

## **Nuevos pretratamientos para la germinación de *Fagus sylvatica* L.**

Nieves Herrero Sierra, Luis F. Benito Matías, Inmaculada Carrasco Manzano, J. L. Peñuelas Rubira.

Centro Nacional de Mejora Forestal “El Serranillo”, Ministerio de Medio Ambiente, Apdo. 249, 19080 Guadalajara. España. [serranillo@dgcn.mma.es](mailto:serranillo@dgcn.mma.es)

### **Resumen**

Se realiza en este trabajo el estudio de posibles pretratamientos alternativos para semillas de la especie *Fagus sylvatica* L.. Dependiendo del nivel de letargo de la especie, se recomienda en la bibliografía la estratificación en frío con una duración de unos 90-100 días. Se testa en este ensayo la bondad de la estratificación en caliente para inducir el desarrollo de la radícula y la desaparición del letargo. Se utilizó en todos turba como medio y semillas de haya recogidas en Octubre de 1999 en la Sierra de Ayllón. Se planteó un ensayo con 4 tratamientos, combinaciones de dos temperaturas y dos períodos: estratificación fría (2-5° C) de 15 días y 30 días o estratificación en caliente (20° C) 15 y 30 días. Una vez concluidos, las semillas se pasó a frío (2-5° C) donde se realiza un ensayo de germinación siguiendo las normas ISTA. El pretratamiento con el que se obtuvieron germinaciones más bajas fue el de estratificación fría 30 días, en el que la germinación fue del 70% en 21 semanas que duró el ensayo. Los mejores resultados se obtienen con la estratificación caliente 30 días, cuyo umbral se sitúa en las 10 semanas con un porcentaje de germinación del 91%.

P.C.: pretratamiento, germinación, estratificación fría, estratificación caliente, *Fagus sylvatica*.

### **Abstract**

Warm stratification vs cold stratification has been analized in seeds of *Fagus sylvatica* L. Seed were collected in autumn 1999 in Sierra de Ayllón (NE from Madrid). Different authors have recommended cold stratification during 90-100 days to break dormancy in beech. The rates of germination for each treatment are showed: cold stratification for 15 days or 30 days and warm stratification during 15 or 30 days. The highest germination was obtained warm stratification for 30 days.

K.W.: treatment, germination, cold stratification, warm stratification, *Fagus sylvatica*.

### **Introducción**

Las especies forestales suelen presentar una gran variabilidad intraespecífica, que es mayor en especies de amplia distribución, y que suele corresponder con adaptaciones a condiciones ecológicas ligadas a las zonas de distribución. Estas variaciones afectan al crecimiento, desarrollo, producción de fruto, y a la germinación de la semilla.

El haya, *Fagus sylvatica*, es una de las especies más importantes de la silvicultura europea. Aunque en España, debido quizás a la pequeña superficie que ocupa (su cultivo e importancia

como especie de interés forestal está casi restringido al Norte de la Península Ibérica) no deja de ser una planta emblemática y de cierta importancia. Presenta el haya pocas dificultades en su producción en vivero. Se propaga bien por semilla, aunque su producción de fruto es irregular, y en ocasiones presenta vecería, llegando a pasar de 5 a 7 años entre cosechas. Los procesos germinativos están bien conocidos, y reflejados por la ISTA.

En España, existen dos hayedos, de poca extensión, situados en el límite meridional de la especie en Europa. Uno de ellos es el Montejo de La Sierra, en la Comunidad de Madrid, y el otro es el de Tejera Negra, en la Comunidad de Castilla-La Mancha. Se engloban en la región de procedencia ES18, denominada Sierra de Ayllón. La característica más relevante de su climatología es la sequía que presenta durante mes y medio, rasgo que comparte con las formaciones de Moncayo (ES16), y del Puerto de Beceite (ES15) (Agúndez Leal et al.). En El Serranillo se ha intentado en diversas ocasiones la germinación de semillas de esta especie, encontrando siempre dificultades para obtener buenos porcentajes de germinación, ya que las semillas responden bien en ocasiones al pretratamiento, mientras que en otros casos la aplicación del pretratamiento inhibe la germinación. Se presenta un problema a la hora de elegir si es necesario un pretratamiento para un lote de semillas dado, no existiendo manera alguna de conocer que lote de semillas necesita pretratamiento y cuáles no. Las dificultades para poner en práctica el protocolo de germinación diseñado por la ISTA y las características climáticas nos llevaron a plantearnos este ensayo de germinación, en el que tratamos de valorar el tipo de letargo que presentaba la especie en estas zonas, y si existían otros pretratamientos alternativos a la estratificación en frío para superarlo.

## Material y métodos

Para este ensayo, se recolectaron hayucos en el hayedo de Tejera Negra, provincia de Guadalajara, y se enviaron al almacén del CNMF El Serranillo, recibiéndose el día 15 de Octubre de 1999. Se almacenaron mezcladas con turba en cámaras cuya temperatura oscilaba entre 0 y 5 °C para evitar que la semilla sufriera desecación antes de comenzar el ensayo. Al ser recibidas se les practicó un análisis de humedad, que ofreció unos resultados del 22% de humedad. Este test se realizó a la vez que se iniciaban los ensayos de germinación para lo que se prepararon 2 pretratamientos, de diferente duración:

- Estratificación fría de las semillas durante 15 días o 30 días a una temperatura entre 2 y 5° C, mezcladas con turba, basándonos en el método propuesto por la ISTA, aunque para la germinación se indica como medio el papel y a unas condiciones de temperatura entre 3-5 ° C, durante un periodo variable, que puede llegar hasta 24 semanas.
- Estratificación caliente de 15 o 30 días, a una temperatura de 20° C mezcladas también con turba.

Los tratamientos de 30 días se iniciaron el día 19 de Octubre de 1999, y los de 15 días, el 3 de Noviembre de 1999. Posteriormente se sometían en una temperatura de 4° C, hasta que ocurriera la germinación. Se colocaban mezcladas con papel humidificado, que según la terminología utilizada en el Serranillo, corresponde a un pretratamiento sin medio, o PSM. Una vez que las primeras semillas comenzaban a germinar, se sembraban en invernadero, en contenedores Forest Pot de 300 cc, mezcladas con turba y perlita en proporción 90/10. Se dispusieron 4 repeticiones de 25 semillas por pretratamiento, realizándose conteos quincenales, y finalizándose el ensayo a los 6 meses de iniciado. Se contabilizaron los

siguientes parámetros: germinación, umbral de germinación, y velocidad de germinación. Una semilla se consideraba germinada cuando emitía la radicula y las primeras hojas. El umbral de germinación es el tiempo transcurrido desde iniciado el ensayo hasta la aparición de la primera semilla germinada. Para calcular la velocidad de germinación se realizó la siguiente operación: se contabilizaron las semillas germinadas en cada conteo, y se dividió por el porcentaje de germinación final alcanzado, lo que nos permitía conocer la homogeneidad de la germinación en cada pretratamiento. Para finalizar los resultados se trabajaron con el programa Excel del paquete Microsoft, y mediante el programa estadístico Stadistics.

## Resultados y discusión

Los resultados de germinación se ofrecen en la GRÁFICA 1.

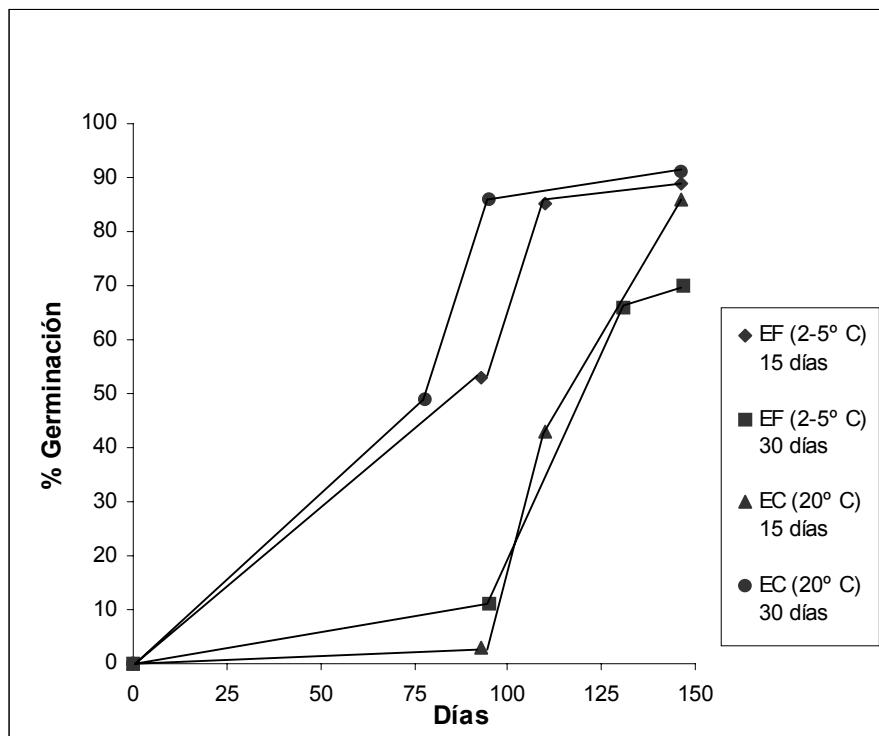


Gráfico 1: Representación del desarrollo del ensayo de germinación alo largo del tiempo por pretratamientos. (EF: Estratificación fría; EC: Estratificación caliente).

Los parámetros que se consideraron más interesantes fueron la germinación, el tiempo en que se alcanzó dicha germinación y el umbral de germinación.

Respecto a la germinación total, los mejores pretratamientos son la estratificación en caliente 30 días (EC 30d), la estratificación en caliente 15 días (EC 15d), y la estratificación en frío 15 días (EF 15d). La estratificación en frío 30 días (EF 30d) no aparece como mal pretratamiento (obtenemos germinaciones del 70 %), pero comparándolas con los otros pretratamientos, es el peor.

Estadísticamente se analizó la repercusión por separado de la temperatura de estratificación ( $F=18,0$ ;  $p=0,0011$ ) y de la duración del estratificado ( $F=10,9$ ;  $p=0,0063$ ) sobre la germinación, existiendo relación entre la germinación y cada uno de los parámetros

estudiados. Pero más importante fue la correlación existente al analizar la influencia de la duración en días del estratificado y la temperatura del mismo actuando a la vez sobre la germinación ( $F=32$ ;  $p<0,001$ ). Los resultados estadísticos nos indican la existencia de interacción entre la temperatura y la duración de la estratificación al analizar la germinación, que estaría representada en los resultados por la baja germinación de las semillas sometidas al estratificado frío durante 30 días.

Tabla 1: Comparativa de la germinación en tanto por ciento (barra gris); número de días en los que tardó en alcanzar dicha germinación (barra negra); y umbral, en días (barra blanca). 1: Estratificación fría, 15 días; 2: Estratificación fría 30 días; 3: Estratificación caliente 15 días; 4: Estratificación caliente 30 días.

	Estratificación fría (2-5° C) 15 días	Estratificación fría (2-5° C) 30 días	Estratificación caliente (20° C) 15 días	Estratificación caliente (20° C) 30 días
% Germinación	89	70	86	91
Días	146	147	146	131
Umbral	83	88	93	68

Entre los tres mejores pretratamientos, respecto a porcentaje de germinación, el mejor pretratamiento fue la estratificación caliente durante 15 días, seguida de la estratificación fría durante 15 días, que es uno de los métodos recomendados por la ISTA. Suszka et al. 1994, en un monográfico sobre *Fagus sylvatica*, recomienda justamente este pretratamiento pregerminativo, pudiendo aumentar en cada caso el número de semanas de pretratamiento según la cantidad de agua que presenten las semillas. La ISTA recuerda que puede llegar a durar hasta 24 semanas. El umbral germinativo se alcanza claramente antes en el pretratamiento a 20° C durante 30 días, aproximadamente en 10 semanas (68 días). Es mucho menor que en los otros tres casos, en los que el umbral ronda 83 (EF 15d) a 93 días (EC 15 d), que supone de 12 a 13 semanas.

Si observamos la velocidad germinativa, de nuevo la EC 30 d permite una germinación más rápida, alcanzando más del 50% de la germinación total en apenas 11 semanas. La EF 15 d alcanza casi un 60% de germinación total en más tiempo, unas 13 semanas. Los otros dos pretratamientos, EC 15 d y EF 30 d, tienen unas velocidades de germinación muchos mayores, alcanzándose el 50 % en unas 16 semanas. Queda claro que las mejores germinaciones se obtienen con el pretratamiento en frío durante 15 días, y el pretratamiento en caliente durante 30 días.

Suszka et al. 1994, definen el letargo de los hayucos como embrionario, sensible al frío, y muy profundo, aunque reconocen que este letargo es heterogéneo, siendo muy variable, incluso dentro del mismo lote. Podría suponerse entonces que funciona como una estrategia de la especie, donde la acción de suelos húmedos y frío eliminarían a lo largo de los meses de invierno el letargo de la semilla. Desde luego, los resultados que obtenemos indican una posible heterogeneidad entre los lotes. Según Baskin y Baskin 1998, el letargo que presenta el haya es de tipo fisiológico, de carácter intermedio. Aparece en semillas permeables al agua, pero procesos fisiológicos no permiten la emergencia de la radícula. Los embriones aislados de especies que presentan este tipo de letargo se desarrollan y producen plántulas normales. La utilización de estratificaciones frías permite superar este letargo. Afirman estos autores que los letargos morfológicos, producidos por falta de desarrollo en el embrión, se superan con pretratamientos a temperaturas cálidas. Otro tipo de letargo sería el letargo morfofisiológico,

que se puede pretratar de formas muy distintas según la especie, con calor, frío, o con combinación de ambos.

En Ayllón, las condiciones climáticas son ligeramente diferentes a las de otras zonas ocupadas por esta especie. La presencia de sequía estival se ve unida a un otoño lluvioso, no demasiado frío. El invierno es frío (se dan en Enero y Febrero temperaturas medias mensuales por debajo de 0° C), y suelen ser meses de heladas, al igual que la primavera. Esto debe suponer muy poco tiempo para desarrollar el fruto, y permitir la germinación. Las poblaciones de lugares templados donde el mayor problema viene dado por la sequía no presentan letargo y germinan muy rápidamente (Allen y Meyer, 1998). Existe correlación entre la variación del hábitat y los patrones de germinación de varias especies de gran amplitud ecológica. El letargo es generalmente roto por humidificación fría. Poblaciones que viven en lugares fríos tienden a presentar letargo en sus semillas, que necesitan un período más o menos amplio de humidificación fría. Poblaciones de hábitats menos fríos en invierno presentan semillas sin letargo, que requieren solo un corto período de humidificación para iniciar la germinación. Esto permite superar los riesgos que aparecen para la plántula a lo largo de la primavera derivados de la sequía. Sin duda, los patrones germinativos presentan variaciones entre poblaciones e incluso entre individuos de una misma población cuya base es genética.

Para algunas especies forestales, el letargo tiene la función de regular el momento de la germinación y acomodarla para permitir el establecimiento y desarrollo de la plántula durante el primer año. Esta correlación entre hábitat y germinación está demostrado que aparece en especies de áreas atemperadas, como son *Pyrus* (Westwood y Bjornstand, 1968), *Betula* (Makhnev & Makhneva, 1979), y *Sorbus* (Barclay y Crawford, 1984). La pérdida de letargo durante el almacenamiento en seco de las semillas, o en aquellas embebidas a altas temperaturas es común en especies que emergen en otoño. En cambio, los resultados de pérdida de letargo en especies sometidas a humidificación fría ocurren en especies que emergen en primavera (Allen y Meyer, 1998). El crecimiento de la radícula es menos sensible al estrés hídrico en el despunte, cuando debe funcionar como protector de la semilla en la germinación ante desecaciones letales, y permite a semillas germinadas continuar su crecimiento en suelos secos, condiciones muy semejantes a las que se deben dar en Ayllón. Esto explicaría la buena respuesta ante la estratificación cálida de los hayucos.

En cambio, el retraso que aparece al pretratar las semillas con 30 días de frío puede responder a adaptaciones de la misma. Unas condiciones desfavorables para la germinación pueden venir dadas por la variación en temperatura o humedad. Esto supone la aparición de un letargo secundario, que detiene la germinación de la semilla. El letargo secundario puede ser revertido, y las semillas germinan si el ambiente es favorable (Hilhorst, 1998). El letargo secundario puede aparecer en estaciones sucesivas hasta que las condiciones ambientales sean favorables. Sería regulado por la membrana celular, principalmente mediante detección del cambio de temperatura. En Ayllón, con temperaturas demasiado bajas para permitir la germinación durante el invierno, conllevaría detener la emisión de la radícula hasta la primavera, en la que las condiciones ambientales volverían a ser favorables.

## Conclusiones

La presencia de formaciones arbóreas en áreas restringidas confiere un carácter particular al comportamiento de las semillas. Así podemos suponer que los hayucos procedentes de la Sierra de Ayllón presentan características propias en cuanto a sus requerimientos de

germinación, probablemente estas semillas están adaptadas a las condiciones ecológicas de la zona en la que se asienta. Un pretratamiento basado en la estratificación caliente, a 20° C, durante 30 días es el que mejores resultados ofrece para germinar semillas de *Fagus sylvatica* procedentes de Ayllón. Sin duda son necesarios más estudios para confirmar estas particularidades germinativas de esta procedencia. La utilidad de este ensayo es doble. Por un lado permite resolver los problemas de pretratamiento que hemos encontrado en esta especie a lo largo de los ensayos realizados en El Serranillo. Aunque no era lo esperado, la estratificación en caliente se presenta como una buena alternativa a la estratificación en frío, utilizando como sustrato la turba. Hemos superado con éxito el período de estratificación caliente, sin aparición de hongos en estas condiciones de humedad y temperatura. Por otro lado puede permitir a invernaderos situados en zonas del interior de la Península producir hayas directamente en bandeja, desarrollando la estratificación caliente en los meses de Septiembre y Octubre, cuando las temperaturas aún son cálidas directamente semilladas en turba, y continuando el período germinativo a lo largo del invierno, dentro de invernadero, donde la semilla queda protegida de posibles heladas.

## Bibliografía

- AGÚNDEZ LEAL, D.; MARTÍN ALBERTOS, S.; DE MIGUEL Y DEL ÁNGEL, J.; GALERA PERAL, R.M.; JIMENÉZ SANCHO, M.P. y DÍAZ-FERNÁNDEZ, P.M. (1995). *Las regiones de procedencia de Fagus sylvatica L. en España*. Ed. ICONA, Madrid, pags 1-51.
- ALLEN, P. S. y MEYER, S.E. (1998). *Ecological aspects of seed dormancy loss*. Seed Science Research, 8, pags 183-191.
- BARCLAY, A.M. y CRAWFORD, R.M.M. (1984). *Seedling emergence in the rowan (Sorbus aucuparia) from altitudinal gradient*. Journal of Ecology, 72. pags. 627-636.
- BASKIN, C.C. y BASKIN, J.M.. (1998). *Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. Ed. Academic Press, Londres. 1-666.
- HILHORST, H.W.M.. (1998). *The regulation of secondary dormancy. The membrane hypothesis revisited*. Seed Science Research, 8, pags 29-38.
- ISTA. (1999). *Rules. Proceedings of The International Seed Testing Association*. Seed Science and Technology, 27 Supplement.
- MAKHNEV, A.K. y MAKHNEVA, O.V. (1979). *Patterns of infraespecific variability of birch for biological seed characters in the northern Urals*. Soviet Journal of Ecology, 68, pags. 105-113.
- SUSZKA, B; MULLER, C. y BONNET-MASIMBERT, M. (1994). *Graines des feuillus forestiers*. Ed. INRA, Paris. pags 175-193.
- WESTWOOD, M.N. y BJORNSTAD, H.O. (1968). *Chilling requirements of fourteen pear species as related to their climatic adaptation*. Journal of the American Society of Horticultural Science, 92 pags. 141-149.