

La importancia de los bancos de semillas del suelo en los estudios ecológicos

The importance of soil seed banks in ecological studies

Pablo Ferrandis

Jardín Botánico de Castilla-La Mancha y E.T.S. Ingenieros Agrónomos y de Montes, Campus Universitario s/n, 02071 Albacete, España. Correo electrónico: pablo.ferrandis@uclm.es

Una perspectiva poblacional y comunitaria

El banco de semillas del suelo es el término que los ecólogos usan para designar el conjunto de semillas viables que contiene el suelo, en la superficie, enterradas o asociadas al mantillo (Leck *et al.* 1989). Los bancos de semillas juegan un papel fundamental en la dinámica de poblaciones y comunidades vegetales. Desde un punto de vista funcional, uno de los aspectos más relevantes es el tiempo que las semillas pueden permanecer en el suelo, pues ello determinará la cantidad de reservas con que las especies contarán en un momento dado para atender al reclutamiento bajo condiciones regulares del ambiente o frente situaciones imprevistas de perturbación a pequeña o gran escala espacial.

Este aspecto se torna particularmente crítico en el caso de taxones raros o amenazados (Ferrandis *et al.*, 2011a, 2011b). El trabajo clásico de Thompson y Grime (1979) representó un hito en la ecología de los bancos de semillas, al proponer por primera vez una clasificación en este sentido: (i) los bancos transitorios, los de aquellas especies cuyas reservas de semillas del suelo se agotan antes de que se complete un nuevo ciclo fenológico, es decir, antes de que acontezca un nuevo episodio de dispersión de semillas, y (ii) los bancos persistentes, aquellos en los que una fracción significativa permanece viable en el suelo por más de un ciclo fenológico, superponiéndose a la dispersión de la nueva cosecha. Posteriormente, Thompson *et al.* (1997) refinaron la clasificación a partir de las propuestas de Bakker (1989) y Bakker *et al.* (1991), identificando tres grandes grupos desde el punto de vista funcional: (i) transitorios, para las especies cuyos bancos de semillas persisten en el suelo menos de un año (coincidiendo en general con la duración de un ciclo fenológico); (ii) persistentes de corta duración, para las especies cuyas semillas persisten en el suelo más de un año, pero menos de cinco; (iii) persistentes de larga duración, para definir aquellos bancos de semillas capaces de persistir en el suelo más de cinco años. Evidentemente, la frontera de los cinco años de duración no deja de ser un convencionalismo, pero se ajusta bien a la realidad de la abundante base de datos que elaboraron los autores sobre los bancos de semillas en Europa, a partir de las investigaciones publicadas hasta aquella fecha. Cada tipo de banco de semillas ha sido modelado por la selección natural y actúa como estrategia eficiente bajo las condiciones en las que viven las especies. De hecho, cabría pensar que bajo un régimen de perturbaciones predecibles en el tiempo y en el espacio (por ejemplo, el agostamiento estival de las plantas herbáceas en ambientes mediterráneos), un banco de semillas transitorio, formado poco antes de que acontezcan, resulta en la estrategia más eficiente desde el punto de vista de inversión-beneficios (Thompson

y Grime 1979, Ferrandis *et al.* 2001). En contraste, frente a un régimen de perturbaciones impredecibles, la solución evolutiva se dirigirá hacia la acumulación de semillas en el suelo (Thompson y Grime, 1979).

En los ecosistemas sometidos a un régimen de incendios recurrentes, como muchos matorrales mediterráneos, bancos de semillas persistentes de gran tamaño desempeñan un papel notorio en la regeneración vegetal (Ferrandis *et al.*, 1999a). Del mismo modo, es por este motivo que los bancos de semillas persistentes predominan en las etapas tempranas de la sucesión ecológica, mientras que las etapas pseudoestables y maduras de la vegetación están dominadas por especies con bancos transitorios (Baskin y Baskin 1998, Fenner, 2000). En el mundo cambiante actual, con la modificación que la actividad humana está impulsando a gran escala a través del cambio global, los bancos de semillas persistentes pueden desempeñar un papel relevante en la resiliencia de poblaciones y comunidades: de acuerdo a la clasificación de Thompson *et al.* (1997) y a su interpretación funcional, los bancos persistentes de corta duración impulsarían determinadamente el mantenimiento de las poblaciones, mientras que los persistentes de larga duración tendrían consecuencias definitivas en la resiliencia de las comunidades. El estudio pues de los bancos de semillas del suelo, bien sea en trabajos focalizados sobre las poblaciones de una especie determinada o en comunidades vegetales al completo, puede proporcionar información crucial para la acertada interpretación del estado, respuestas y dinámica de las mismas.

Guía básica para los protocolos de análisis de los bancos de semillas del suelo. Muestreo

La recolección de muestras (bloques) de suelo en el ambiente donde se quiere evaluar el banco de semillas se puede hacer con ayuda de una sonda cilíndrica metálica (3-5 cm de diámetro) o una pala de jardinería.

La herramienta a usar será la que mejor se adapte a las características del suelo: pedregosidad, profundidad, materia orgánica, raíces. Como regla general, para un volumen determinado de suelo, es mejor extraer muchas muestras pequeñas que unas pocas grandes, ya que los bancos de semillas tienen, frecuentemente, una distribución espacial muy heterogénea. Si lo que interesa es estudiar el banco de semillas de un taxón determinado, el muestreo se puede centrar en aquellos lugares del terreno donde cabe esperar que las semillas se concentren, en función del tipo de dispersión primaria y secundaria (por ejemplo, bajo la cobertura de las plantas parentales, o en un radio determinado desde su base, etc.). Si el estudio abarca toda la comunidad, se pueden establecer parcelas de un tamaño determinado (por ejemplo, 1 m²) de las cuales practicar extracciones dispuestas aleatoriamente.

Hay dos formas, compatibles, de averiguar si el banco de semillas de un taxón es transitorio o persistente. La más evidente es realizar la extracción de suelo poco antes de que tenga lugar la dispersión de las semillas: su presencia en las muestras será un indicio claro de la naturaleza persistente del banco. La otra opción consiste en analizar la distribución vertical de las semillas en el suelo.

Las semillas en su mayoría carecen de mecanismos activos de enterramiento, por lo que no suelen alcanzar estratos más allá de los primeros centímetros del suelo, a no ser que permanezcan en él un tiempo suficientemente prolongado. Sobre esta asunción, se puede establecer una correspondencia entre los tipos de bancos de semillas de la clasificación propuesta por Thompson *et al.* (1997) y su distribución vertical en el suelo: (i) los bancos transitorios acumulan sus semillas en la superficie (primeros centímetros); (ii) los bancos persistentes de corta duración (ente 1-5 años) tienen una fracción representativa de semillas en estratos del suelo más profundos, pero en cantidad significativamente menor que en el estrato superficial; (iii) los bancos persistentes de larga duración (>5 años) acumulan tantas semillas en estratos profundos como en la superficie. Un muestreo del suelo (natural, sin remociones) en dos estratos, de 0 a 4 (o 5) cm y de 4 (o 5) a 8 (o 10) cm, sobre los mismos puntos en cada extracción, permite establecer esta correspondencia. Si además se realiza justo antes de la dispersión de las semillas, permite definir con precisión la naturaleza persistente o transitoria del banco de semillas de un taxón. Las características morfológicas de las semillas, además, complementan el diagnóstico: las semillas de especies que forman bancos persistentes suelen ser de pequeño tamaño y tienden a aproximarse a la forma esférica, rasgos que la selección natural a modulado para facilitar su enterramiento; por el contrario, semillas alejadas de la esfericidad o con apéndices que dificultan su enterramiento forman bancos transitorios en la superficie del suelo (Thompson *et al.*, 1993).

Análisis del contenido de semillas en las muestras de suelo. Existen dos técnicas generales para contabilizar las semillas del suelo: (i) las que se basan en la emergencia de las plántulas y (ii) las que lo hacen sobre la separación física de las semillas. El primer grupo de técnicas precisa del cultivo de las muestras de suelo. Cada plántula emergente se corresponde con una semilla viable, que tendrá que ser identificada taxonómicamente y entonces retirada, para no interferir con la germinación y/o emergencia de otras semillas y/o plántulas. Las muestras de suelo deben cultivarse en algún recinto acotado a la contaminación por la llegada de semillas exógenas o a la perturbación por animales. Un umbráculo (recinto cubierto con malla) suele dar mejores resultados que un invernadero, ya que reproduce eficazmente las condiciones naturales de temperatura y luz que rigen los procesos y fenología de la germinación. Las muestras de suelo se deben pasar previamente por un tamiz de luz gruesa que permita retirar piedras y restos vegetales, para luego extenderlas individualmente sobre algún tipo de recipiente (bandejas), formando un estrato delgado (no más de 1-2 cm) para facilitar la emergencia de las pequeñas plántulas, sobre una base de sustrato libre de semillas (turba estéril, por ejemplo) que permita el arraigo de las plántulas hasta que sean identificadas y retiradas. El trasplante de plántulas a macetas individuales cuando no se pueden identificar tempranamente da buenos resultados, al liberar las muestras de plantas desarrolladas que dificulten la manifestación de otras semillas. Las muestras habrá que cultivarlas el tiempo suficiente para asegurarnos que el banco de semillas se ha podido expresar enteramente, lo que puede requerir hasta un ciclo fenológico completo. Así pues, la dificultad en la identificación de las plántulas, el letargo de las semillas y el espacio y tiempo necesarios para la germinación y emergencia del banco en las muestras, son los principales factores limitantes de este método.

Ter Heerdt *et al.*, (1996) propusieron realizar un tamizado previo de las muestras de suelo mediante lavado sobre un tamiz de luz pequeña (0,25 mm), de forma que, sin perder semillas, se reduce el volumen de suelo a manejar y se estimula la germinación. Con esta metodología, el tiempo de cultivo necesario para la expresión

del banco de semillas completo de comunidades de ecosistemas nemorales de Europa central se estimó en torno a 6 semanas. Sin embargo, la eficacia de este protocolo dependerá mucho del tipo de letargo de las semillas de las especies dominantes en la comunidad. Por ejemplo, Ferrandis *et al.* (1999a, 1999b), en el estudio de matorrales mediterráneos ricos en cistáceas que forman enormes bancos persistentes de semillas con letargo físico, tuvieron que cultivar las muestras entre uno y dos años.

Los protocolos de separación física de las semillas se fundamentan en la detección y extracción de semillas de las muestras de suelo, generalmente con la ayuda de tamices y lupa. Los factores limitantes de su eficacia son el tamaño de las semillas y su viabilidad. Ferrandis *et al.* (1999a) determinaron que en la fracción de suelo que atraviesa el tamiz de 0,5 mm de luz de malla, la imprecisión en la detección de semillas hace inviable esta metodología. Por encima de este tamaño, es posible localizar y extraer las semillas con fidelidad, aunque en general consume mucho tiempo. Pero, además, no todas las semillas con buena apariencia externa son de hecho viables: hay que hacer un diagnóstico del embrión mediante la escisión de una muestra representativa de las semillas extraídas, bien basado en su color y turgencia, o mediante tinciones con sales de tetrazolio (Ferrandis 1999b). Por tanto, la separación física de las semillas será una buena opción si trabajamos con semillas relativamente grandes. En general, este método se reserva para los estudios focalizados en taxones concretos, de los que tenemos información sobre el aspecto de las semillas (posibilidad de identificación), tamaño (superior a 0,5 mm) y sobre todo si tienen letargo seminal difícilmente superable. En estos casos, se filtran las muestras con tamices de luz de malla inferior y superior a sus dimensiones, para reducir el volumen de suelo a procesar. En los demás casos, especialmente cuando el foco de nuestro estudio sea el banco de semillas de una comunidad completa, recurriremos a las técnicas de emergencia de plántulas.

Tabla 1. - Protocolos metodológicos para la detección de semillas contenidas en muestras de suelo (adaptado de Ferrandis *et al.* 2011a)

Separación física	Emergencia de plántulas
<i>Tamizado.</i> Lavado de la muestra por un tamiz con luz de malla superior a las semillas objeto de estudio, para eliminar elementos gruesos y restos orgánicos (raíces, bulbos, hojarasca), y sobre otro con luz de malla inferior, que retenga las semillas.	Reconocimiento de plántulas. Observación en campo, o siembra de semillas en macetas, para reconocer las plántulas del taxón en los primeros estadios de desarrollo.
<i>Secado.</i> Secado de la muestra a temperatura ambiente, sobre el propio tamiz de lavado.	<i>Tamizado.</i> Tamizado de la muestra sobre un tamiz con luz de malla superior a las semillas que se estudian, para la eliminación de los elementos gruesos y restos orgánicos (raíces, bulbos,

hojarasca), susceptibles de dificultar la emergencia de plántulas; también puede ser efectivo el lavado de las muestras sobre un tamiz fino, que retenga las semillas y permita reducir el volumen de la muestra, con el fin de acortar el periodo de cultivo.

Escrutinio de la muestra. Extendido de la muestra de suelo, pro fracciones o completa, sobre una bandeja, placa Petri, o similar; búsqueda y extracción de semillas con ayuda de pinzas y de lupa si fuera necesario.

Cultivo en invernadero. Extendido de la muestra en una bandeja, lo más finamente posible (con un grosor nunca superior a 1-2 cm) sobre una capa de sustrato libre de semillas; riego periódico (se recomienda microaspersión) para mantener el suelo constantemente húmedo.

Análisis de viabilidad. La apariencia externa de las semillas no es un indicador preciso de su viabilidad. Se recomienda inspeccionar el aspecto del embrión (color y estado de hidratación); también se pueden utilizar tinciones de tetrazolio; realizar el ensayo con una muestra representativa de las semillas extraídas del suelo.

Conteo de plántulas. Revisión periódica de las muestras; conteo y retirada de las plántulas tan pronto como se identifiquen; cuando cese la emergencia de plántulas, se recomienda remover el suelo (con cuidado de no mezclarlo con el estrato del sustrato base estéril, para promover la germinación de semillas que pudieran estar enterradas a demasiada profundidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAKKER J.P. 1989. Nature management by grazing and cutting. Kluwer, Dordrecht.
- BAKKER J.P., A.F. BOS, J. HOOGVELD Y H.J. MULLER. 1991. The role of the seed bank in restoration management of semi-natural grasslands. En *Terrestrial and Aquatic Ecosystems: Perturbation and Recovery* (O. Ravera Ed.), Ellis Horwood, Nueva York, 449-455.
- BASKIN C.C. Y J.M. BASKIN. 1998. *Seeds: Ecology, Biogeography, and, Evolution of Dormancy and Germination*, Elsevier, Nueva York.
- FENNER M. (Ed.). 2000. *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. CABI Publishing, Wallingford.
- FERRANDIS P., J.J. MARTÍNEZ-SÁNCHEZ Y J.M. HERRANZ. 1999a. Fire impact on a maquis soil seed bank in Cabañeros National Park (central Spain). *Israel Journal of Plant Sciences*, 47: 17-26.
- FERRANDIS P., J.J. MARTÍNEZ-SÁNCHEZ Y J.M. HERRANZ. 1999b. Effect of fire on hardcoated Cistaceae seed banks and its influence on techniques for quantifying seed banks. *Plant Ecology*, 144: 103-114.
- FERRANDIS P., E. MARTÍNEZ-DURO, M.A. COPETE Y J.M. HERRANZ. 2011a. Propuestas de mejora: metodología para el análisis de los bancos de semillas del suelo de taxones amenazados. En Iriondo J.M. (Ed.). *Atlas y Libro Rojo de la Flora Vasculare Amenazada de España: Manual de Metodología del Trabajo Corológico y Demográfico*, Dirección General de Medio Natural y Política Forestal (Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino)-Sociedad Española de Biología de la Conservación de Plantas, Madrid.
- FERRANDIS P., M. BONILLA Y L.C. OSORIO. 2011b. Germination and soil seed bank traits of *Podocarpus angustifolius* Griseb. (Podocarpaceae), a tree species endemic to Cuban mountain rain forests. *International Journal of Tropical Biology and Conservation (Revista de Biología Tropical)*, 59: 1061-1069.
- LECK M.A., Y.T. PARKER, Y R.L. SIMPSON, (Eds) (1989). *Ecology of Soil Seed Banks*. Academic Press, Orlando, Florida.
- TER HEERDT G.N.J., G.L. VERWEIJ, R.M. BEKKER Y J.P. BAKKER. 1996. An improved method for seed-bank analysis: seedling emergence after removing the soil by sieving. *Functional Ecology*, 10: 144-151.
- THOMPSON K. Y J.P. GRIME. 1979. Seasonal variation in the seed banks of herbaceous species in ten contrasting habitats. *Journal of Ecology*, 67, 893-921.

THOMPSON K., J.P. BAKKER Y R.M. BEKKER. 1997. The soil seed banks of North West Europe: methodology, density and longevity. Cambridge University Press, Cambridge.

THOMPSON K., S.R. BAND Y J.G. HODGSON. 1993. Seed size and shape predict persistence in soil, *Functional Ecology*, 2: 236-241.



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-
NoComercial 4.0 Internacional.
Copyright (c) 2019 Pablo Ferrandis