

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE LUGO

INGENIERÍA DE MONTES



**EFICIENCIA NUTRICIONAL EN FAMILIAS DE MEDIOS**

**HERMANOS DE *Pinus pinaster* BAJO DISTINTOS**

**TRATAMIENTOS DE FERTILIZACIÓN**

**PROYECTO FIN DE CARRERA**

**Alumno:**

**DIEGO PEREIRA VÁZQUEZ**

**Directores:**

**RAFAEL ZAS ARREGUI**

**LUÍS SAMPEDRO PÉREZ**

**Septiembre 2006**

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE LUGO

INGENIERÍA DE MONTES



**EFICIENCIA NUTRICIONAL EN FAMILIAS DE MEDIOS**

**HERMANOS DE *Pinus pinaster* BAJO DISTINTOS**

**TRATAMIENTOS DE FERTILIZACIÓN**

**El Alumno:**

Diego Pereira Vázquez

**Los Directores:**

Rafael Zas Arregui

**El Tutor:**

Francisco Javier Silva Pando

Luís Sampedro Pérez

**Convocatoria**

**Septiembre 2006**

## **Agradecimientos**

Quisiera expresar mi más profundo agradecimiento a mis directores de proyecto, el Dr. Rafael Zas Arregui y el Dr. Luís Sampedro Pérez por toda la ayuda prestada para llevar a cabo esta investigación, ya que sin ellos sería imposible su finalización.

También agradecerle a CIFA de Lourizán, por permitirme el uso de sus parcelas, plantas e instalaciones, con mención especial al Dr. José Antonio Vega por el uso de la mufla, a la Dra. Margarita Alonso por “acampar” en el laboratorio donde se realizaron la mayor parte de los análisis y a Francis, por hacer más amena la estancia en dicho laboratorio, así como por su ayuda y sus consejos.

Agradecerle también a Xoaquín Moreira la ayuda y la compañía en esas frías mañanas de invierno en el invernadero; a Carlos López y a Iván Junquera, por la ayuda prestada en el trabajo de campo; a Miguel Arosa, por el “apoyo logístico” proporcionado y a Pablo Castelo y a Carlos Perdiz el apoyo prestado.

Agradecimientos especiales para mi hermano Roi, por su “inestimable” ayuda; a mi novia Juliana Arosa, por el apoyo incondicional que me ha dado antes, durante y después de la realización de este proyecto aguantándome tanto en los buenos momentos como en los malos; y a mis padres Pury y Moncho, porque aunque son unos pesados hacen y dicen las cosas con las mejores intenciones.

**“Los bosques preceden a las civilizaciones, los desiertos las siguen”**

**François-René De Chateaubriand**

---

<b>1.- Resumen</b>	<b>1</b>
<hr/>	
<b>2.- Introducción</b>	<b>2</b>
<hr/>	
<b>2.1.- La especie</b>	<b>2</b>
2.1.1.- Área natural y distribución	2
2.1.2.- Descripción botánica	3
2.1.3.- Requerimientos ecológicos y productividad	4
<b>2.2.- Importancia de los factores nutricionales</b>	<b>5</b>
<b>2.3.- El programa de mejora de <i>P. pinaster</i> en Galicia</b>	<b>7</b>
<b>2.4.- Interacción Genotipo x Nutrición</b>	<b>8</b>
<b>2.5.- Eficiencia nutricional</b>	<b>12</b>
<hr/>	
<b>3.- Objetivos</b>	<b>15</b>
<hr/>	
<b>4.- Materiales y métodos</b>	<b>16</b>
<hr/>	
<b>4.1.- Descripción del ensayo factorial progenie x fertilización</b>	<b>16</b>
4.1.1.- Diseño de la parcela	16
4.1.2.- Material vegetal empleado en el estudio	17
4.1.3.- Preparación del terreno	18
4.1.4.- Tratamientos de fertilización empleados en el ensayo	18
4.1.5.- Situación y descripción de las parcelas	19
4.1.5.1.- Situación y pertenencia	19
4.1.5.2.- Descripción geológica y litológica	19
4.1.5.3.- Descripción edafológica	20
4.1.5.4.- Descripción climatológica	21
4.1.5.5.- Vegetación preexistente	22
4.1.5.6.- Vegetación potencial	23
4.1.5.7.- Cuidados posteriores a la masa	23
<b>4.2.- Mediciones, toma de muestras y análisis</b>	<b>24</b>
4.2.1.- Muestreos y mediciones	24
4.2.2.- Análisis de nutrientes foliares	25
4.2.2.1.- Procedimiento de digestión	26
4.2.2.2.- Valoración colorimétrica	26
4.2.2.3.- Cálculo de la recta patrón	27
<b>4.3.- Análisis de datos</b>	<b>30</b>
4.3.1.- Análisis de varianza	30
4.3.2.- Relaciones alométricas	31
4.3.3.- Diagnóstico nutricional	31
4.3.4.- Análisis de la eficiencia nutricional	32

---

<b>5.- Resultados</b>	<b>34</b>
<b>5.1.- Efecto sobre el crecimiento</b>	<b>34</b>
<b>5.2.- Efecto sobre las biomosas</b>	<b>37</b>
<b>5.3.- Efecto sobre las variables relacionadas con la eficiencia nutricional del P</b>	<b>39</b>
<b>5.4.- Diagnóstico nutricional mediante técnica de vectores</b>	<b>43</b>
<b>5.5.- Relaciones alométricas</b>	<b>45</b>
<b>5.6.- Variación familiar</b>	<b>47</b>
<b>6.- Discusión</b>	<b>52</b>
<b>7.- Conclusiones</b>	<b>60</b>
<b>8.- Referencias</b>	<b>61</b>
<b>9.- Anexos</b>	<b>67</b>

---

## 1.- RESUMEN

El pino marítimo (*Pinus pinaster*) es una de las especies forestales más importantes de Galicia, siendo ésta una región con suelos de baja fertilidad, arenosos, ácidos y con escasez de nutrientes. Trabajos previos recomiendan fertilizar las plantaciones de esta especie, especialmente con fósforo, que es el nutriente más limitante en las masas de pino gallegas. El aumento de la eficiencia nutricional mediante técnicas de mejora genética es una atractiva alternativa para disminuir las necesidades de fertilizante, aumentando el rendimiento económico de las plantaciones y disminuyendo el riesgo ambiental que la fertilización a gran escala conlleva. Como primer paso en este sentido es preciso conocer si existe variabilidad genética en la eficiencia nutricional y si ésta varía con la disponibilidad de fósforo. En el presente proyecto se estudia la respuesta en crecimiento, producción y distribución de biomasa y en la concentración y contenido de fósforo en un ensayo de progenie x fertilización situado en Rebordelo, Pontevedra, con una marcada deficiencia en la disponibilidad de este nutriente. Se analiza de forma profunda el comportamiento de 8 familias bajo 5 tratamientos de fertilización NP distintos, analizándose las relaciones alométricas, la variación genética, el efecto de los tratamientos y la interacción familia x fertilización. Se observa una importante variación genética en variables relacionadas con la eficiencia del uso del P, existiendo familias más eficientes que otras, bien sean eficientes en la absorción del P ó bien en el uso con que utilizan el P absorbido para producir biomasa. En general la mayoría de los caracteres estudiados resultaron plásticos (efecto significativo de la fertilización) pero en ningún caso se observó variación genética en esta plasticidad (interacción no significativa). La técnica gráfica de análisis de vectores, utilizada tradicionalmente para el diagnóstico nutricional, se presenta como una herramienta útil para el estudio de la variación genética en la eficiencia nutricional.

**Palabras clave:** Fertilización, Eficiencia nutricional, Interacción Genotipo x Fertilización, Técnica de vectores, Alometrías, Fósforo.

## 2.- INTRODUCCIÓN

### 2.1.- LA ESPECIE

#### 2.1.1.- Área natural y distribución

El pino pinaster, cuya denominación científica es *Pinus pinaster Ait.*, es una conífera natural de la región mediterránea occidental y de la fachada atlántica, y que constituye masas forestales en Francia, España, Portugal, Italia, Marruecos, Argelia y Túnez (Figura 1).



Figura 1.- Mapa con el área ocupada por el pino pinaster en la Península Ibérica y suroeste de Francia

En España es el pino que ocupa de forma natural mayor superficie (1.684.000 ha, Ministerio de Medio Ambiente, 1999), siendo también con el que más se ha repoblado.

En Galicia el pino marítimo, ocupa en masas puras, cerca de 400.000 ha y más de 200.000 ha en masas mixtas con roble y eucalipto (27% de la superficie forestal gallega), con un incremento anual de volumen cercano a los 3 millones de m<sup>3</sup> por año (Xunta de Galicia, 2001). Es plantada a un ritmo de 3.147 ha anuales (Álvarez *et al.* 2005). Su uso aumenta debido a su frugalidad y su buen estado sanitario.



### 2.1.2.- Descripción botánica

El pino pinaster es un árbol de la familia de las pináceas. Alcanza una altura de 20 a 30 metros como norma general, aunque en condiciones excepcionales se han medido pinos que rondan los 40 metros. Su tronco tiene tendencia a ser flexuoso.

El sistema radical es bastante desarrollado y profundo, lo que le confiere una buena resistencia al viento y sus ramas aparecen a lo largo del tronco agrupadas en verticilos. La copa es piramidal en los pinos jóvenes, haciéndose luego redondeada e irregular y su follaje deja pasar bastante luz al suelo, lo que redundaría en la abundancia de sotobosque. La corteza ya es áspera en los pinos jóvenes, aunque luego se hace gruesa y muy resquebrajada. En general el porcentaje de corteza es muy elevado, lo que es un inconveniente para el aprovechamiento de la madera.

Las piñas, que tardan dos años en madurar, son muy grandes y punzantes en el extremo de las escamas. Los piñones son pardo-cenizos, con ala ancha y oscura, de buen sabor aunque pequeño tamaño si se comparan con los del piñeiro manso o piñonero (Rodríguez Soalleiro *et al.*, 1997).

Los pinos pueden tener cada año uno o dos crecimientos en altura. El segundo, si existe, da lugar a un verticilo de ramas de menores dimensiones, por lo que si contamos el número de verticilos importantes podremos conocer de forma aproximada la edad del árbol.

El producto principal que se obtiene en la selvicultura del pino pinaster es la madera. Esta tiene un duramen rojizo y una albura blanco-amarillenta, con anillos de crecimiento anual muy aparentes que le dan una veta característica. Es muy resinosa y propensa a casi todos los defectos de la madera en rollo (nudos, bolsas de resina, etc...).

### 2.1.3.- Requerimientos ecológicos y productividad

El pino gallego es una especie de luz que puede vivir en un rango climático que va desde climas templado-fríos a templados y desde secos hasta muy húmedos. Sus limitaciones son las heladas, vientos fuertes y las nevadas. Soporta mal el encharcamiento. Crece sobre suelos muy someros, arenosos y poco fértiles. Presenta gran facilidad para regenerarse de forma natural por diseminación (Moro, 2002).

*P. pinaster* en Galicia destaca por su rápido crecimiento, con un turno de aprovechamiento muy reducido (30-40 años). En Galicia se distinguen 7 calidades de estación (Rodríguez Soalleiro et al., 1993), la calidad I llega a alcanzar 21 m de altura dominante a los 25 años, con un crecimiento medio de 13,2 m<sup>3</sup>/ha, y la calidad V (calidad media de Galicia) alcanza los 12,5 m de altura dominante y 9,5 m<sup>3</sup>/ha (Bará y Toval, 1983).

Los principales factores que afectan a la calidad, y que por lo tanto, más influyen en la producción son, la nutrición, la profundidad, composición granulométrica y altitud del suelo. Las mejores calidades se encuentran en suelos con profundidades superiores a los 30 cm, situados por debajo de los 400 m de altitud con texturas arenosas. Las variables mencionadas no son las únicas que determinan la calidad de estación, existiendo otras como las climáticas, topográficas, etc., que en muchos casos tienen una importancia decisiva (Bará y Toval, 1983). La disponibilidad de nutrientes en el suelo es otro factor muy importante que, aunque no hay muchos estudios en *P. Pinaster* sobre ello, juega un papel fundamental en la productividad de otras especies forestales en Galicia (Sánchez-Rodríguez et al., 2002; Merino et al., 2003; Zas, 2003a, 2003b). En otras coníferas los problemas nutricionales son generalizables y en *P. Pinaster*, aunque más frugal, es previsible que también lo sea.

En el apartado siguiente se describe la trascendencia de este factor de forma más específica.

## 2.2.- IMPORTANCIA DE LOS FACTORES NUTRICIONALES

En Galicia, las carencias de nutrientes son algo habitual, ya que los suelos poseen poco espesor y texturas muy arenosas, lo que condiciona una baja capacidad de reserva de agua y nutrientes. Además, las condiciones climatológicas de Galicia favorecen el lavado del suelo, los pH generalmente ácidos dificultan la asimilación y favorecen la fijación de nutrientes y el sustrato geológico es escaso en nutrientes, con lo que se puede deducir la escasa fertilidad natural de estos suelos (Carballas, 1997).

Por esta razón, la productividad de las plantaciones forestales en Galicia depende, en gran medida, de aspectos nutricionales. Los suelos ácidos, arenosos y en general escasos en nutrientes de Galicia generan importantes deficiencias nutricionales que limitan drásticamente la productividad de las plantaciones forestales de muchas especies (Merino y Edeso, 1999; Sánchez-Rodríguez et al., 2002; Merino et al., 2003; Zas y Serrada, 2003; Zas, 2003a, 2003b). Se han observado deficiencias nutricionales importantes en Mg y especialmente en P, en *Pinus radiata* (Merino y Edeso, 1999; Sánchez-Rodríguez et al., 2002; Zas y Serrada, 2003; Zas, 2003b), *Pseudotsuga menziesii* (Zas, 2003a) o *Eucalyptus globulus* (Merino et al., 2003), con lo que es esperable que esto también suceda para *P. pinaster*.

Diversos estudios han encontrado, a su vez, una relación significativa entre el índice de calidad de estación y variables que indican el estado nutricional de las plantaciones, especialmente en relación a la nutrición fosfórica. En concreto, se ha observado una relación positiva entre la calidad de estación de *P. radiata* y las concentraciones foliares y edáficas de P (Sánchez-Rodríguez et al., 2002; Zas, 2003b), entre el crecimiento en altura de *P. menziesii* y los niveles foliares de P, K y Ca (Zas, 2003a) y entre la productividad y la nutrición en Ca en *E. globulus* (Merino et al., 2003). Estas deficiencias nutricionales explican la respuesta positiva a la aplicación de fertilizantes, especialmente fertilizantes fosfóricos, observada por distintos autores (Solla-Gullón et al., 2004; Zas et al., 2004<sup>a</sup>; Martins, 2005; Pichel, 2006; Zas et al., 2006). En *P. pinaster*, Martins (2005) encontró respuestas importantes (hasta el 130 %) en crecimiento a la fertilización de establecimiento en diversas localidades gallegas, específicamente cuando se incluía P en la formulación. Por ello, la fertilización, especialmente con fósforo, ha sido ampliamente recomendada en las plantaciones gallegas de diversas

especies. Sin embargo, los fertilizantes fosfóricos son un recurso no renovable que se agotarán o encarecerán extraordinariamente en los próximos años (Runge-Metzger, 1995). Además, la acidez de los suelos gallegos impide un buen rendimiento de la fertilización fosfórica pues la mayoría del P aportado tiende a precipitar en fosfatos insolubles. El uso extensivo de fertilizantes fosfóricos en masas forestales puede, a su vez, contaminar los cursos de agua de los montes y contribuir al proceso de eutrofización (Withers et al., 2001).

Los beneficios que se esperan de la fertilización, son muy variables según la calidad de estación. Cuando la fertilización es eficaz, se produce un aumento del crecimiento anual en altura en las plantas jóvenes, con una reducción de la competencia, y un incremento de la producción, incluso a largo plazo, lo que incrementa el rendimiento económico final de la plantación (Bonneau, 1997).

### 2.3.- EL PROGRAMA DE MEJORA DE *P. pinaster* EN GALICIA

En la década de los 80 el Departamento de Producción Forestal del C.I.F.A. de Lourizán puso en marcha el programa de mejora de *P. pinaster* para Galicia. En 1986 se iniciaron las actividades de mejora sobre esta especie, con la selección de 128 árboles superiores en la comarca Costa Atlántica en función de características de crecimiento, forma del fuste y ramosidad (Vega et al., 1993).

Los árboles plus seleccionados se clonaron por injerto y se estableció en 1990 un huerto semillero en Sergude y en 1998 otro en Monfero, ambos en la provincia de A Coruña, con 116 clones de los 128 árboles plus, cuyo fin principal es la producción de semilla de alta calidad genética para la reforestación en la zona costera de Galicia (Merlo y Fernández-López, 2004). Después de la aprobación del Real Decreto 1356/98 fueron aprobados materiales de base de 27 rodales selectos y el huerto semillero de primera generación de Sergude. Las recomendaciones existentes sobre utilización de materiales de reproducción (Alía et al., 1999) indican la conveniencia de utilizar la procedencia Costa Atlántica en las Regiones de Identificación y Utilización de material forestal de reproducción 1 y 3 (RIUs), (García et al., 2001) y en la RIU 2 se recomienda la procedencia local (Fernández-López, 2001).

Las primeras evaluaciones a los seis años de dos ensayos situados en el área atlántica de Galicia indican el mayor crecimiento de las progenies del huerto semillero con respecto a la semilla comercial (Vega et al., 1997). La estimación de parámetros genéticos en los ensayos instalados en la zona costera a los 8 años de edad indica que el crecimiento en altura, el policiclismo, la longitud media del entrenudo y el ángulo de inserción de ramas muestran heredabilidades individuales moderadas y son susceptibles de mejora por selección recurrente (Zas et al., 2004b). Otros caracteres como la rectitud, inclinación, bifurcación, crecimiento diametral y número y tamaño de ramas muestran heredabilidades familiares moderadas. La eliminación de los peores parentales del huerto basándose en el comportamiento de sus progenies generará, por tanto, un aumento en la ganancia genética esperada (Zas et al., 2004b).

## 2.4.- INTERACCIÓN GENOTIPO X NUTRICIÓN

El comportamiento relativo de los genotipos puede variar en función del ambiente en el que se evalúan y, por tanto, los mejores genotipos en un determinado ambiente pueden no tener un buen comportamiento en otros ambientes. Este fenómeno se conoce como interacción genotipo  $\times$  ambiente. El impacto de la interacción genotipo  $\times$  ambiente en los ensayos de progenie de *P. pinaster* en Galicia es cuantitativamente importante pero se debe a un escaso número de familias inestables o especialmente susceptibles a la variación ambiental. La eliminación de estas familias solventa el problema de la interacción. Por este motivo, se ha sugerido incluir la estabilidad frente a la variación ambiental como otro carácter a tener en cuenta en las futuras selecciones (Zas et al., 2004c). Eliminando las familias inestables, la semilla generada en los huertos semilleros es utilizable, al menos, en toda la RIU 1.

Siendo la nutrición uno de los principales factores ambientales que controla la productividad de las masas forestales en Galicia, es esperable que el comportamiento del material de mejora pueda variar sustancialmente ante distintas disponibilidades de nutrientes o ante distintos regímenes selvícolas (con o sin fertilización). Esto es crítico para la efectividad de los programas de mejora pues las plantaciones de *P. pinaster* en Galicia se realizan sobre terrenos muy variables en cuanto a sus recursos nutricionales (desde suelos forestales esqueléticos hasta tierras agrarias abandonadas profundas y ricas en nutrientes), y existe, a su vez, mucha variación en la intensidad de la silvicultura aplicada (desde el abandono selvícola hasta regímenes intensivos con fertilizaciones periódicas) (Castillón et al., 1998). Por tanto, no sólo es importante conocer la variación genética en las poblaciones de mejora en relación a variables nutricionales, si no también estudiar la relevancia de la interacción familia  $\times$  fertilización en éstas.

Por ello, dentro del programa de mejora de *P. pinaster* en Galicia, se han incluido ensayos factoriales familia  $\times$  fertilización, con el propósito de evaluar una muestra de material seleccionado del programa bajo distintos tratamientos de fertilización de establecimiento y analizar la estabilidad genética de este material frente a los distintos nutrientes (Martins, 2005; Zas & Fernández-López, 2005). El estudio de la estabilidad del material de mejora de esta especie frente a distintas disponibilidades de nutrientes es

fundamental para analizar si es preciso subdividir el área de mejora de la especie en función de los tipos de suelo o si, por ejemplo, es necesario distinguir material para plantaciones fertilizadas y no fertilizadas.

Por otra parte, existe la posibilidad de mejorar genéticamente la eficiencia nutricional como herramienta para disminuir las necesidades de fertilizante. La existencia de una interacción significativa genotipo  $\times$  nutrición puede indicar diferencias en la eficiencia nutricional de los genotipos, es decir, diferencias en el crecimiento por unidad de nutriente consumido. La obtención de genotipos altamente eficientes en el uso de los nutrientes supondría una notable mejoría del pobre estado nutricional de las plantaciones gallegas de esta especie sin necesidad de recurrir a la fertilización intensiva. De este modo, se podría incrementar la productividad utilizando material altamente eficiente en el uso de los nutrientes. Siendo la nutrición uno de los factores ambientales que controla la productividad de las masas forestales en Galicia, es posible, incluso, que las diferencias en desarrollo observadas se deban a una variación genética en la eficiencia con que los distintos genotipos son capaces de asimilar, mover y utilizar los nutrientes para crecer. La importante interacción genotipo  $\times$  ambiente observada en los ensayos de progenie de *P. pinaster* en la zona costera (Zas et al., 2004c) podría estar relacionada, tal como indica Li et al. (1991) para otras especies, con aspectos nutricionales.

Los estudios forestales relacionados con la eficiencia nutricional se centran generalmente en el N, ya que éste es el elemento que más frecuentemente limita el crecimiento en el norte de Europa y Norte América (Jonsson et al., 1997; Miller y Hawkins, 2003). Sin embargo, como ya se ha comentado, el elemento crítico para la nutrición de los pinos en Galicia es el P. La mejora genética de la eficiencia en el uso del P (*PUE*, *Phosphorus use efficiency*) es un tema actual y trascendente en agricultura, principalmente en las zonas tropicales (Gahoonia y Nielsen, 2004; Hammond et al., 2004).

Estudios en campo e invernadero indican un comportamiento diferencial de los genotipos de las poblaciones de mejora de *P. pinaster* y *P. radiata* frente a distintos tratamientos de fertilización sugiriendo distintas capacidades (eficiencias) en la asimilación de nutrientes (Zas et al., 2004a; Zas y Fernández-López, 2005; Martins,

2005). En el caso de *P. pinaster* en Galicia se ha observado una importante interacción familia  $\times$  nutrición en un ensayo en invernadero bajo condiciones controladas (Zas y Fernández-López, 2005). En este último trabajo se observa, a su vez, una gran variación en la sensibilidad de las distintas familias frente a la disponibilidad de nutrientes. Mientras la mayoría de las familias estudiadas presentan un comportamiento relativamente estable, algunas familias cambian drásticamente de ranking según el tratamiento de fertilización y se presentan como especialmente adaptadas a condiciones de baja (o alta) fertilidad.

La mayoría de los estudios de especies arbóreas relacionados con la variación de comportamiento entre genotipos mejorados frente a distintos tratamientos de fertilización se realiza en condiciones controladas en invernadero o cámara de cultivo (Jonsson et al., 1997; Mari et al., 2003a; Mari et al., 2003b; Zas y Fernández-López, 2005). Estos experimentos presentan la gran ventaja de poder limitar la variación ambiental únicamente a la disponibilidad de nutrientes y, así, analizar la interacción entre los genotipos y la nutrición. Esto permite identificar tanto genotipos adaptados a condiciones extremas (alta o baja fertilidad), como genotipos estables con buen comportamiento independientemente del nivel de fertilidad. Sin embargo, presentan dos grandes inconvenientes: por un lado la artificialidad del sistema de cultivo que dista mucho de las condiciones reales en campo, y por otro que los estudios se limitan a un período de tiempo relativamente corto (1-3 años generalmente).

Aunque menos frecuentes, también hay estudios en campo sobre la interacción familia  $\times$  nutrición (Crawford et al., 1991; Fife y Nambiar, 1995; Xiao et al., 2003; Zas et al., 2004a; Martins, 2005; Pichel, 2006; Zas et al., 2006). Estos trabajos son más realistas y permiten un análisis prolongado en el tiempo pero sufren de interferencias con otros factores (variación ambiental local, micorrizas, patógenos, etc.) que pueden dificultar la interpretación de los resultados. Además, la mayoría de los trabajos realizados en campo se realizan en un único sitio y se presta poca atención a la repetitividad de los resultados entre sitios.

En un ensayo familia  $\times$  fertilización de *P. radiata* en tres sitios en Galicia, se observó que la respuesta familiar a la fertilización variaba de sitio a sitio (Zas et al., 2004a; Pichel, 2006; Zas et al., 2006). Es decir, algunas familias que respondían intensamente a



la fertilización en un sitio, no reaccionaban a ésta en otra estación y viceversa. A su vez, la estabilidad familiar genotípica frente a los distintos tratamientos de fertilización no estaba relacionada entre sitios. Estos resultados se presentan como un obstáculo a resolver para mejorar la eficiencia nutricional como herramienta para incrementar la productividad de las plantaciones.

Martins (2005) concluyó que la interacción genotipo por tratamiento había resultado significativa en alguna de las varias parcelas de su ensayo, aunque a pesar de ello, se habían observado cambios de ranking familiares entre tratamientos de fertilización, indicando que las familias responden de forma diferente ante un suministro extra de nutrientes, pudiendo sugerirse una cierta variación genética en la eficiencia nutricional.

## 2.5.- EFICIENCIA NUTRICIONAL

Saber de que manera emplean las plantas los nutrientes absorbidos es algo de vital importancia desde varios puntos de vista, como el de la producción maderera, bien para aumentar la cuantía de la misma, ó simplemente para evitar daños por culpa de plagas como *Hylobius abietis* (Moreira, 2005). Desde un punto de vista meramente ecológico, una alta eficiencia nutricional podría ser ventajosa en suelos con déficit de nutrientes (Núñez-Oliveira et al., 1993; Kloeppel et al., 2000). No obstante, en algunos estudios experimentales se encontraron bajas eficiencias nutricionales tanto en suelos pobres en nutrientes como en suelos ricos, aunque han sido encontradas con mayor frecuencia altas eficiencias nutricionales en suelos pobres que en suelos ricos (Birk & Vitousek, 1986; Bridgham et al. 1995). Algunas veces, la eficiencia nutricional fue similar para distintos suministros de nutrientes (Folk & Grossnicke, 2000).

Por esto es necesario profundizar en el conocimiento de la variación de la eficiencia nutricional, empleando para esto el análisis de nutrientes. Estudios previos (Martins, 2005) tienden a centrarse solo en el crecimiento en altura ó diámetro, aunque otros estudios (Jonsson et al, 1997) dicen que las plantas pueden responder a la fertilización incrementando su concentración de nutrientes, aunque de todas ellas, solo algunas emplean los nutrientes absorbidos para incrementar su biomasa, existiendo por tanto, individuos o familias más preparadas que otras, como por ejemplo, aquellas que tengan raíces más largas, ya que la longitud de la raíz es un factor muy importante para la absorción de los nutrientes (Li et al, 1991).

La eficiencia nutricional es difícil de calcular debido al gran número de variables que la determinan (Sardans et al, 2005). En consecuencia, los resultados dependerán en gran medida de los métodos empleados para su determinación. Se han empleado para determinar la eficiencia nutricional muchas ecuaciones y métodos diferentes. Se pueden encontrar altas eficiencias nutricionales en ecosistemas con un gran déficit de nutrientes en estudios que comparan diferentes condiciones para una misma especie y que fueron calculadas como biomasa de hojas caídas dividido entre la pérdida de nutrientes en esas hojas a través de un gradiente de disponibilidad de nutrientes (Vitousek, 1982). Cuando la eficiencia nutricional se calcula como la producción de biomasa dividida entre la

concentración del nutriente en dicha biomasa, los resultados podrían llegar a ser contradictorios (Wang et al., 1991; Rosati et al., 1999).

Para evaluar la eficiencia nutricional se realizan análisis de varianza y tests de comparación de medias, además de emplearse técnicas de análisis foliar de diagnóstico nutricional, como la técnica de vectores, normalmente utilizadas para el diagnóstico del estado nutricional de una plantación.

La eficiencia nutricional fue descrita por Li et al. (1991) como la biomasa por unidad de nutriente aplicado en el terreno. Existen 2 componentes principales de la eficiencia nutricional, que son la eficiencia en la absorción, que a su vez se divide en absorción propiamente dicha y en enraizamiento, y la eficiencia en el uso, que se divide en translocación y conversión.

La técnica de vectores fue propuesta por Timmer y Stone (1978) y es también conocida como análisis de vectores. En ella, el peso seco de cada acícula se estima a partir del peso de 100 acículas representativas. En esta técnica se representa la concentración de cada nutriente, su contenido y el peso seco de las acículas en un entorno gráfico para evaluar cualitativamente el estado nutricional de una masa arbórea (Solla-Gullón et al., 2004). A partir de la dirección y longitud de la respuesta a un determinado tratamiento se puede indagar sobre el estado nutricional del elemento fertilizado y así mejorar ó completar el diagnóstico, pudiendo detectarse así problemas de toxicidad (respuesta negativa del peso de acículas y aumento de la concentración foliar del nutriente fertilizado), consumo de lujo (sin respuesta en el desarrollo de acículas pero aumento de la concentración y contenido foliar del nutriente fertilizado) ó problemas de antagonismo entre dos nutrientes (respuesta negativa tanto en desarrollo de acículas como en concentración y contenido de un nutriente al fertilizar con otro elemento).

Miller y Hawkins (2003) emplearon la técnica de vectores para estudiar la eficiencia nutricional, caracterizando las condiciones de nutrientes dadas por los distintos tratamientos de fertilización y para ilustrar las diferentes respuestas de los tratamientos. Esta técnica también sirve para identificar los genotipos que sean eficientes en la absorción de nutrientes y los que sean eficientes en el uso de esos nutrientes, ya que si los genotipos aumentan considerablemente su concentración del nutriente, serán

eficientes en la absorción, mientras que si aumentan su contenido en el nutriente serán eficientes en el uso.

Los resultados de la eficiencia nutricional en otras especies fueron diversos, como en el caso de *Pinus taeda*, en el que las raíces fueron la principal causa de variación en la eficiencia de la absorción entre diversas familias, lo que indicó que el aumento en la longitud de las raíces fue el factor determinante en la absorción de los nutrientes (Li et al, 1991), ó en *Pinus sylvestris* hay estudios (Jonsson et al, 1997) que dicen que las familias responden a la fertilización incrementando su concentración del nutriente absorbido, pero solo algunas de ellas lo emplean para incrementar su biomasa.

### 3. - **OBJETIVOS**

En el presente proyecto se pretende demostrar la hipótesis de que la variación en el desarrollo temprano de familias de medios hermanos de la población de mejora de *P. pinaster* en Galicia está relacionada con una variación en la eficacia con que los distintos genotipos son capaces de asimilar y utilizar los nutrientes del suelo. En este trabajo se han planteado los siguientes objetivos:

1. Analizar en profundidad la respuesta del *P. pinaster* a distintos tratamientos de fertilización de establecimiento mediante el análisis de la respuesta en crecimiento y en las concentraciones foliares en nutrientes empleando distintas herramientas de diagnóstico.
2. Determinar la variación genética en caracteres relacionados con la eficacia nutricional de los genotipos
3. Comprobar si la variación genética en la productividad se debe a una variación en la eficiencia nutricional entre genotipos

## **4.- MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1.- DESCRIPCIÓN DEL ENSAYO PROGENIE X FERTILIZACIÓN**

El estudio fue realizado en una de las parcelas del ensayo factorial progenie x fertilización de *P. pinaster*, puesto en marcha por el departamento de Producción forestal del CIFA Lourizán en distintas localidades de Galicia en el año 2003. En estas parcelas se ensayan 28 progenies y 3 testigos comerciales bajo 9 tratamientos de fertilización.

En el presente proyecto de investigación hemos empleado material procedente de una de esas parcelas, concretamente de la de Rebordelo (Pontevedra) de coordenadas 42,46° N, 8,48° W (X = 543050, Y = 4701200, Huso 29 en UTM) a una altitud de 530 m. La evaluación del crecimiento en la serie completa de parcelas ha sido estudiada en otro PFC (Martins, 2005).

#### **4.1.1.- Diseño de la parcela**

El diseño experimental de la parcela consiste en un diseño *split-plot* con 10 bloques. Cada bloque se divide en 9 *whole plots* sobre los que se reparten al azar los 9 tratamientos de fertilización de establecimiento (Tabla 1), siendo estos el factor principal. Dentro de cada *whole plot* se reparten al azar una planta de cada una de las 31 unidades genéticas (28 familias + 3 testigos de semilla comercial), siendo éstas el factor secundario (*split factor*). El espaciamiento entre las plantas es de 2 x 3 m. El número total de plantas en el ensayo es de 31 plantas/unidad experimental x 10 bloques x 9 tratamientos = 2790 plantas.

En el croquis adjunto de la parcela (Anexos), se puede apreciar la distribución de los distintos tratamientos de fertilización y la distribución de los distintos genotipos dentro de cada tratamiento.

#### 4.1.2.- Material vegetal empleado en el estudio

El material de este estudio instalado en la parcela consta de 31 entidades genéticas diferentes. De éstas, 28 son familias de polinización abierta de *P. pinaster* seleccionadas al azar entre los 116 árboles plus del huerto semillero clonal de Sergude, y seleccionados en la zona atlántica costera por sus características superiores de crecimiento, forma del tallo y ramosidad. Además, se incluyen 3 lotes de semilla comercial como testigos. De entre ellos, un testigo es el lote comercial del huerto semillero de Sergude (TSER), otro testigo comercial de material identificado de procedencia interior (TINT) y un tercer testigo comercial de material identificado de procedencia costera (TCOS). El testigo de Sergude (TSER) proviene de una colección de semillas procedentes de la polinización abierta de los árboles plus del huerto semillero, por lo que de alguna manera son la representación de la población completa con sus variantes. Los dos últimos (TINT y TCOS) proceden de semilla no mejorada de categoría identificada empleada comúnmente en el interior y en el área costera de Galicia.

En este proyecto, de las 28 familias, solo se consideran 8 familias representativas de una graduación en crecimiento, en los 5 tratamientos de fertilización que generaron una variación más importante en el desarrollo de la plantas y que se diferencian en el aporte de N y P

Las plantas llevan un etiquetado especial, resistente a condiciones extremas, que permitirá su identificación en campo durante los cinco primeros años. Las etiquetas de las plantas tienen tres letras que indican la especie (en este caso PPI), y a continuación se muestra un código numérico que identifica a la familia, salvo en el caso de los testigos, que están identificados por otro código de cuatro letras según el testigo de que se trate (TSER, TINT, TCOS). Posteriormente, se llevará a cabo un sistema de etiquetado mediante chapas de metal, para poder identificar en años posteriores las plantas de la parcela

La siembra se realizó a principios de Septiembre de 2002 en contenedor Super-leach de 125cc sobre corteza compostada. A pesar de que la siembra fue tardía la planta presentaba un tamaño óptimo en el momento de la plantación con alrededor de 10 cm de

altura, muy buena proporción entre la parte aérea y radical y con un buen sistema radicular: raíces ramificadas y sueltas con crecimientos actuales, pero con el problema de mala sujeción del substrato del cepellón. En el momento de la plantación, en marzo de 2003, extraer la planta del contenedor Super-leach causaba cierta dificultad y el cepellón se deshacía en ocasiones al sacarla. La planta del testigo comercial gallego fue comprada en un vivero forestal de la empresa NORFOR y repicada en el mismo substrato y contenedor.

#### **4.1.3.- Preparación del terreno**

Se realizó un desbroce a hecho, subsolado cruzado dejando un marco de plantación de 3 x 2 y apertura manual de casilla de 40 x 40 x 40 cm en los cruces del subsolado.

#### **4.1.4.- Tratamientos de fertilización empleados en el ensayo**

En el diseño de la parcela se emplearon 8 tratamientos de fertilización, obtenidos a partir de la combinación de cuatro fertilizantes comerciales (Tabla 1), además de un control no fertilizado. Los fertilizantes se administraron inmediatamente después de plantar y su aplicación fue realizada a mano en un círculo de 30 cm de diámetro alrededor de las plantas.

De estos 9 tratamientos, sólo los 5 que generaron una variación más importante en el desarrollo de las plantas y que resultan de distintas combinaciones de P y N (T0, T1, T2, T3 y T6) fueron los considerados.



Tabla 1.- Códigos y composición de los tratamientos de fertilización en el ensayo de progenies. Sombreados los 5 tratamientos considerados en este proyecto

Nutriente	Fertilizante	Dosis	Código del Tratamiento								
			T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
N	Urea	5 g N / planta	-	+	-	+	+	+	-	-	-
P + Ca	Superfosfato	10 g P / planta	-	+	+	-	+	+	-	+	+
K	Sulfato potásico	15 g K / planta	-	+	+	+	-	+	+	-	+
Mg	Sulfato magnésico	5 g Mg / planta	-	+	+	+	+	-	+	+	-

#### 4.1.5.- Situación y descripción de las parcelas

##### 4.1.5.1.- Situación y pertenencia

La parcela de Rebordelo está ubicada en el MVMC de Rebordelo a unos 20 km de Pontevedra y pertenece al Ayuntamiento de Cotobade. Sus coordenadas son 42,46° N, 8,48° W (X = 543050, Y = 4701200, Huso 29 en UTM) a una altitud de 530 m. La precipitación media anual en esta parcela es de 2.380 mm, con una precipitación estival de 79 mm y una temperatura media anual de 11,3 °C. Esta parcela fue instalada en Marzo de 2003.

##### 4.1.5.2.- Descripción geológica y litológica

De acuerdo con la información reflejada en los Mapas Geológicos de España, realizados por el Instituto Geológico y Minero de España en el año 1981, la geología de la parcela situada en Rebordelo, la conforman gneises glandulares con intercalaciones graníticas y esquistos indiferenciados, con lechos micáceos y megacrístales de feldespato muy característicos

#### 4.1.5.3.- Descripción edafológica

Se tomaron muestras de suelo en la parcela del ensayo para realizar análisis químicos y comprobar cual es el estado nutricional de partida. Se tomaron 3 muestras compuestas a partir de 5 submuestras cada una, en zonas donde no se había realizado ningún tratamiento de fertilización (T0). Las muestras de suelo se tomaron con un sacamuestras de suelo de 8 cm de diámetro, tomando muestras del estrato superficial de 20 cm de profundidad. Las muestras tomadas dentro de un bloque se mezclaron y luego se secaron al aire durante unos días. Pasados esos días, se secaron en una estufa a 60° hasta alcanzar peso constante para poder analizarlas a continuación.

En la Tabla 2 se muestran los resultados de los análisis de suelos efectuados en las muestras recogidas en cada una de las parcelas. El valor de pH caracteriza al suelo de esta parcela como muy ácido, consecuencia de la roca madre sobre la que se ha formado. Tiene mucha materia orgánica y N. Los niveles de P son muy bajos, los niveles de K son medios y los niveles de Ca y Mg también son bajos. El análisis granulométrico muestra que se trata de un suelo con textura franco arenosa (Figura 2).

Tabla 2.- Resultado del análisis químico del horizonte superficial del suelo en la parcela de estudio. Se muestran los valores promedio de tres muestras compuestas.

Parcela de Rebordelo		
Roca madre		Gneis
pH		4,0
M. O.	(%)	18,1
N	(g / Kg)	7,1
P Olsen	(mg / Kg)	4,9
K <sup>+</sup>	(mg / Kg)	94,9
Ca <sup>+2</sup>	(mg / Kg)	68,7
Mg <sup>+2</sup>	(mg / Kg)	25,6

El suelo de la parcela de Rebordelo es suelto y profundo, poco pedregoso. Posee una capa superficial de materia orgánica importante, con presencia de restos vegetales

grandes y virutas procedentes del desbroce efectuado sobre el denso matorral preexistente.

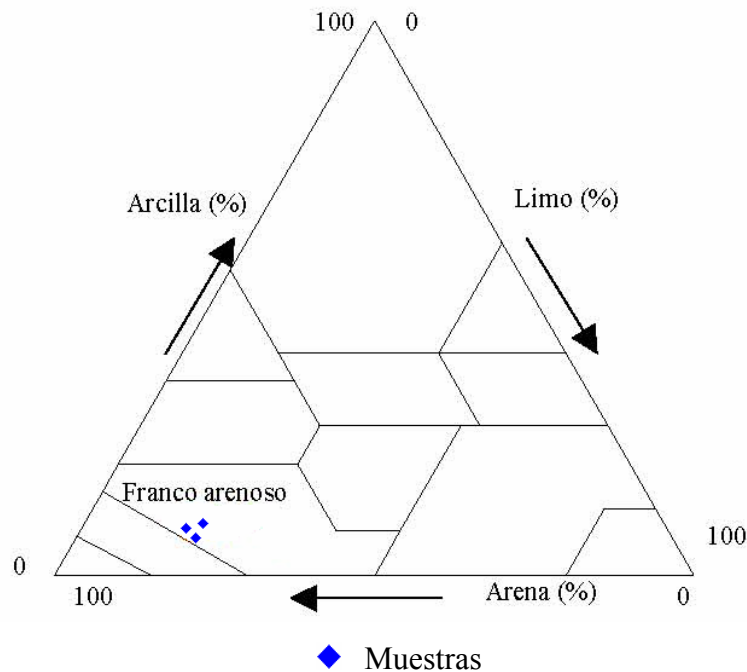


Figura 2.- Situación de las muestras de suelo de las tres parcelas en el triángulo de texturas (U.S.D.A., 1951).

#### 4.1.5.4.- Descripción climatológica

Para analizar la climatología de la parcela se ha utilizado el programa informático CLIMGA, que partiendo de las coordenadas UTM y la altitud a la que se encuentra la parcela, proporciona los datos de precipitación y temperatura media mensual normales (Acevedo, 2000; Zas y Acevedo, 2001).

El programa informático CLIMGA utiliza los datos de las estaciones meteorológicas del sector climático donde se encuentra el punto en cuestión corrigiéndolos según el desnivel altitudinal y la diferencia de latitudes mediante ecuaciones de corrección específicas de cada sector. En nuestro caso, los datos obtenidos para la parcela se recogen en los anexos.

Tabla 3.- Resumen de las variables climáticas de la parcela.

Parcela de Rebordelo		
Precipitación anual	(mm)	2380,50
Precipitación estival	(mm)	79,04
Temperatura media anual	(°C)	11,30
ETP: Evapotranspiración potencial	(mm)	657,40
Índice hídrico	(mm)	260,72
IBP: Intensidad bioclimática potencial	(ubc)	9,65
IBL: Intensidad bioclimática libre	(ubc)	9,65
IBS: Intensidad bioclimática seca	(ubc)	0,00
Eficiencia térmica		Mesotérmico
Índice hídrico anual		Muy húmedo
Escasez de agua	(meses)	2,00
Déficit de humedad	(mm)	21,70
Parada vegetativa por frío	(meses)	3,00

Partiendo de los datos anteriores y mediante el empleo del programa informático PROCLI 1.0, se han obtenido el valor de ETP calculada por Thornthwaite, balance hídrico y diagrama Bioclimático de la parcela (Anexos). Para el cálculo del índice bioclimático y del bioclimodiagrama se utilizó una capacidad de retención de agua en el suelo de 100 mm y un coeficiente de escorrentía del 10%. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 3 en la que se observan diferentes clasificaciones climáticas e índices fitoclimáticos de la parcela.

Según la clasificación climática de Allué Andrade (1966), el clima de la parcela de Rebordelo, se encuentran dentro del subtipo fitoclimático nemoral genuino fresco tibio VI(V) con tendencia al nemoromediterráneo genuino VI(IV)2.

#### 4.1.5.5.- Vegetación preexistente

En la parcela existía matorral denso y alto de *Ulex* sp., *Rubus* sp. y *Cytisus* sp., con pies aislados de tamaño variable de *Quercus robur*, *Betula celtiberica*, *Eucalyptus globulus*, *Pinus pinaster*, *Ilex aquifolium*, *Pyrus* sp. y *Cornus* sp. A excepción de dos pies de

dimensiones considerables de acebo, el resto se han desbrozado antes de la plantación, dejando un tamiz espeso de restos de materia orgánica.

#### *4.1.5.6.- Vegetación potencial*

La parcela, según el Mapa de Series de Vegetación de Rivas - Martínez (1987), se encuentran dentro de la región eurosiberiana atlántico-europea. Pertenecen al piso Colino y dentro de este, se encuadra en la serie de vegetación 8ª o colina galaicoportuguesa acidófila del roble o *Quercus robur* (*Rusco aculeati-Querceto roboris sigmetum*) con una vegetación potencial de robledales acidófilos. Debido a la inexistencia de particularidades adversas en cuanto a pendientes, pedregosidad, etc, podemos concluir que la vegetación clímax de la zona sería de robledales en toda la superficie.

#### *4.1.5.7.- Cuidados posteriores a la masa*

Después de la plantación, se realizaron en la parcela labores de mantenimiento. Se realizaron desbroces anuales manuales y mecanizados en las calles de separación para evitar posibles incendios, mejorar la transitabilidad y reducir la vegetación competidora, así como desbroces manuales alrededor de las plantas.

## 4.2.- MEDICIONES, TOMA DE MUESTRAS Y ANÁLISIS

### 4.2.1.- Muestreos y mediciones

El muestreo, realizado en diciembre del año 2004, 2 períodos vegetativos después de la plantación, se efectuó sobre dos lotes de plantas distintos.

En el primer grupo de plantas se muestrearon los testigos TSER fertilizados con los 5 tratamientos objeto de estudio (ver Tabla 1) en 5 de los 10 bloques de la parcela ( $n = 5T \times 5B = 25$ ). En este grupo de plantas se practicó un muestreo destructivo, arrancando las plantas del suelo, cuidando de extraer la mayor parte posible del sistema radical. A continuación se separaron y se secaron a 65° C hasta peso constante las raíces, tallos y acículas, determinándose los pesos secos correspondientes. A su vez, se determinó el peso unitario de cada acícula mediante el conteo y peso de 100 acículas representativas. Las muestras de acículas se mantuvieron para su posterior análisis.

En el segundo grupo de plantas, se muestrearon acículas de 2° año en las 8 familias seleccionadas bajo 5 tratamientos de fertilización en 5 bloques. Con el fin de conocer mejor la variabilidad intrafamiliar, el muestreo se completó en 3 de las 8 familias, muestreándose los 10 bloques de la parcela. El número de plantas muestreadas fue, por tanto,  $(5F \times 5T \times 5B) + (3F \times 5T \times 10) = 275$  plantas. Las acículas se secan en la estufa a 65° C hasta peso constante y se molieron para su posterior análisis. Como en el caso anterior, se determinó el peso unitario de acícula mediante el conteo y pesado de 100 acículas representativas.

En los 2 grupos de muestreo se evaluó la altura total ( $H_2$ ) y el diámetro ( $D_2$ ) en todas las plantas, determinándose el índice volumétrico  $H_2 \cdot D_2^2$  como indicativo de la producción de volumen. La relación lineal (análisis de regresión simple) obtenida entre el peso seco de los distintos compartimentos y el índice volumétrico en los TSER, se utilizó para estimar la biomasa generada en cada planta de las 8 familias a partir de las mediciones de altura y diámetro.

#### 4.2.2.- Análisis de nutrientes foliares

El número de acículas muestreadas fue como mínimo de 100 acículas maduras del año, por debajo del último verticilo (crecimiento de otoño) y siempre orientadas hacia el SW. El muestreo se realizó sobre 5 de los 10 bloques de la parcela, salvo en 3 familias que se muestrearon en los 10 bloques. El tamaño de la muestra resultante fue de (5 familias x 5 tratamientos x 5 bloques) + (3 familias x 5 tratamientos x 10 bloques) = 275 plantas.

Las acículas muestreadas se guardaron en bolsas de plástico numeradas. Las muestras se almacenaron a 4° C durante 7 días hasta su procesado. Las acículas fueron separadas de la vaina con la ayuda de unas tijeras pequeñas. Las muestras se secaron en una estufa a una temperatura de 65° C hasta peso constante (aproximadamente 5 días). Una vez secas, se realizaron 3 muestras compuestas para estimar la humedad residual. Esta humedad se calculó secando las muestras compuestas a 105° C y a continuación se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Humedad residual} = (1 - R) \cdot 100, \text{ donde } R = \frac{\text{Peso a } 105^{\circ} \text{ C}}{\text{Peso a } 65^{\circ} \text{ C}}$$

Por último se molieron con un molinillo eléctrico todas las muestras de acículas hasta que quedaron en forma de polvo. El contenido se vació en botes numerados y se almacenó en oscuridad.

La concentración de fósforo en las hojas se determinó tras la digestión seca de los tejidos vegetales secos y molidos (Gallardo & Merino, 1993), siguiendo el método colorimétrico del molibdato amónico-ácido sulfúrico empleando microplacas de 96 cubetas y un lector de microplacas. La realización de este método usando microplacas supone un gran avance debido al ahorro de tiempo, la comodidad del análisis y el bajo gasto de reactivos contaminantes.

#### 4.2.2.1.- Procedimiento de digestión

La digestión se realizó de acuerdo con el método propuesto por Jones et al. (1991) adaptado a las características de nuestras muestras. El procedimiento se detalla a continuación:

- Se pesan 0,3 g de muestra foliar molida en erlenmeyers numerados con lápiz y se añaden 10 ml de nitrato de magnesio  $[Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O]$  para que no se volatilice el fósforo durante la calcinación. Esta mezcla se deja secar durante un día en una estufa a 80 ° C hasta que se evaporan los 10 ml del nitrato.
- Se calcinan todas las muestras en una mufla a 200 ° C durante 1 hora y luego a 500 °C durante 4 horas (hasta que adquiere un color blanquecino que muestre que la calcinación es correcta). De esta forma lo que se consigue es separar el fósforo de la matriz a la que se encuentra ligado. Al estar libre permite el cálculo de su concentración.
- Se diluyen las cenizas con 8 ml de ácido clorhídrico (HCl) 1 M. El erlenmeyer donde están las cenizas se lava tres veces con agua destilada hasta verter todo el contenido (recuperación cuantitativa) en un matraz de 25 ml y se enrasa. A continuación se trasfiere todo el volumen de ese matraz a botes de plástico numerados y se guarda en un frigorífico a 4° C hasta el análisis (10 días).

#### 4.2.2.2.- Valoración colorimétrica

La valoración colorimétrica se realizó siguiendo el protocolo empleado por Covelo y Gallardo (2002):

- En primer lugar se preparan los reactivos necesarios. El primer reactivo se obtiene disolviendo 25 g de molibdato amónico  $[(NH_4)_6 Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O]$  en 200 ml de agua destilada (es necesario calentar para que se produzca la mezcla). Cuidadosamente se añaden 280 ml de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) concentrado en 400 ml de agua destilada, mezclando y enfriando. A continuación se añade la solución de



molibdato amónico en la solución ácida. Por último se mezcla y se deja enfriar. El segundo reactivo se obtiene disolviendo 0,05 g de cloruro de estaño ( $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) en 25 ml de ácido clorhídrico al 2 % (pipetear 1 ml de HCl y enrasar a 50 ml). Esta solución se debe preparar inmediatamente antes de su uso.

- Para la lectura de la absorbancia se tomó una alícuota de 25  $\mu\text{l}$  de cada muestra recuperada y se diluyó con 175  $\mu\text{l}$  de agua destilada. A continuación se le añadieron 20  $\mu\text{l}$  de la disolución de molibdato amónico y 40  $\mu\text{l}$  de la disolución de cloruro de estaño. Por lo tanto el volumen total en cada pocillo de la microplaca era de 260  $\mu\text{l}$ . Esta mezcla desarrolla un color azul intenso proporcional a la concentración de fósforo.

#### 4.2.2.3.- Cálculo de la recta patrón

Se procedió al establecimiento de una recta patrón mediante el uso de patrones de concentraciones conocidas. El espectrofotómetro ofrece los resultados de absorbancia por lo que mediante esta recta se calculó la concentración de todas las muestras. El sistema empleado fue el siguiente:

- Preparación de la solución estándar madre de 100 mg P / L: se disuelven 0,4393 g de fosfato ácido de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) en agua y enrasar a un litro.
- Preparación de la solución estándar de trabajo de 2 mg P / L: tomar 1 ml de la solución estándar madre en un matraz de 50 ml y enrasar a volumen.
- Preparación de patrones con 0, 5, 10, 15, 20, 25 y 50 ml del estándar de trabajo ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) en matraces aforados de 50 ml. Con esto obteníamos una concentración de los patrones de 0, 0'2, 0'4, 0'6, 0'8, 1 y 2 mg P / L.

A continuación al aplicar los reactivos a los patrones por triplicado en la microplaca se obtenía la absorbancia de cada patrón:

$$\text{Absorbancia} = a + b \cdot \text{concentración}$$

Como los datos de absorbancia y concentración son conocidos obteníamos la recta patrón por regresión lineal. Después se conseguía la concentración de todas las muestras:

$$\text{Concentración} = \frac{(\text{absorbancia} - a)}{b}$$

Esta concentración que se obtiene es la que existe en el pocillo de la microplaca (260  $\mu\text{l}$ ). Aplicando:

$$\text{Concentración pocillo} \cdot \text{volumen pocillo} = \text{Concentración alícuota} \cdot \text{volumen alícuota}$$

$$(260 \mu\text{l}) \qquad \qquad \qquad (25 \mu\text{l})$$

obtenemos la concentración de la alícuota.

Por último calculamos los mg P  $\text{g}^{-1}$  muestra seca del modo siguiente:

$$\frac{\left( \frac{\text{Concentración alícuota} \cdot \text{volumen de recuperación}}{100 \mu\text{l ml}^{-1} \cdot 0,30 \text{ g}} \right)}{\left( \frac{100 - \text{humedad}}{100} \right)}$$

donde el volumen de recuperación es 25 ml

El peso seco de cada muestra de 0,30 g se corrigió con la humedad residual (1,61 %).

El cálculo de la recta patrón se realizó en cada lectura del espectrofotómetro, para a continuación obtener las concentraciones de las muestras (Figura 3)

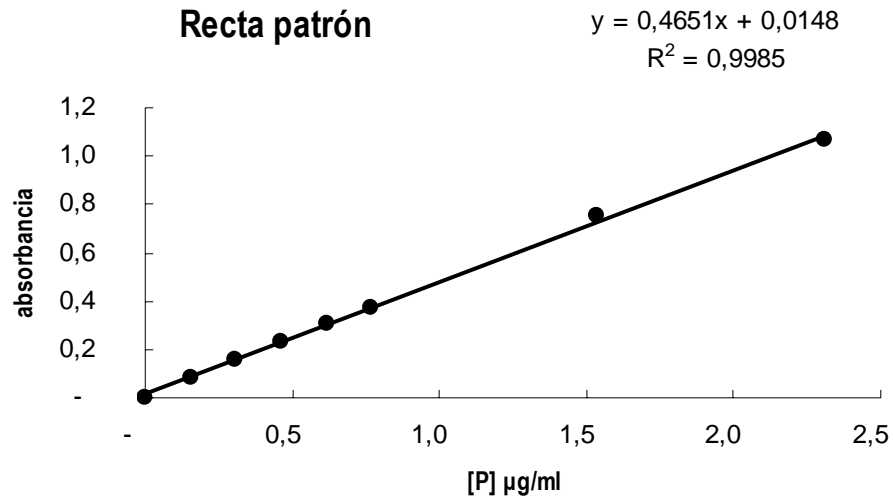


Figura 3.- Ejemplo de una recta de patrón fosfato obtenida en el laboratorio.

Se procedió a la calcinación de muestras control para confirmar que no existía una pérdida de fósforo durante la ignición. Además, se analizó una muestra por triplicado mediante ICP-AES tras digestión con horno microondas (CACTI-Universidad de Vigo), y obtuvimos que por nuestro método se recuperaba el 89 % del fósforo.

### 4.3.- ANÁLISIS DE DATOS

#### 4.3.1.- Análisis de varianza

El efecto de los tratamientos de fertilización y la variación genética, se analizó mediante análisis de varianza. En el caso del grupo de muestreo TSER, el modelo fue:

$$y_{ij} = \mu + T_i + B_j + \varepsilon_{ij}$$

donde  $y_{ij}$  es el valor de la variable en la planta TSER del bloque  $j$  y la fertilización  $i$ ,  $\mu$  es la media global,  $T_i$  el tratamiento,  $B_j$  el bloque y  $\varepsilon_{ij}$  el error experimental.

En el caso del grupo de muestreo de las 8 familias, se utilizó un modelo para diseños split plot:

$$y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + F_k + TF_{ik} + TB_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

donde  $y_{ijk}$  es el valor de la variable en la planta TSER del bloque  $j$ , fertilización  $i$  y familia  $k$ ;  $\mu$  es la media global,  $T_i$  el tratamiento,  $B_j$  el bloque,  $F_k$  la familia,  $TF_{ik}$  la interacción tratamiento por familia,  $TB_{ij}$  la interacción tratamiento por bloque y  $\varepsilon_{ijk}$  el error experimental. Por tratarse de un diseño split plot en distintas unidades experimentales para los distintos factores, y por tanto distintos errores de contraste, el modelo se analizó mediante un modelo mixto considerando todos los factores fijos a excepción de la interacción TxB, que se consideró al azar.

La comparación de medias entre tratamientos y familias se realizó mediante el test de Tukey al 0,05 % de probabilidad.

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete SAS 8.0 (SAS-INSTITUTE, 1999).

#### **4.3.2.- Relaciones alométricas**

En el grupo de plantas TSER, se analizó si la fertilización afectó a las relaciones alométricas ó distribución de biomasa en los distintos compartimentos. El análisis se realizó mediante análisis de crecimiento comparando las pendientes de las relaciones alométricas entre las plantas fertilizadas con P y sin P. Las relaciones alométricas se estudiaron en base logarítmica, comparando cada compartimento con la suma de los restantes (Chambel, 2006)

#### **4.3.3.- Diagnóstico nutricional**

El diagnóstico nutricional de la parcela en relación a la nutrición fosfórica, se realizó mediante el método de los niveles críticos y mediante la técnica de vectores. Se consideraron como nivel crítico y marginal de la concentración de P en las hojas 1,0 y 1,2 mg de P/g respectivamente (Bonneau, 1997).

En la técnica de vectores se representa la concentración de cada nutriente, su contenido y el peso seco de sus acículas en un entorno gráfico para evaluar cualitativamente el estado nutricional de la masa. Este método suele usarse para el diagnóstico de deficiencias nutricionales, consumos de lujo, toxicidades o diluciones de nutrientes foliares por la producción de biomasa (Solla-Gullón et al., 2004).

En este estudio, se aplicó de 2 maneras, para la biomasa de acículas estimada a partir de las relaciones  $NDW = f(h \cdot d^2)$  de los TSER y para el peso unitario de acículas, expresándose en un diagrama de vectores (Figura 4), en el cual los valores del tratamiento control se han usado como la referencia contra la que se representa los valores del resto de las parcelas fertilizadas

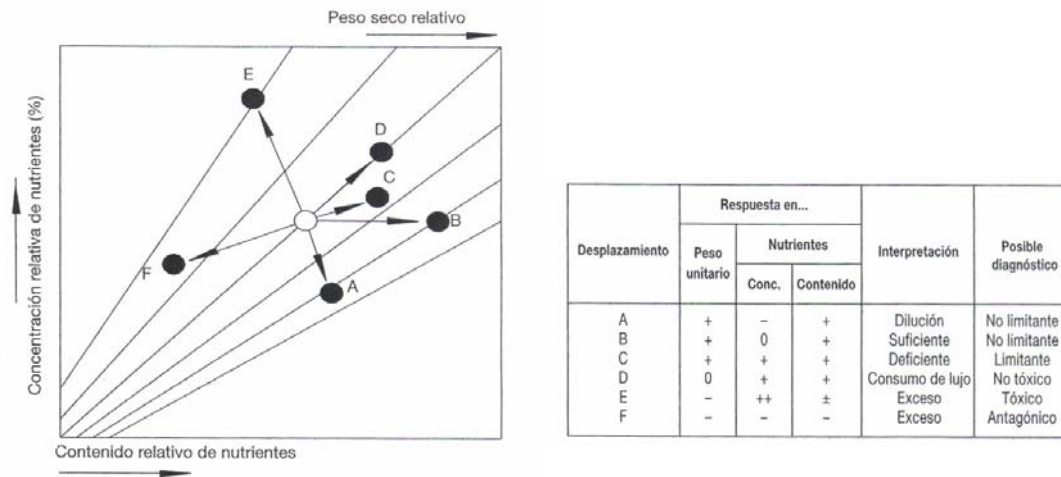


Figura 4.- Interpretaciones de los desplazamientos de los vectores en la concentración y contenido de nutrientes y peso unitario. +: aumento. -: disminución. ±: aumento ó disminución. 0: no varía. Adaptado de Timmer y Stone (1978).

#### 4.3.4.- Análisis de la eficiencia nutricional

Las plantas más eficientes en el uso del P son aquellas capaces de crecer ante disponibilidades bajas de P. Por ello, la variable usada para describir la eficiencia del uso del P es la relación entre el crecimiento y el P disponible. Esta eficiencia puede dividirse en dos componentes, la eficiencia de la absorción de P y la eficiencia del uso del P (Li et al., 1991). La primera viene dada por la relación entre la cantidad total de P de la planta y el P disponible, y está relacionada con la capacidad de absorción del nutriente. La segunda viene dada por la relación entre la biomasa y la cantidad de P en la planta, y está relacionada con la capacidad de la planta para utilizar el P absorbido para producir biomasa. La relación entre estos componentes viene dada por:

$$\text{Eficiencia del uso del P} = \text{Eficiencia absorción} = \text{Eficiencia uso}$$

$$\frac{\text{Biomasa}}{\text{P disponible}} = \frac{\text{Contenido P}}{\text{P disponible}} = \frac{\text{Biomasa}}{\text{Contenido P}}$$

Al no disponer de una estimación del P disponible para cada planta en este proyecto, supondremos una disponibilidad constante para cada tratamiento de fertilización y

asumiremos el contenido de P en las hojas como un indicador de la eficiencia de absorción, y la relación entre la biomasa y el contenido de P en las hojas (inversa de la concentración de P) como indicativo de la eficiencia del uso del P.

A su vez, el análisis de la eficiencia nutricional también se realizó utilizando la técnica de vectores (Miller & Hawkings, 2003), de manera que si la familia tiene una concentración relativa de P mayor al 100 %, sabemos que será más eficaz absorbiendo el nutriente, y que si el contenido relativo de P es mayor al 100 %, será más eficaz en el uso del nutriente, esto es produciendo biomasa, como se puede ver en la Figura 5.

Esto, al igual que en el diagnóstico nutricional, se aplicó para la biomasa de acículas y para el peso unitario de acículas, expresándose en un diagrama de vectores (Figura 4)

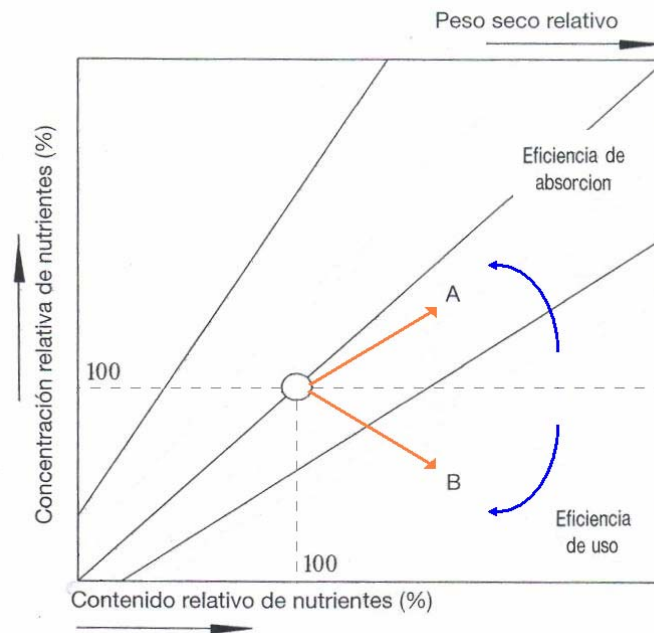


Figura 5.- Ejemplo de la técnica de vectores para el análisis de la eficiencia nutricional.

## 5.- RESULTADOS

### 5.1.- EFECTO SOBRE EL CRECIMIENTO

En la Tablas 4 y 5, se muestran los análisis de varianza para las variables de crecimiento, donde se observan los niveles de significación de cada uno de las fuentes de variación estudiadas, para los dos lotes de muestras.

Tabla 4.- Resumen del análisis de varianza para la altura, diámetro y volumen en el grupo de los TSER. Se presentan los F ratios y sus correspondiente niveles de probabilidad (\*\*\*) =  $p < 0,001$ ; \*\* =  $p < 0,01$ ; \* =  $p < 0,05$ ; n. s. =  $p > 0,05$ ). Siendo G. L. los grados de libertad.

Fuente de variación	G. L.	H		D		V	
		F	P<F	F	P<F	F	P<F
<b>Fertilización (T)</b>	4	5,46	**	6,13	**	3,29	*
<b>Bloque (B)</b>	4	1,55	n. s.	2,49	n. s.	1,85	n. s.

Tabla 5.- Resumen del análisis de varianza para la altura, diámetro y volumen en el grupo de las 8 familias. Se presentan los F ratios y sus correspondiente niveles de probabilidad (\*\*\*) =  $p < 0,001$ ; \*\* =  $p < 0,01$ ; \* =  $p < 0,05$ ; n. s. =  $p > 0,05$ ). Siendo G. L. los grados de libertad.

Fuente de variación	G. L.	Término de error	H		D		V	
			F	P<F	F	P<F	F	P<F
<b>Fertilización (T)</b>	4	T * B	5,23	**	6,09	***	6,93	***
<b>Bloque (B)</b>	9	T * B	0,41	n. s.	1,96	n. s.	1,21	n. s.
<b>Familia (G)</b>	7	error	8,54	***	4,86	***	5,66	***
<b>T*G</b>	28	error	1,16	n. s.	1,2	n. s.	1,08	n. s.

De las Tablas 4 y 5, podemos obtener las siguientes deducciones:



- La fertilización (T), resultó significativa para todas las variables de crecimiento consideradas, indicando que hay tratamientos gracias a los cuales las plantas crecen significativamente más que con otros.
- El bloque (B), no resultó ser significativo ni para los testigos ni para las familias, indicándonos que no hay diferencias significativas entre los distintos bloques.
- La familia (G), resultó siempre altamente significativa para las variables consideradas, lo cual nos indica que hay una importante variación genética en el crecimiento.
- La interacción fertilización x Familia (T\*F), no resultó ser significativa, indicándonos que los tratamientos de fertilización tienen el mismo efecto sobre las distintas familias.

La comparación estadística de las medias de los tratamientos de fertilización, se muestra en la Figura 6.

En general, se observa que todas las plantas fertilizadas muestran un crecimiento significativamente superior al control (T0), tanto en altura como en diámetro, con lo que se demuestra que la fertilización es beneficiosa, y que según la composición del tratamiento aplicado, la respuesta puede variar en cierta medida. En el caso de la altura y el diámetro, tanto para TSER como para las familias, no se diferencian apenas los distintos tratamientos de fertilización, por lo que podríamos concluir que el fósforo no juega un papel muy determinante; sin embargo sí se observa una variación en el índice volumétrico, y donde los tratamientos sin fósforo muestran crecimientos significativamente inferiores a los que poseen fósforo. Esto no se observa en los TSER, probablemente por el reducido tamaño de la muestra y por la variabilidad genética interna.

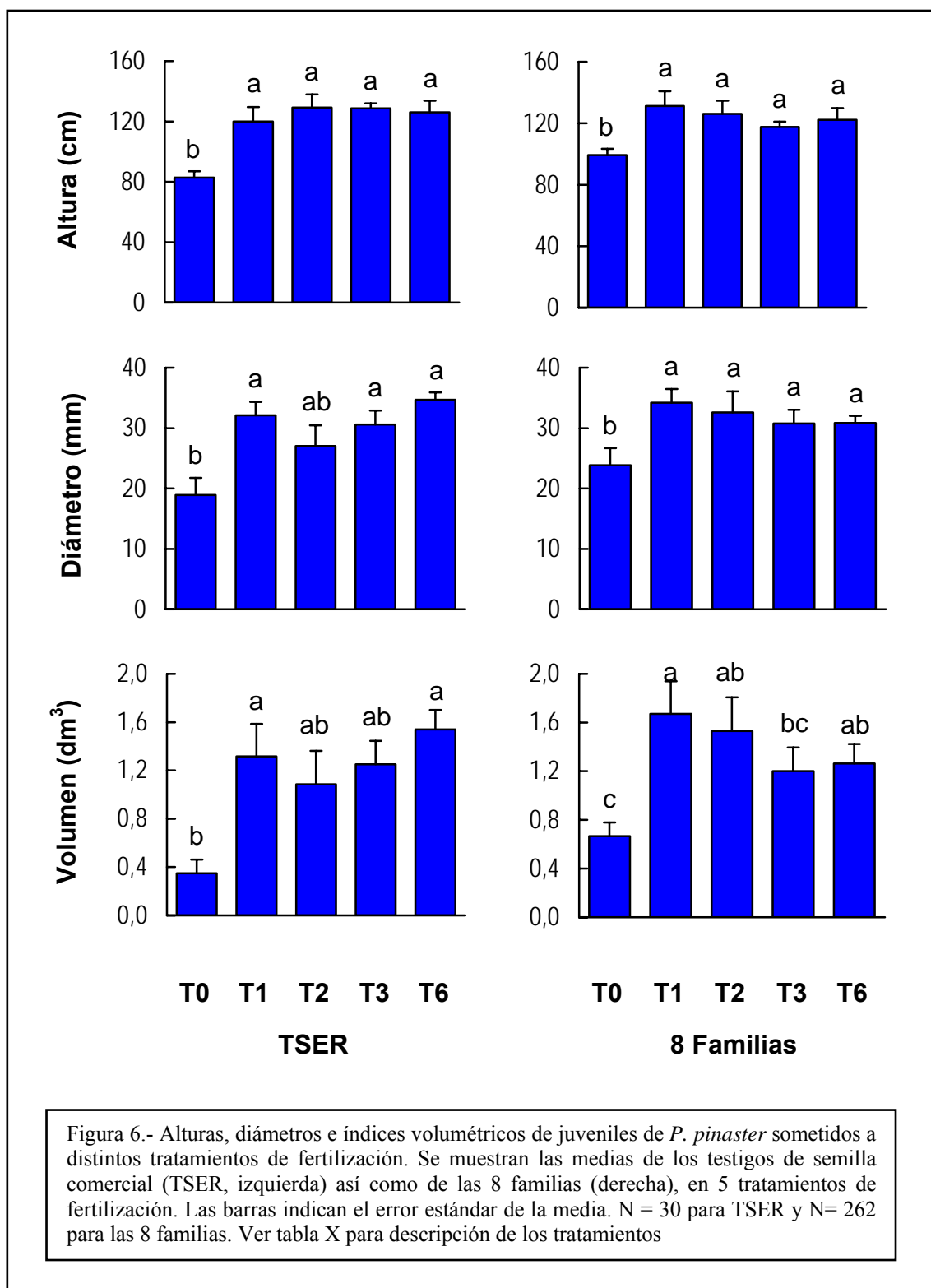


Figura 6.- Alturas, diámetros e índices volumétricos de juveniles de *P. pinaster* sometidos a distintos tratamientos de fertilización. Se muestran las medias de los testigos de semilla comercial (TSER, izquierda) así como de las 8 familias (derecha), en 5 tratamientos de fertilización. Las barras indican el error estándar de la media. N = 30 para TSER y N= 262 para las 8 familias. Ver tabla X para descripción de los tratamientos

## 5.2.- EFECTO SOBRE LAS BIOMASAS

En la Tabla 6 se muestran el análisis de varianza para las distintas variables de biomasa en el grupo de muestreo de los TSER, donde se observan los niveles de significación de cada uno de las fuentes de variación estudiadas.

Tabla 6.- Resumen del análisis de varianza para los pesos secos de acículas (NDW), raíces (RDW) y tallos (SDW), así como el RSR (relación peso de la raíz entre peso de la parte aérea) para el grupo de muestreo TSER. Se presentan los F ratios y sus correspondiente niveles de probabilidad (\*\*\*) =  $p < 0,001$ ; \*\* =  $p < 0,01$ ; \* =  $p < 0,05$ ; † =  $p < 0,1$ ; n. s. =  $p > 0,05$ ). Siendo G. L. los grados de libertad

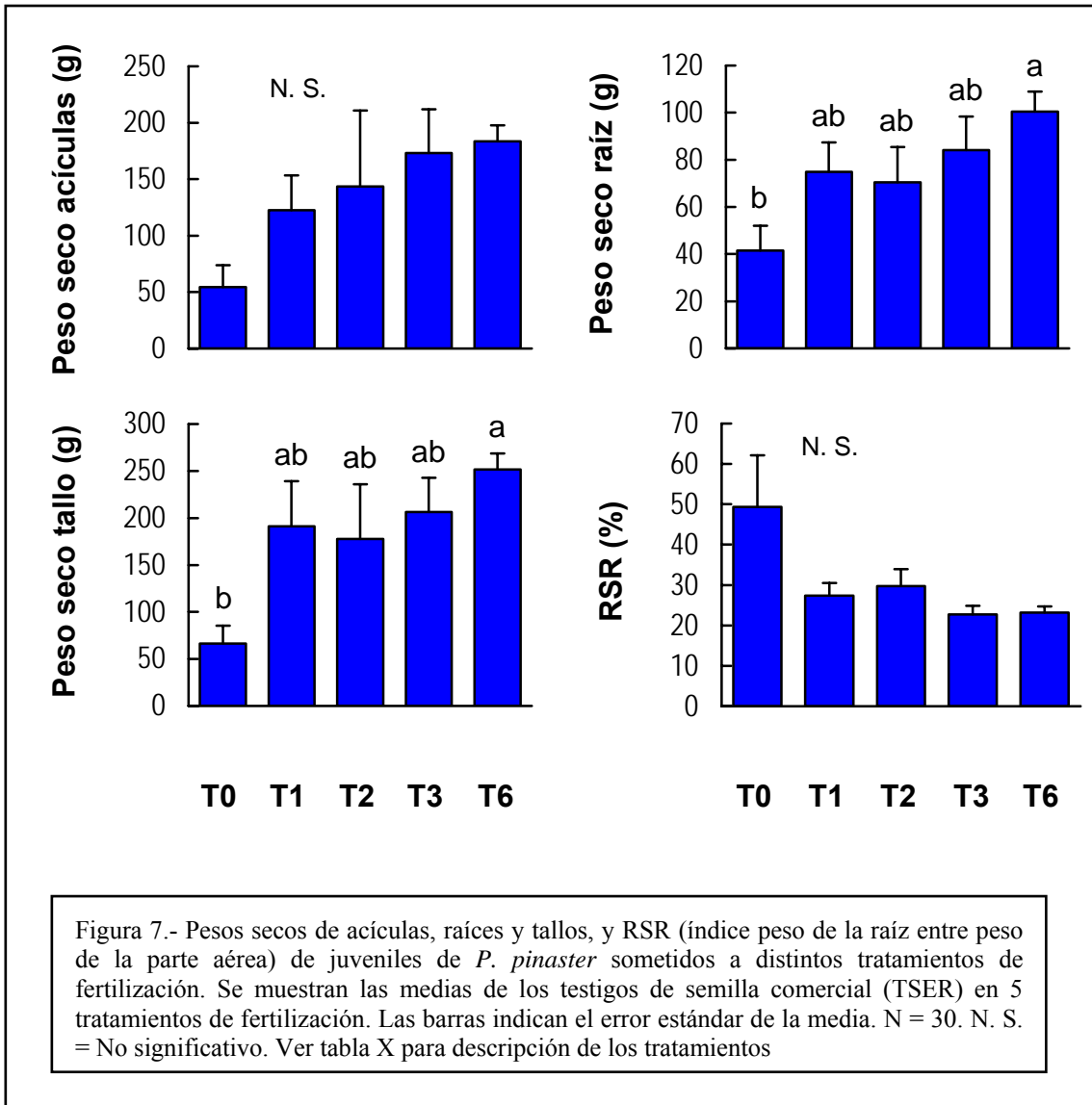
Fuente de variación	G. L.	NDW		RDW		SDW		RSR	
		F	P<F	F	P<F	F	P<F	F	P<F
<b>Fertilización (T)</b>	4	1,61	n. s.	2,88	†	2,78	†	2,02	n. s.
<b>Bloque (B)</b>	4	1,81	n. s.	1,91	n. s.	1,66	n. s.	0,84	n. s.

De la Tabla 6 se puede deducir que la fertilización (T), resultó ser poco significativa para los pesos secos de las raíces y de los tallos de los testigos (TSER). Esto nos indica que hay tratamientos, gracias a los cuales, las plantas crecen significativamente algo más que con otras. El bloque (B), no resultó ser significativo, indicándonos que no hay crecimientos más significativos en unos bloques que en otros.

La comparación estadística de las medias de los tratamientos de fertilización, se muestra en la Figura 7.

Tanto para las gráficas de pesos secos de raíz y de tallos, el tratamiento de fertilización que más ha influido positivamente ha sido el T6, aunque los tratamientos T1, T2 y T3 también experimentaron un gran aumento con respecto al tratamiento de control (T0).

Como se pudo apreciar en el análisis de varianza (Tabla 6), los factores que resultaron ser no significativos (peso seco de acículas y el índice peso de la raíz entre peso de la parte aérea), pudieron deberse a los grandes errores estándar que vienen derivados de un pequeño tamaño de la muestra y una alta variación interna.



### 5.3.- EFECTO SOBRE VARIABLES RELACIONADAS CON LA EFICIENCIA NUTRICIONAL DEL P

En las Tablas 7 y 8, se muestran los análisis de varianza para las variables relacionadas con la eficiencia nutricional, donde se observan los niveles de significación de cada uno de las fuentes de variación estudiadas.

Tabla 7.- Resumen del análisis de varianza para la concentración de fósforo en acículas, peso seco de 100 acículas, fósforo en acículas y fósforo en 100 acículas en el grupo de muestreo del TSER. Se presentan los F ratios y sus correspondiente niveles de probabilidad (\*\*\*) =  $p < 0,001$ ; \*\* =  $p < 0,01$ ; \* =  $p < 0,05$ ; n. s. =  $p > 0,05$ ). Siendo G. L. los grados de libertad.

Fuente de variación	G. L.	[P]		NDW100		P		P100	
		F	P<F	F	P<F	F	P<F	F	P<F
<b>Fertilización (T)</b>	4	5,42	**	5,06	**	1,59	n. s.	5,05	**
<b>Bloque (B)</b>	4	3,97	*	1,72	n. s.	1,69	n. s.	2,47	n. s.

Tabla 8.- Resumen del análisis de varianza para la concentración de fósforo en acículas, peso seco de 100 acículas, fósforo en acículas y fósforo en 100 acículas en el grupo de muestreo de las 8 familias. Se presentan los F ratios y sus correspondiente niveles de probabilidad (\*\*\*) =  $p < 0,001$ ; \*\* =  $p < 0,01$ ; \* =  $p < 0,05$ ; n. s. =  $p > 0,05$ ). Siendo G. L. los grados de libertad.

Fuente de variación	G. L.	Término de error	[P]		NDW100		P		P100	
			F	P<F	F	P<F	F	P<F	F	P<F
<b>Fertilización (T)</b>	4	T * B	5,35	**	0,81	n. s.	8,72	***	3,03	*
<b>Bloque (B)</b>	9	T * B	0,98	n. s.	1,05	n. s.	1,01	n. s.	1,29	n. s.
<b>Familia (G)</b>	7	error	2,16	*	4,56	***	4,36	***	4,87	***
<b>T*G</b>	28	error	0,68	n. s.	0,75	n. s.	1,1	n. s.	0,84	n. s.

De las Tablas 7 y 8, podemos obtener las siguientes deducciones:

- La fertilización (T), resultado significativa para las todas las variables consideradas, excepto para el contenido en fósforo de las acículas para juveniles de los testigos (TSER) y para el peso seco de 100 acículas para los juveniles de las familias.
- El bloque (B), no resultado ser significativo ni para los testigos ni para las familias, salvo para la concentración de fósforo en los testigos (TSER), lo que nos indica, en este caso, cierta variación ambiental para esta variable.
- La familia (G), resulta siempre altamente significativa para las variables consideradas, lo cual nos indica una fuerte variación genética en variables relacionadas con la eficiencia del uso del P.
- La interacción fertilización x Familia (T\*F) no resultado ser significativa, indicándonos que todas las familias se comportan de igual forma ante los tratamientos de fertilización.

La comparación estadística de las medias de los tratamientos de fertilización, se muestra en la Figura 8. Como se observa, los valores de concentración de fósforo, son mas pequeños en los testigos (TSER) que en las familias, aunque la respuesta a la fertilización es paralela (equivalente) ya que los distintos tratamientos tienen un efecto parecido tanto en unos como en otros. En ambos casos la concentración de P en la hojas aumenta significativamente cuando se fertiliza con P, aunque en los testigos no se llega a superar el nivel crítico. En el caso de las 8 familias, tras la fertilización fosfórica, los niveles de P en las hojas superaron el nivel crítico. Esto podría deberse a que las familias, al ser seleccionadas al azar, no parecen representar una muestra equivalente a la de los testigos, ya que los niveles de concentración de fósforo de los testigos, son mucho más bajos.

Las bajas concentraciones de P en el tratamiento no fertilizado (inferiores al nivel crítico ó marginal (Bonneau, 1997)) indican una deficiencia nutricional de P en la parcela que concuerda con la respuesta en crecimiento a la fertilización fosfórica.

Las graficas de contenido en fósforo de las acículas, nos muestran una alta cantidad de fósforo en las plantas que se trataron con fertilizantes con fósforo. Esto solo ocurre para las familias, ya que para los testigos el tratamiento no resultado ser un factor significativo.

En cuanto al contenido en fósforo de 100 acículas, en las familias sucede lo mismo que en caso anterior, la fertilización fosfórica aumentó significativamente el contenido de P promedio por acícula. Esta relación no es tan evidente en el caso de los testigos TSER.

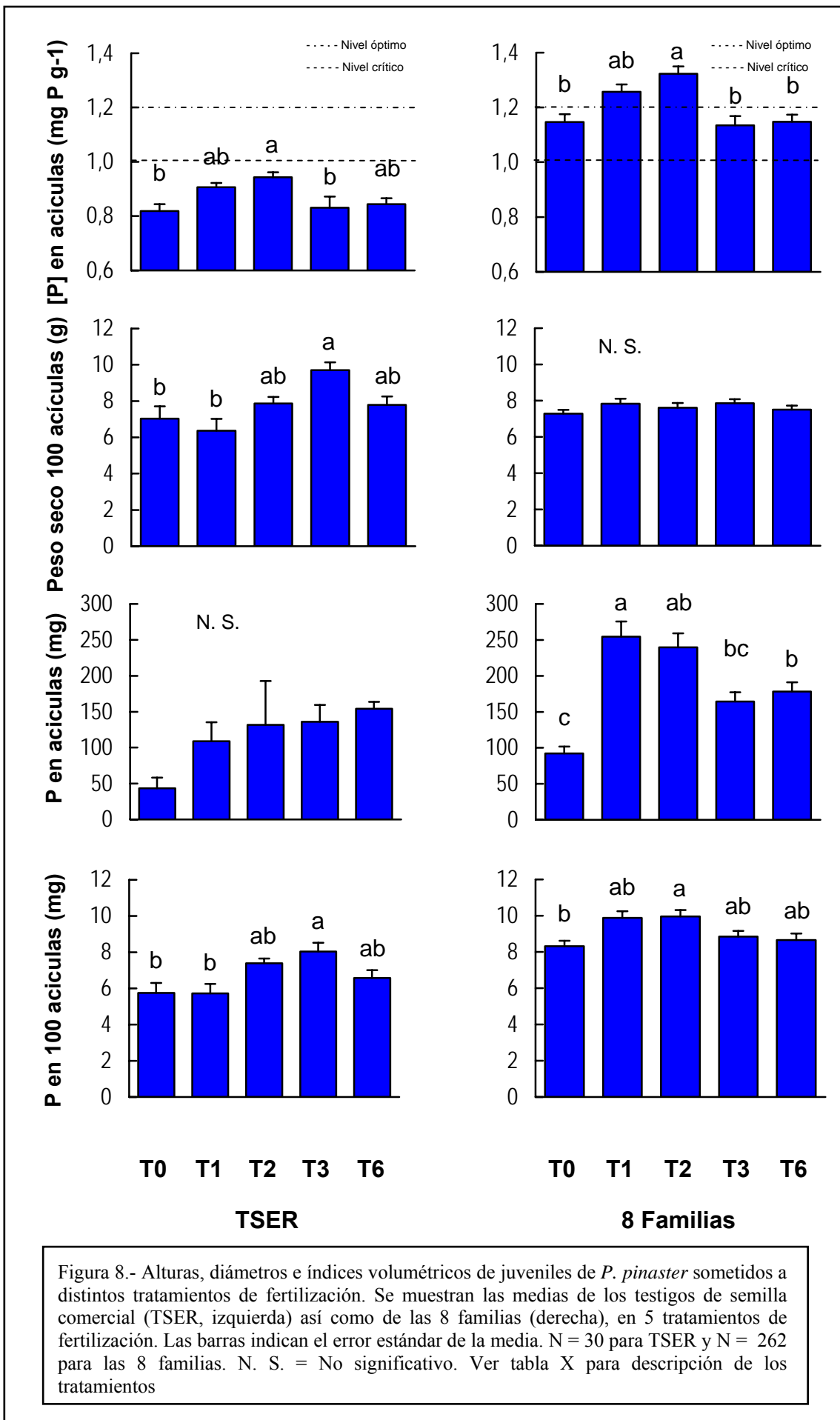


Figura 8.- Alturas, diámetros e índices volumétricos de juveniles de *P. pinaster* sometidos a distintos tratamientos de fertilización. Se muestran las medias de los testigos de semilla comercial (TSER, izquierda) así como de las 8 familias (derecha), en 5 tratamientos de fertilización. Las barras indican el error estándar de la media. N = 30 para TSER y N = 262 para las 8 familias. N. S. = No significativo. Ver tabla X para descripción de los tratamientos



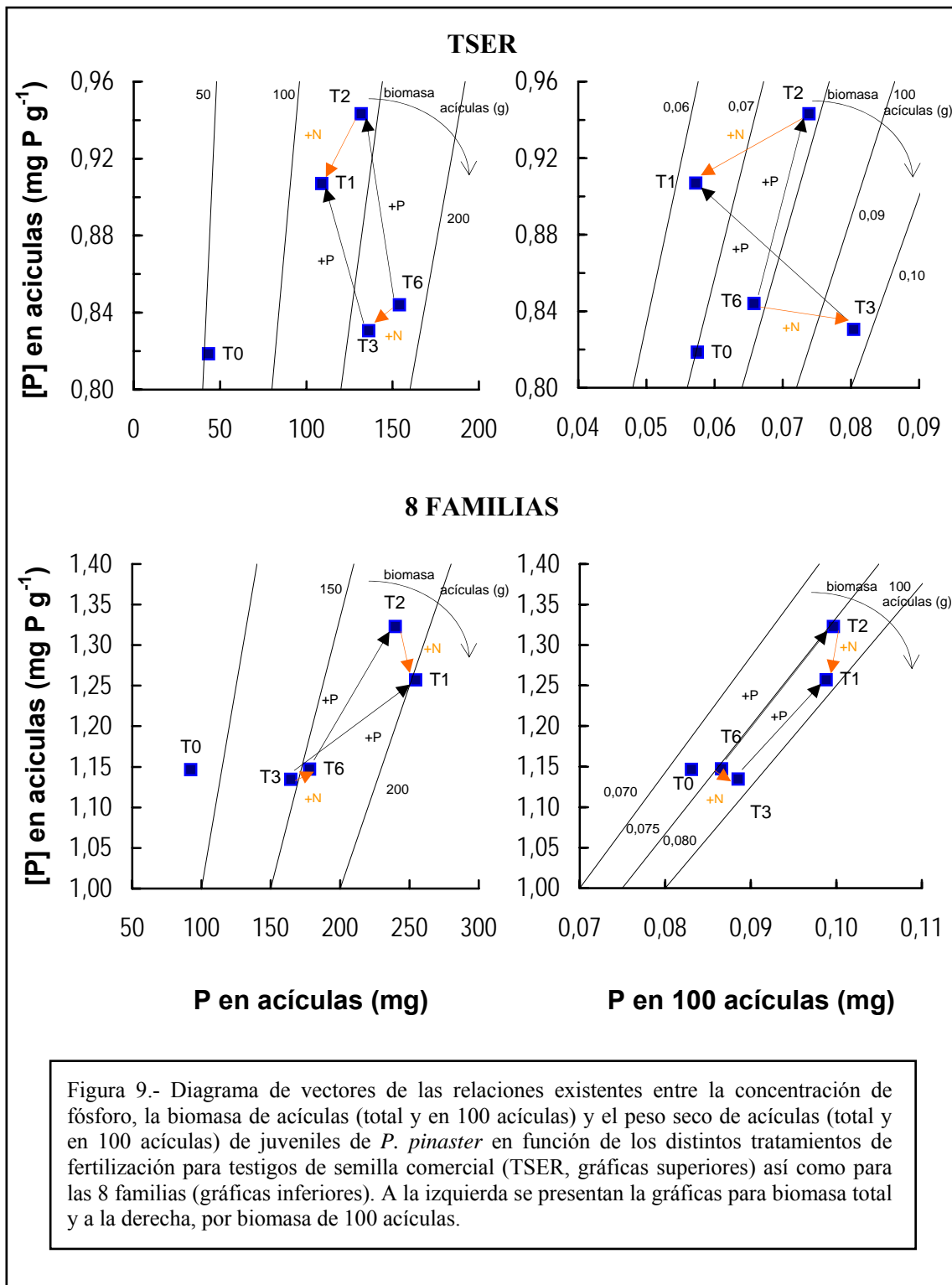
#### 5.4.- DIAGNÓSTICO NUTRICIONAL MEDIANTE TECNICA DE VECTORES

Como se puede apreciar en la Figura 9, en el diagrama de vectores para la concentración de P y contenido de P en las acículas (gráfica superior izquierda), el aporte de P (comparación tratamientos T3-T1 y T2-T6) aumenta la concentración de P en las acículas pero reduce la biomasa de acículas resultando un contenido de P en las acículas inferior. Por el contrario, el aporte de N conlleva una disminución tanto de la concentración de P como del contenido de P y biomasa de acículas, sugiriendo un efecto antagónico del aporte de N sobre la nutrición fosfórica. Sin embargo, en la interpretación, hay que manejarla con cuidado ya que, como se vió en el apartado anterior, muchas de estas diferencias no resultaron estadísticamente significativas en el grupo de muestreo de los TSER.

Considerando la biomasa unitaria de acículas en los TSER (gráfica superior derecha), el diagnóstico es de nuevo bastante confuso.

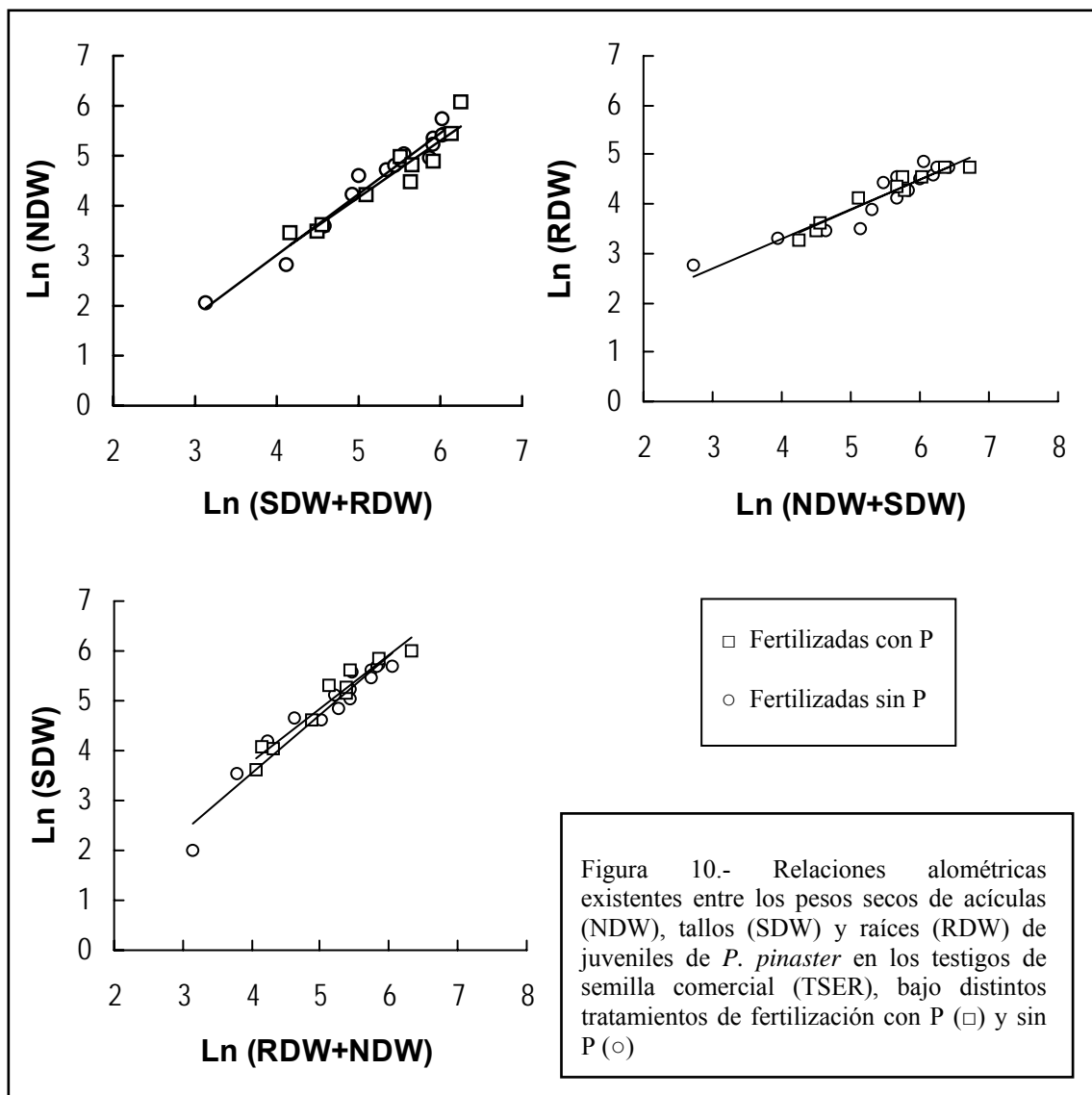
En el caso de las 8 familias (gráficas inferiores), el diagnóstico nutricional es mucho más evidente y coherente. El aporte de P implica un aumento de concentración de P y de la biomasa de acículas, redundando en un aumento del contenido de P en las acículas, lo que indicaría una clara deficiencia de este elemento. Esta interpretación es más evidente considerando la biomasa total de acículas (gráfica inferior izquierda), que considerando el peso unitario de acículas (gráfica inferior derecha) donde no se observa que la fertilización con P no aumenta la biomasa unitaria de acículas.

El aporte de N (tratamientos T6-T3 y T2-T1) no supone grandes variaciones ni de la concentración ni del contenido de P.



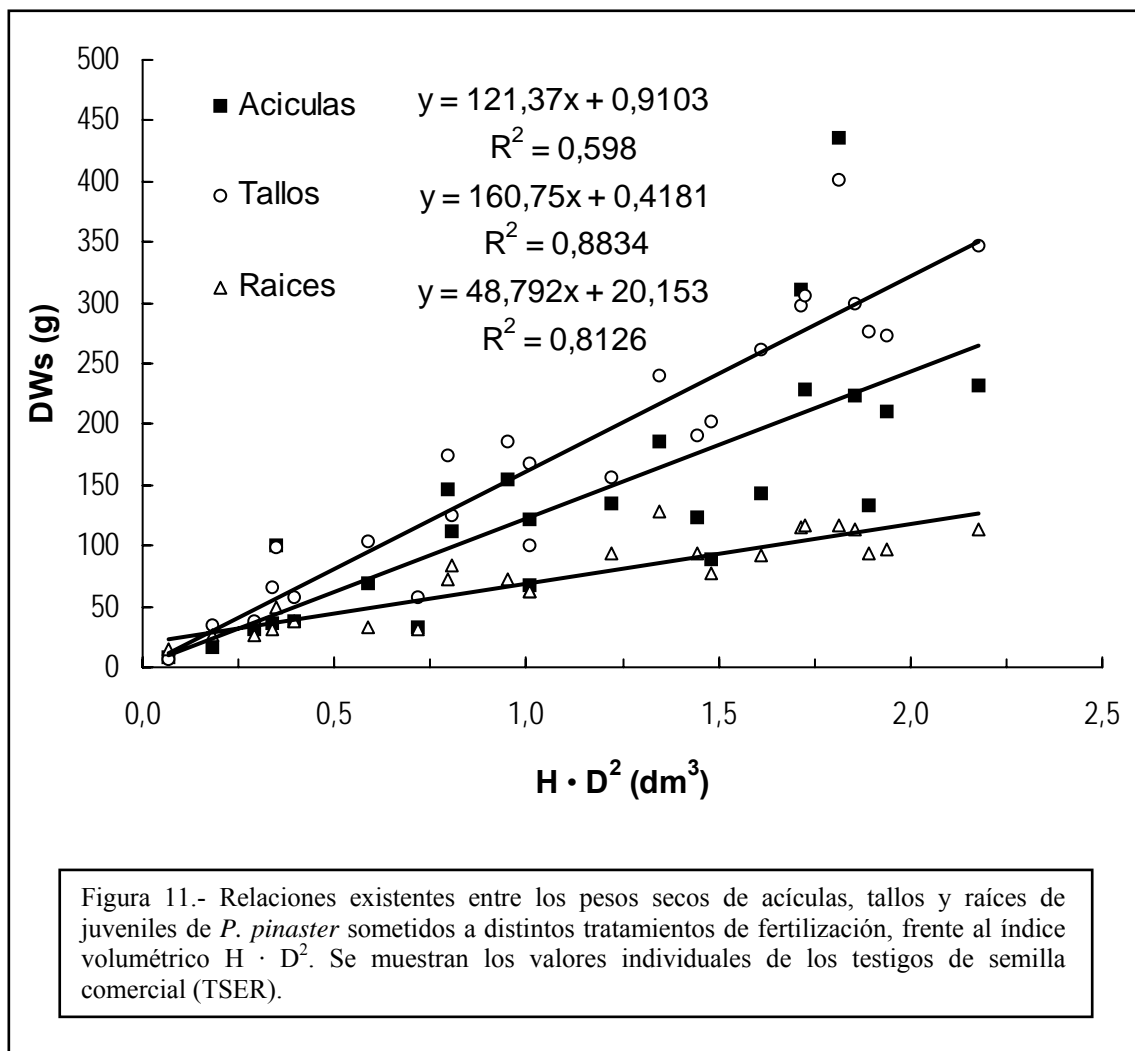
### 5.5.- RELACIONES ALOMÉTRICAS

En las graficas de la Figura 10 se pueden apreciar las relaciones alométricas existentes entre los distintos pesos secos de acículas (NDW), tallos (SDW) y raíces (RDW). En ellas no se observan diferencias alométricas significativas ante el aporte de P. Se puede apreciar que las plantas fertilizadas mediante tratamientos tanto con fósforo como sin el, no varían las pendientes de las rectas alométricas de las graficas y que la fertilización fosfórica tampoco afecta a la distribución de biomesas.



En la siguiente grafica (Figura 11), se aprecian las relaciones existentes entre los pesos secos de acículas, tallos y raíces de los testigos TSER, frente al índice volumétrico  $h \cdot d^2$ .

Estos datos se emplearon para realizar una regresión lineal de la relación existente entre el peso seco de las acículas y el índice volumétrico, de ecuación  $y = 121,37x + 0,9103$  y con un valor de  $R^2 = 0,60$  ( $p < 0,001$ ). La ecuación de la recta obtenida se empleó para estimar el peso seco de las acículas en los individuos de las familias a partir de sus índices volumétricos, para poder realizar el diagnostico de vectores de las familias.



## 5.6.- VARIACIÓN FAMILIAR

Acorde con las tablas de análisis de varianza (Tabla 5 y 8), La familia (G), resulta siempre altamente significativa para las variables consideradas, lo cual nos indica una importante variación genética en variables relacionadas con la eficiencia nutricional.

En la Figura 12, para la grafica de crecimiento en altura, se observa que las familias que han crecido significativamente más son F1, F3 y F6. Esto también se repite para el diámetro (donde además de las familias anteriores, la familia F5 está entre las que más han crecido) y para el volumen. Por el contrario las familias F7 y F8 fueron las que menos crecieron.

En cambio, para la concentración de fósforo en acículas, no son las familias anteriores las que más concentración muestran, siendo las familias F1, F4 y F8 las que destacan significativamente sobre el resto, mientras que las familias F3 y F5 son las que muestran menores concentraciones.

Para el peso seco de 100 acículas, las familias con acículas mayores han sido F1 y F7, siendo las de menor tamaño F2, F3 y F5.

En cuanto al contenido en fósforo de las acículas, sucede igual que para los crecimientos, las familias F1, F3 y F6 son las que más fósforo poseen en sus hojas y las familias F7 y F8 las que menos. Para el contenido en fósforo de 100 acículas, las familias F1, F4 y F7 son las que más fósforo por acícula poseen y F2, F3 y F5 las que menos.

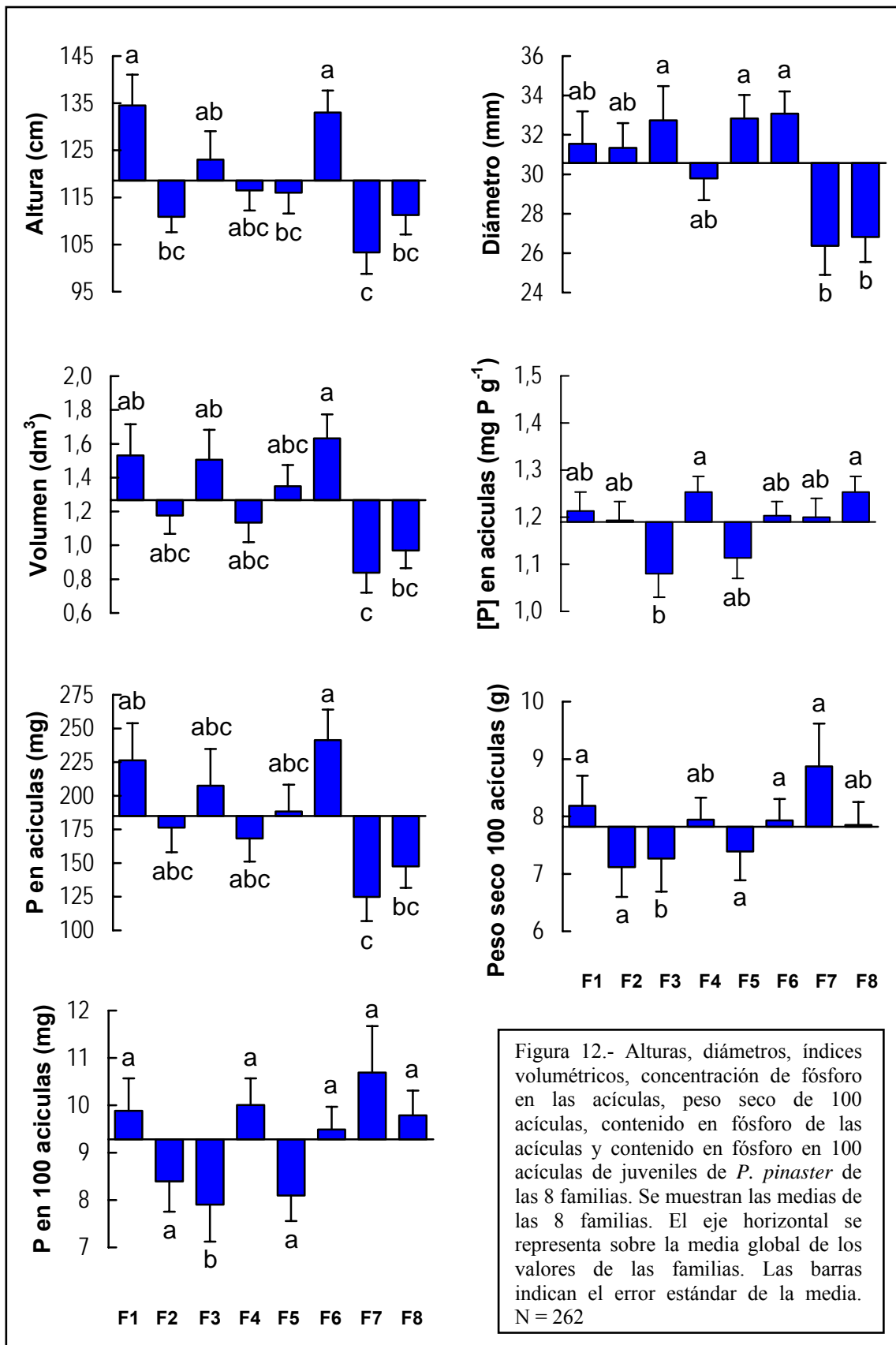


Figura 12.- Alturas, diámetros, índices volumétricos, concentración de fósforo en las acículas, peso seco de 100 acículas, contenido en fósforo de las acículas y contenido en fósforo en 100 acículas de juveniles de *P. pinaster* de las 8 familias. Se muestran las medias de las 8 familias. El eje horizontal se representa sobre la media global de los valores de las familias. Las barras indican el error estándar de la media. N = 262

En los diagramas de vectores de la Figura 13, se puede apreciar como hay familias que destacan por su eficiencia en el uso de los nutrientes y otras por su eficiencia en la absorción de los mismos, en nuestro caso del fósforo. La zona superior de los gráficos con aumentos grandes de la concentración y contenido de P pero sin aumento de la biomasa, indicaría una alta eficiencia en la absorción del P, mientras que la zona inferior derecha, con aumentos grandes de biomasa y contenido de P pero sin aumento ó incluso con reducción de la concentración de P, indicaría una elevada eficiencia del uso del P absorbido para crecer.

A simple vista, observamos que la familia F3 es, en general, la que alcanza la mayor concentración de fósforo y el mayor contenido en fósforo en acículas, aumentando a su vez la biomasa total.

Cuando se fertiliza añadiendo fósforo en presencia de nitrógeno (gráficas superiores), todas las familias aumentan su concentración de fósforo, a excepción de la familia F8, que disminuye. También se observa un comportamiento similar para el contenido en fósforo de las acículas, donde la mayoría de las familias a excepción de las familias F7 (totalidad de acículas) y F8 (100 acículas) aumenta el fósforo de sus hojas. En la familia F3, el aumento es más notable que en el resto de las familias

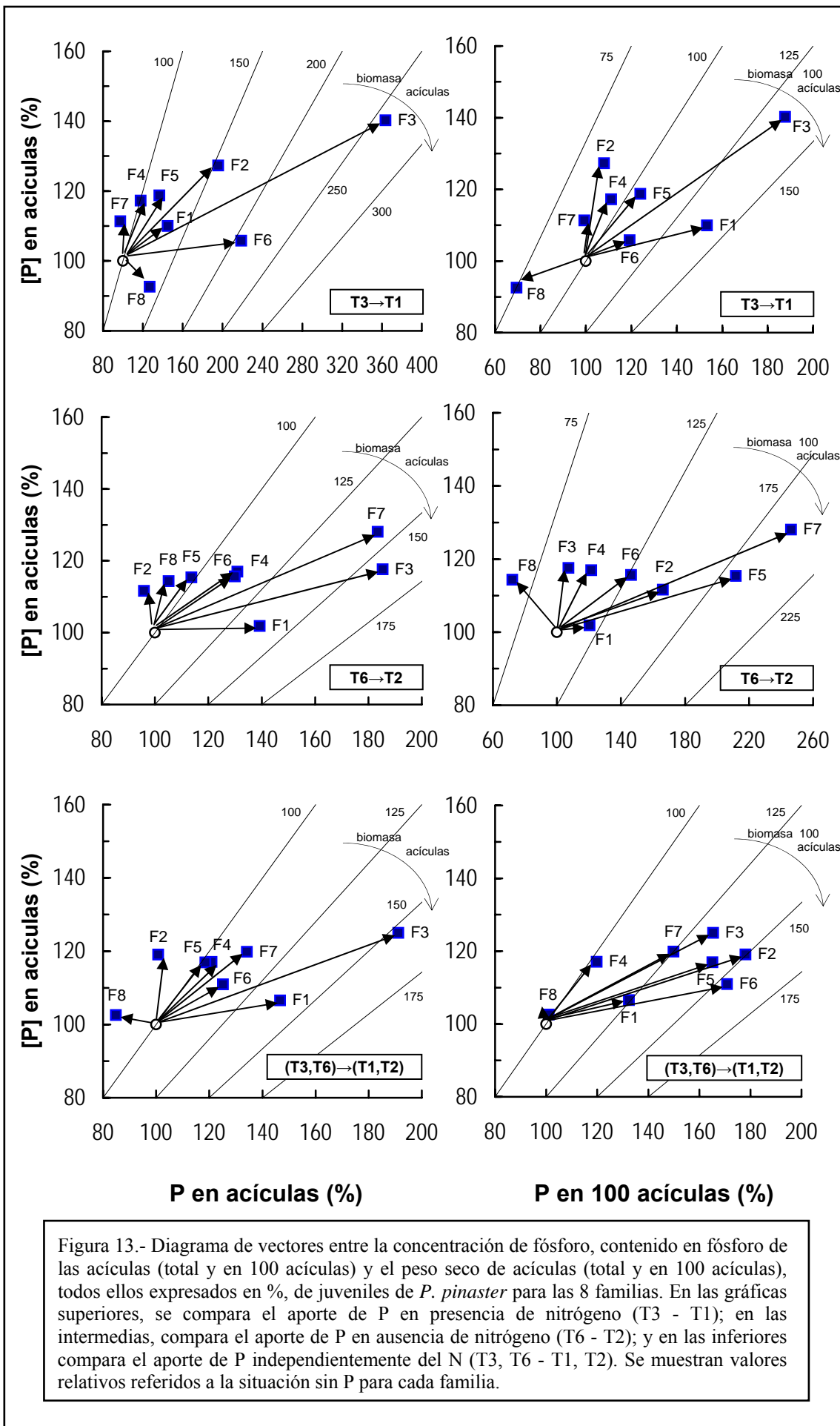
En el caso de una fertilización fosfórica en ausencia de nitrógeno (gráficas intermedias), todas las familias aumentan ó mantuvieron (F1) su concentración de fósforo, siendo en este caso la familia F7 la que tiene una mayor concentración. En el caso de la cantidad de fósforo en acículas, todas las familias aumentan, particularmente las familias F3 y F7 para el total de acículas y F7 y F5 para 100 acículas; las familias que disminuyeron son F2 en el total de acículas y F8 en 100 acículas.

Comparando el aporte de P, independientemente de la presencia o no de nitrógeno (gráficas inferiores), todas las familias aumentan su concentración de fósforo, siendo la familia F3 la que más aumenta. Observamos un comportamiento similar para el contenido en fósforo de las acículas, donde la mayoría de las familias a excepción de la familia F8 para la totalidad de acículas, aumenta el fósforo de sus hojas. En la familia F3, el aumento es más notable que en el resto para la totalidad de acículas; análogamente para F2 en 100 acículas.

La familia F3 destacó, por tanto, como la más eficiente en el uso del P, especialmente eficiente en el uso del P absorbido para crecer.

La familia F8 es, por el contrario, la menos eficiente.





## 6.- DISCUSIÓN

### **Respuesta a la fertilización**

Los resultados indican un claro efecto de la fertilización de establecimiento sobre el crecimiento y el aumento de biomasa de las plantas. La respuesta a los tratamientos de fertilización resultó significativa, experimentando las plantas fertilizadas un crecimiento significativamente superior al control. En general, todos los tratamientos de fertilización aumentaron el desarrollo de las plantas respecto al control, si bien se observa (al menos para el incremento volumétrico en el grupo de muestreo de las 8 familias) que en aquellos tratamientos que incluyen fósforo la respuesta fue mayor. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Martins (2005) en la misma parcela, donde, analizando las 2880 plantas del ensayo, la respuesta a los tratamientos que no incluyen P fue significativamente menor que el resto. Sin embargo, la comparación de medias en el presente trabajo no resulta tan evidente como en Martins (2005) e incluso, el efecto del P no se detecta en el grupo de muestreo de los TSER. La alta variación dentro de tratamientos genera errores estándar grandes que dificulta la comparación estadística. Parece por tanto necesario, tamaños de muestra mayores para poder analizar con precisión la respuesta de las plantas a la fertilización. En este sentido, Zas (2006), encontró en esta parcela una importante variación espacial en el crecimiento que puede dificultar y empañar el análisis estadístico, especialmente cuando se analiza un número de plantas limitado. La inclusión de técnicas avanzadas de ajuste espacial probablemente mejore y homogenice los resultados entre los distintos lotes de muestreo.

La respuesta positiva a la fertilización, y en particular a la fertilización fosfórica, es acorde con los niveles foliares de P encontrados en las plantas no fertilizadas que indican una deficiencia en este elemento, especialmente en el caso del grupo de muestreo de los TSER. Las concentraciones foliares son inferiores al nivel crítico (marginal en el caso del grupo de muestreo de las 8 familias) publicado por Bonneau (1997). A su vez, el diagnóstico por la técnica de vectores (Miller y Hawkins, 2003), indica una clara deficiencia en P que limita el crecimiento de las plantas. La fertilización fosfórica aumenta tanto la concentración como la biomasa y como consecuencia, el contenido de P total en la planta. De nuevo, el diagnóstico es mucho más evidente en el grupo de muestreo de las 8 familias que en los TSER, probablemente

debido al mayor tamaño de muestra y al mayor control de la variación genética en el primero. En este sentido cabe señalar que Zas et al (2006) encontraron que, al igual que el crecimiento, la concentración de P en la misma parcela de estudio, muestra un patrón espacial no aleatorio, que, de nuevo, puede condicionar los resultados de los análisis estadísticos en muestras pequeñas.

Las diferencias observadas entre las concentraciones foliares de P entre los dos grupos de muestreo (TSER y 8 familias) son difíciles de explicar. Aunque la respuesta a los tratamientos de fertilización fue similar en los dos grupos, las concentraciones de los TSER fueron, en términos absolutos, inferiores a los de las 8 familias seleccionadas. Las 8 familias fueron seleccionadas en un gradiente de crecimiento representativo de las 28 familias representadas en el ensayo y estudios previos indicaron que los testigos TSER muestran un comportamiento intermedio en crecimiento, como era esperable. Por su parte, aunque se sabe que las concentraciones foliares varían a lo largo del año (Will, 1985), el escaso lapso de tiempo entre los muestreos foliares de ambos grupos (tan sólo una semana), no parece justificar las diferencias observadas. De nuevo, el escaso tamaño de las muestras de los TSER (con tan sólo 5 plantas por tratamiento) puede ser la causa. En el presente trabajo se observa una importante variación familiar en variables relacionadas con la eficiencia del uso del fósforo, y en concreto en las concentraciones de este elemento en las hojas. Los testigos TSER son una muestra aleatoria de las 116 familias presentes en el huerto semillero de Sergude, con lo que es probable que, por cuestiones de azar, los individuos muestreados en este proyecto pertenezcan a familias con tendencia a acumular poco P en sus acículas.

La respuesta a los tratamientos de fertilización concuerda con los desordenes nutricionales encontrados en las plantaciones de diversas especies forestales situadas sobre los suelos forestales ácidos y graníticos de Galicia (Pichel, 2001; Sánchez-Rodríguez et al., 2002; Martins, 2006; Merino et al., 2003; Perdiz, 2006; Zas y Serrada, 2003; Zas, 2003a, 2003b). Por ejemplo, en el caso de *P. radiata*, las plantaciones jóvenes normalmente son deficientes en P y Mg (Pichel, 2006) y se han descrito importantes ventajas de una fertilización adecuada (Perdiz, 2006; Solla-Gullón et al., 2004; Zas et al., 2004a, 2006). En el caso de *P. pinaster*, Martins (2005) y Perdiz (2006) también encontraron respuestas positivas en crecimiento a la fertilización fosfórica en diversas localidades de la zona costera gallega.

De hecho, la fertilización de establecimiento es una herramienta ampliamente recomendada para suelos forestales y en particular para los suelos pobres, arenosos y ácidos de Galicia donde existe un déficit importante de nutrientes y la fertilización de establecimiento genera importantes ventajas (Sánchez-Rodríguez *et al.* 2002; Zas 2003; Zas y Serrada 2003). Las deficiencias en P suelen ser más frecuentes en suelos de texturas arenosas con vocación forestal y predominio de matorral denso de leguminosas, principalmente de *Ulex* sp. y *Cytisus* sp. (Zas y Serrada, 2003; Zas y Alonso, 2002) donde la fertilización fosfórica se vuelve más trascendente.

En cuanto a las relaciones alométricas, en el presente trabajo no se observa que la fertilización fosfórica altere la distribución de recursos entre los distintos compartimentos de las plantas (acículas, tallos y raíces). En general, las plantas fertilizadas tienden a tener relaciones parte aérea – radical mayores (Li *et al.*, 1991; Jonsson *et al.*, 1997), tendencia que se observa en este trabajo (aunque no estadísticamente significativa) al comparar la relación parte aérea radical en los distintos tratamientos de fertilización (Figura 7).

### **Interacción genotipo x nutrición**

En el presente trabajo no se ha encontrado interacción significativa entre los distintos tratamientos de fertilización y las familias utilizadas en el ensayo, en lo que respecta tanto al crecimiento como al aumento de concentración y cantidad de fósforo en las acículas, lo que parece indicar que todas las familias han tenido respuestas similares a los diferentes tratamientos de fertilización, o que no hay variación genética en la plasticidad fenotípica.

Otros trabajos sí han encontrado interacciones nutrición x genotipo significativas. En *P. pinaster*, Zas y Fernández-López (2005) analizando familias de medios hermanos del huerto semillero de Sergude en invernadero encontraron interacciones nutrición x familia significativas y cuantitativamente importantes. La estabilidad de las distintas familias evaluadas en ese trabajo era, a su vez, altamente variable, sugiriendo que, mediante la eliminación de las familias inestables se solventa el problema de la

interacción de cara al uso del material en estaciones con distinta disponibilidad de nutrientes o con distintas prácticas de fertilización. A su vez, Martins (2005) encontró una interacción familia x fertilización significativa en un ensayo de progenie de *P. pinaster* equivalente al del presente proyecto situado en Rianxo, Pontevedra. Por su parte, Pichel (2006) también observó una interacción familia x nutrición significativa en un ensayo de *P. radiata* colindante al del presente proyecto.

La homogeneidad familiar de la respuesta a la fertilización observada en el presente trabajo supone un aliciente de cara a la posibilidad de mejorar genéticamente la eficiencia nutricional. Los resultados sugieren que la evaluación de la eficiencia nutricional desde un punto de vista genético es independiente de la disponibilidad de fósforo en el suelo o de las prácticas de fertilización. Sin embargo, es preciso contrastar estos resultados en un mayor número de familias ya que, a juzgar por los resultados previos en otros ensayos (Martins, 2005, Zas y Fernández-López, 2005) es posible que la interacción sea más importante al evaluar un mayor número de familias.

### **Variación genética**

Los resultados de este Proyecto indican una alta variación genética en todas las variables analizadas, tanto en características de crecimiento como en variables relacionadas con la eficiencia nutricional. La variabilidad observada en caracteres de crecimiento concuerda con resultados previos a edades juveniles con el material del huerto semillero de *P. pinaster* de Sergude. Así, por ejemplo López-Rodríguez (2006) y Zas *et al.* (2005), encontraron una fuerte variación genética en vivero al analizar el crecimiento de todas las familias del citado huerto, con heredabilidades individuales y familiares altas ( $h_i^2 = 0.48$  y  $h_f^2 = 0.96$ ). Resultados equivalentes fueron observados por Zas y Fernández-López (2005) en condiciones controladas en invernadero, con heredabilidades individuales variables entre 0.16 y 0.31 en función del tratamiento de cultivo aplicado. En condiciones de campo, Martins (2005) encontró una fuerte variación genética en el crecimiento en altura 1 y 2 años después de la plantación ( $h_i^2 = 0.13 - 0.38$ ), mientras que en edades mayores Zas *et al.* (2004) estimaron heredabilidades individuales ligeramente inferiores ( $h_i^2 = 0.11 - 0.17$ ) si bien, un

análisis más depurado ajustando los datos a la heterogeneidad espacial de la parcela mejora notablemente estas estimaciones ( $h_1^2 = 0.17 - 0.33$ ) (Zas, 2006a).

El presente trabajo supone el primer análisis de la variación genética en términos nutricionales en la población de mejora de primera generación de *P. pinaster* en Galicia-Costa. Los resultados indican una fuerte variación familiar en relación a cómo las plantas captan el P del suelo y cómo utilizan éste para crecer. Entre las 8 familias estudiadas, algunas, como la F1 y F6 destacan por la cantidad de P que han sido capaces de captar del suelo. Estas dos familias están, además, entre las que más han crecido y podrían considerarse como familias altamente eficientes en la absorción de este nutriente. Por el contrario, otras familias (F7 y F8) han resultado mucho menos eficientes en la absorción, captando mucha menos cantidad de P. A su vez, los resultados de los análisis indican que la concentración de P en las acículas difiere notablemente entre las distintas familias. Así, las familias F4 y F8 acumularon mucho P en las hojas, mientras que las familias F3 y F5 mostraron concentraciones mucho más bajas. La concentración de P en las hojas puede considerarse como una medida de la eficiencia nutricional en el uso del P para producir biomasa (Li et al., 1991). Las plantas con menor concentración serían las más eficientes, usando el P captado para crecer. Así, las familias F3 y F5 serían las más eficientes en el uso del P mientras que las familias F4 y F8 serían poco eficientes.

Estudiando la respuesta a la fertilización en términos de eficiencia nutricional, la técnica de vectores ha resultado especialmente útil. Esta técnica permite depurar la interpretación de la variación genética observada en los distintos componentes de la eficiencia considerando la respuesta a la adición externa del elemento en cuestión. Mediante esta técnica destaca la familia F3 como la más eficiente tanto en el uso como en la absorción del P. Esta familia fue la que más respondió a la aplicación de P, aumentando tanto la concentración como el contenido de P en las acículas así como la producción de biomasa. Por el contrario la familia F8 fue la menos eficiente con ligeros o incluso negativos aumentos de biomasa y contenido de P. Sin embargo, en el presente trabajo, estos resultados hay que manejarlos con cautela ya que, como se desprende de los análisis de varianza, la interacción fertilización x tratamiento no resultó significativa sugiriendo que todas las familias respondieron de forma estadísticamente similar a la fertilización. Es por ello que el abanico observado en los vectores no es tan abierto y

amplio. A su vez, no se observa una correspondencia excesivamente estrecha entre los distintos gráficos que comparan el aporte de P en presencia o ausencia de N. La utilización de tratamientos de fertilización compuestos de varios nutrientes dificulta la interpretación. Además, el tamaño de muestra por familia y tratamiento es ligeramente bajo ( $n=5$ ) lo que aumenta los errores estándar, disminuye la eficiencia estadística de los anovas y aumenta la dispersión de los vectores al comparar los distintos gráficos. Este estudio debería completarse aumentando el tamaño de muestra, simplificando los tratamientos de fertilización (limitándolos a la aplicación de fósforo) y generando un gradiente de disponibilidad de P mediante la utilización de varias dosis de fertilizante. En un estudio equivalente, Miller y Hawkins (2003) señalaron la utilidad de la técnica de vectores para el estudio de la variación genética en la eficiencia nutricional en *Picea* sp.

Conviene señalar que la fuerte variación genética observada en las concentraciones foliares supone un handicap al uso de las técnicas de diagnóstico nutricional basadas en las concentraciones foliares en nutrientes. Así, ciertas familias del presente trabajo muestran concentraciones foliares de P inferiores al nivel crítico y otras muestran niveles claramente superiores. A la hora de realizar un muestreo foliar para un diagnóstico nutricional esto debería tenerse en cuenta, ya que, en función de la variabilidad genética existente en la parcela, podría ser necesario modificar el número de árboles a muestrear.

En general son numerosos los trabajos que encuentran variación genética en las concentraciones foliares. Por ejemplo, Prasolova et al (2005) encontraron variación genética en la concentración de nutrientes en las hojas de *Pinus ellioti* y *Pinus caribea* tanto entre clones como entre familias con un porcentaje de variación explicada por las diferencias entre clones y familias variable en función del nutriente entre el 5 y 34% y entre el 0 y el 28 %, respectivamente. A su vez, Carson et al (2004) también encontraron diferencias significativas en la concentración de distintos nutrientes entre familias de *Pinus radiata*, mientras que Crawford et al. (1991) encontraron lo propio entre familias de *Pinus taeda* y Jonsson et al. (1997) entre familias de *Pinus sylvestris*. En ciertos estudios, la variación genética también fue observada a nivel de poblaciones y explicadas en términos adaptativos. Así, Oleksin et al. (2002) observaron que las poblaciones más norteñas de *P. sylvestris* mostraban mayores concentraciones foliares

de la mayoría de nutrientes que las poblaciones del sur, y explicaron esta variación en términos de adaptación a las condiciones nutricionales más limitantes en las poblaciones del norte debido, principalmente, a los problemas de mineralización de la materia orgánica en esta zona.

En *P. pinaster*, Nguyen-Queyrens et al. (2005) observaron, bajo condiciones controladas, variación entre y dentro de poblaciones en la productividad del P (crecimiento por unidad de P en la planta) si bien únicamente las diferencias entre poblaciones se correspondieron con las evaluaciones en campo a edades adultas. Estos autores también concluyen que es posible seleccionar en base a caracteres relacionados con la eficiencia nutricional si bien es preciso más evaluaciones que contrasten los resultados obtenidos en los experimentos en invernadero con el comportamiento en campo a edades adultas.

El escaso número de familias considerado en los análisis en el presente proyecto no permite una estimación fiable de la heredabilidad de los distintos caracteres estudiados. Sin embargo, el elevado valor del ratio F en los análisis de varianza augura que estas estimaciones podrían ser altas, permitiendo tanto el desarrollo de genotipos altamente eficientes en el uso del fósforo mediante técnicas de selección y cruzamiento como una importante ganancia genética mediante la simple eliminación de los clones con peores progenies de los huertos semilleros.

El interés de mejorar genéticamente la eficiencia nutricional de especies forestales como herramienta para incrementar la productividad del material y minimizar la necesidad de fertilizantes, ha sido indicada por varios autores (Crawford et al., 1991; Li et al., 1991; Jonsson et al., 1992; Jonsson et al., 1997; Mari et al., 2003a, 2003b; Miller y Hawkings, 2003). Además, el hecho de que existan familias más eficaces que otras en lo relativo a la absorción y aprovechamiento de los nutrientes puede suponer una notable mejoría del pobre estado nutricional de las plantaciones en Galicia de *P. pinaster* sin necesidad de recurrir a la fertilización intensiva, con las consecuencias que ello tendría en cuanto a rentabilidad de las explotaciones y en la disminución del impacto ambiental que las fertilizaciones pueden generar, sobre todo teniendo en cuenta que los fertilizantes fosfóricos son un recurso no renovable que se encarecerá en el futuro (Runge-Metzger, 1995) y que la acidez de los suelos gallegos impide un buen rendimiento de la



fertilización fosfórica, dado que la mayoría del P aportado tiende a precipitar en fosfatos insolubles. La consecución de un material genético más eficiente tanto en la adquisición como en el uso del P se presenta como una alternativa muy interesante para corregir los problemas nutricionales de las plantaciones forestales gallegas, minimizando la necesidad de fertilizantes, de la misma manera que ya se está teniendo en cuenta en cultivos agrícolas (Hammond et al., 2004).

Es preciso, por tanto, continuar con las investigaciones sobre el tema, pues una variación en la respuesta a la fertilización indicaría variaciones en la eficiencia nutricional en la población de mejora de *P. pinaster* que es posible explotar mediante procesos de selección y cruzamientos. El uso de material nutricionalmente eficiente puede ser una alternativa a la necesidad de fertilizantes o mejorar la efectividad de éstos (Zas et al., 2004a; Nguyen-Queyrens et al., 2005). Recientemente, Nguyen-Queyrens et al. (2005), encontraron variaciones importantes en la productividad del P (crecimiento/unidad de P en la planta) entre y dentro de procedencias de *P. pinaster*, sugiriendo la posibilidad de explotar ésta en busca de una mejora del rendimiento de las fertilizaciones fosfóricas en las Landas (Francia) donde, el efecto de éstas se pierde con la edad y las masas acaban presentando deficiencias de P.

## 7.- CONCLUSIONES

- Se puede apreciar un claro efecto positivo de la fertilización de establecimiento sobre el crecimiento de las plantas, así como sobre el aumento de su biomasa. De los cinco tratamientos de fertilización empleados en el ensayo, los que mayores respuestas presentaron son aquellos que incluyen P, si bien el patrón de respuesta no es tan claro como en estudios anteriores posiblemente debido al menor tamaño de muestra.
- Tanto el método de niveles críticos como la técnica de vectores, identifica al P como un elemento deficiente que está limitando el crecimiento de los pinos.
- La fertilización fosfórica aumentó la concentración y el contenido foliar de P de forma significativa.
- La fertilización fosfórica no alteró la distribución de recursos entre los distintos compartimentos de las plantas (tallo, raíces y hojas) si bien si se observa una tendencia a un ratio parte aérea-radical mayor en las plantas no fertilizadas.
- Se observó una fuerte variación genética en todas las variables estudiadas, tanto en las de crecimiento como en las relacionadas con la eficiencia nutricional sugiriendo, al menos, que existe el potencial genético para mejorar genéticamente ésta. Ciertas familias son capaces de absorber del suelo más cantidad de P que otras, mientras que otras son capaces de utilizar de forma más eficiente el P captado para crecer.
- La técnica gráfica del análisis de vectores se muestra como una herramienta útil e interesante no sólo para el diagnóstico nutricional de rodales sino también para el estudio de la variación genética en la eficiencia con que las plantas absorben y usan los nutrientes para crecer.

**8.- REFERENCIAS**

- Acevedo, C., 2000. *Modelización climática para el seguimiento de las repoblaciones forestales en tierras agrarias en Galicia*. Proyecto Fin de Carrera, EPS de Lugo, Ingeniería de Montes. Universidad de Santiago de Compostela, Lugo, 103 pp.
- Alía, R., Galera, R., Martín, S., Agúndez, D., De Miguel, J., Iglesias, S., 1999. *Mejora genética y masas productoras de semilla de los pinares españoles*. Monografías INIA: Forestal No. 1, Madrid, 239 pp.
- Alvarez-Gonzalez, J.G., Ruiz-Gonzalez, A.D., Rodriguez-Soalleiro, R., Barrio-Anta, M., 2005. *Ecoregional site index models for Pinus pinaster in Galicia (northwestern Spain)*. Ann. For. Sci. 62, 115-127.
- Allué, A.J.L., 1966. *Subregiones fitoclimáticas de España*. I.F.I.E. Ministerio de Agricultura, Madrid.
- Bará, T.S. & Toval, H.G., 1983. *Calidad de estación del Pinus pinaster Ait. en Galicia*. Comunicaciones INIA, Recursos Naturales 24, 163 pp.
- Birk, E.M. & Vitousek, P.M. 1986. *Nitrogen availability and nitrogen use efficiency in loblolly pine stands*. Ecology 67, 69-79
- Bonneau, M., 1997. *Assuring sufficient nutrient supply for trees -a basic condition of sustainable forest*. IUFRO Occasional Paper 9, 28-31.
- Bridgham, S.D., Pastor, J., McClaugherty, C.A., Richardson, C.J., 1995. *Nutrient-use efficiency: a litterfall index, a model and a test along a nutrient availability gradient in north Carolina peatlands*. Am Nat 145, 1-21
- Carballas, T., 1997. *La investigación forestal en Galicia: realizaciones y retos de futuro*. En: Proceedings del Congreso Empresarial Técnico-Científico Forestal del Arco Atlántico. Silleda.
- Carson, S. D., M. F. Skinner, A. T. Lowe, and M. O. Kimberley. 2004. *Performance differences in Pinus radiata progeny with differing site nutrient availability*. Canadian Journal of forest Research 34:2410-2423.
- Castillón, P.P.A., Álvarez, A.P., Rodríguez, S.R., Rigueiro, R.A., 1998. *Estudio de evaluación de técnicas de repoblaciones forestales*. Universidad de Santiago de Compostela, Santiago, 90 pp.
- Chambel, R., 2006. *Variabilidad adaptativa y plasticidad fenotípica en procedencias de pinos ibéricos*. Tesis doctoral. ETSI Montes Madrid, Universidad Politécnica de Madrid.
- Covelo, F. & Gallardo, A., 2002. *Effect of pine harvesting on leaf nutrient dynamics in young oak trees at NW Spain*. Forest Ecology and Management 167, 161-172.

- Crawford, D.T., Lockaby, B.G., Somers, G.L., 1991. *Genotype-nutrition interactions in field-planted loblolly pine*. Can. J. For. Res. 21, 1523-1532.
- Fernández-López, J., 2001. *El programa de genética forestal del Centro de Investigaciones Forestales e Ambientales de Lourizán*. Proceedings del III Congreso Forestal Nacional. Granada.
- Fife, D.N. & Nambiar, E.K.S., 1995. *Effect of nitrogen on growth and water relations of radiata pine families*. Plant Soil 168-169, 279-285.
- Folk, R.S. & Grossnicke, S.C., 2000. *Stock-type patterns of phosphorus uptake, retranslocation, net photosynthesis and morphological development in interior spruce seedlings*. New For 19, 27-49.
- Gahoonia, T.S. & Nielsen, N.E., 2004. *Root traits as tools for creating phosphorus efficient crop varieties*. Plant Soil 260, 47-57.
- Gallardo, A. & Merino, J., 1993. *Leaf decomposition in two Mediterranean ecosystems of Southwest Spain*. Influence of substrate quality. Ecology 74, 152-161.
- García, J.M., De-Miguel, J., Alía, R., Iglesias, S., 2001. *Regiones de Identificación y Utilización de material forestal de reproducción*. Ministerio de Medio Ambiente. Serie Cartográfica, Madrid, 293 pp.
- Hammond, J.P., Broadle, M.R., White, P.J., 2004. *Genetic responses to phosphorus deficiency*. Ann. Bot. 94, 323-332.
- Jones jr, J.B., Wolf, B., Mills, H.A. 1991. *Organic matter destruction procedures*. En *Plant analysis handbook*. Micro-Macro Publishing, Athens, Georgia. pp. 195-196.
- Jonsson, A., Ericsson, T., Eriksson, G., Kähr, M., Lundkvist, K., Norell, L., 1997. *Interfamily variation in nitrogen productivity of Pinus sylvestris seedlings*. Scan. J. For. Res. 12, 1-10.
- Kloeppel, D.B., Gover, T.S., Vogel, G.J., Reich, B.P., 2000. *Leaf-level resource use for evergreen and deciduous conifers along a resource availability gradient*. Funct Ecol 14, 281-292
- Li, B., McKeand, S.E., Allen, H.L. 1991. *Genetic variation in nitrogen use efficiency of loblolly pine seedlings*. For. Sci 37, 613-626.
- Li, B., McKeand, S.E., Allen, H.L. 1991a. *Nitrogen and family effects on biomass allocation of loblolly pine seedlings*. For. Sci. 37:271-283.
- López-Rodríguez, C. A. 2006. *Evaluación en vivero de familias de polinización abierta de Pinus pinaster Ait. y correlación con su comportamiento adulto en campo*. Proyecto Fin de Carrera, EPS Lugo, Universidad de Santiago de Compostela, Lugo.
- Mari, S., Jansson, G., Jonsson, A., 2003a. *Genetic variation in nutrient utilization and growth traits in Picea abies seedlings*. Scan. J. For. Res. 18, 19-28.

- Mari, S., Jonsson, A., Finlay, R., Ericsson, T., Kähr, M., Eriksson, G., 2003b. *Genetic variation in nitrogen uptake and growth in mycorrhizal and nonmycorrhizal Picea abies* (L.) Karst. seedlings. *For. Sci.* 49, 258-267.
- Martíns, P., 2005. *Efecto de la fertilización de establecimiento en el comportamiento de familias de polinización abierta de Pinus pinaster*. Director: R. Zas. Proyecto Fin de Carrera, Escuela Politécnica Superior de Ingenieros de Montes. Universidad de Santiago de Compostela, Lugo, 62 pp.
- Merino, A. & Edeso, J.M., 1999. *Soil fertility rehabilitation in young Pinus radiata D. Don. plantations from northern Spain after intensive site preparation*. *For. Eco. Manage.* 116, 83-91.
- Merino, A., Rodríguez-López, A., Brañas, J., Rodríguez-Soalleiro, R., 2003. *Nutrition and growth in newly established plantations of Eucalyptus globulus in northwestern Spain*. *Ann. For. Sci.* 60, 509-517.
- Merlo, E. & Fernández-López, J., 2004. *Análisis del balance parental reproductivo en un huerto semillero de Pinus pinaster*. *Invest. Agrar. Sist. Recur. For.* 13, 387-398.
- Miller, B. D. & Hawkins, B. J., 2003. *Nitrogen uptake and utilization by slow- and fast-growing families of interior spruce under contrasting fertility regimes*. *Can. J. For. Res.* 33, 959-966.
- Moreira, X., 2005. *Relevancia de la calidad del recurso en la preferencia de Hylobius abietis sobre Pinus pinaster*. Directores: L. Sampedro & R. Zas. Proyecto Fin de Carrera, Escuela Politécnica Superior de Ingenieros de Montes. Universidad de Santiago de Compostela, Lugo, 50 pp.
- Moro, R., 2002. *Guía de los árboles de España*. Ediciones OMEGA, Barcelona (España), 407 pp.
- Nguyen-Queyrens, A., S. Tarnawski, and E. Ceschia. 2005. *Growth and phosphorus productivity of non-mycorrhizal Pinus pinaster seedlings: Comparison of three populations and seven full-sib families within a population*. *Scandinavian Journal of Forest Research* 20:196-205.
- Núñez-Oliveira, E., Martínez-Abaigar, J., Escudero-García, J.C., 1993. *Litterfall and nutrient flux in Cistus ladanifer L. Shrubland in S.W. Spain*. *Acta Oecol* 14, 361-369
- Oleksyn, J., P. B. Reich, R. Zytkowski, P. Karolewski, and M. G. Tjoelker. 2002. *Needle nutrients in geographically diverse Pinus sylvestris L. populations*. *Annals of Forest Science* 59:1-17.
- Prasolova, N. V., Z. H. Xu, and K. Lundkvist. 2005. *Genetic variation in foliar nutrient concentration in relation to foliar carbon isotope composition and tree growth with clones of the F1 hybrid between slash pine and Caribbean pine*. *Forest Ecology and Management* 210:173-191.

- Perdiz, C. 2006. *Papel del cobre en la aparición de deformaciones anómalas en plántulas de Pinus pinaster y Pinus radiata fertilizadas con fósforo*. Proyecto Fin de Carrera, EPS Lugo, Universidad de Santiago.
- Pichel, F.M., 2001. *Efecto del genotipo en la respuesta a fertilizantes en Chamaecyparis lawsoniana (A.Murr) Parl. y Pseudotsuga menziesii (Mirb.) Franco*. Proyecto Fin de Carrera, EUET Forestal, Universidad de Vigo, Pontevedra, 88 pp.
- Pichel, F.M., 2006. *Estabilidad de familias de medios hermanos de Pinus radiata frente a una disponibilidad de nutrientes variable*. Director: R. Zas. Proyecto Fin de Carrera, Escuela Politécnica Superior de Ingenieros de Montes. Universidad de Santiago de Compostela, Lugo, 71 pp.
- Rivas-Martínez, S., 1987. *Memoria del mapa de series de vegetación de España*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, 269 pp.
- Rodríguez Soalleiro, R., Álvarez, J.G., Cela, M., Mansilla, P., Vega, P., González, M., Ruíz, P., Vega, G., 1997. *Manual técnico de selvicultura del Pino pinaster*. Serie Manuales Técnicos. Proyecto Collumella. Área forestal. Universidad de Santiago de Compostela, 75 pp.
- Rosati, A., Esparza, G., DeJong, T.M., Pearcy, R.W., 1999. *Influence of canopy light environment and nitrogen availability on leaf photosynthetic characteristics and photosynthetic nitrogen-use efficiency of field-grown nectarine trees*. Tree Physiol 19,173-180
- Runge-Metzger, A., 1995. *Closing the cycle: obstacles to efficient P management for improved global security*. En: Tiessen, H. (Ed.), Phosphorus in the global environment: transfers, cycles and management. John Wiley and Sons, Chichester, 27-42.
- Sánchez-Rodríguez, F., Rodríguez-Soalleiro, R., Español, E., López, C.A., Merino, A., 2002. *Influence of edaphic factors and tree nutritive status on the productivity of Pinus radiata D. Don plantations in northwest Spain*. For. Eco. Manage. 171, 181-189.
- Sánchez-Rodríguez, F., Rodríguez-Soalleiro, R., Español, E., López, C. A. & Merino, A. 2002: *Influence of edaphic factors and tree nutritive status on the productivity of Pinus radiata D. Don plantations in northwest Spain*. Forest Ecology and Management 171(1-2): 181-189.
- Sardans, J., Peñuelas, J., Rodá, F., 2005. *Changes in nutrient use efficiency, status and retranslocation in young post-fire regeneration Pinus halepensis in response to sudden N and P input, irrigation and removal of competing vegetation*. Trees 19, 233-250.
- S.A.S-Institute 1999: *SAS/STAT User's guide, Version 8*. SAS Institute Inc., Cary, NC, 3848 pp.

- Solla-Gullón, F., Taboada, M.P., Rodríguez-Soalleiro, R., Merino, A., 2004. *Respuesta inicial del aporte de cenizas de biomasa arbórea en el estado nutricional de una plantación joven de Pinus radiata D. Don*. Invest. Agrar. Sist. Recur. For. 13, 281-294.
- Timmer, V.R. & Stone, E.L., 1978. *Comparative foliar analysis of young balsam fir fertilized with nitrogen, phosphorous, potassium and lime*. Soil Science Society of America Journal 42, 125-130.
- Timmer, V.R. & G. Armstrong. 1987. *Diagnosing nutritional status of containerized tree seedlings: comparative plant analyses*. Soil. Sci. Soc. Am. J. 51, 1082-1086.
- Vega, P., Vega, G., González, M., Rodríguez, A., 1993. *Mejora del Pinus pinaster Ait. en Galicia*. En: Silva-Pando, J., Vega, G. (Eds.), Proceedings del I Congreso Forestal Español. Pontevedra, Spain, Xunta de Galicia, 129-134.
- Vega, P., González, M., Moo, C., Vega, G., 1997. *Primeros resultados de los ensayos de progenie del huerto semillero de Pinus pinaster Ait. en Sergude (Galicia)*. En: Puertas, F., Rivas, M. (Eds.), Proceedings del II Congreso Forestal Español. Irati, Navarra, 661-666.
- Vitousek, P.M., 1982. *Nutrient cycling and nutrient use efficiency*. Am Nat 119, 553-572
- Wang, W-Q, Wang, M., Lin, P., 2003. *Seasonal changes in element contents in mangrove element retranslocation during leaf senescence*. Plant Soil 252, 187-193
- Xiao, Y., Jokela, E.J., White, T.L., 2003. *Growth and leaf nutrient responses of loblolly and slash pine families to intensive silvicultural management*. For. Eco. Manage. 183, 281-295.
- Xunta de Galicia, 2001. *O monte galego en cifras*. Xunta de Galicia, Dirección Xeral de Montes e Medio Ambiente Natural, Santiago de Compostela, Spain, 227 pp.
- Zas, R.& Acevedo, C., 2001. *Modelización climática. Una aplicación práctica en Galicia*. En: Proceedings del III Congreso Forestal Nacional. Granada, 126-131.
- Zas, R.& Serrada, R., 2003. *Foliar nutrient status and nutritional relationships of young Pinus radiata D. Don plantations in north-west Spain*. For. Eco. Manage. 174, 167-176.
- Zas, R., 2003a. *Foliar nutrient status and tree growth response of young Pseudotsuga menziesii Mirb. (Franco) to nitrogen, phosphorus and potassium fertilization in Galicia (Northwest Spain)*. Invest. Agrar. Sist. Recur, For. 12, 75-85.
- Zas, R., 2003b. *Interpretación de las concentraciones foliares en nutrientes en plantaciones jóvenes de Pinus radiata D. Don en tierras agrarias en Galicia*. Invest. Agrar. Sist. Recur, For. 12, 3-11.

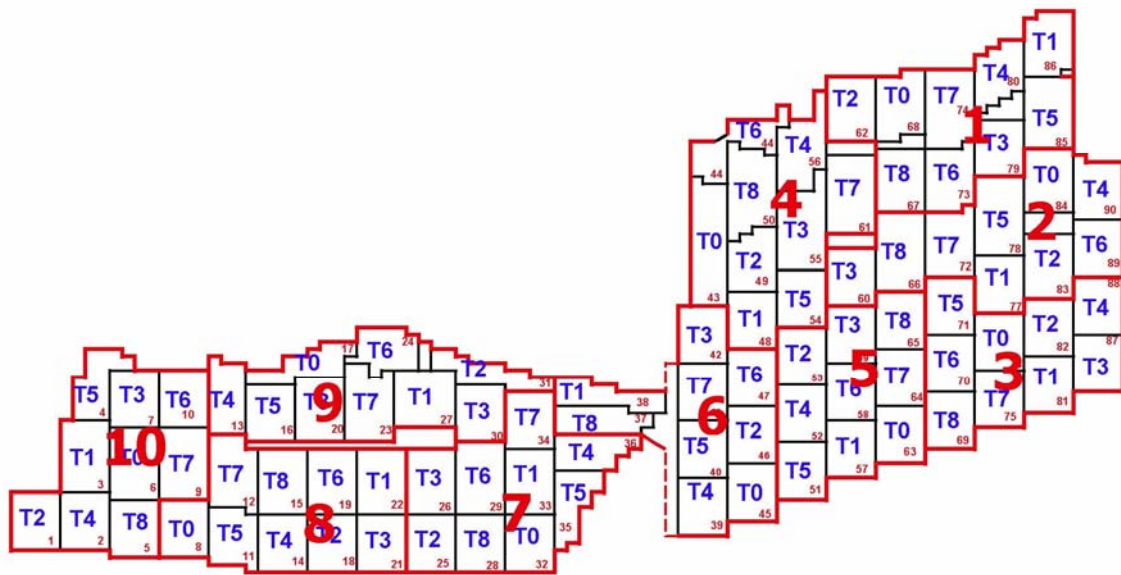
- Zas, R. 2006. *Consecuencias de la estructura espacial de los datos en el diseño y análisis de experimentos*. Ecosistemas, en prensa.
- Zas, R. 2006a. *Iterative kriging for removing spatial autocorrelation in analysis of forest genetic trials*. Tree Genetics & Genomics 2:177-186.
- Zas, R., Fernández-López, J., 2005. *Juvenile genetic parameters and genotypic stability of Pinus pinaster Ait. open pollinated families under different water and nutrient regimes*. For. Sci. 51, 165-174.
- Zas, R., Martins, P., Sampedro, L. 2006. *Patrón espacial de las concentraciones foliares en nutrientes en una plantación de Pinus pinaster*. II Congreso Iberico de Ecología, Lisboa, Julio de 2006
- Zas, R., Pichel, F., Martins, P., Fernández-López, J., 2004a. *The impact of fertilization in the breeding program of Pinus radiata in Galicia (NW Spain)*. En: Álvarez, J.G., Goulding, C., Rojo, A., Rodríguez, R., Zoralioglu, T., Ruíz-González, A.D. (Eds.), Proceedings del IUFRO International Meeting on The Economics and Management of High Productivity Plantations. Lugo, Spain.
- Zas, R., Merlo, E., Fernández-López, J., 2004b. *Genetic parameter estimates for Maritime pine in the Atlantic coast of North-west Spain*. For. Genet. 11, 45-53.
- Zas, R., Merlo, E., Fernández-López, J., 2004c. *Genotype x environment interaction in Maritime pine families in Galicia, Northwest Spain*. Silvae Genet. 53, 175-182.
- Zas, R., E. Merlo, C. A. López-Rodríguez, and J. Fernández-López. 2005. *Evaluación en vivero de familias de Pinus pinaster y correlación con su comportamiento adulto en campo*. in IV Congreso Forestal Español, Zaragoza.



## 9.- ANEXOS

### Distribución de los *whole plot*

Figura 1.- Distribución de los *whole plot* en la parcela de Rebordelo, donde en rojo se aprecia la distribución de los 10 bloques del diseño y líneas de separación de los bloques; en azul, la distribución de los tratamientos de fertilización dentro de los bloques; y, en negro, la separación de los *whole plots*



## Balance hídrico

Tabla 1. Balance Hídrico de la parcela. (Tm: Temperatura media mensual (°C); ETP: Evapotranspiración Potencial (mm) (ETP calculada por Thornthwaite); P: Precipitación mensual (mm); Ce: Coeficiente de escorrentía directa (%); HI: Índice Hídrico (mm); Res: Reserva de agua de del suelo (mm); ETR: Evapotranspiración real (mm); D: Déficit de humedad (mm); S: Excedente de humedad (mm)).

Nombre de la Estación: Rebordelo

Capacidad de campo: 100 mm

Mes	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Σ
<b>Tm</b>	6,1	6,4	8,1	9,3	11,6	14,8	17,7	17,5	15,7	12,1	9,1	6,9	
<b>ETP</b>	19,5	21,1	34,2	44,0	64,3	86,8	108,3	99,2	76,2	51,2	31,2	21,7	657,4
<b>Ce</b>	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<b>P</b>	306,6	282,3	185,5	168,8	172,7	103,7	61,8	71,7	139,8	270,8	208,9	335,9	
<b>Res</b>	100	100	100	100	100	100	62,8	47,7	100	100	100	100	
<b>ETR</b>	19,5	21,1	34,2	44,0	64,3	86,8	99,0	86,8	76,2	51,2	31,2	21,7	635,7
<b>D</b>	0	0	0	0	0	0	-9,3	-12,4	0	0	0	0	-21,7
<b>S</b>	256,5	261,2	151,3	124,8	108,4	16,9	0	0	11,3	219,6	249,7	314,2	1714,1
<b>HI</b>													260,7

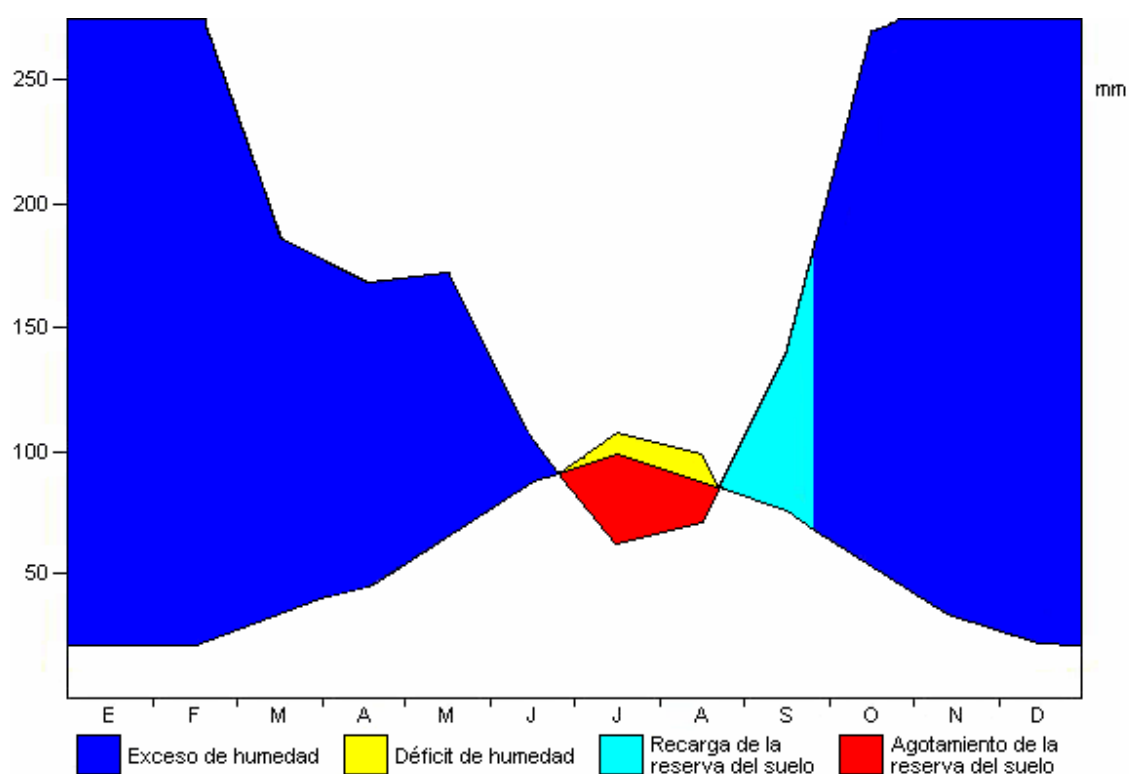


Figura 2.- Balance hídrico de la parcela.

## Diagrama bioclimático

Tabla 2.- Diagrama bioclimático de las tres parcelas.

Coefficiente de escorrentía: 10%

Capacidad de campo: 100 mm

Tm: Temperatura media mensual (°C)

Cd: Coeficiente de disponibilidad hídrica

IBP c: Intensidad bioclimática potencial cálida (ubc) 9.6

IBL c: Intensidad bioclimática libre cálida (ubc) 9.6

IBC c: Intensidad bioclimática condicionada cálida (ubc)

IBR c: Intensidad bioclimática real cálida (ubc) 9.6

IBS c: Intensidad bioclimática seca cálida (ubc)

IBP f: Intensidad bioclimática potencial fría (ubc) -0.6

IBL f: Intensidad bioclimática libre fría (ubc) -0.6

IBC f: Intensidad bioclimática condicionada fría (ubc)

IBR f: Intensidad bioclimática real fría (ubc) -0.6

IBS f: Intensidad bioclimática seca fría (ubc)

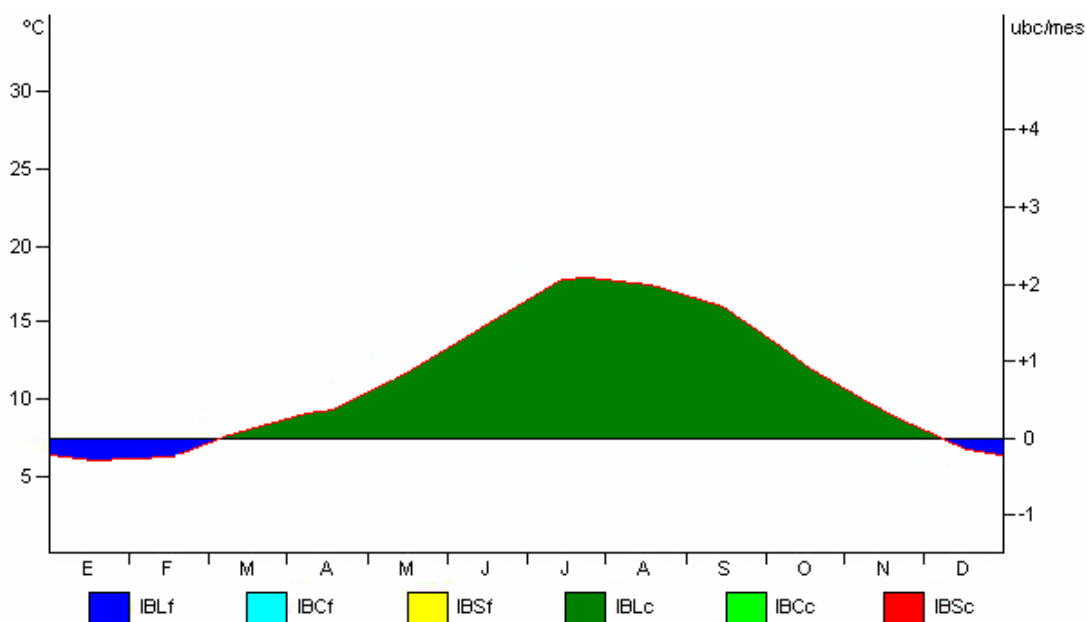


Figura 3.- Bioclimodiagrama de Montero de Burgos.