previamente se había retenido entre la cubierta y el endospermo. Además, al ejercer presión con el bisturí se apreciaba humedad en el mismo y en la superficie donde se manipulaba la semilla, lo que podría justificar el menor valor determinado de la humedad. Dado que este resultado va en sentido opuesto al motivo por el cual las normas ISTA (ISTA, 2007) recomiendan el troceado, y que además podría enmascarar el valor real de la humedad de las semillas, se considera que no es necesario, ni recomendable su troceado, tal como recomendó Navarro (2016).

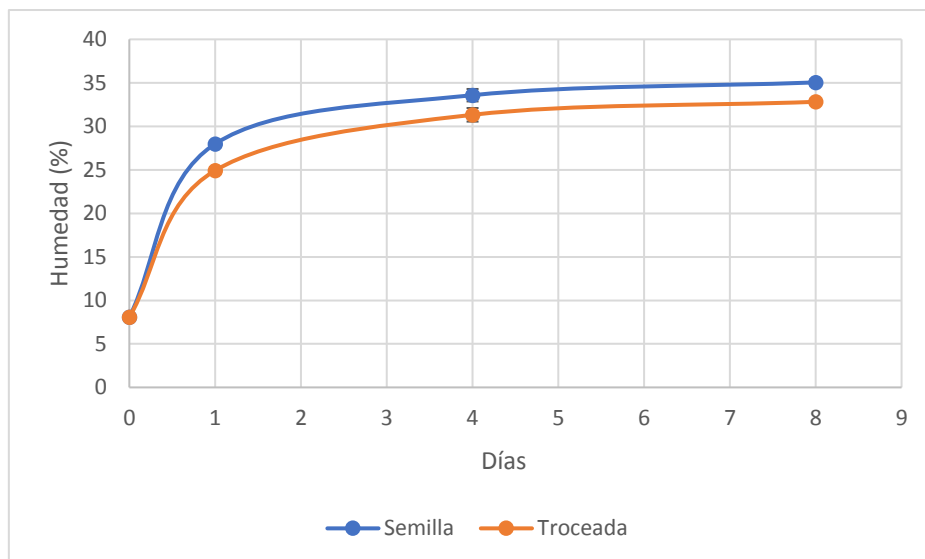


Figura 4.1 Representación gráfica de la evolución de la absorción de agua de semilla entera y troceada.

Tabla 4.1 Influencia del troceado de la semilla previo a la desecación.

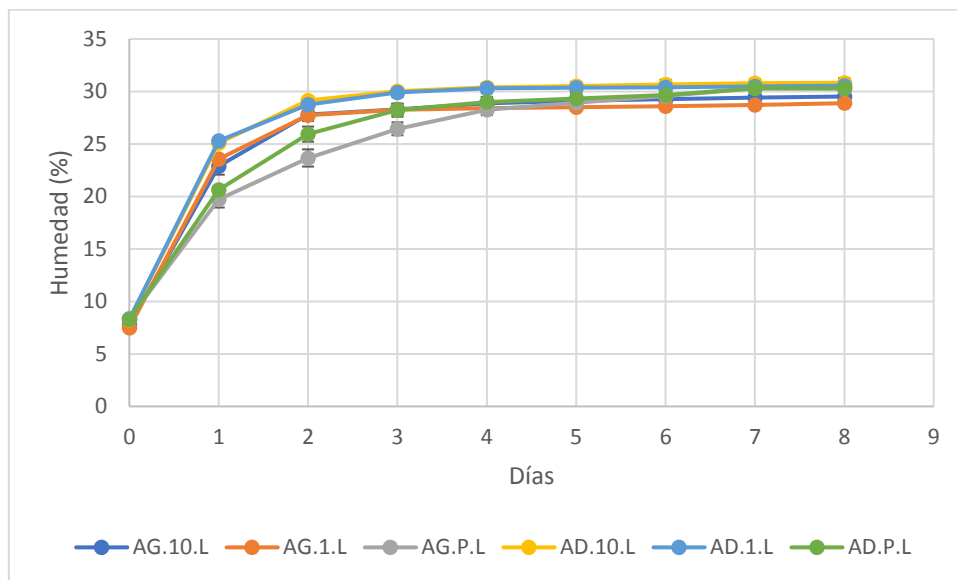
	0 días	1 día	4 días	8 días
<b>Semillas</b>				
Entera	8,05	27,98 a	33,58	35,05 a
Troceada	8,05	24,92 b	31,33	32,82 b
<b>Análisis de la Varianza</b>				
<b>Factores (gl)</b>	<b>Porcentaje de la suma de cuadrados</b>			
Estado semillas (1)	0,00 ns	89,53 **	42,95 ns	76,65 **
Residual (6)	100,00	10,47	57,05	23,35
<b>Desviación estándar</b>	0,597	0,604	1,499	0,710

g.l.: Grados de libertad; D.E.: Desviación estándar; ns: No significativo; \*\*: Significativo al 99%

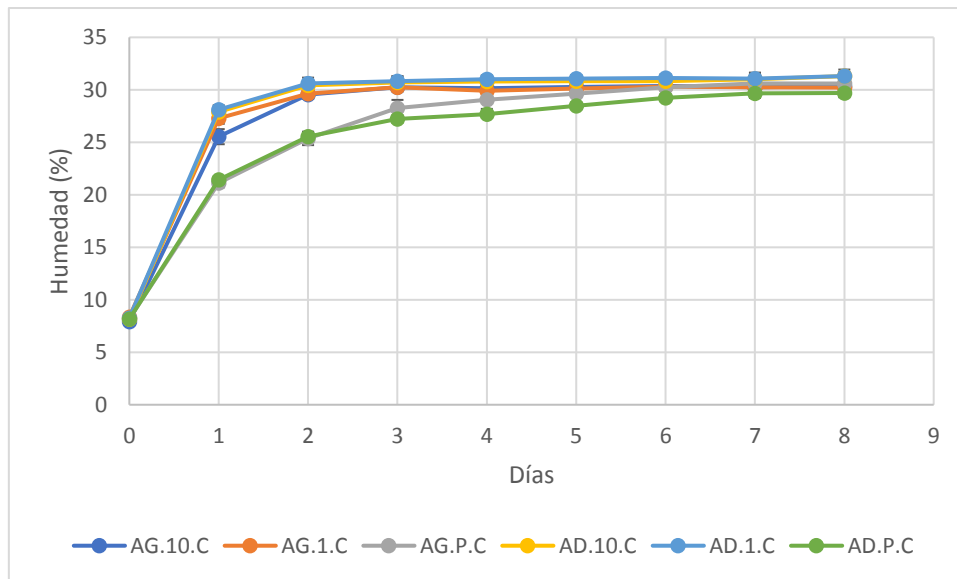
## 4.2. Determinación de Imbibición bajo diferentes condiciones.

En las figuras 4.2 a y b se muestra el aumento de la humedad de las semillas en diferentes condiciones de remojo, a lo largo de diferentes periodos de tiempo. Se puede apreciar que, como en el apartado anterior, la humedad en el día 0 presenta valores homogéneos, y el mayor incremento de humedad se obtuvo durante el primer día de remojo. También se puede observar (Tabla 4.2) que las semillas que estuvieron en placas de Petri (BP), son las que muestran menores niveles de humedad ( $p \leq 0.01$ ) durante los

primeros días del ensayo, sin embargo, a partir del día 3 (en cámara de germinación) o 4 (en laboratorio), las diferencias desaparecieron (figuras 4.2 a y b y tabla 4.2), y los valores de humedad comenzaron a estabilizarse (con valores entre 28% y 30% en todas las condiciones).



*Figura 4.2 a Representación gráfica de la influencia del tipo de agua y la altura de la columna de agua a temperatura de laboratorio, en la humedad de la semilla.*



*Figura 4.2 b Representación gráfica de la influencia del tipo de agua y la altura de la columna de agua a temperatura de cámara de germinación, en la humedad de la semilla.*

En la tabla 4.2 se presenta el análisis de la varianza para los distintos factores estudiados, en ella se aprecia que las condiciones de cámara de germinación influyeron de manera estadísticamente significativa ( $p \leq 0.01$ ) en la humedad de la semilla durante los 6 primeros días del experimento, pero no a partir de ese momento, debido probablemente a que en esos días (7 y 8) las semillas han alcanzado el equilibrio, como se muestra en la figura 4.2 a y b. Se puede observar que el remojo de las semillas en agua destilada condujo a mayores niveles de humedad ( $p \leq 0.01$  y  $p \leq 0.05$ , según el día) durante todo el experimento, lo que probablemente está relacionado con fenómenos osmóticos, debido a la menor presencia de sales en el agua destilada, que hace que la absorción del agua por parte de las semillas sea más fácil. También se muestra que las semillas que estaban sumergidas en columnas de agua de 10 y 100 mm no presentaron una diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre ellas, pero sí ( $p \leq 0.05$ ) con relación a las semillas BP hasta el quinto día. A partir del sexto día estas diferencias desaparecieron ( $p \leq 0.05$ ), coincidiendo con la estabilización de los niveles de humedad como se pueden apreciar en la figura 4.2 a y b. A la vista de estos resultados se podría concluir que, durante el proceso de germinación de las semillas, las condiciones de ensayo (papel de filtro húmedo como sustrato) son adecuadas para alcanzar los máximos niveles de humedad que alcanzan las semillas en remojo, y por lo tanto, no debería ser la causa de los bajos niveles de germinación.

Tabla 4.2 Resultados estadísticos de las diferentes condiciones a las que se sometieron las semillas para determinar la humedad.

	0 días	1 día	2 día	3 días	4 días	5 días	6 días	7 días	8 días
<b>Temperatura (T)</b>									
Cámara	8,18	25,23 a	28,52 a	29,58 a	29,77 a	30,07 a	30,35 a	30,47	30,55
Laboratorio	8,08	22,86 b	27,18 b	28,53 b	29,21 b	29,46 b	29,69 b	30,00	30,06
<b>Agua (A)</b>									
Corriente	8,02	23,35 b	27,29 b	28,62 b	29,11 b	29,43 b	29,72 b	29,92 b	29,98 b
Destilada	8,24	24,74 a	28,41 a	29,49 a	29,86 a	30,10 a	30,32 a	30,55 a	30,64 a
<b>Columna de agua (CA)</b>									
BP	8,26	20,73 b	25,13 b	27,54 b	28,49 b	29,09 b	29,68	30,21	30,22
10 mm	8,11	26,07 a	29,19 a	29,81 a	29,92 a	30,01 a	30,11	30,13	30,20
100 mm	8,02	25,35 a	29,23 a	29,82 a	30,06 a	30,18 a	30,28	30,36	30,50
<b>Análisis de la Varianza</b>									
<b>Factores (g.l.)</b>	<b>% de la suma de cuadrados</b>								
T (1)	1,43 ns	16,33 **	8,38 **	10,53 *	4,53 *	6,56 *	8,46 *	4,22 ns	4,38 ns
A (1)	6,49 ns	5,63 **	5,81 **	7,11 **	7,96 **	7,90 *	6,97 *	7,94 *	8,10 *
CA (2)	5,07 ns	65,10 **	68,60 **	43,72 **	28,51 **	16,10 **	5,06 ns	0,70 ns	1,38 ns
T*A (1)	4,67 ns	0,16 ns	0,84 **	7,10 *	5,56 *	5,44 ns	4,77 ns	3,40 ns	2,09 ns
T*AC (2)	7,29 ns	2,42 *	1,19 ns	1,97 ns	5,07 ns	4,60 ns	3,97 ns	4,83 ns	3,94 ns
A*AC (2)	5,21 ns	1,38 ns	0,04 ns	1,17 *	8,64 *	10,35 *	11,14 *	11,99 ns	11,19 ns
T*A*AC (2)	5,19 ns	0,14 ns	0,92 ns	1,46 ns	1,24 ns	0,46 ns	0,02 ns	0,13 ns	0,26 ns
Residual (36)	64,65	8,84	14,23	26,93	38,49	48,58	59,61	66,77	68,66
<b>D.E.</b>	0,404	1,006	1,010	0,970	0,950	0,959	1,010	1,064	1,117

g.l.: Grados de libertad; D.E.: Desviación estándar; ns: No significativo; \*\*: Significativo al 99%; \*: significativo al 95%

En la figura 4.3 a y b se muestra el ritmo de imbibición de las semillas en las diferentes condiciones de remojo durante diferentes periodos de tiempo. Se puede observar que las semillas que fueron colocadas BP son las que presentan menor porcentaje de imbibición durante los primeros 5 días, sin embargo, al final del ensayo la imbibición fue similar en las diferentes condiciones ensayadas (28% - 31%).

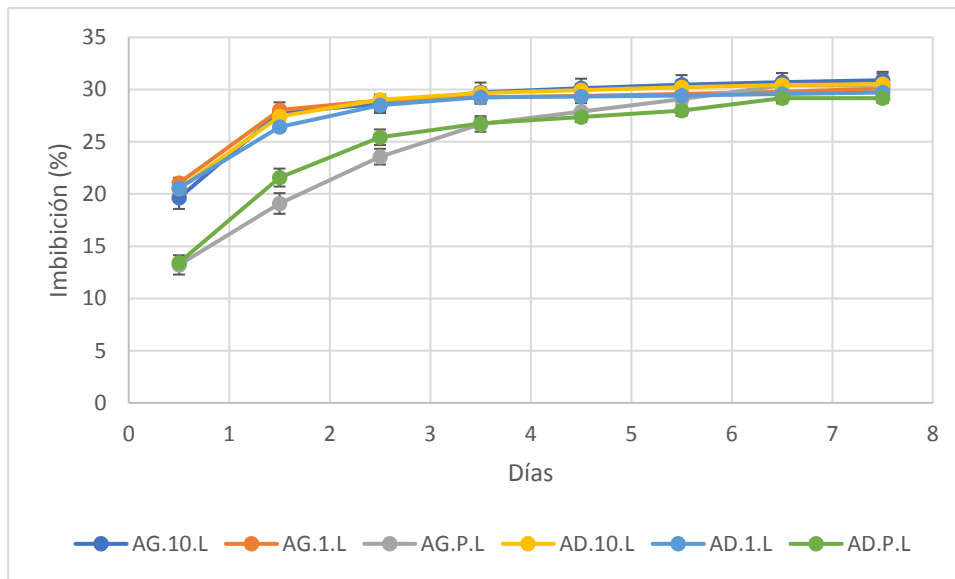


Figura 4.3 a Representación gráfica de la influencia del tipo de agua y la altura de la columna de agua a temperatura de laboratorio, en la imbibición de la semilla.

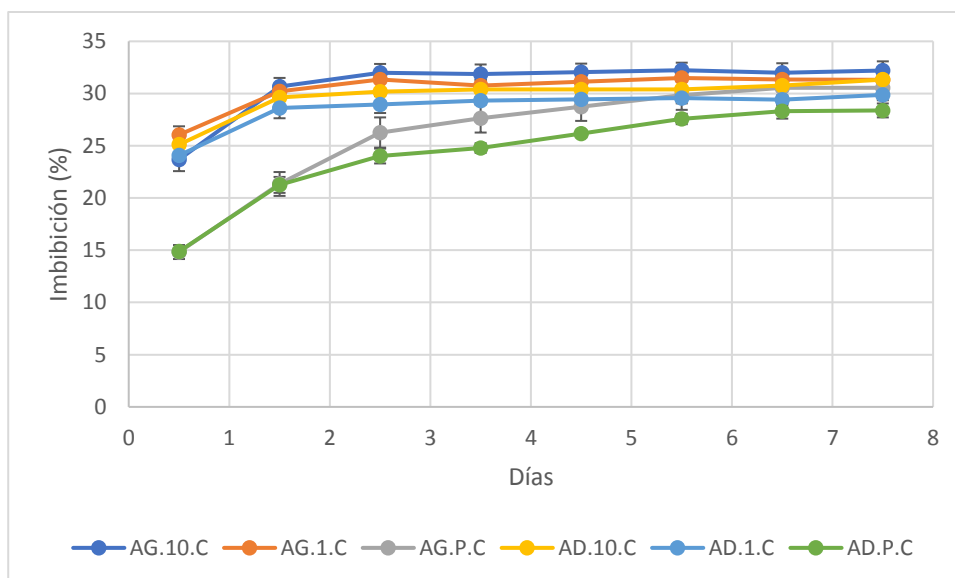


Figura 4.3 b Representación gráfica de la influencia del tipo de agua y la altura de la columna de agua a temperatura de cámara de germinación, en la imbibición de la semilla.

En la tabla 4.3, que presenta el análisis de la varianza de los factores estudiados, se muestra que en los 3 primeros días del ensayo el ritmo de imbibición en las semillas mantenidas a temperatura de cámara de germinación fue mayor ( $p \leq 0.01$ ) que en las semillas que estaban en condiciones de laboratorio, debido al efecto de la mayor temperatura (30°C durante 12 horas) o de la alternancia de temperaturas. A partir del cuarto día,

no hubo diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ). El tipo de agua utilizada solo afectó significativamente ( $p \leq 0.01$  y  $p \leq 0.05$ , dependiendo del día) al ritmo de imbibición en los últimos 5 días del experimento, resultando en mayores valores en el caso del agua corriente. Se puede observar que la diferencia entre el ritmo de imbibición de las semillas sumergidas en columnas de agua de 10 y 100 mm no resultó estadísticamente significativa ( $p \leq 0.05$ ). Al igual que en la determinación de la humedad de las semillas, solo hubo una diferencia significativa ( $p \leq 0.01$  y  $p \leq 0.05$ ) respecto al ritmo de la imbibición de estas semillas, con respecto a las colocadas BP durante los primeros días, desapareciendo al final dicha diferencia.

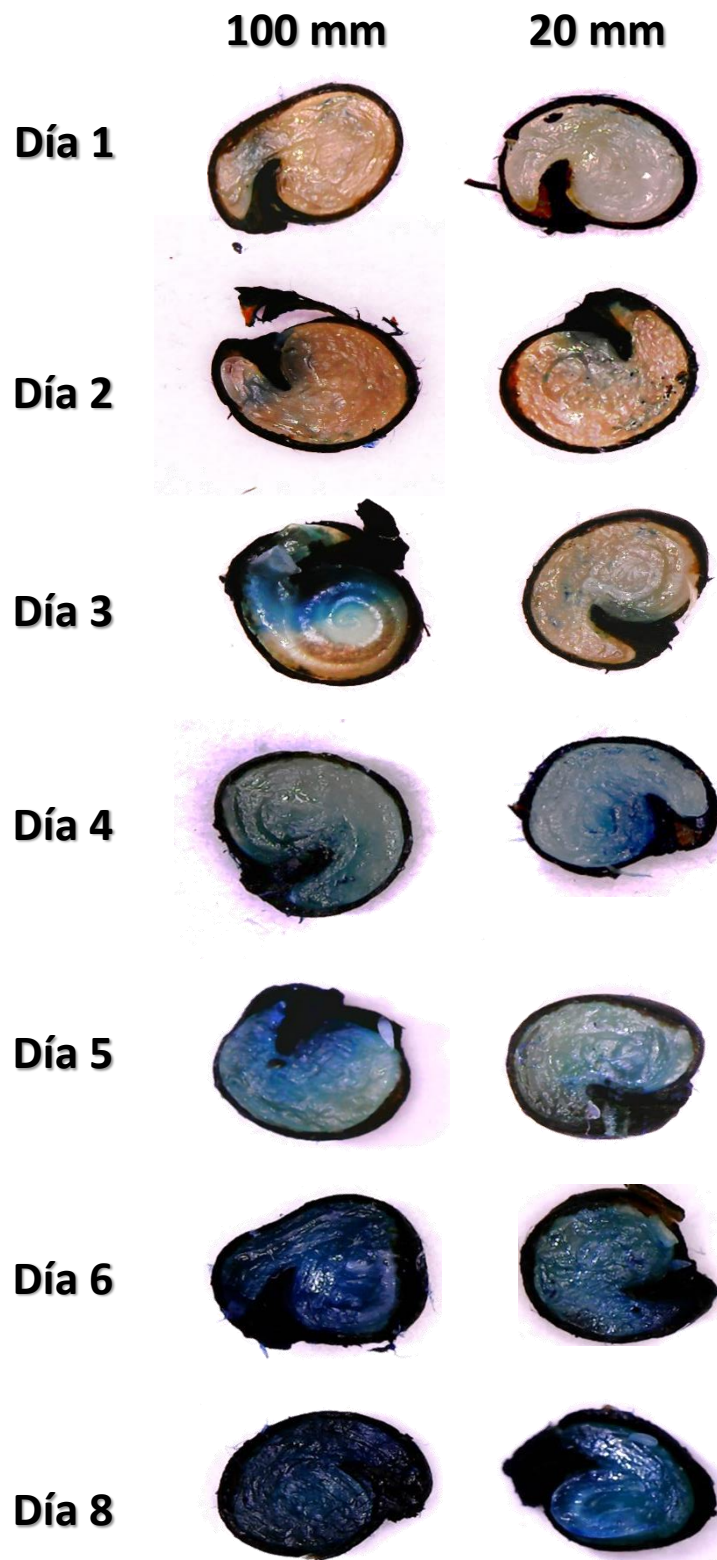
*Tabla 4.3 Resultados estadísticos de las diferentes condiciones a las que se sometieron las semillas para determinar la imbibición.*

	1 día	2 día	3 días	4 días	5 días	6 días	7 días	8 días
<b>Temperatura (T)</b>								
Cámara	21,44 a	26,96 a	28,79 a	29,13	29,66	30,18	30,39	30,61
Laboratorio	18,07 b	25,06 b	27,36 b	28,56	29,01	29,45	30,02	30,13
<b>Agua (A)</b>								
Corriente	19,74	26,20	28,47	29,33 a	29,89 a	30,44 a	30,80 a	30,91 a
Destilada	19,76	25,82	27,69	28,36 b	28,78 b	29,19 b	29,61 b	29,83 b
<b>Columna de agua (CA)</b>								
BP	14,09 b	20,82 b	24,83 b	26,48 b	27,55 b	28,62 b	29,61	29,62
10 mm	22,94 a	28,32 a	29,45 a	29,64 a	29,82 a	30,01 a	30,04	30,25
100mm	22,24 a	28,88 a	29,96 a	30,41 a	30,63 a	30,83 a	30,97	31,24
<b>Análisis de la Varianza</b>								
<b>Factores (g.l.)</b>	<b>% de la suma de cuadrados</b>							
T (1)	13,33 **	5,33 **	5,98 **	1,52 ns	2,55 ns	3,89 ns	1,13 ns	1,13 ns
A (1)	0,00 ns	0,21 ns	1,77 ns	4,32 *	7,56 *	11,35 **	11,05 *	11,05 *
CA (2)	75,78 **	79,74 **	62,03 **	54,24 **	41,64 **	24,11 **	10,08 ns	10,08 ns
T*A (1)	0,04 ns	0,42 ns	5,49 **	4,42 *	4,52 ns	4,15 ns	2,96 ns	2,96 ns
T*AC (2)	1,98 *	0,68 ns	1,25 ns	3,09 ns	2,14 ns	1,15 ns	2,16 ns	2,16 ns
A*AC (2)	1,11 ns	2,03 *	0,76 ns	0,46 ns	0,56 ns	0,65 ns	1,26 ns	1,26 ns
T*A*AC (2)	0,21 ns	0,44 ns	0,69 ns	0,57 ns	0,09 ns	0,11 ns	0,27 ns	0,27 ns
Residual (36)	7,54	11,15	22,03	31,38	40,93	54,58	71,09	71,09
<b>D.E.</b>	1,464	1,588	1,589	1,495	1,494	1,585	1,738	1,828

g.l.: Grados de libertad; D.E.: Desviación estándar; ns: No significativo; \*\*: Significativo al 99%; \*: significativo al 95%

En la figura 4.4 se presenta la evolución del frente del colorante a lo largo de 8 días de remojo. Se puede apreciar que después de las primeras 24 horas de remojo, las semillas que estuvieron bajo columna de colorante de 100 mm de altura empezaron a mostrar una coloración en el endospermo en la zona del hilo de la semilla, mientras que las semillas que estuvieron bajo columna de colorante de 20 mm aun no presentaban ninguna evidencia de colorante. A partir del segundo día se puede observar que las semillas que estaban bajo columna de colorante de 20 mm ya empezaban a teñirse desde el hilo. Durante los días restantes se puede apreciar que las semillas colocadas a remojo con mayor columna de colorante son las que presentaban mayor coloración del endospermo. Con estos resultados se puede concluir, que la humedad penetra en las semillas a través del hilo. Dado que en este experimento sí que se observan diferencias apreciables en la absorción del colorante en cuanto a las columnas del mismo utilizado (no como en el caso del agua, en el que el efecto no era significativo) llevan a pensar que la densidad y/o naturaleza química del colorante pueden influir en el efecto que las distintas columnas tienen en la imbibición del mismo, así como en el tiempo necesario para que el colorante alcance a la totalidad del endospermo.





*Figura 4.4 Representación gráfica de la evolución de la absorción de colorante por el hilo de la semilla.*

### **4.3. Análisis de la absorción de agua en la cubierta y en el endospermo.**

La figura 4.5 muestra la humedad de las diferentes partes de las semillas, así como de las semillas enteras. Se puede apreciar que las semillas enteras a partir del primer día de remojo hasta terminar el experimento, muestran los mayores niveles de humedad que oscilan entre 26,71% y 32,94%. La humedad de las semillas enteras en el momento del inicio del experimento (día 0) era equivalente a la humedad presentada por las semillas antes de empezar los experimentos anteriores. La humedad de la cubierta aumenta solo ligeramente a lo largo de todo el experimento (13,62% - 21,13%), partiendo ya de una humedad superior a la semilla entera, probablemente debido a que, al manipular las semillas, al tratarse de semillas secas, se produjo una captación de humedad desde la atmosfera. Este efecto coincide con los resultados presentados por Navarro (2016); en ambos casos la manipulación de las semillas se hizo con la mayor rapidez y cuidado posible, por lo que este efecto parece inevitable. En cuanto a la humedad del endospermo, aumentó durante las primeras 24 horas de remojo, manteniéndose a partir de entonces en niveles similares a la humedad de la cubierta. En comparación con los resultados presentados por Navarro (2016), la humedad de partida del endospermo en el presente trabajo es inferior a lo allí presentado, lo que podría estar relacionado con el deterioro del embrión, ya que, al separar el embrión, en algunas semillas se podía observar un color más oscuro del embrión de lo que cabría esperar. La diferencia de la humedad entre las semillas enteras y sus partes, coincide con resultados presentados por Navarro (2016) y hace pensar que hay una pérdida de humedad al separar las partes, probablemente al haber una cantidad relativamente importante de agua entre la cubierta y el endospermo.

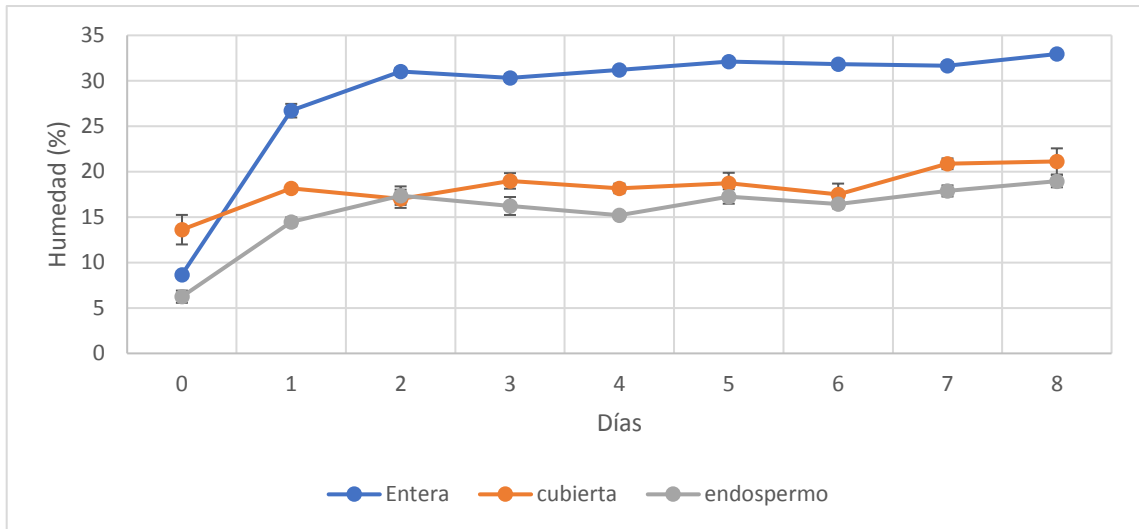


Figura 4.5 Descripción gráfica de la diferencia de humedad de las semillas enteras y sus partes.

En la tabla 4.4 muestra el análisis de la varianza para la humedad de las semillas y de sus partes en los diferentes periodos de remojo. A partir del primer día de remojo las semillas enteras presentaron mayor nivel de humedad ( $p \leq 0.05$ ) que la cubierta, que a su vez fue superior, con diferencias significativas (1, 3, 4 y 7 días) o no (2, 5 y 8 días) a la del endospermo.

Tabla 4.4 Resultados estadísticos de absorción de agua de semillas enteras y de sus partes.

	0 días	1 día	2 días	3 días	4 días	5 días	6 días	7 días	8 días
<b>Semillas</b>									
Cubierta	13,62 a	18,16 b	17,01 b	18,98 b	18,15 b	18,72 b	17,50 b	20,87 b	21,13 b
Endospermo	6,24 b	14,47 c	16,93 b	16,22 c	15,22 c	17,26 b	16,42 b	17,88 c	18,95 b
Entera	8,66 b	26,71 a	31,02 a	30,32 a	31,20 a	32,11 a	31,82 a	31,67 a	32,94 a
<b>Análisis de la Varianza</b>									
<b>Factores (g.l.)</b>	<b>% de sumas de cuadrados</b>								
<b>Semillas (2)</b>	74,71 **	96,78 **	93,96 **	95,15 **	99,11 **	95,63 **	96,55 **	97,60 **	93,61 **
<b>Residual (9)</b>	25,29	3,22	6,04	4,85	0,89	4,37	3,45	2,40	6,39
<b>D.E.</b>	2,062	1,080	1,939	1,590	0,760	1,649	1,531	1,074	1,855

*g.l.*: Grados de libertad; *D.E.*: Desviación estándar; *ns*: No significativo; \*\*: Significativo al 99%

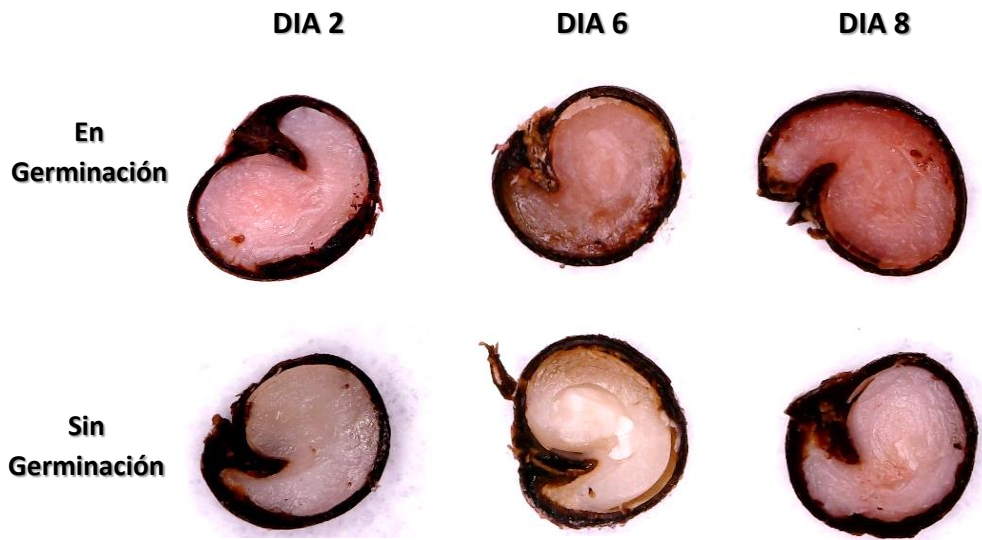
#### 4.4. Ensayo de germinación de semillas enteras y de endospermos.

La germinación obtenida en este experimento fue nula, es decir ninguna semilla germinó en ninguna de las repeticiones expuestas en el apartado 3.4. Siguiendo la norma ISTA (ISTA, 2007) se debe indicar el estado de las semillas que no han germinado, por lo que se realizó el test de viabilidad al tetrazolio a las semillas enteras, ya que ya a simple vista se veía que las que se habían puesto a germinar sin la cubierta mostraban un aspecto oscuro, indicando que el tejido estaba muerto (figura 4.6). El test de viabilidad resultó en que ninguna de las semillas era viable.

A la vista de los resultados negativos se decidió realizar un segundo ensayo de germinación (5 repeticiones de 50 semillas) con una solución de  $AG_3$  a una concentración de  $500 \text{ mg L}^{-1}$ . En este caso tampoco germinó ninguna semilla, y al realizar el test de viabilidad se obtuvo, como en el caso anterior, que ninguna de las semillas era viable. Esta germinación nula podía deberse a que las semillas se dañaban durante el proceso de germinación o a que se partía de un lote con bajo porcentaje de semillas viables, por lo que paralelamente, se realizó un test de viabilidad con semillas (figura 4.7) que no habían sido sometidas a procesos de germinación, resultando también inviables, siendo este el motivo de que ninguna semilla germinara en los ensayos realizados. Por tanto, se recomienda que antes de realizar un ensayo de germinación se compruebe la viabilidad del lote de semillas.



*Figura 4.6 Endospermo necrosado.*



*Figura 4.7 Aspecto de las semillas durante el test de viabilidad (Tetrazolium).*

## 5. CONCLUSIONES

- Para la determinación de la humedad de las semillas de *Capparis spinosa* L. no es recomendable el troceado de las semillas antes del secado de las mismas.
- Las condiciones indicadas en la metodología *Between Paper* (papel de filtro humedecido) para la realización de los ensayos de germinación, permite (a partir del sexto día) alcanzar una humedad similar a la registrada en las semillas en remojo, no siendo un impedimento para el proceso de imbibición.
- Durante el proceso de imbibición, la humedad alcanza al endospermo (y al embrión).
- La diferencia de los valores de la humedad de la semilla obtenida entre la semilla entera y sus partes, cubierta y endospermo, indica que una parte del agua absorbida en la imbibición se acumula entre las mismas.
- Se recomienda realizar un test de viabilidad al lote de semillas antes de realizar un experimento de germinación.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

Akgül, A., Özcan, M. (1999). Some compositional characteristics of capers (*Capparis spp.*) seed and oil. *Grasas y Aceites*, 50: 49-52.

Argentieri, M., Macchia, F., Papadia, P., Fanizzi, F. P., Avato, P. (2012). Bioactive compounds from *Capparis spinosa* subsp. *rupestris*. *Industrial Crops and Products*, 36(1), 65-69.

Derek, J., Bradford, K., Hilhorst, H. W. M., Nonogaki H. (2013). *Seeds. Physiology of Development, Germination and Dormancy*. Ed.: Springer, London. United Kingdom.

Domínguez, N. (2013). Estudio para la mejora de la propagación sexual de la alcaparra (*Capparis spinosa* L.). Tesina de Máster. Universitat Politècnica de Valencia, Valencia.

Dursun, E., Dursun, I. (2005). Some physical properties of caper seed. *Biosystems Engineering*, 92(2): 237-245.

Eddouks, M., Lemhadri, A., Michel, J.-B. (2004). Caraway and caper: potential anti-hyperglycaemic plants in diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 94(1): 143-8.

Fernández, A. (2016). Efecto de la estratificación y del remojo de larga duración sobre la germinación de las semillas de *Capparis spinosa* L. Trabajo Final de Grado. Universitat Politècnica de Valencia, Valencia.

Fernández, F., Rodríguez, A., Prohens, T. (2008). *Genética y mejora vegetal*. Valencia: Editorial Universitat Politècnica de València, Valencia.

Fu, X. P., Aisa, H. A., Abdurahim, M., Yili, A., Aripova, S. F. y Tashkhodzhaev, B. (2007). Chemical composition of *Capparis spinosa* fruit. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(2): 181-183.

García Marí, F. (2002). *Las Plagas agrícolas*. MV Phytoma-España, Valencia.

Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T., Geneve, R. L. (2011). *Hartmann and Kester's plant propagation: principles and practices* (8th ed.). Prentice Hall. Boston, USA.

Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T., Geneve, R. L. (2014). *Hartmann and Kester's plant propagation principles and practices*. Hartmann and Kester's plant propagation (8th ed.). Harlow, UK: Pearson Education.

Herráez, J. 2014. MasterChef-Lenguas alboradas sobre cama de tirabeques y alcaparras con ensalada. Radio Televisión Española. <http://www.rtve.es/fotogalerias/masterchef-programa-2-temporada-2/133075/masterchef-lenguas-alboradas-sobre-cama-tirabeques-alcaparras-ensalada/18>. 23 agosto 2017

Ibáñez, J. (2015). *Estudio para la mejora de la propagación de la alcaparra mediante estaquillas*. Trabajo Fin de Grado. Universitat Politècnica de València, Valencia.

Inocencio, C., Alcaraz, F., Calderón, F., Obón, C., Rivera, D. (2002). The use of floral characters in *Capparis* sect. *Capparis* to determine the botanical and geographical origin of capers. *European Food Research and Technology*, 214(4): 335-339.

ISTA. (International Seed Testing Association, 2003). *ISTA working sheets on tetrazolium testing. Volume II, Tree and shrub species*. ISTA, Bassersdorf, Suiza.

ISTA. (International Seed Testing Association, 2007). *International rules for seed testing: adopted at the ordinary meeting 2006*, ISTA, Basserdorf, Suiza.

Juan, M. 2017. Estudio para la mejora de las técnicas de propagación de la alcaparra (*Capparis spinosa* L.). Tesis doctoral. Universitat Politècnica de València, Valencia.

Khalaf, G. (2011). *Capparis spinosa* L. «Caper»: In Vitro Cultures and Bioassay. Tesis Máster. Palestine Polytechnic University. Hebrón, Palestina.



Khatib, M., Pieraccini, G., Innocenti, M., Melani, F., Mulinacci, N. (2016). An insight on the alkaloid content of *Capparis spinosa* L. root by HPLC-DAD-MS, MS/MS and <sup>1</sup>H qNMR. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 123

López González, G. (2001). *Los árboles y arbustos de la Península Ibérica e Islas Baleares: (especies silvestres y las principales cultivadas)*. Tomo I. Mundi-Prensa. Madrid.

Luna, F., Pérez, M. (1985). *La tapenera o alcaparra. Cultivo y aprovechamiento*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid.

MAGRAMA (Ministerio de Agricultura y Medio Ambiente; 2016). *Anuario de estadística 2010*. Madrid.

Maroto, J. V. (2002). *Horticultura herbácea especial (5a Ed.)*.: Mundi-Prensa, Madrid.

Matilla, A. (2003). Germinación y dormición de las semillas. En *Fundamentos de fisiología vegetal*. Mc Graw-Hill. Madrid.

Mantilla, B. A. (2015). Influencia de la escarificación enzimática en la germinación de semilla de alcaparra (*Capparis spinosa* L.). Trabajo Fin de Máster.: Universitat Politècnica de València. València.

Matthäus, B., Özcan, M. (2002). Glucosinolate composition of young shoots and flower buds of Capers (*Capparis* species) growing wild in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50

Melgarejo, P. (2000). *Tratado de fruticultura para zonas áridas y semiáridas. Vol. I, El medio ecológico, la higuera, el alcaparro y el nopal*. Mundi-Prensa. Madrid.:

Moore, R. P. (1985). *Manual de ensayos al tetrazolio*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.

Navarro, D. (2016). Análisis de posibles factores que anulan la germinación de un lote de semilla comercial de alcaparra (*Capparis spinosa* L.). Trabajo Final de Grado. Universitat Politècnica de Valencia, Valencia.

Özcan, M., Akgül, A. (1998). Influence of species, harvest date and size on composition of capers (*Capparis* spp.) flower buds. *Food/Nahrung*, 42: 102-105.

Pascual, B., San Bautista, A., Ferreros, N., Lopez-Galarza, S., Maroto, J.V. (2003). Analysis of germination of caper seeds as influenced by the position of fruit on the mother plant, fruit maturation stage and fruit weight. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 78: 73–78.

Pascual, B., San Bautista, A., Imbernón, A., Lopez-Galarza S., Alargada, J., Maroto, J.V. (2004). Seed treatments for improved germination of caper (*Capparis spinosa* L.). *Seed Science and Technology*, 32: 637–642.

Pascual, B., San Bautista, A., Pascual Seva, N., Garcia Molina, R., López-Galarza, S., Maroto, J. V. (2009). Effects of soaking period and gibberellic acid addition on caper seed germination. *Seed Science and Technology*, 37: 33-41.

Pascual-Seva, N., San Bautista, A., Pascual, B. (2007). *Propagación Vegetal*. Editorial Universitat Politècnica de València, Valencia.

RAE (Real Academia Española). 2017. Diccionario de la Lengua Española. Vigésimo Tercera Edición. <http://dle.rae.es/?id=L0hZvCT>. Pozuelo de Alarcón, Madrid, España. 4 de septiembre 2017.

Rajesh, P., Selvamani, P., Latha, S., Saraswathy, A. y Rajesh Kannan, V. (2009). A review on chemical and medicobiological applications of Capparidaceae family. *Pharmacognosy Reviews*, 3(6): 378-387.

Rodrigo, M., Lázaro, M.J., Alvarruiz, A., Giner, V. (1992). Composition of capers (*Capparis spinosa*): influence of cultivar, size and harvest date. *Journal of Food Science*, 57: 1152-1154.

Sozzi, G. O. y Vicente, A. R. (2006). 13 – Capers and caperberries. En Handbook of Herbs and Spices (pp. 230-256). Woodhead Publishing. Oxford, UK.

StatPoint Technologies, I. (2013). STATGRAPHICS Centurion XVI. Warrenton, Virginia, USA.

Sze-Kwan, L. y Tzi-Bun, N. (2009). A protein with antiproliferative, antifungal and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activities from caper (*Capparis spinosa*) seeds. *Phytomedicine*, 16: 444-450.

Taiz, L. y Zeiger, E. (2010). *Plant physiology* (5th ed.). Sunderland, USA: Sinauer Associates.

Tlili, N., Elfalleh, W., Saadaoui, E., Khaldi, A., Triki, S. y Nasri, N. (2011). The caper (*Capparis L.*): Ethnopharmacology, phytochemical and pharmacological properties. *Fitoterapia*, 82: 93-101.

Yang, T., Wang, C., Chou, G., Wu, T., Cheng, X. y Wang, Z. (2010). New alkaloids from *Capparis spinosa*: Structure and X-ray crystallographic analysis. *Food Chemistry*, 123: 705-710.

Zhou, H., Jian, R., Kang, J., Huang, X., Li, Y., Zhuang, C., Yang, F., Zhang, L., Fan, X. y Tong, W. (2010). Anti-inflammatory effects of caper (*Capparis spinosa* L.) fruit aqueous extract and the isolation of main phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 12717-12721.