

ESTUDIO DE LA RESPUESTA DE LAS SEMILLAS DE *TAXUS BACCATA* A DIFERENTES TRATAMIENTOS DE ESCARIFICACION Y ESTRATIFICACION

Sara Garrido Espinosa, Javier Zazo Muncharaz y Carlos Calderón Guerrero

U.D. Selvicultura y Pascicultura. EUIT Forestal. UPM. Avda. Ramiro de Maeztu s.n. 28040- MADRID (España). Correo electrónico: carlos.calderon@upm.es

Resumen

La germinación de las semillas de *Taxus baccata* está limitada por una dormancia fisiológica y mecánica de dos, tres, y hasta cinco años, que supone una producción escalonada con planta de edades muy diversas. Debido a los requerimientos comerciales de una rápida germinación, esta latencia conlleva por un lado un problema económico y por otro lado, el hecho de que afecte a la calidad de planta y homogeneidad de la cosecha. Para garantizar una germinación rápida y uniforme, es necesario estudiar los tratamientos previos que puedan mejorar la germinación de esta especie. Al sufrir una latencia compleja, se pueden combinar tratamientos para que de forma sucesiva actúen en los diferentes letargos. Con este estudio se pretende ver la respuesta de las semillas de tejo frente a la aplicación combinada de dos tratamientos pregerminativos básicos: 1) Escarificación con ácido sulfúrico, mejorando la permeabilidad de la cubierta. 2) Estratificación caliente y fría, que contribuya a la maduración del embrión. Este estudio supone el inicio de una línea de investigación, acotándose el tiempo de uso de este ácido, y los tratamientos posteriores admitidos por la semilla.

Palabras clave: *Dormancia, Germinación, Viabilidad, Ácido sulfúrico*

INTRODUCCIÓN

Hay multitud de orientaciones con respecto al tratamiento previo que se puede dar a las semillas para conseguir su germinación. La mayor parte de los autores coinciden en la necesidad de un periodo frío: enfriamiento (ISTA, 2006), una estratificación fría, o una combinación de caliente y fría (SUSZKA et al., 1996), aunque hay autores que defienden que con un simple periodo de remojo es suficiente. Sin embargo, el tratamiento que más se ha propuesto para vencer el letargo del tejo es la estratificación combinada: caliente-fría.

El tratamiento usado por el Centro Nacional de Mejora Forestal "El Serranillo", centro con el

cual se ha colaborado en este estudio, consiste en una estratificación caliente a 16-20°C con temperatura diaria alterna (24/24 h) durante 6 meses combinada con una estratificación fría posterior a 2°C durante 3-4 meses. En el momento en que se observa en el estratificado que un 5-10% de las radículas emergen, se interrumpe el tratamiento, propuesto por SUSZKA (1985 en THOMAS & POLWART 2003).

En diciembre del año 2006 se sembró en El Serranillo con semilla procedente de esta estratificación. En una prueba testigo, este método ha dado un resultado de germinación de un 19%. En laboratorio se realizó un ensayo de germinación con 400 semillas cuyo resultado fue de un 25% de germinación.

En último lugar, y apoyando las directrices de este estudio, CATALÁN (1991) ya apuntaba que posiblemente la práctica adecuada para vencer el doble letargo fuera un tratamiento de la semilla con ácido sulfúrico y una posterior estratificación húmeda a 0-4°C durante 3 meses o más. Según Nieves Herrero (com. pers.) someter a las semillas a una escarificación con ácido sulfúrico durante 10 minutos y combinarla con una estratificación fría de 4-5 meses podría mejorar la germinación, tratamiento propuesto también por GARCÍA DEL BARRIO et al. (2001).

El objetivo principal de este estudio es ver el comportamiento de las semillas de esta especie con respecto a la escarificación con ácido sulfúrico, tanto por sí mismo como en combinación con estratificados fríos y calientes.

Los objetivos particulares son:

- o Delimitar el rango de tiempos máximos de escarificado con ácido sulfúrico (concentración 96%) que admite la semilla de *Taxus baccata* L. con una posterior estratificación.
- Comprobar el efecto de la escarificación con ácido sulfúrico sobre durmancia de la semilla de tejo.
- Comprobar la compatibilidad de estratificado caliente tras escarificado con ácido.
- Comprobar la eficacia del tratamiento propuesto por GARCÍA DEL BARRIO (2001) y comentado con Nieves Herrero (com. pers.)

que consiste en una escarificación con ácido sulfúrico con una estratificación fría posterior de 4-5 meses.

Se realizaron ensayos de tetrazolio para determinar la viabilidad de las semillas y así poder comprobar el efecto de los tratamientos sobre la semilla.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las características del material utilizado se recogen en la tabla 1.

Para el desarrollo del test de viabilidad al tetrazolio se estableció una colaboración con la Estación de Ensayos de Semillas y Plantas de Vivero del INIA, realizándose en primer lugar varias pruebas de tinción y probando los diferentes cortes preparatorios que la ISTA contempla (Tabla 2). Estos ensayos se realizaron con la 2, 3, 5 trifenil-2H, tetrazolio cloruro a una temperatura media de 24°C (±3°C).

A través de un corte longitudinal y su inspección de *visu*, se observó que parte de las semillas presentaban un daño en la parte distal, manifestando tonalidades pardas como consecuencia del almacenaje. Por lo demás, no se encontraron semillas vanas o podridas.

En el caso del corte transversal, la tinción resultaba más lenta, y para el intervalo de tiem-

IDENTIFICACIÓN	CALIDAD GENÉTICA	CALIDAD EXTERIOR
Naturaleza del material de reproducción: Semilla Especie: <i>Taxus baccata</i> L. Cantidad: 0,800 Kg.	Categoría del material de reproducción: Identificada. Tipo de material de base: Fuente semillera. Región de procedencia: ES22- Sierra de Albarracín. Material: Autóctono. Material no modificado genéticamente.	Pureza: 99,99% Germinación: 58,00% Método utilizado: Test de Tetrazolio. Peso de 1.000 semillas: 57,00 g. Nº de semillas viables por Kg: 10.200. Año de maduración: 2005

Tabla 1. Material vegetal utilizado (Datos tomados del Documento del Proveedor - Normas U.E. Comercialización del material forestal de reproducción. Anexo 8.1). Indicaciones complementarias: Conservación en cámara frigorífica

Nº	Tipo de corte	Nº de semillas	Concentración de la sal de Tetrazolio (%)	Tiempo de tinción (horas)
1	Transversal	4*25	1	24-28
2	Longitudinal	4*25	1	24-28
3	Transversal	4*25	1	48

Tabla 2. Ensayo de corte preparatorio para la tinción, test de tetrazolio

po establecido, la mayor parte de las semillas no se teñían completamente, a pesar de parecer totalmente viables. Por otro lado, es un corte más complejo por la facilidad con la que resbala el instrumental a la hora de hacer la incisión.

Se realizó un ensayo de germinación de las semillas testigo (sin ningún tratamiento previo que pudiera alterar la latencia), sin poderse obtener la potencia germinativa del lote debido a su pronunciada latencia. Por otro lado, se llevó a cabo un ensayo de germinación a las semillas sometidas a los tratamientos propuestos, intentado provocar la germinación en condiciones más favorables.

En cuanto a la muestra de semillas que había sido tratada en El Serranillo con el tratamiento propuesto por SUSZKA (1985 en THOMAS & POLWART 2003), el ensayo de germinación dio como resultado una potencia germinativa de un 25%.

El tratamiento que interrumpe la latencia de esta especie es el propuesto por SUSZKA (1985 en THOMAS & POLWART 2003), que consiste en una doble estratificación: 6 meses de estratificación caliente con alternancia térmica diaria (16-20°C) seguida de estratificación fría durante 3-4 meses a 2-5°C.

El experimento diseñado para este estudio consistió en una combinación de escarificación con ácido sulfúrico con diversas estratificaciones. De esta forma se pretendió estudiar el comportamiento de las semillas frente a estos tratamientos con el fin de intentar acortar el periodo de estratificado caliente propuesto por SUSZKA (1985), sustituyéndolo por uno de los tratamientos con ácido (Tabla 3). Los tratamientos que se estudiaron son:

- Escarificación con ácido sulfúrico (S_i ; S_i =tiempos de exposición de las semillas al ácido).
- Escarificación con ácido sulfúrico y posterior estratificación combinada de caliente, 2 meses y fría, 3 meses (S_i +EC2+EF).
- Escarificación con ácido y posterior estratificación fría de 5 meses (S_i +EF).

Los tiempos S_i , se determinaron mediante un ensayo de máximo tiempo de exposición al ácido admitido por las semillas. Tras el ensayo de tiempo máximo de ácido sulfúrico se realizó un test de tetrazolio para comprobar los daños. Las semillas sometidas a tiempos menores de 40 minutos no presentaban daños, manteniendo la viabilidad. Los cuatro tiempos establecidos fueron, por tanto: 10, 20, 30 y 40 minutos.

Una vez establecidos los tiempos de exposición al ácido, se inició el experimento. En primer lugar se sometieron las semillas a la abrasión. Posteriormente se realizó la estratificación, y al finalizar ésta se realizó un ensayo de germinación. Con las semillas no germinadas procedentes de este ensayo se realizó un test de tetrazolio, realizado según las normas ISTA, para comprobar su viabilidad.

Para poder comparar la evolución de los tratamientos se llevó de forma paralela un tratamiento de estratificación caliente de 3 meses seguida de una fría de otros 3 meses.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La representación de la viabilidad de los tratamientos propuestos se expone en la figura 1. Se puede apreciar de forma muy clara los tratamientos que aumentan considerablemente la mortandad de la muestra. Obsérvese la diferencia que hay entre los tratamientos S10 y S20, en la viabilidad de la muestra que se mantuvo en la cámara durante 3 meses y las estratificaciones, ya que según aumenta el tiempo del tratamiento complementario, aumenta la mortandad. Para tiempos superiores a 20 minutos, cualquier combinación tiene un efecto similar.

La potencia germinativa en los tratamientos donde había estratificación caliente tras la escarificación fue nula. Posiblemente debida a la

NOMENCLATURA	TRATAMIENTO
S_i	Abrasión con ácido sulfúrico. i- tiempos de abrasión: 10, 20, 30 y 40 minutos.
EF	Estratificación fría durante 5 meses.
EC2+EF	Estratificación caliente durante 2 meses seguida de estratificación fría de 3 meses.
G	Periodo en la cámara de germinación (3 meses).

Tabla 3. Nomenclatura utilizada

proliferación de agentes patógenos favorecidos por un medio propicio y aunque se utilizaron fungicidas diversos, no fueron efectivos. Según la literatura encontrada, el tratamiento propuesto de escarificación con ácido sulfúrico combinado con una estratificación fría posterior podría mejorar la germinación de la especie CATALÁN (1991), aunque no cuantifica los resultados. Con este método no se ha obtenido la germinación esperada, que se pretendía que fuese de al menos un 19%, según experiencias anteriores realizadas en las que se aplicaba 6 meses de estratificación caliente seguidas de 3 meses de estratificación fría (NICOLÁS, 2007), no existiendo otro tipo de ensayos similares con los que poder comparar estos resultados. Se recomendaría proseguir en la línea de investigación de mejora de la germinación limitando el tiempo de escarificación a un máximo de 10 minutos, y probando para tiempos inferiores, combinándose con una estratificación fría.

CONCLUSIONES:

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la aplicación de los tratamientos propuestos, podemos concluir que:

- Tras las pruebas de tinción del Test de viabilidad al tetrazolio, se llegó a la conclusión de que la incisión longitudinal era la más sencilla, y con la que mejor penetraba la disolución. A pesar de ello, la tinción es lenta e incluso trabajando con el corte longitudinal

es frecuente que una pequeña porción de la semilla se tiña mal. Esto se puede evitar aumentando el tiempo de tinción.

- El ensayo de tiempo máximo de ácido sulfúrico revela que las semillas son capaces de soportar hasta 40 minutos en ácido sin resultar dañadas, manteniendo la viabilidad. Para tiempos superiores disminuye la viabilidad significativamente.
- Ninguno de los escarificados con ácido conduce a la ruptura de la latencia principal del embrión, siendo necesaria una combinación con otros tratamientos. Para la ruptura de la durmancia del tejo es necesaria una estratificación posterior.

Los tiempos establecidos para las escarificaciones son los adecuados para reducir el grosor de la cubierta y que ésta sea más permeable. Sin embargo este hecho puede ser contraproducente ya que aumenta la sensibilidad de la semilla a agentes patógenos. Aunque en un principio el ácido no dañe visiblemente la semilla, el daño puede ser indirecto y a largo plazo en el momento en que es necesario un tratamiento posterior.

- Las semillas que se tratan con ácido sulfúrico no admiten una estratificación caliente posterior ya que disminuye drásticamente la viabilidad en un corto periodo de tiempo. Una posible solución podría ser la de hacer un cultivo previo para determinar el fungicida más adecuado.
- El tiempo máximo de escarificación con ácido sulfúrico es de 10 minutos. Con esta

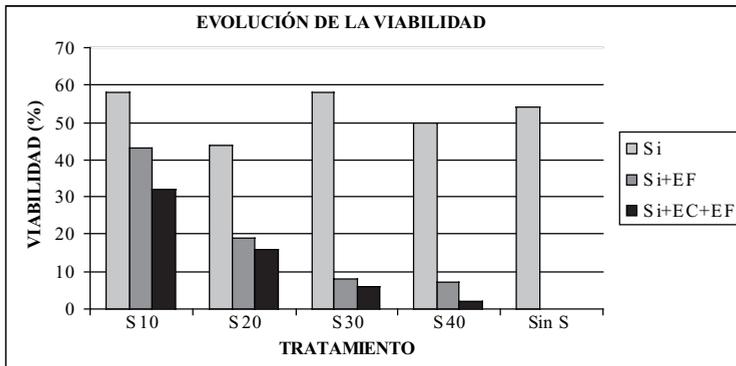


Figura 1. Gráfica de viabilidad de las semillas escarificadas durante 20, 30 y 40 minutos y sus combinaciones (Ver Tabla 3 para la nomenclatura utilizada en la leyenda y eje x)

escarificación, las semillas pueden estratificarse en frío al menos durante 5 meses sin disminuir su viabilidad.

La potencia germinativa en los tratamientos donde había estratificación caliente tras la escarificación fue nula, debiéndose realizar más ensayos para mejorar la germinación al mismo tiempo que se reduce el tiempo de estratificación.

BIBLIOGRAFÍA

- CATALÁN BACHILLER, G.; 1991. *Semillas de árboles y arbustos forestales*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. ICONA. Madrid.
- GARCÍA DEL BARRIO, J.M.; ALIA, R. Y IGLESIAS, S.; 2001. *Regiones de identificación y utilización de material forestal de reproducción*. Ministerio de Medio Ambiente. Madrid.
- GARRIDO ESPINOSA, S.; 2007. *Estudio de la respuesta de las semillas del tejo (Taxus baccata L.) a distintos tratamientos previos a la germinación*. Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Forestal. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid.
- ISTA; 2003. *Working sheets on Tetrazolium testing, Vol. II: Taxus*. ISTA.
- NICOLÁS PERAGÓN, J.L.; 2007. Comunicaciones personales. Centro Nacional de Mejora Forestal, "El Serranillo". Guadalajara.
- SUSZKA, B.; MULLER, C. & BONNET-MASIMBERT, M.; 1996. *Seeds of forest broadleaves from harvest to sowing*. INRA. Paris.
- THOMAS, P.A. & POLWART, A.; 2003. *Taxus baccata L. J. Ecol.* 91: 489-524.