

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA.  
ESCOLA POLITÉCNICA SUPERIOR DE LUGO.  
ENXEÑERÍA TÉCNICA FORESTAL.

CONTROL XENÉTICO DA CAPACIDADE DE  
REBROTE E EMISIÓN DE RAÍCES ADVENTICIAS  
EN FAMILIAS HÍBRIDAS INTERPROCEDENCIAS  
*DE Pinus pinaster.*

PROXECTO FIN DE CARREIRA

AUTOR: SARA VARELA ROMEU  
DIRECTORES: ESTHER MERLO SÁNCHEZ  
RAÚL DE LA MATA POMBO

XUÑO 2007

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ESCOLA POLITÉCNICA SUPERIOR DE LUGO  
ENXEÑERÍA TÉCNICA FORESTAL



**CONTROL XENÉTICO DA CAPACIDADE DE REBROTE  
E EMISIÓN DE RAÍCES ADVENTICIAS EN FAMILIAS  
HÍBRIDAS INTERPROCEDENCIAS DE *Pinus pinaster***

Os Directores

O Autor:

Fdo.: Esther Merlo Sánchez  
Raúl de la Mata Pombo.

Fdo.: Sara Varela Romeu.

Lugo, 21 de Xuño do 2007

**CONTROL XENÉTICO NA CAPACIDADE DE REBROTE E  
EMISIÓN DE RAÍCES ADVENTICIAS EN FAMILIAS HÍBRIDAS  
INTERPROCEDENCIAS DE *Pinus pinaster***

Este Proxecto Fin de Carreira realizouse no Departamento de Producción Forestal no centro de Investigacións Forestais e Ambientais de Lourizan baixo a dirección da Dra. Esther Merlo Sánchez e a codirección de Raúl de la Mata Pombo, e ó amparo do Programa de Investigación INIA- RTA05/173 “Eficiencia del uso del fósforo en coníferas de crecimiento rápido como alternativa a la necesidad de fertilizantes. Variabilidad genética, mejora y repercusiones fitosanitarias”.

**PROXECTO FIN DE CARREIRA**

**Autor:**

**SARA VARELA ROMEU**

**Directores:**

**ESTHER MERLO SÁNCHEZ**

**RAÚL DE LA MATA POMBO**

## **Agradecementos.**

Sinto a imperiosa necesidade de darlle as grazas a CIFA Lourizán e moi especialmente ó departamento de Producción Forestal por darme a oportunidade de introducirme no mundo da xenética Forestal. Con todos eles experimentei distintas sensacións dende a dúbida ou a curiosidade ata a pena. Pero dende logo é agora, xusto na meta da miña carreira de Enxeñeira Técnica Forestal, un empuxón para poder seguir formándome.

Gustárame expresar o meu máis sincero agradecemento ós meus directores do proxecto a Dra. Esther Merlo Sánchez e Raúl de la Mata Pombo, pola súa dedicación e paciencia, xa que foron moitos os momentos, bos e non tan bos..., pero ambos foron principalmente quen fixeron posible a realización deste proxecto, principalmente porque o seu traballo abre e facilita o camiño ós que nos queremos aventurar nel. **GRAZAS!**

A Patricia, Raquel, Xoaquín, Vicente, Luís e Rafa polo tempo roubado, que non sendo os directores de dito traballo, sempre me brindaron axuda, e moitos ratos de diversión...

Os peóns do departamento, que realizan unha gran labor, especialmente a Chema, por apoiarme e axudarme en todo o que estivo ó seu alcance.

A meus pais, a meu irmán Raúl e Cris e os meus avós, polo seu apoio e esforzo que supuxo para todos, só para que eu tivera unha oportunidade. A todos eles porque me ensinaron o valor da responsabilidade, do traballo, e da capacidade de tomar decisión, mellores ou peores, pero sempre atendendo ás consecuencias.

Á tódoloss meus amigos e amigas (Raquel, Isa, Fati, María, Quique....), a todos eles espero que me perdoen a miña ausencia, por telos un pouco abandonados, sobre todo Mónica, a quen menos vexo pero á que lle sigo tendo un gran aprecio. A Diana e Gema, especialmente, por toda axuda que me ofreceron, facendo mais ameno o traballo, polas longas noites de traballo no último fin de semana de Marzo. Por último, teño moito que agradecerlle á Lore, para quen sobran as palabras.....

## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. <i>Pinus pinaster</i> Ait. ....	1
1.1.1. CARACTERÍSTICAS XERAIS .....	1
1.1.2. ÁREA NATURAL E DISTRIBUCIÓN .....	2
1.1.3. RELEVANCIA DA ESPECIE NA NOSA COMUNIDADE .....	3
1.2. PROGRAMA DE MELLORA DE <i>P. pinaster</i> EN GALICIA .....	5
1.2.1. PROGRAMA DE MELLORA PARA A ZONA COSTEIRA.....	5
1.2.2. PROGRAMA DE MELLORA PARA A ZONA INTERIOR .....	6
1.3. TÉCNICAS DE PRODUCCIÓN DE PLANTA POR ESTAQUILLADO.....	9
1.3.1. MULTIPLICACIÓN VEXETATIVA POR ESTAQUILLADO .....	9
1.3.2. FACTORES QUE INFLÚEN NA PLANTA NAI PARA FAVORECER A EMISIÓN DE REBROTOS.....	10
1.3.3. FACTORES QUE DETERMINAN A EMISIÓN DE RAÍCES ADVENTICIAS E O SEU DESENROLO.....	11
1.4. TÉCNICA DE ESTAQUILLADO EN CONÍFERAS. CONTROL XENÉTICO .....	15
1.5. EXPERIENCIAS DE ESTAQUILLADO EN <i>P. pinaster</i> E IMPORTANCIA DO SEU USO E EXPERIMENTACIÓN .....	16
2. OBXETIVOS .....	18
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	19
3.1. MATERIAL VEXETAL .....	19
3.2. ESTUDO PRIMEIRO: ESTUDO DA EMISIÓN DE BROTOS DA PLANTA NAI.....	23
3.2.1. VARIABLES DE ESTUDO NA EMISIÓN DE REBROTOS DA PLANTA NAI.....	26
3.2.2. ANÁLISE ESTADÍSTICO DOS DATOS.....	27

3.3. ESTUDO SEGUNDO: ENRAIZADO E DESENEOLO DO SISTEMA RADICAL DA ESTAQUILLA TEMINAL OBTIDA DAS FAMILIAS.....	28
3.3.1. VARIABLES ANALIZADAS NO ESTUDO DO SISTEMA RADICAL..	30
3.3.2. ANÁLISE ESTADÍSTICO DOS DATOS.....	31
4. RESULTADOS E DISCUSIÓN.....	33
4.1. CAPACIDADE DE REBROTE DA PLANTA NAI .....	33
4.2. CAPACIDADE DE ENRAIZAEMNTO DOS BROTES TERMINAIS DA PLANTA NAI E FORMACION DE RAÍCES ADVENTICIAS .....	41
4.2.1. CAPACIDADE DE ENRAIZAMENTO E CRECEMENTO INICIAL DA ESTAQUILLA .....	41
4.2.2. AVALIACIÓN DA CAPACIDADE DE FORMACIÓN DE RAÍCES ADVENTICIAS .....	45
5. CONCLUSIÓNS. ....	54
6. REFERENCIAS.....	56
ANEXOS .....	62

## 1. INTRODUCCIÓN

Este capítulo divídese en cinco apartados. No primeiro definimos a especie obxeto de estudo e traballo, descrición, distribución e importancia da mesma en Galicia. Logo introducimos o programa de mellora de *Pinus pinaster* na nosa comunidade. A continuación explicamos as técnicas de produción de planta, centrándonos na produción por estaquillado. O estado actual da técnica de estaquillado en coníferas detállase no cuarto apartado e por último, no quinto apartado referímonos ás experiencias levadas a cabo así como a súa importancia.

### 1.1. *Pinus pinaster* Ait.

*Pinus pinaster* Ait. é a especie forestal máis importante en Galicia, ocupando unha superficie aproximada de 400.000 ha, cun incremento volumétrico anual estimado de  $3 \cdot 10^6$  m<sup>3</sup>/ano. Xunto co *Eucalyptus globulus*, supón a maioría da produción madeireira galega e unha boa parte da nacional. Esta especie de pino ocupa case o 11% da superficie arborada española.

#### 1.1.1. CARACTERÍSTICAS XERAIS

Trátase dunha árbore que alcanza unha altura normalmente de 20 m inda que pode cegar ós 40 m. O seu porte é bastante simétrico e regular ó principio, perdendo máis ou menos estes caracteres coa idade. A copa é de forma piramidal inicialmente, logo vólvese moi lobulada e confinada o tercio superior do fuste. Ramificación pouco densa con elementos erecto-patentes verticilados ata na madurez.

Ramiñas de cor pardo-roxiño con escudetes grosos. Brotes roxiños máis ou menos escuros segundo a fase de desenrolo. A cortiza é rugosa e escura nos primeiros anos, agretándose profundamente co tempo á vez que aumenta en grosor orixinando un conxunto de teselas irregulares de cor escura a pardo-roxiza separadas por fendas dun ton amoratado.

Posúe piñas revoltas contra a base do ramillo, subsentadas de forma alongada, duns 10-20 cm e con resina entre as escamas. As piñas maduran ó cabo de dous anos, son longas e estreitas (8-22 x 5-8 cm), simétricas, con escamas puntiagudas e punzantes.

Os piñóns teñen uns 8 mm de longo e ca á membranosa articulada duns 3,5 cm. Florece entre marzo e maio. Madura a finais do segundo verán e a diseminación non ten lugar ata a primavera do terceiro ano. Presenta unha raíz pivotante que penetra profundamente no solo acompañada por gran número de raíces secundarias laterais que conforman o sistema radicular máis potente de tódolos pino españois.



Figura 1 Copa, piñas e tronco de *P. pinaster*

### 1.1.2. ÁREA NATURAL E DISTRIBUCIÓN

*P. pinaster* é unha conífera natural da rexión mediterránea occidental e da fachada atlántica do sureste europeo, e que constitúe masas forestais en Francia, España, Portugal, Italia, Marrocos, Arxelia e Túnez.

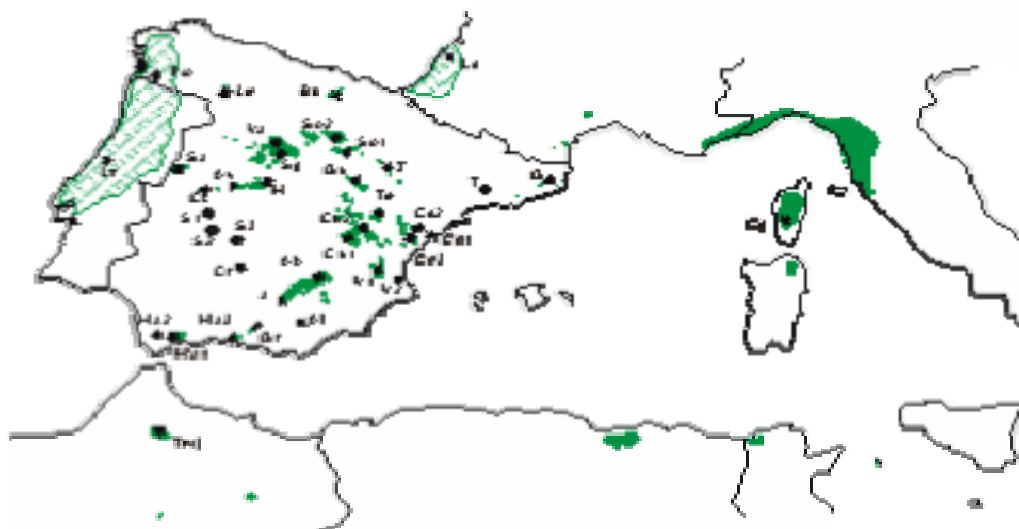


Figura 2: Área ocupada polo *P. pinaster*. Escala rexional.



En España é o pino que ocupa de forma natural maior superficie, sendo tamén co que máis se repoboou. A escala rexional distínguense tres grupos claramente diferenciados: grupo Noroeste, grupo Suroeste e grupo Este, concentrándose a maior parte da diversidade nos dous últimos. Existe unha gran diversidade xenética nas poboacións próximas á costa Mediterránea, reducíndose a mesma a medida que nos aproximamos ó Noroeste Peninsular. Dita estrutura pode explicarse mediante a existencia de refuxios glaciares en zonas próximas á costa (Rikly, 1943; Destremau *et al.*, 1982; González Martínez, 2001).

A diversidade ecolóxica e o illamento entre as masas de *P. pinaster* deu lugar á existencia de tres grandes grupos de razas xeográficas con distinto comportamento: Atlántico, mediterráneo-europeo e maghrebí. En total diferenciáronse 18 razas xeográficas dentro destes grupos, das cales seis están representadas en España con gran variación xenética entre as súas poboacións (Alía *et al.*, 1996). Esta diversidade púxose de manifesto nas distintas adaptacións.

A poboación de *P. pinaster* en Galiza inclúese dentro da procedencia atlántica noroccidental (Alía *et al.*, 1996), caracterizada polo seu bo crecemento, unha forma de fuste intermedia (Alía *et al.*, 2001) e unha diversidade xenética relativamente baixa (Salvador *et al.*, 2000).

Os primeiros ensaios realizados en Galicia con *P. pinaster* lévanse a cabo en 1953 e 1954, da man de Fernando Molina, para estudar o comportamento das distintas procedencias desta especie (Molina, 1965). O ensaio estableceuse na zona costeira de Cuntis (Pontevedra) e ensaiáronse 24 procedencias. Os mellores resultados obtivéronse para as razas locais, xunto co resto de procedencias atlánticas ensaiadas (Landas e Leiría).

### **1.1.3. RELEVANCIA DA ESPECIE NA NOSA COMUNIDADE**

En Galicia, onde recibe os nomes vulgares de pino galego, piñeiro do país ou piñeiro bravo, parece que estivo presente como especie natural, aínda que de forma bastante puntual e asociado ós areais costeiros. Pero sen dúbida a gran expansión da

súa área débese á acción do home, que empregou esta árbore en repoboación dende o século XVIII. Esas repoboacións foron realizadas polos mesmos campesiños, que sementaban nas súas fincas semente procedente de Portugal, a miúdo mesturada con cereal ou toxo.

No século XIX o pino pinaster esténdese por toda a Galicia costeira e polo occidente asturiano, sempre en cotas baixas.

Xa no século XX son as administracións públicas as que, cos seus programas de repoboación, máis aumentan a superficie ocupada por esta especie. Conséguese uns resultados desiguais en canto á calidade das masas, xa que en certos casos empregouse en condicións estacionais límite, ou ben partiuse de semente de orixe non adecuado. A actividade silvícola desenrolada lígase a unha florecente industria de aserrado, case sempre de carácter familiar.

Na actualidade, e comparando os datos de superficie dados polos inventarios forestais, apréciase unha redución das masas existentes. Isto débese sobre todo á substitución polo eucalipto, especie que se prefire na zona costeira pola súa rapidez de crecemento e que rexenerou con facilidade tralos incendios. Os propietarios privados perderon en boa parte o seu interese por repoboar co pinaster.

Sen dubidar das excelentes aptitudes productivas do eucalipto e pino radiata, cremos necesario facer as seguintes consideracións (Manual de Selvicultura do Pino Pinaster):

- 1.- O pino galego é unha árbore enormemente frugal que vive e medra sobre solos moi someros, areosos e pouco fértiles, onde outras especies non serían unha alternativa productiva.
- 2.- O pino galego resiste máis o frío có eucalipto, podéndose empregar en repoboacións a altitudes limitantes para este (500 - 800 metros).
- 3.- O pino pinaster ten facilidade para rexenerar de forma natural, polo que cos coidados silvícolas necesarios poden aforrarse os custos de repoboación trala corta final.

4.- A paisaxe costeira galega estivo caracterizada durante máis de 300 anos pola presenza de pino do país.

5.- As mellores calidades de pino galego costeiro ofrecen uns crecementos medios máximos duns 20 m<sup>3</sup>/ha ano, con turnos de corta de 30 anos, o que indica a capacidade productiva do noso pino.

## **1.2. PROGRAMA DE MELLORA DE *P. pinaster* EN GALICIA**

En 1983 distínguense dúas zonas de Mellora para o *P. pinaster* en Galicia: Galicia costeira (Noroeste litoral 1a) e Galicia interior (Noroeste litoral 1b) (Bará & Toval, 1983). O criterio de división foi altitudinal, mostrando as masas unha gran diferenza en calidade e crecemento (Bará & Toval, 1983). A rexión costeira vai dende o litoral ata os 600 m de altitude (Toval, 1987) e a interior por encima de dita cota. A súa importancia relativa é moi diferente, posto que máis do 96% das masas encóntranse por debaixo dos 800 m e máis do 60% é inferior ós 600 m.

### **1.2.1. PROGRAMA DE MELLORA PARA A ZONA COSTEIRA**

En 1985 a Xunta de Galicia inicia o Plan de Mellora Xenética Forestal nesta comunidade, incluíndo un programa de mellora xenética para a zona costeira da especie *P. pinaster* (Vega *et al.*, 1989) empregando como poboación de mellora árbores superiores seleccionados nesta mesma rexión dados os bos resultados que mostraron as razas locais nos ensaios de procedencia de Molina (1965). Como noutros países, os obxetivos da mellora enfocáronse fundamentalmente na mellora de características de crecemento, forma do fuste e ramosidade. A variabilidade deses trazos é moi alta tanto dentro como entre poboacións.

En 1986 iniciáronse as actividades de mellora sobre esta especie, coa selección de 128 árbores plus (superioridade en crecemento, forma e ramosidade) na comarca Costa Atlántica (Vega *et al.*, 1993).

As árbores superiores seleccionadas clonáronse por inxerto e estableceuse en 1990 un horto sementeiro en Sergude e en 1998 outro en Monfero, ambos na provincia de A Coruña, con 116 clons das 128 árbores plus, cuxo fin principal é a produción de semente de alta calidade xenética para a reforestación na zona costeira de Galicia (Merlo & Fernández-López, 2004). Para a avaliación das seleccións instaláronse un total de 17 ensaios de proxenie de polinización aberta, 12 na zona costeira e 5 na interior. Sen embargo, diversos problemas relacionados co sistema de cultivo empregado en viveiro, o deseño experimental ou a incidencia de incendios, pragas ou enfermidades, impiden a utilización de todos eles.

A avaliación destes ensaios de proxenie a distintas idades demostran a superioridade do material de mellora respecto ós testemuñas comerciais (Vega *et al.*, 1997; Martíns, 2005) e permitiu a estimación de parámetros xenéticos fundamentais para coñecer a estrutura xenética da poboación de mellora e con elo definir a estratexia de mellora para a zona costeira (Zas *et al.*, 2004; Martíns, 2005; Merlo *et al.*, 2005).

### **1.2.2. PROGRAMA DE MELLORA PARA A ZONA INTERIOR**

A pesar da importancia da especie na zona interior, o programa de mellora non está tan desenrolado. Ó contrario do que ocorre na zona costeira, na zona de interior non existe unha poboación silvestre de calidade. O aspecto xeral dos piñeiros de pino pinaster é ben distinto da paisaxe costeira: a ramosidade é moito máis acusada, o crecemento en altura é en xeral inferior e as árbores teñen maiores porcentaxes de cortiza e maiores diámetros. Isto é debido a que aquí, a especie foi introducida ó longo do presente século, espazo de tempo en todo caso insuficiente para que se producira unha adaptación ás condicións ambientais desta zona. Outra causa da deficiente calidade das masas do interior é que dita introducción prodúcese a través de repoboacións masivas levadas a cabo polo Estado, e nas que por mor de que a oferta de semente non colmaba a demanda, procedeuse a repoboar con procedencias pouco adecuadas para o sitio procedente da Meseta Central Castelá (Alía *et al.*, 1996).

En base a esto e posto que a calidade das masas de interior non é boa, dende CIFA Lourizán estase desenvolvendo dúas posibles estratexias para abordar un programa de mellora na zona interior:

1. Ensaio do material costeiro na zona interior e caracterización das familias máis adaptadas a ditas condicións (Rede de ensaios de proxenie no interior de Galicia)
2. Creación de híbridos interprocedencias empregando poboacións adaptadas ó medio para obter híbridos adaptados a condicións intermedias

Empregarase material resultado dunha serie de cruzamentos controlados levados a cabo no ano 2003 entre a procedencia Noroeste litoral (1a) de Galicia con outras procedencias do grupo racial nemoromediterráneo da mesma especie. As procedencias para a obtención de híbridos foron seleccionadas en base á avaliación dos ensaios de procedencias (Molina, 1965), incluíndo ademais unha selección sobre rodais selectos do interior de Galicia:

- Procedencia Córcega (Francia), seleccionada pola rectitude do fuste (COR).
- Procedencia Garganta (Landas, Francia) seleccionada polo alto crecemento (GAR).
- Procedencia Soria-Burgos, seleccionada polo alto crecemento e estabilidade de comportamento (VAL).
- Procedencia interior Galicia (Carballiño) (IN-1) (árbores plus escollidas en base a caracteres de crecemento e forma).
- Procedencia interior Galicia (Guitiriz) (IN-2) (árbores plus escollidas en base a caracteres de crecemento e forma).
- Procedencia interior Galicia (Sober) (IN-3) (árbores plus escollidas en base a caracteres de crecemento e forma).

Como o número de semente obtida foi moi pequena, propónse a utilización de estaquillado como alternativa para a obtención de material de calidade tanto para a

instalación de ensaios como para unha posible utilización na produción do material a gran escala, e a importancia e necesidade de saber cales son os aspectos fundamentais para asegurar unha reprodución eficiente, promover a emisión de brotes suficiente e conseguir un bo sistema radical para asegurar a posterior supervivencia en campo.

O presente proxecto céntrase no estudo da reprodución vexetativa do material obtido para levar a cabo a estratexia citada.

O clima é o factor ecolóxico máis determinante que xustifica o uso destas procedencias. En condicións ecolóxicas de clima máis duro, a correcta adaptación e crecemento das distintas procedencias de *P. pinaster* é función da sensibilidade ó frío (Bouvarel, 1960), a resistencia á seca (Guyon e Kremer, 1982) e a supervivencia vese influenciada pola precipitación dos lugares de orixe das procedencias e a altitude das localidades onde se ensaian (Alía *et al.*, 1997).

Empregando poboacións adaptadas a medios diferentes é posible obter híbridos adaptados a condicións intermedias mediante cruzamentos. A obtención de variedades híbridas por polinización controlada entre procedencias é unha estratexia de mellora empregada con numerosas especies como *Pinus tadea* (Schmidtling, 1996) e *Pinus pinaster* (Harfouche & Kremer, 2000).

O éxito da obtención de variedades híbridas como estratexia de Mellora no Programa de Mellora levado a cabo para *P. pinaster* no sudeste de Francia xustifica o interese e o éxito dun proxecto, que pretende ampliar a zona de mellora de *Pinus pinaster* en Galicia, seleccionando parentais da zona costeira cun mellor nivel de adaptación na zona interior e obter un híbrido mellorado combinando os caracteres de crecemento e forma dos parentais da zona costeira de mellora, con factores de adaptabilidade a condicións climatolóxicas máis continentais de parentais seleccionados en procedencias locais da zona interior de mellora, e noutras procedencias de interior

## **1.3. TÉCNICAS DE PRODUCCIÓN DE PLANTA POR ESTAQUILLADO**

### **1.3.1. MULTIPLICACIÓN VEXETATIVA POR ESTAQUILLADO**

Aínda que tódalas plantas superiores producen sementes, cando se desexa obter gran cantidade de plantas ben desenvolvidas en pouco espazo de tempo que, ademais garden todas unha uniformidade de aspecto , acódesse á multiplicación vexetativa ou asexual. Ademais, en ocasións, non sempre as sementes son facilmente xerminables, a planta prodúceas en pouca cantidade, ou moitas veces as plantas cultivadas fóra das súas zonas de orixe nin sequera chegan a producir sementes.

Os métodos de multiplicación vexetativa máis habituais son: estaquillado, abacelo, enxerto, e cultivo in vitro.

O estaquillado consiste en separar un fragmento vexetal, mantelo vivo e lograr que rexenere os órganos que lle faltan ata conseguir formar unha planta completa.

Normalmente as estacas fanse de partes vexetativas da planta tales como tallos, follas ou raíces. Á súa vez, as estacas de tallo poden ser de madeira dura, de madeira suave ou herbáceas. Cada especie multiplícase mellor por un ou outro sistema, sendo o máis corrente as estacas de tallo.

O material a utilizar para estaquillado debe proceder de plantas nais libres de enfermidades e ben cultivadas, é dicir, deben ser sans e ben desenvolvidas. O ideal nun viveiro de produción é ter unha plantación de pés nais ben coidada, de onde se tomarán os esquexes tódolos anos.

No estaquillado, non intervén a acción conxugada dos dous proxenitores. Un só e único vexetal pode multiplicarse por fragmentación en varios individuos, é o que se denomina multiplicación vexetativa ou clonación. O conxunto de individuos así obtidos a partir dunha mesma planta constitúe un clon.

### 1.3.2. FACTORES QUE INFLÚEN NA PLANTA NAI PARA FAVORECER A EMISIÓN DE REBROTOS

O estado vexetativo das plantas nais tamén é de primordial interese, os individuos vigorosos e sans son aptos para proporcionar moitos fragmentos que poidan subsistir e rexenerarse máis facilmente. A este resultado chegaron autores que traballaron con outras especies, como por exemplo *P. tadea* ( Freyse & Cols., 1985) ou *P. pinaster* (Alazard & Kadio, 1983).

Por outra parte, conservar o estado xuvenil ou conseguir que este se recupere é fundamental no material procedente das plantas nais, xa que unha vez logrado isto a obtención de estacas verá ampliada enormemente as súas aplicacións.

A estación meteorolóxica condiciona a produción de estaquillas, obténdose mellores resultados na primavera, seguida do verán, outono e inverno. Así o demostran experiencias levadas a cabo con *P. pinaster* e *P. radiata*. En ambas especies a estación na que se obtivo unha produción maior de estaquillas foi a primavera, seguida do verán, outono e inverno ( $P = 7.692$ ,  $V = 3.656$ ,  $O = 1.525$  e  $I = 1.218$  para *P. radiata* e  $P = 6.863$ ,  $V = 1.615$ ,  $O = 939$  e  $I = 420$  para *P. pinaster* (Rodríguez *et al.*, 1999).

Outro factor a ter en conta na emisión de brotes novos é a fertilización, xa que o desenvolvemento da planta está limitado polas dimensións do colector. Isto unido a que o sustrato empregado normalmente non contén nutrientes, fai necesario o uso de fertilizantes. Nun estudo sobre as condicións máis favorables para estaquillar *P. pinaster*, Franclet (1975) empregaba estaquillas de pés procedentes de sementa de 5 anos de idade, que anteriormente se empregaran en ensaios de nutrición mineral, obtendo uns resultados moi esperanzadores.

A altura de corte das estaquillas induce un maior ou menor rebrote por parte da planta nai. AFOCEL por medio de Alazard e Kadio (1983) estudou a importancia da orixe do material no estaquillado, chegando á conclusión de que a altura de corte das estaquillas inflúe sobre o número de braquiblastos inducidos no pé nai; a 60 cm. indúcense dúas veces máis estaquillas que a 20 cm.



### 1.3.3. FACTORES QUE DETERMINAN A EMISIÓN DE RAÍCES ADVENTICIAS E O SEU DESEÑO

Antes de empezar a revisar cada un dos elementos que toman parte no estaquillado, convén destacar que cada un deles forma parte dunha técnica e que en certo modo carece de sentido referirse a eles de forma independente.

#### ➤ **Material vexetal**

A procedencia do material empregado para a produción de planta mediante estaquillado, ben estean incluídos en plans de mellora xenética ou destinados a produción de planta, é diversa (hortos de inxertos de cultivares de árbores plus; estaquillas que a súa vez proceden de plantas nadas de semente, etc.).

Sexa cal sexa a procedencia do material de reprodución asexual, a capacidade de enraizamento depende da especie, e incluso do xenotipo dentro da especie (Franclet, 1969). As estaquillas das especies que teñen primordios de raíces adventicias latentes ou preformados (por exemplo, *Salix*) enraízan facilmente, ó igual que as plantas con radios vasculares amplos pero carente de primordios (por exemplo, *Tamarix* spp.). As estaquillas de *Pinus* spp. que están desprovistas de primordios latentes e cuxos radios vasculares son estreitos, enraízan con dificultade (Fahn, 1985). Entre as coníferas a propagación vexetativa de *P. radiata* é relativamente fácil, mentres que en *P. tadea* e *P. elliotti* a propagación por estaquillas complicase (Weir, 1993), co que xurde un novo reto para a clonación forestal.

Pero dentro de cada especie tamén existen varianza entre os seus xenotipos. Así o demostran estudos sobre *P. tadea*, cun 23,8 % na variación total na capacidade de enraizamento entre os xenotipos (Thulin & Faulds, 1968; Mullin *et al.*, 1992)

#### ➤ **Idade da planta nai**

Outro factor a ter en conta é a idade, xa que a capacidade para producir raíces adventicias varía coa idade, xeralmente a capacidade é maior en plantas e órganos xóvenes (Fahn, 1985). O uso de plantas xuvenís (idade cronolóxica) é necesario para obter un nivel aceptable de enraizamento e crecemento. Os métodos empregados para

manter a xuventude de coníferas son a poda en sebe, a propagación en serie, e as técnicas de tecido cultural sobre embrioxénese somática.

Na *Picea abies* os efectos do envellecemento aparecen facilmente, e a poda en sebes e a serie de propagación son usadas con éxito en algunhas especies, como *Pinus radiata*, e *Picea mariana*, pero outras, incluíndo o abeto Douglas, non responde ben ó uso desta técnica (Ritchie, 1991).

Respecto a idade fisiolóxica da planta, a ramificación de calquera individuo vexetal conta con zonas de diferentes idades, e distinta conformación morfolóxica. Estas circunstancias inducen a pensar que existe diferente resposta rizoxénica dentro dun individuo en función da topófisis e conformación do material empregados. O'Rourke (1944) encontrou maior capacidade de enraizamento en estaquillas basais con respecto ó resto de posicións. En estudos posteriores para o abeto Douglas demostrouse que o porcentaxe de estaquillas enraizadas da parte basal era dúas veces superior a parte alta, atribuíndose como causa principal o sombreado das ramas altas ou por efectos de maduración.

➤ **Sustrato.**

É unha parte moi importante no éxito de enraizamento, xa que é o medio que vai estar en contacto directo coas futuras raíces. O sustrato inflúe directamente sobre a rizoxénese en base a unha variación das condicións ambientais, que poden favorecer ou impedir aquela, mostrando unha acción decisiva na morfoloxía das raíces emitidas, a través da aireación do sustrato e do contido de humidade. No caso de esaquillado débese permitir unha retención de auga que non sexa excesiva e unha porosidade adecuada para a correcta aireación das raíces así como para o desenrolo destas.

Algúns dos sustratos máis empregados son area, turba, perlita, vermiculita, cortiza de pino compostada, auga (no caso de especies moi fáciles de enraizar), terra volcánica, etc., inda que o que se soe facer é combinar varios destes sustratos.

Son numerosas as experiencias levadas a cabo co sustrato debido a súa importancia no enraizamento con estaquillas. Os primeiros traballos realizados con *P.*

*pinaster* poñen de manifesto unha maior taxa de enraizamento en medios constituídos por mestura de perlita ó 80% e turba rubia ó 20% (Franclet, 1975). En *Picea sitchensis* na Forestry Commission en Gran Bretaña empregouse un sustrato a base de turba, cortiza e perlita ou area (Ritchie, 1991). En Francia estase empregando con moi bos resultados a cortiza de *P. pinaster* triturada, compostada e abonada cun fertilizante de liberación lenta, polo que este sustrato estase empregando en especies como eucalipto, pino marítimo e pino tadea.

➤ **Hormona.**

A maior parte das plantas necesitan auxinas para conseguir unha rexeneración radical eficaz. Esta necesidade non é constante, xa que despois da iniciación da raíz, o desenrolo dos primordios radicais requiren baixa concentración.

Entre os numerosos ensaios e produtos empregados parece ser que nun amplo grupo os mellores resultados obtivéronse cos ácido indol-butírico (AIB) e co ácido naftilacético (ANA). Entre os primeiros ensaios realizados xa se demostrou a eficacia das hormonas na emisión de raíces, de maneira que para avaliar a acción do ácido indol-butírico, Cooper (1944) mostrou que as raíces por estaquilla varia de 5,5 na testemuña a 64,3 en estaquillas mantidas durante 5 segundos nunha solución alcohólica con  $10 \text{ mg l}^{-1}$ . A acción das numerosas sustancias con influencia rizoxénica, presenta resultados moi variables en función da dose e a especie. Así, unha mostra tratada con ácido indolbutírico incrementaba dun 50% a un 92 %, en base a dose, o porcentaxe de enraizamento (Van Onsenn, 1953). En experimentos posteriores con *Chamaecyparis lawsoniana* o mellor enraizamento conseguiuuse cunha combinación de AIB e ANA. A concentración óptima de AIB para o abeto Douglas foi de 5000 a 10000 ppm, coa cantidade máis baixa para estaquillas semi-lignificadas e coa cantidade máis alta para as estaquillas lignificadas (Wigmore & Woods, 2000).

Outros reguladores son citokininas, xiberelinas e o ácido abscísico que inhiben xeralmente a formación de raíces adventicias.

➤ **Condiciones ambientais.**

A temperatura e humidade ambiental pódense considerar como factores decisivos, non tanto pola súa influencia directa sobre o proceso como por aportar as condicións adecuadas para que este se desenvolva. Como consecuencia da rotura de continuidade entre a estaquilla e a planta nai, debemos asegurar o suministro de auga e dada a carencia temporal de raíces das estaquillas, o obxectivo inmediato debe ser o de reducir ó mínimo a evapotranspiración que se produce polos tallos e follas, polo menos ata que aparezan unhas novas raíces que lla subministren.

Xeralmente, a maioría dos procesos bioquímicos interrómpanse co descenso da temperatura, véndose igualmente dificultados se esta sube excesivamente. Do mesmo modo, a humidade impide a deshidratación e a morte da estaquilla durante o proceso de enraizamento xa que esta carece de órganos que lle permitan a absorción de auga, motivo polo cal é frecuente realizar regos breves e frecuentes sobre o material de enraizamento con obxeto de que manteña permanentemente húmida a superficie foliar a través da cal perde auga. Estes factores deben estar equilibrados entre si, e nun óptimo en canto á súa magnitude, dado que poden ser prexudiciais tanto por defecto ó impedir o desenvolvemento fisiolóxico normal e facilitar a deshidratación, como en exceso por dificultar ditos procesos e favorecer o desenrolo de fungos e parasitos que atacan ó material en formación (Salinero *et al.*,1981).

As condición xerais máis adecuadas para facilitar o enraizamento de estaquillas son:

- Temperaturas arredor dos 20 °C.
- A humidade do sustrato débese manter pero non ser excesiva para permitir a aireación, evitando as pudricións. A humidade do medio próxima á saturación é favorable, xa que impide a deshidratación da estaquilla.
- O solo no que se colocan as estaquillas debe ser lixeiro, permeable e que se quente facilmente. As texturas máis adecuadas son as areosas e os sustratos artificiais máis convenientes son: turba, perlita, vermiculita, terra volcánica e a area pura.
- A luz favorece o enraizamento, aínda que aumenta a transpiración, polo que coa actividade vexetativa sombréanse as eiras, túneles ou invernadoiros.

## 1.4. TÉCNICA DE ESTAQUILLADO EN CONÍFERAS. CONTROL XENÉTICO

O estaquillado non é unha técnica innovadora na reprodución asexual. O seu uso esténdese dende hai moitos anos e xa nos primeiros ensaios con estaquillas demostrouse a influencia da idade na capacidade de enraizamento (Gardner 1929).

En especies como os híbridos de *Leucaena* (*L. leucocephala* x *L. pallida*) a propagación vexetativa resulta esencial para a súa explotación a causa da esterilidade da maioría dos híbridos superiores (Shi & Brewbaker, 2006). Son numerosos os artigos publicados sobre a técnica de estaquillado con esta especie entre 1980 e 1996 (Brewbaker; Hu & Liu; Litzow & Shelton).

O estaquillado tamén cobra relevancia na produción de *Eucalytus globulus*, tan importante na produción madeireira a nivel nacional e en Galicia. Neste caso tamén se demostrou a influencia de factores xenéticos na capacidade de enraizamento das estaquillas de dita especie o que abre a posibilidade da utilización exitosa da propagación bulk, en cuxo estudo se esperou un enraizamento cun alto grado de confianza, próxima ó 90%. (Lemos *et al.*, 1997).

Resulta especialmente importante destacar a aplicación desta técnica na familia *Pinaceae*, onde cobra especial relevancia en *Pinus tadea*, sobre o cal se realizaron numerosas investigacións demostrando a importancia do control xenético sobre o enraizamento e os altos porcentaxes obtidos proban o éxito da técnica (Anderson *et al.*, 1999) onde os resultados do seu estudo se compararon con previos informes (Foster, 1978; Foster, 1990), ou *Picea stichensis* onde se considera interesante aplicar esta técnica mediante propagación bulk-up pola resistencia superior que se identificou en algunhas familias (King *et al.*, 2000).

Anderson *et al.* (1999) realizaron un estudo sobre a produción de estaquillas de *Pinus tadea* como complemento á propagación de plántulas procedentes de horto sementeiros para abordar un programa de reforestación. O obxectivo de dito estudo foi examinar o control xenético da habilidade de enraizamento de *P. tadea* en invernadoiro

sobre ciclos de enraizamento. En xeral, os porcentaxes de enraizamento decrecen segundo avanza o estudo dun 75% a un 28% para os ciclos 1 ó 5. Os porcentaxes de enraizamento varían dende 19,4 % a 40.8% entre familias en bloque incompletos e 11,5% a 55,3% entre familias en bloques completos. O enraizamento clonal varía dende o 0% ó 100%, 0% a 93%, 3,2% ó 100% e de 0% ó 75%, dentro dos ciclos 2 ata o 5, respectivamente.

### **1..5. EXPERIENCIAS DE ESTAQUILLADO EN *P. pinaster* E IMPORTANCIA DO SEU USO E EXPERIMENTACIÓN**

Son numerosas as experiencias levadas a cabo con numerosas coníferas e frondosas, sen embargo no caso de traballos realizados con *P. pinaster* o campo redúcese drasticamente. En Galicia, no caso da familia *Pinus sp.* a maioría de traballos céntranse en estaquillado de *P. radiata* e dada a importancia do pino do país na nosa comunidade, é importante ampliar o uso desta técnica na mellora xenética.

En 1949 David (1954) efectuou as primeiras experiencias sobre enraizamento de *P. pinaster*, manifestando a falta de resultados obtidos mediante a aplicación de hormonas como mecanismo de enraizamento, obtendo uns porcentaxes que oscilan entre o 19% e o 25% en experiencias de verán e inverno respectivamente.

No CIFA Lourizán empregouse esta técnica para a reprodución masiva de *P. pinaster* e *P. radiata* polo seu interese relacionado coa preservación de xenotipos e a avaliación da súa interacción co medio. Os ensaios realizados con esta especie determinaron un elevado porcentaxe de enraizamento, dependentes das doses de hormona empregada, do sustrato e procedencia da estaquilla, con tratamentos que alcanzan o 100% de supervivencia (Vega *et al.*, 1993).

Outros ensaios realizados sobre a viabilidade do uso de plantas nai de *P. pinaster* para a produción masiva de estaquillas, demostran unha variación do porcentaxe de enraizado no tempo. Partindo dun porcentaxe inicial do 99% (Rodríguez & Vega, 1993) compróbase unha lixeira diminución no tempo (Primavera = 80%, Verán = 67,09%, Outono = 74,16%) (Vega *et al.* 1999).

*P. pinaster* é unha especie forestal cun sistema radical pivotante de estrutura sinxela e moi sensible ante axentes externos que poidan interferir no normal desenvolvemento do mesmo e no correcto anclaxe e estabilidade da planta a medio e a longo prazo (Merlo et al.,2003).

O enraizamento das estaquillas é producido a partir dunha parte aérea, o que se coñece como raíces adventicias. Estas poden ter ou non un ramificacións, pero teñen forma e tamaño relativamente homoxéneo.

Existe unha notable variabilidade na forma e estrutura das raíces. Esta variabilidade, en moitos casos, está relacionada coa función e pode estar ligada a un proceso evolutivo de adaptación.

A importancia de obter planta de estaquilla para poder ser utilizada depende do éxito de cada unha das fases fundamentis descritas anteriormente (emisión de rebrotes, e emisión de raíces adventicias e o seu desenrolo), e a utilización do material de híbridos interprocedencias. É importante coñecer a influencia do factor poboacional e familiar nestes procesos para poder asegurar unha efectividade na posta en marcha da estratexia escollida.

## **2. OBXETIVOS**

O presente proxecto desenvólvese dentro do Proxecto de Investigación INIA RTA02-109 “Avance do Programa de Mellora de *Pinus pinaster* e *Pinus radiata* para Galicia” e versará sobre o control xenético de distintos procesos de reprodución vexetativa de híbridos interprocedencias de *P. pinaster*, como material potencial de utilización na zona interior de Galicia. A reprodución vexetativa de planta xuvenil de *P. pinaster* é unha técnica fundamental nos procesos de abastecemento de planta, tanto a nivel comercial como experimental. As dúas fases principais da reprodución por estaquillas son: a emisión de brotes na planta nai e o porcentaxe de enraizado dos esquexes extraídos das mesmas. Numerosos traballos mostraron un gran control clonal para numerosas especies nestas dúas fases, sen embargo existe moi pouca información do posible control a nivel poboacional e familiar. A posibilidade de empregar un material de híbridos interprocedencias de pinaster fronte a poboacións naturais posibilita ademais, o estudo de posibles heterosis. Os obxetivos concretos que se abordan son:

- 1. Avaliar o control xenético poboacional e familiar na capacidade de emaisión de brotes da planta nai sobre brinzais de híbridos interprocedencias de *P. pinaster*.**
- 2. Avaliar o control xenético poboacional e familiar no porcentaxe de enraizamento e na estrutura do sistema radical das estaquillas xuvenís de híbridos interprocedencia de *P. pinaster*.**



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O seguinte capítulo divídese en tres apartados. No primeiro descríbese o material vexetal empregado no ensaio, a súa obtención e cultivo. A continuación explícase o primeiro estudo realizado que conforma o primeiro obxectivo perseguido no proxecto: seguimento da brtotación das plantas nai, e descríbese a metodoloxía seguida para a análise estadística dos datos. No último apartado, caracterízase o sistema radical (segundo obxectivo a acadar neste traballo) e o modelo de ecuación empregado para o análise dos datos.

#### 3.1. MATERIAL VEXETAL

Os obxetivos mencionados na sección anterior levaranse a cabo sobre o material híbrido obtido para levar a cabo unha das estratexias de mellora do interior e que se describiu previamente na introducción.

Compáranse 12 poboacións: 7 poboacións híbridas e 5 naturais. Dentro de cada poboación existen cinco familias.

A procedencia materna está representada por 5 xenotipos sobre os que se realizou a polinización controlada dando lugar ás 5 familias híbridas interprocedencias. A procedencia paterna está representada en tódolos casos por unha mestura de polen de 5 individuos dentro da masa. As polinizacións leváronse a cabo en dous hortosementeiros (SERGUDE e VALSAÍN) das procedencias Noroeste interior e Soria-Burgos respectivamente. Trala avaliación dos caracteres de piña e semente seleccionáronse as semente cheas de cada cruce e realizouse a sembra para a obtención dos brinzais sobre os que se vai realizar o estaquillado en cascada.

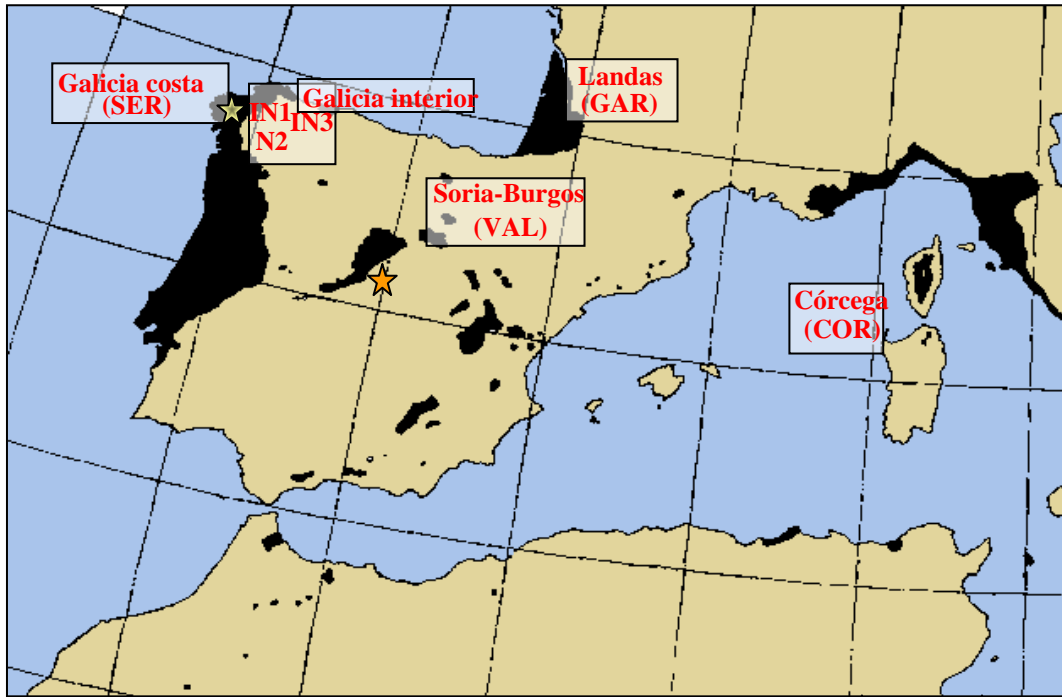


Figura 3: Resumen da situación de localización do horto-sementeiro de Sergude e Valsaín. Representación da situación de localización das rexións de procedencia seleccionadas.

No horto-sementeiro de Valsaín obtivéronse 4 poboacións híbridas (VAL x SER VAL x IN1; VAL x IN 2; VAL x IN3) con 5 familias interprocedencia cada unha. En total obtemos 20 familias híbridas interprocedencias de pinaster (Táboa 1)

No horto-sementeiro de Sergude obtivéronse 3 poboacións híbridas interprocedencias (SER x GAR; SER x COR; SER X IN1), obtendo 15 familias híbridas interprocedencias. Tanto en Sergude como en Valsaín os xenotipos utilizados como nai foron os mesmos que aportaron o polen para hibridar ás outras procedencias.

As poboacións naturais empregadas son: SER; VAL; IN-1; IN-2; IN-3. Cada poboación natural está representada de 3 a 5 familias de polinización aberta.

**Táboa 1: Poboacións híbridas obtidas por polinización controlada. Representase a poboación híbrida interprocedencia e os seus respectivos parentais (NAI e PAI).**

POBOACIÓN	NAI	PAI
Galicia Costa (SER)	Galicia Costa (Sergude) (5 XENOTIPOS)	Polinización aberta Galicia Costa (SER)
Galicia costa X Córcega (SER X COR)	Galicia Costa (Sergude) (5 XENOTIPOS)	MEZCLA POLEN 5 XENOTIPOS PROCEDENCIA CORCEGA
Galicia costa X Landas (SER X GAR)	Galicia Costa (Sergude) (5 XENOTIPOS)	MEZCLA POLEN 5 XENOTIPOS PROCEDENCIA LANDAS (Garganta)
Galicia costa x Carballiño (SER X IN1)	Galicia Costa (Sergude) (5 XENOTIPOS)	MEZCLA POLEN 5 XENOTIPOS DO RODAL de CARBALLIÑO DA PROCEDENCIA NOROESTE INTERIOR
Soria Burgos X Galicia Costa (VAL X SER)	Soria Burgos (VAL) (5 XENOTIPOS)	MEZCLA POLEN 5 XENOTIPOS PROCEDENCIA NOROESTE LITORAL REPRESENTADOS EN SERGUDE
Soria BurgosX Carballiño (VAL X IN1)	Soria Burgos (VAL) (5 XENOTIPOS)	MEZCLA POLEN 5 XENOTIPOS DO RODAL CARBALLIÑO DA PROCEDENCIA NOROESTE INTERIOR
Soria Burgos X Guitiriz (VAL X IN2)	Soria Burgos (VAL) (5 XENOTIPOS)	MEZCLA POLEN 5 XENOTIPOS DO RODAL Guitiriz DA PROCEDENCIA NOROESTE INTERIOR
Soria Burgos X Sober (VAL X IN3)	Soria Burgos (VAL) (5 XENOTIPOS)	MEZCLA POLEN 5 XENOTIPOS DO RODAL Sober DA PROCEDENCIA NOROESTE INTERIOR

VAL	Soria-Burgos (VAL) (5 XENOTIPOS)	Por polinización aberta. Soria-Burgos (VAL)
Galicia Interior (Carballiño) IN1	5 XENOTIPOS DO RODAL de Carballiño DA PROCEDENCIA NOROESTE INTERIOR	Polinización aberta Carballiño (IN1)
Galicia Interior (Guitiriz) IN2	5 XENOTIPOS DE RODAL de Guitiriz DA PROCEDENCIA NOROESTE INTERIOR	Polinización aberta Guitiriz (IN2)
Galicia interior Sober IN3	5 XENOTIPOS DE RODAL de Sober DA PROCEDENCIA NOROESTE INTERIOR	Polinización aberta Sober (IN·3)

Neste proxecto vaise empregar dous tipos de materiais:

- 1) Os brinzais obtidos do material híbrido tras dous meses dende a sembra, (a sembra realizouse o en marzo, (a semente xerminou en maio)). Será a planta nai sobre a que se vai estudar a capacidade de emisión de brotes en datas sucesivas.
  
- 2) As estaquillas do brote terminal de cada planta nai, cuxo proceso de estaquillado se realizou en xullo do 2006, sobre as que se vai examinar o porcentaxe de enraizado e o desenrolo do sistema radical.

Con cada un dos materiais citados realizarase un estudo:

- 1) Estudo das diferenzas do número de brotes emitidos pola planta nai en diferentes datas.
  
- 2) Estudo de enraizado e caracterización do sistema radical desenrolado na estaquilla do brote terminal da planta nai. Diferencia entre híbridos interprocedencias.

### 3.2. ESTUDO PRIMEIRO: ESTUDO DA EMISIÓN DE BROTES DA PLANTA NAI

Este estudo realizouse aproveitando o proceso de reprodución en cascada, que se levou a cabo co obxectivo de obter o material necesario para a instalación de ensaios en condicións controladas e en campo deste material. A planta empregada foi sementada a finais de marzo do 2006. Realizouse un seguimento da produción de brotes sobre os brinzais de Xuño a Novembro do 2006 dos híbridos interprocedencias.

Realizáronse dous conteos de brotación na planta nai ó longo do proceso de reprodución en cascada: un trala extracción do brote terminal (3 meses despois da sembra), e outro trala extracción da primeira serie de datos (5 meses despois). A planta nai trasladouse a un invernadoiro de plástico, sen control das condicións de temperatura e fertilizouse con abono foliar dúas veces durante catro meses. Os brinzais que empregaremos como plantas nai están colocados en bandexas alveoladas de 800 cm<sup>3</sup> de volume baixo un deseño experimental que se describe a continuación

O deseño de cultivo das plantas nai foi un deseño split-plot con tres tratamentos (densidade de sementado, poboación e familia) e 2 repeticións dentro de cada nivel de densidade de cultivo.

Os niveis dos factores a ser investigados (tratamentos) son os seguintes:

- Factor densidade de cultivo, con dous niveis:
  - a) 2 sementes / alvéolo
  - b) 1 semente /alvéolo
- Factor poboación, con doce niveis (Poboacións antes descritas)
- Factor familia, con cinco niveis dentro de cada poboación e catro individuos por nivel

O factor poboación distribúese seguindo un deseño filas-columnas en catro bloques (dous bloques cunha densidade de sementado dobre (2 sementes/alvéolo) e dous bloques cunha densidade de sementado simple (1 semente/alvéolo)) mentres que o factor secundario (familia, con cinco niveis e catro plantas/ nivel) distribúese ó azar

dentro da poboación. No esquema adxunto do deseño experimental pódese apreciar a distribución.

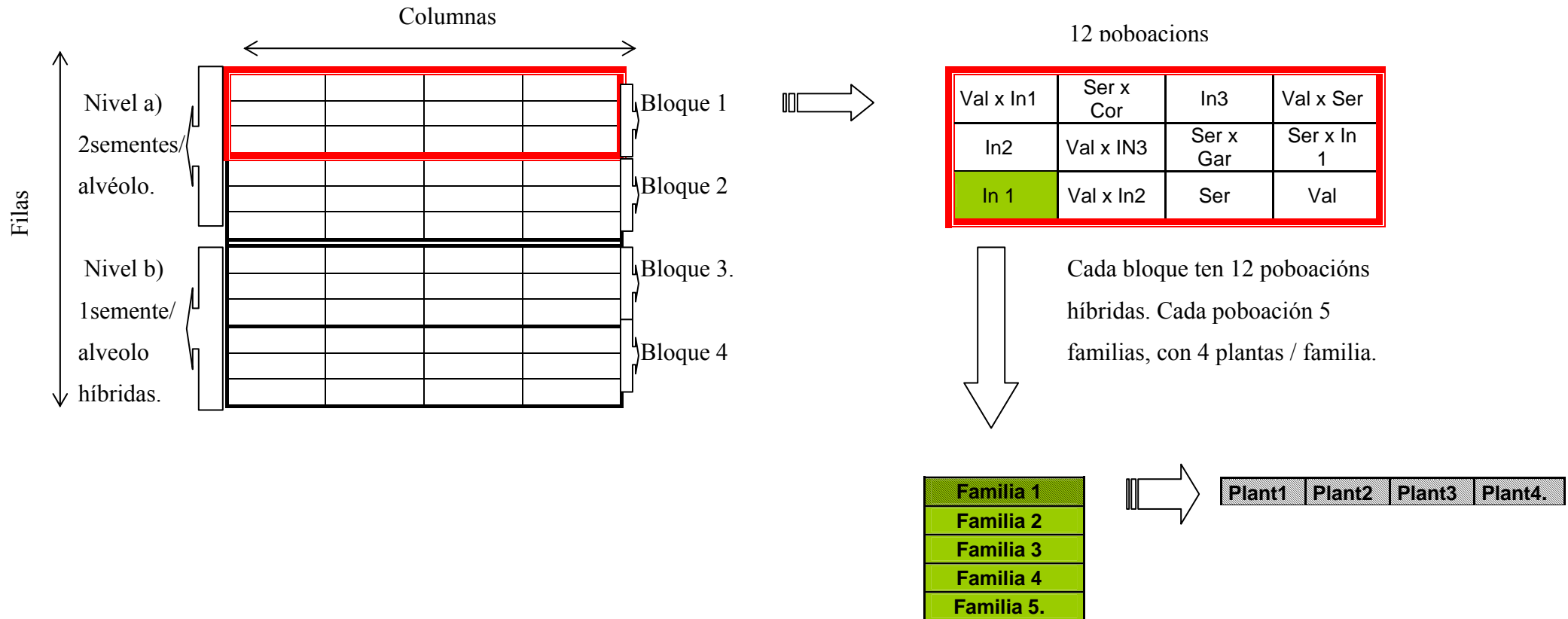


Figura 4: Esquema do deseño experimental de cultivo das plantas nai

### 3.2.1. VARIABLES DE ESTUDIO NA EMISIÓN DE REBROTOS DA PLANTA NAI

#### Primeira emisión de brotes

O primeiro conteo de brotes susceptibles de ser estaquillados realizouse aproximadamente 2 meses despois do estaquillado da guía terminal da planta nai (primeiro estaquillado). As datas da realización do primeiro estaquillado foi dende o 3 ó 12 xullo do 2006 e a medición dos brotes realizouse a finais de Agosto.

As variables medidas foron:

- a) **B0:** brotes lignificados (ramificación formada na planta antes da eliminación da parte apical).



Figura 5 Mostra dos brotes anteriores (lignificados)

- b) **B1:** brotes novos emitidos como consecuencia da perda da guía.



Figura 6: Mostra de brotes posteriores (brot 1)

- c) **Altura de corte (hc)** (o descabezado da planta nai). Empregouse un calibre para obter a altura de corte.



- d) **Lonxitude do brote máis longo (LB)**. As plantas avaliáronse unha a unha, empregando un calibre para medir a lonxitude do brote máis longo.

### Segunda emisión de brotes

Como seguimento do estaquillado en cascada trala eliminación dos brotes anteriores, a planta volveu emitir brotes novos. A mediados de setembro (dende o día 11 ó 15) procedeuse ó segundo estaquillado de tódolos brotes da planta nai (Brotos lignificados (B0) e brotes novos (B1)), cuxo obxecto é a instalación dun ensaio en campo. O segundo reconto realizouse dous meses despois da realización de dito estaquillado, o día 29 de Novembro do 2006, seguindo o mesmo procedemento que o anterior.

A variable a medir foi:

- a) **(B2)**: brotes que emitiu a planta nai ó longo do tallo.



Figura 7: Detalle das plantas nai no segundo rebrote

### 3.2.2 ANÁLISE ESTADÍSTICO DOS DATOS.

Para realizar a análise empregouse o procedemento PROC MIXED do programa estatístico SAS (SAS-Institute, 2004).

Neste caso considérase fixo o efecto da poboación porque se seleccionaron en base a unhas características concretas e só sobre elas se poderá realizar inferencias dos resultados do experimento. Os efectos do bloque e da columna e fila dentro do bloque considéranse como aleatorios. As familias consideraranse aleatorias porque se consideran igualmente un subconxunto das posibles familias que representan unha poboación.

➤ **Ecuación do Modelo de análise do brote das plantas nai.**

$$Y = \mu + D + B(D) + P + C(B) + F(B) + P * D + P * B(D) + G(P) + D * G(P) + h_o + h_c + \varepsilon$$

Sendo: Y= variable obxecto de análise (capacidade de brotación das plantas nai)

$\mu$ = media da variable na poboación

D= representa o efecto da Densidade de sementado

B(D) = efecto do Bloque anidado ó factor Densidade de sementado.

P= efecto da Poboación

C(B)= efecto da Columna anidado ó bloque

F(B)= efecto da Fila anidado ó bloque

P\*D= Interacción Poboación x Densidade de sementado

P\*B(D)=Interacción Poboación x Bloque (anidado a Densidade de sementado)

G(D)= efecto do factor Familia anidado ó factor Densidade de sementado

D\*G(P)= Interacción Densidade de sementado x Familia ( anidado á poboación)

$h_o$  = altura inicial da planta nai estudada como covariable.

$h_c$  = altura de corte da planta nai estudada como covariable.

$\varepsilon$  = efecto do error experimental.

### **3.3. ESTUDO SEGUNDO: ENRAIZADO E DESENROLO DO SISTEMA RADICAL DA ESTAQUILLA TEMINAL OBTIDA DAS FAMILIAS**

O estudo de enraizado e desenrolo da parte radical realizouse a partir do material procedente do primeiro estaquillado, efectuado co brote apical da planta nai.

O primeiro estaquillado, e no que se centra este proxecto, realizouse a partires da parte apical da planta nai dous meses despois da xerminación dos piñóns. Para o

ensaio de enraizado, tódalas estaquillas foron procesadas da mesma forma: cortadas da planta nai catro meses despois da xerminación dos piñóns (Maio 2006), cunha lonxitude de entre 4-6 cm., mergullándoa en hormona (AIB) cunha concentración do 0,05% durante aproximadamente 6 segundos (ensaios preliminares permitiron optimizar a doses de hormona e o tempo de aplicación da mesma).



**Figura 8:** Detalle das bandexas do estaquillado da parte apical das plantas nai.

As estaquillas extraídas da planta nai dispuxéronse en bandexas de polietileno de 50 x 40 x 9 cm, cun sustrato 4:1:1, catro partes de perlita, 1 parte de turba e 1 parte de cortiza. O proceso de enraizado levouse a cabo nun invernadoiro de cristal con condicións controladas de temperatura regulada entre 22° e 27°C. Durante o proceso de estaquillado conservouse o deseño split-plot, coa poboación como factor principal e a familia como factor secundario. A distribución de ambos factores foi completamente aleatorizado con 6 repeticións dentro do ensaio.

En Marzo do 2007, (9 meses trala realización do estaquillado) analizouse o porcentaxe de enraizado e o crecemento sobre tódalas plantas do estaquillado (aproximadamente 1200 plantas).



**Figura 9.** Mostra da etiqueta identificativa.

En base ós efectivos da planta enraizada e tendo en conta que dito material de reprodución se utilizará para a execución dun ensaio posterior, soamente se avaliou o sistema radical daquelas familias cunha representación de polo menos 12 individuos sobre un total de 3 familias das 5 existentes por procedencia. Para o estudo do sistema radical seleccionáronse 650 plantas, representando as doce poboacións e 3 familias por poboación, que tiveran polo menos entre 12 e 18 individuos/familia. As plantas foron etiquetadas, antes da extracción, cunha etiqueta que se atará á planta sen estrangulala. Para eliminar o sustrato da raíz, mergulláronse as plantas unha a unha nun cubo con auga, axitándoas suavemente ata que se desprenda todo o sustrato das raicillas. Unha vez limpa a raíz, deixarase escorrer a planta sobre un papel absorbente antes do escaneado.

Sobre esta selección de familias híbridas caracterizouse o sistema radical mediante o analizador de imaxes Winrhizo. O programa usado foi Delta T-Scan e Winrhizo. Os datos presentados de Delta T-Scan obtivéronse usando unha tapa reflectante non transparente, que é o sistema establecido máis comunmente usado.

A lonxitude e distribución diamétrica son características importantes que se deben considerar para a descrición dos sistemas radicais. Mediante o Winrhizo podemos avaliar o sistemas radicais, graficamente ou numericamente.

### **3.3.1. VARIABLES ANALIZADAS NO ESTUDO DO SISTEMA RADICAL.**

As variables estudadas para a caracterización do sistema radical son:

- Altura da estaquilla. Medición con calibre.
- Peso da planta. (Pesouse nunha báscula de precisión).
- N° de raíces principais.(Contouse o número de raíces principais, considerando como principais as que saen do callo de formación de raíces e tendo en conta que se existía unha raíz dominante (aproximadamente maior de 30cm, só se consideraba 1 principal)
- Número de bifurcacións ou raíces secundarias (Empregouse o analizador de imaxes para a obtención de datos)

- Nº de puntas (estimación de total de raíces, tanto principais coma secundarias). (Empregouse o analizador de imaxes para a obtención de datos)
- Lonxitude total de raíces. (Empregouse o analizador de imaxes para a obtención de datos).
- Área proxectada das raíces (superficie nun plano). (Empregouse o analizador de imaxes para a obtención de datos)
- Superficie de raíz (superficie total en contacto co solo). (Empregouse o analizador de imaxes para a obtención de datos).
- Diámetro medio das raíces. (Empregouse o analizador de imaxes para a obtención de datos)

Para determinar a lonxitude e o diámetro radical as imaxes escaneadas requiren a transformación da escala de grises, a negra ou branca. O umbral de transformación, expresado por un umbral definido no programa, úsase para indicar que matices da escala de grises se convirten a negros ou brancos. A escala empregada foi branca, xa que esta adecuada transformación facilita o máximo contraste entre o fondo e as raíces (Bouma *et al.*, 2000) Tódalas opcións automáticas dispoñibles no Winrhizo estiman a lonxitude correctamente sen ter en conta o período de inicio.

A estimación da distribución diamétrica da raíz, contrariamente ás medidas de lonxitudes radicais, pode opoñer restriccións nas ferramentas do umbral de transformación. Mentres un umbral de transformación alto pode facilitar a estimación de lonxitudes radicais, pode ser causa de sobreestimación no diámetro de raíces finas.

### **3.3.2. ANÁLISE ESTADÍSTICO DOS DATOS.**

O procedemento de análise da capacidade de enraizado do estaquillado e caracterización do sistema radical foi PROC MIXED do programa estadístico SAS.

➤ **Ecuación do Modelo de análise do ensaio de enraizado do brote terminal.**

1. Análise da supervivencia e o crecemento da estaquilla durante o período de cultivo (empregouse como covariable a altura da planta nai, por comprobar se existe unha relación entre o vigor da planta nai).
2. Análise do desenvolvemento do sistema radical (neste caso empregouse como covariable a altura da estaquilla tras 9 meses de cultivo, por comprobar se existe relación entre o desenrolo da parte aérea e o desenrolo da parte radical).

O modelo de análise para cada un dos casos sería respectivamente:

- 1)  $Y = \mu + P + G(P) + h_0 + \varepsilon$
- 2)  $Y = \mu + P + G(P) + H_{\text{estaq}}$

Onde: Y = variable obxeto de análise

$\mu$  = media

P = efecto da Poboación (factor fixo)

G(P) = efecto do factor Familia anidado á poboación (factor aleatorio).

$\varepsilon$  = error experimental.

$h_0$  = altura da planta nai estudada como covariable.

$H_{\text{estaq}}$  = altura da planta nai estudada como covariable.

## 4. RESULTADOS E DISCUSIÓN

O seguinte capítulo, divídese en dous apartados. No primeiro apartado detállanse os resultados obtidos para a capacidade de rebrote da planta nai. No segundo apartado detállanse os resultados obtidos para o enraizado das estaquillas e a capacidade de formación e descrición de raíces adventicias.

### 4.1. CAPACIDADE DE REBROTE DA PLANTA NAI

Na **Táboa 2**, presentamos, os valores medios, máximos, mínimos, desviación estándar e coeficiente de variación evaluadas nas aproximadamente 1200 plantas nai 3 meses despois da eliminación da guía principal para cada unha das variables. Estas variables inclúen tanto variables relacionadas co vigor da planta nai antes de iniciar o primeiro despuntado como é o caso da altura inicial da planta nai (ho), como variables de manexo e xestión da planta nai como a altura de despunte (hc), así como os brotes que aparecen na planta durante as dúas datas consecutivas ó longo do proceso de estaquillado en cascada e a lonxitude do brote máis longo

**Táboa 2: Estadística básica das variables analizadas sobre as plantas nai de *P. pinaster*.**

	Nº	Media	Máx	Min	C.V.(%)
<b>B0</b>	1188	5.3	12	0	38,2
<b>LB</b>	1187	6.8	21	0	46,3
<b>B1</b>	1188	1.3	9	0.5	118,7
<b>B2</b>	1225	8.5	31	0	58,2
<b>ho</b>	1189	15	27	3,5	26,0
<b>hc</b>	1188	7,9	19	1	35,9

Brotes lignificados procedentes de ramificación antes do despunte (B0); lonxitude do brote máis longo (LB); brotes novos tras o despunte terminal (B1); brotes producidos no segundo rebrote trala eliminación de brotes novos e brotes lignificados (B2); altura inicial da planta nai (ho); altura de despunte (hc).

O número medio de brotes lignificados (B0), correspondentes á ramificación existente na planta nai e anteriores á eliminación do brote terminal, é de aproximadamente 5. O valor mínimo é de 0, indicando a existencia de plantas que non

tiveron ramificación lateral, e o máximo alcanzado é de 12 brotes (Táboa 2). Dita variable aproxímase a unha distribución normal.

O número de brotes emitidos posteriormente ó despuntado da planta nai (B1) indica que o primeiro rebrote na planta nai foi baixo pero sempre houbo rebrote.

A última variable analizada (B2), relativa ó número de brotes emitidos tras cortar da planta nai os brotes lignificados e os do primeiro rebrote para estaquillar, indican que a media é de 8.5 brotes por planta, bastante superior á alcanzada polo primeiro rebrote, ó igual que o máximo (31 brotes). O valor mínimo, como para o resto das variables, segue sendo 0 pola existencia de plantas que non rebrotaron.

O número de brotes no segundo rebrote é superior o número de brotes emitidos tras a eliminación da guía terminal.

Os resultados obtidos neste ensaio son equiparables a outros estudos realizados por Vega *et al.* (1999), dos cales dedúcese que a produción de brotes pola planta nai para *P. pinaster* varía entre 10-12, durante o primeiro ano de duración, sendo case estable a produción durante os anos consecutivos de duración do proceso. Os resultados tamén son equiparables a outras especies de pino como *Pinus elliottii*, para o cal a produción de estaquillas varía entre 5.6 no primeiro ciclo e 15.8 no cuarto ciclo, segundo a experiencia de Masón & Nelson (1997). Sen embargo, encontramos diferenzas con *Pinus tadea*, xa que os resultados só son equiparables para o primeiro ciclo de produción de estaquillas, cuxa produción aproximada é de 12 estaquillas, aumentando notablemente a medida que aumenta o nº de ciclo hasta 60 estaquillas por planta nai (Anderson *et al.*, 1998). Tamén encontramos grandes diferenzas con outras especies, como *Pseudotsuga menziesii*, cuxos valores oscilan entre 60 e 80 brotes dende o primeiro ano de cultivo da planta nai, cuxo método de xestión está baseado nun cultivo intensivo baixo condicións óptimas de fertilización e T<sup>a</sup> e en envases de 3 l, obtendo alturas de ata 0.80 m (AFOCEL, 1995).



➤ Análise da varianza individual para cada factor.

e Táboa 4 móstranse os resultados das análises da varianza, onde se mostran os niveis de significación de cada factor estudado.

Táboa 3: Valor de F e grado de significación dos factores fixos de estudio obtido co procedemento Proc mixed.

Factor fixo	G1 (n,d)	B0	LB	B1	B2
		p<F	p<F	p<F	p<F
Densidade de sementado (D)	1,44	6.85*	6.07 <sup>n.s</sup>	1.88 <sup>n.s</sup>	24.03*
Poboación (P)	11,44	1.57 <sup>n.s</sup>	0.32 <sup>n.s</sup>	0.36 <sup>n.s</sup>	2.90*
Altura de corte (hc)	1,639	0.31 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>n.s</sup>	92.31***	0.72 <sup>n.s</sup>
Altura da planta nai(ho)	1,1089	84.77***	156.96***	0.80 <sup>n.s</sup>	28.02***

Niveis de significación: \*\*\* P < 0.0001; \*\* P < 0.01; \* P < 0.05; ns= non significativo. [Representátese os grados de liberdade do numerador e denominador (G1 n,d)].[Ver Anexo 1 para abreviaturas (B0; LB; B1, B2)].

Táboa 4: Grado de significación dos factores aleatorios do estudio obtido co procedemento Proc mixed. Valor de Z e grado de significación

Factor aleatorio	B0	LB	B1	B2
	P<Z	P<Z	P<Z	P<Z
Columna anidada ó bloque [C(B)]	0.60 <sup>n.s</sup>	1.82*	1.89*	0
Fila anidada ó bloque [F(B)]	0.64 <sup>n.s</sup>	2.20*	1.67*	0
Familia anidada a poboación [G(P)]	2.79**	1.31 <sup>n.s</sup>	2.51**	1.24 <sup>n.s</sup>
D*G(P)	0	2.04*	0.38 <sup>n.s</sup>	2.07**
P*B(D)	2.39**	3.52**	3.46***	2.65**
B(D)	0	0.36 <sup>n.s</sup>	0	0.83 <sup>n.s</sup>

Niveis de significación: \*\*\* P < 0.0001; \*\* P < 0.01; \* P < 0.05; ns= non significativo [Ver Anexo1 para abreviaturas [C(B); F(B);G(P); D\*G(P); P\*B(D); B(D)]].

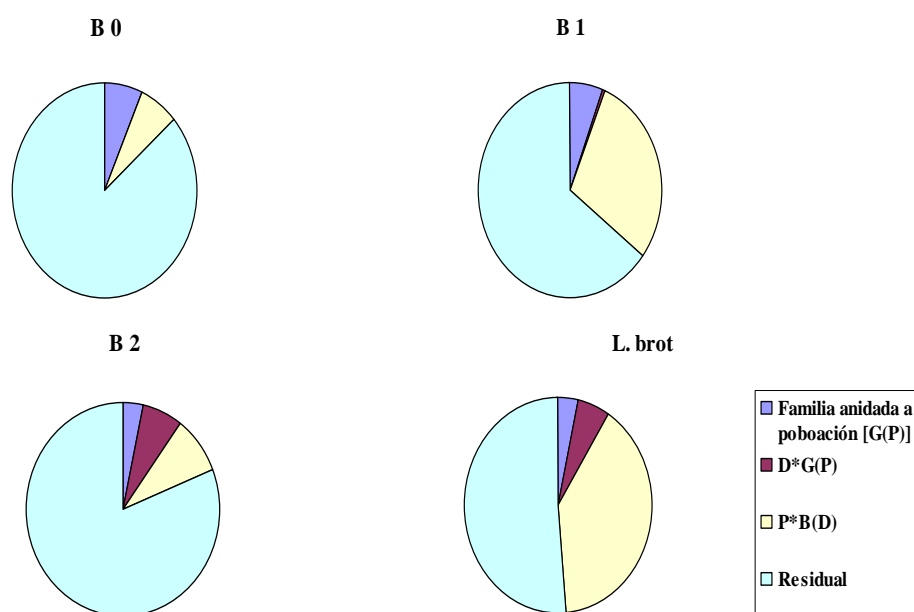
Das táboas anteriores podemos obter as seguintes deducións:

- ❖ A densidade de sementado non é significativa para o primeiro rebrote, sen embargo si o é no segundo. Isto significa a primeira emisión de brotes é independente da densidade de cultivo, sen embargo, no segundo rebrote con planta de 5 meses existe unha clara diferenza na emisión de rebrotes en función de que a densidade de sementado sexa simple ou dobre. Deducimos que a competencia pola luz, asociada a densidade de sementado, si inflúe no segundo

rebrote, xa que como tódolos brotes emitidos pola planta se sucederon ó longo do tallo, naquelas plantas con menor densidade de sementado, o número de brotes emitidos foi maior. A densidade de sementado non inflúe no primeiro rebrote, probablemente porque o número de brotes emitidos pola planta foi moi baixo, ademais estes situábanse próximos a parte apical descabezada, polo que a competencia pola luz é menor independentemente do xuntas ou separadas que se encontren as plantas.

- ❖ A altura inicial da planta nai ( $h_0$ ), introducida como covariable no modelo que procede, ó contrario que na dedución anterior, é significativa tanto nos brotes lignificados da planta (brotes anteriores á eliminación da parte apical), como na lonxitude do brote máis longo, así como no segundo rebrote. Esta altura representa en certa medida o vigor da planta nai, e polo tanto indica máis recursos da planta nai para emitir brotes e para a elongación dos mesmos. Non inflúe na primeira brotación da planta probablemente a causa, de que o número de brotes emitidos pola planta xurde como resposta fisiolóxica ó descabezado desta.
- ❖ O efecto da altura de corte ( $h_c$ ), introducida como covariable no modelo de rebrote da planta nai, só é significativa no primeiro rebrote, polo que a segundo a altura de corte sexa maior ou menor, a emisión de rebrotes tamén será maior ou menor respectivamente.
- ❖ O efecto da columna e da fila anidada ó bloque C(B); F(B) respectivamente é significativo para primeiro rebrote, así como para a lonxitude do brote máis longo, resultados que nos indican unha influencia da localización da planta no ensaio sobre estas variables a pesar da homoxeneidade das condicións no viveiro.
- ❖ O bloque anidado a densidade de sementado B(D) non é significativo en ningunha das variables estudadas; polo que deducimos que toda a variación debida ó diseño é absorbida pola fila e pola columna.
- ❖ A familia anidada á poboación G(P), é significativa tanto no primeiro rebrote, como nos brotes lignificados. Existe polo tanto un control xenético das

variables a nivel familiar. Sen embargo o porcentaxe da varianza explicado polas diferenzas entre familias alcanza o 6% nos brotes lignificados e no 1º rebrote, reducíndose á metade nas outras dúas variables (**Figura 10**).

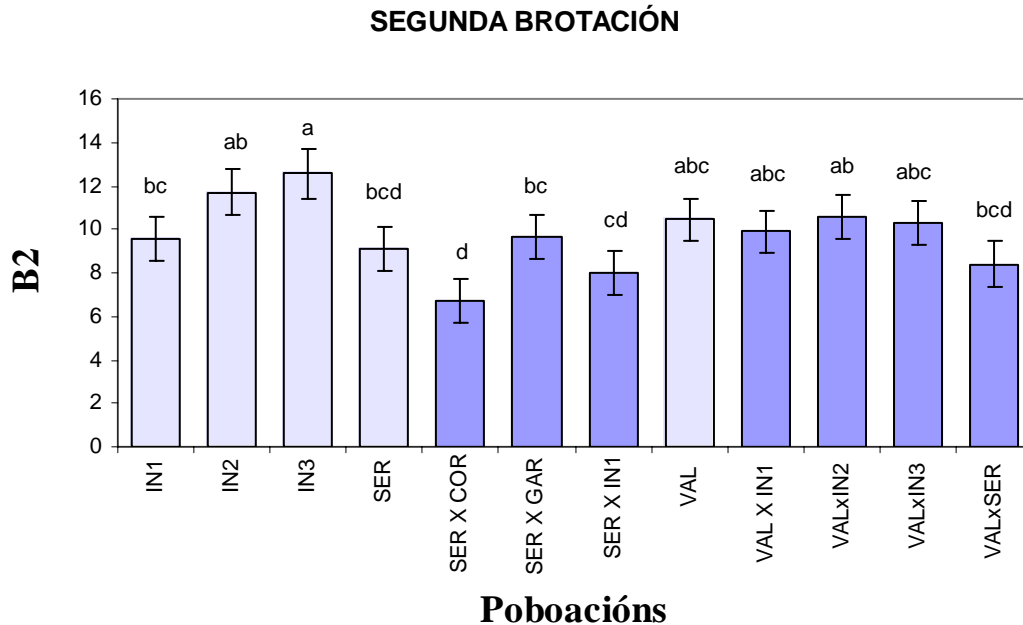


**Figura 10:** Compoñentes da varianza dos principais factores aleatorios para as variables estudadas B 0; B 1; B2, L.B expresados en tanto por un. Diagrama de sectores. [Ver Anexo 1 para abreviaturas]

Se comparamos co observado por outros autores vemos que Anderson *et al.* (1999), encontraron un control xenético moderado para a produción de brotes en *Pinus tadea*. Estes mesmos autores observaron un efecto significativo da interacción xenotipo-ambiente na emisión de brotes nas plantas nai, inda que supón un 2.1% da variación total. No noso caso a varianza para D\*G(P) só é importante para as variables L. Brote máis longo e Brot2, alcanzando uns valores aproximados de 5.7 e 6.4% respectivamente. Observamos que a varianza residual é moi elevada para todas as variables estudadas superando o 50% en todos os casos, o que nos indica que a diferenza entre individuos dentro da unidade experimental é moi elevada. Este valor supera con creces o obtido por Anderson *et al.* (1999), para *P. Tadea*.

- ❖ A poboación (P), resultou altamente significativa para o segundo rebrote, polo que a emisión de maior ou menor número de brotes sí está claramente influenciada pola poboación da que se trate. Isto podería estar indicando que o segundo

rebrote estaría ligado probablemente a algún carácter adaptativo asociado á poboación da que provén, mentres que o primeiro rebrote sexa máis ben unha reacción fisiolóxica da planta para recuperala dominancia apical perdida que é característica desta especie.



**Figura 11: Producción media de brotes tras a realización do segundo estaquillado para distintas poboacións de *P pinaster*. As poboacións naturais están raiadas en cor azul**

A produción media de brotes é de 8.6, sendo o valor máximo 31 e o valor mínimo 0. Encontramos os promedios máis elevados nas poboacións do interior de Galicia, destacando In3 (en Sober, Ourense) por encima de todas con 12.6 brotes. A emisión de brotes pode estar ligada a un carácter adaptativo da planta contra o lume probablemente ligado ó orixen da semente

Se facemos unha comparación entre as poboacións naturais e híbridas observamos diferencias importantes. Observamos unha diminución na produción media de brotes na poboación híbrida Ser x In1 (8 brotes) coas respectivas poboacións naturais (onde o número medio de brotes varía entre 9 e 9.5 respectivamente). O lóxico sería obter unha produción media entre as poboacións hibridadas, tal como sucede con Val x In1, cunha media de 9.9 brotes ou Val x In2 (10.6 brote por planta). Nalgúns casos observase que a hibridación provoca una diminución na capacidade de rebrote

respecto ás poboacións naturais coma ocorre se comparamos os resultados de Val (10.4), Ser (9.01) e Val x Ser (8.4) e no caso de Ser x In1 comentado antes, anque sen diferenzas significativas. No caso de ValxIn3 o comportamento deste híbrido no rebrote é similar á poboación materna (Val) e difire significativamente da poboación paterna (In3). Podería suceder que se manifeste unha acción complementaria de alelos recesivos dos pais ou que estea debida a xenes de acción non aditiva. Os resultados gráficos mostran un lixeiro aumento da produción media de brotes en Ser x Gar (9.7) e unha notable diminución en Ser x Cor (6.7) respecto á poboación natural de Sergude.

➤ **Relación entre as variables estudadas.**

Móstranse os resultados das correlacións de Pearson entre as variables estudo. Ademais da aparente importancia dos efectos das covariables analizadas, á Táboa 5 mostra correlacións significativas, o que nos indica que as variables están altamente relacionadas coas dúas covariables de estudio así como entre elas mesmas.

**Táboa 5: Coeficientes de correlación de Pearson e grado de significación da relación entre as variables estudadas**

	<b>B1</b>	<b>B2</b>	<b>B0</b>	<b>hc</b>	<b>ho</b>
<b>LB</b>	0.0098 <sup>n.s</sup>	0,38 <sup>***</sup>	0,35 <sup>***</sup>	0,36 <sup>***</sup>	0,50 <sup>***</sup>
<b>B1</b>		0,09 <sup>**</sup>	-0,15 <sup>***</sup>	0,51 <sup>***</sup>	0,37 <sup>***</sup>
<b>B2</b>			0,27 <sup>***</sup>	0,18 <sup>***</sup>	0,21 <sup>***</sup>
<b>B0</b>				0,33 <sup>***</sup>	0,41 <sup>***</sup>
<b>hc</b>					0,83 <sup>***</sup>

Niveis de significación: \*\*\* P < 0.0001; \*\* P < 0.01; \* P < 0.05; n.s = non significativo. [Ver Anexo 1 para as abreviaturas (L.B; B 1; B 2; B 0; hc; ho)]

A lonxitude do brote máis longo está relacionada positivamente coa altura da planta nai ( r = 0.5) e cun elevado nivel de significación, polo que deducimos que a maior altura da planta nai, maior lonxitude dos brotes. Algúns autores recomentan un aporte de nutrientes e rego sobre as plantas nai para aumentar o vigor das mesmas e demostran a importancia de dito vigor na capacidade de emitir rebrotes (Landis, 1989; Afocel, 1995)

Existe unha correlación positiva (0.51) entre o número de brotes emitidos tras o estaquillado da parte apical e a altura de corte da planta nai. Isto significa que a maior altura de corte maior número de brotes, isto podería ser debido a que unha maior altura do corte implica maior luminosidade. Cando relacionamos os brotes emitidos tralo 2º estaquillado coa altura de corte, a correlación entre ditas variables é positiva e significativa pero moi baixa (0,18), segundo vimos anteriormente, neste caso os brotes formáronse ó longo do tallo da planta e a competencia pola luminosidade vén dada principalmente pola densidade de sementado.

É importante sinalar a baixa relación entre o 1º e o 2º rebrote, xa que inda que entre ditas variables exista unha correlación positiva cun moderado nivel de significación ( $<0.01$ ) o seu valor é tan baixo (0.095), que podemos deducir que os patróns que rexen a emisión de brotes no primeiro e no segundo caso son distintos.

Existe unha correlación negativa significativa entre o nº de brotes lignificados e o 1º rebrote. Isto significa que a maior nº de brotes lignificados, menor número de brotes tras o descabezado da planta nai. Isto fai pensar que algunhas plantas puideron retomala dominancia apical a partir de brotes preformados en vez de emitir novos brotes. A alta lonxitude encontrada para algúns brotes (ata 22 cm) podería corroborar esta idea. No extremo oposto encontramos a correlación positiva entre o nº de brotes lignificados e o 2º rebrote, polo que a maior nº de brotes lignificados maior nº de brotes emite a planta tras o 2º estaquillado. Isto probablemente este relacionado co vigor da planta nai, ou disposición xenética a ramificar e a emitir novos brotes; a maior vigor, maior ramificación e maior rebrote.

O rebrote provocado polo descabezado da planta non depende de factores xenéticos e probablemente sexa una reacción fisiolóxica da planta ante a perda da dominancia apical. Os sucesivos rebrotos da planta tralos sucesivos estaquillados, está relacionado con factores xenéticos e co vigor da planta nai.

## 4.2. CAPACIDADE DE ENRAIZAMENTO DOS BROTES TERMINAIS DA PLANTA NAI E FORMACION DE RAÍCES ADVENTICIAS

### 4.2.1. CAPACIDADE DE ENRAIZAMENTO E CRECEMENTO INICIAL DA ESTAQUILLA

As primeiras indicacións de enraizamento comezaron nun intervalo de 4-12 semanas. Durante toda a duración do estudo as estaquillas enraizaron e creceron aproximadamente 10 cm de altura entre o período Maio do 2006 (época na que se realizou o estaquillado) e Febreiro do 2007.

O porcentaxe de enraizado no noso ensaio foi alto, dun 86%. Observáronse diferenzas significativas entre poboacións tanto no éxito de enraizado como no crecemento en altura da estaquilla durante os 9 meses de cultivo. A altura da planta nai da que se recolleu a estaquilla afectou significativamente á capacidade de enraizado pero non ó crecemento posterior en altura da estaquilla. Non se observou ningún efecto significativo da familia dentro da procedencia.(Táboa 6)

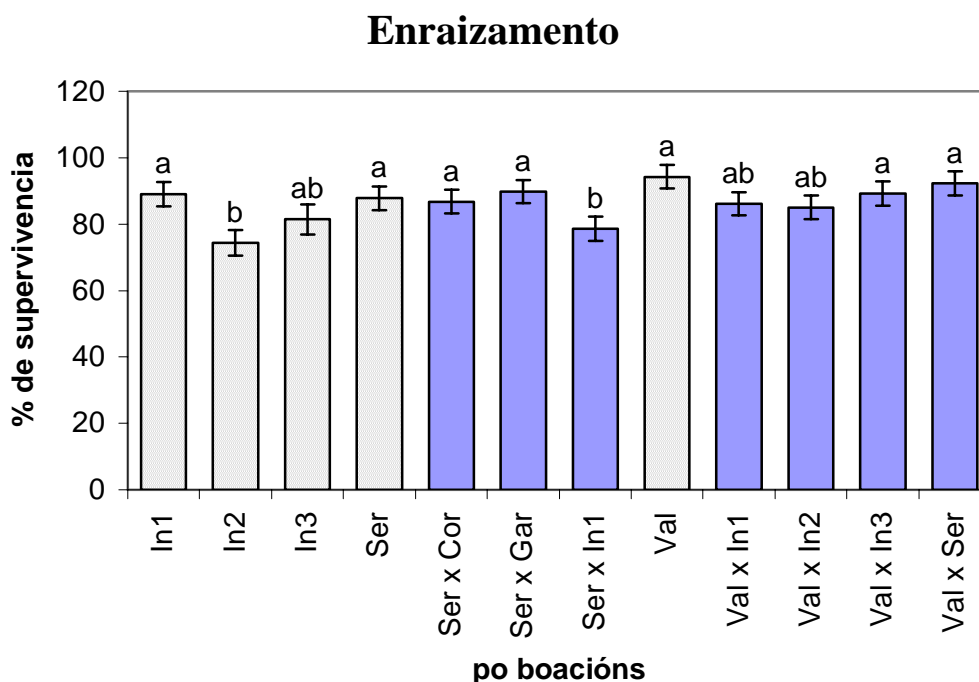
**Táboa 6: Resultados do modelo mixto para a supervivencia e a altura da estaquilla obtidos co procedemento Proc mixed. Valor de F e niveis de significación dos factores fixos e estimación da varianza dos factores aleatorios.**

	Factores fixos				Factores aleatorios		
	Poboación		ho		G(P)		residuo
	G.L <sub>11,35</sub>	F	G.L <sub>120,1043</sub>	F	V	p<Z	V
<b>SUP</b>		2.41*		1.45**	0.003	0.26 <sup>ns</sup>	0.11
<b>H<sub>est</sub></b>		4.95**		0.79 <sup>n.s</sup>	0.10	0.39 <sup>ns</sup>	16.1

Niveis de significación: \*\*\* P < 0.0001; \*\* P < 0.01; \* P < 0.05. n.s.= non significativo. [Ver anexo 1 para las abreviaturas (SUP; H<sub>est</sub>; ho; G(P))]. [Representátese os grados de liberdade do numerador e denominador (GL n,d)]

A **Figura 12.** indica as diferenzas no enraizamento das estaquillas entre as poboacións. Os resultados móstrannos que a poboación IN2 e SER x IN1 mostra unha

taxa de supervivencia inferior ó resto (74%), sendo VAL a poboación coa taxa de supervivencia máis alta (94%).



**Figura 12: Supervivencia media das estaquillas nas distintas poboación avaliadas. As poboación naturais In1; In2; In3; Ser e Val están raiadas en cor azul.**

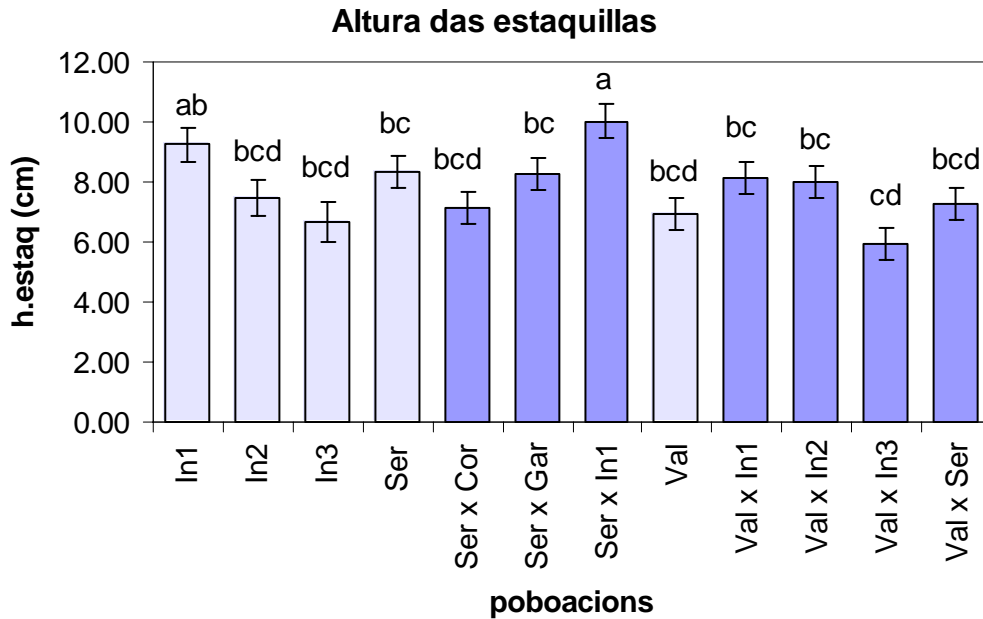
Comparamos capacidade de enraizamento nas poboacións híbridas do horto-sementeiro Soria-Burgos respecto ós seus parentais, observando que as poboación híbridas obteñen un enraizamento intermedio entre as respectivas poboacións naturais, a excepción de Val x In1 cun porcentaxe de enraizamento (86.1%) inferior ós devanditos parentais inda que non é significativo (Val: 94.2%; In1:89). O mesmo ocorre no horto-sementeiro de Sergude, onde a poboación híbrida Ser x In1(78,6%) diminúe significativamente a capacidade de enraizamento respecto á nai (Ser: 87,7) e pai (In 1 (Carballiño):89%).

O porcentaxe medio de enraizado no noso ensaio foi alto, dun 86% coincidindo co observado para esta mesma especie en estudos anteriores (Rodríguez & Vega, 1993). Nun estudo posterior encontráronse diferentes porcentaxes en función da época de enraizamento (Primavera = 80%. Verán = 67%. Outono = 74%) (Vega *et al.*, 1999). Fernando Molina (1949), precursor de ensaios de enraizamento de estaquillas de coníferas no CIFA Lourizán, afirmou certa dificultade no enraizamento do xénero



*Pinus*, en concreto no enraizamento de *P. pinaster* baseado nos resultados negativos da súa experiencia. Sen embargo, e tendo en conta que o noso ensaio en estaquillado realizouse no verán, os resultados de enraizado e supervivencia superaron ós obtidos por Vega *et al.* (1999), afirmando que *P. pinaster* é unha especie con gran capacidade de enraizamento a pesar dos comentarios críticos dalgúns autores.

Os resultados obtidos por Anderson *et al.* (1998) son equiparables ós obtidos no noso ensaio soamente durante o primeiro ciclo, cuxos valores de enraizamento alcanzan o 75%. No estudo realizado por ditos autores, observan que en xeral a porcentaxe de enraizamento diminúe constantemente dun alto (75%) a un baixo porcentaxe (28%), dende o primeiro ciclo 1 ata o 5 ciclo. Baseándonos en experiencias anteriores realizadas fóra de ensaio para *P. pinaster*, observamos que as plantas estaquilladas sen hormona, con idade inferior a 1 ano enraizaron igual que as plantas estaquilladas con hormona con idade aproximada de 2 anos, polo que concluímos que a capacidade de enraizamento é moi alta con material xuvenil. Dita capacidade de enraizamento diminúe coa idade da planta, e isto xa se observou dende os primeiros ensaios para *P. radiata*. Thulin & Faulds (1967) e Fields 30 anos atrás. Para outras especies como *P. tadea*, a capacidade de enraizamento diminúe moito máis rapidamente coa idade que no resto das especies vistas anteriormente (Afocel. 1985). Outra proba do dito anteriormente son os ensaios levados a cabo con *P. nigra* *P. sylvestris* e os seus híbridos, os cales demostran unha perda da capacidade de enraizamento orixinada polo envellecemento do ortet (Vidakovic e Borzan 1990) para plantas de máis de 4 anos, sen embargo, aínda que os porcentaxes de enraizamento son moi baixos conséguense obter plantas de estaquillas de híbridos de ata 12 anos.



**Figura 13: Altura media das estaquillas das poboacións avaliadas. As poboacións naturais IN1; IN2; IN3; SER e VAL están raiadas en azul.**

A altura media das estaquillas varia entre 5.9 (Val x In3) e 10.0 cm (Ser x In 1). Existe un efecto significativo na altura da estaquillas segundo a poboación. Observamos que existe heterosis na poboación híbrida Ser x In 1, xa que a altura media alcanza o máximo coa devandita poboación. Tamén observamos dito efecto na poboación Val x In2 (8.0 cm), fronte ós respectivos parentais (Val: 6.9 cm; In2: 7.4 cm), aínda que sexa menos acusado. Pola contra a poboación híbrida Val x In3 alcanza valores mínimos, aínda que similares ós alcanzados polas poboacións naturais, cuxo promedio é aproximadamente 6.9 para Val e 6.7 cm para In3.

#### 4.2.2. AVALIACIÓN DA CAPACIDADE DE FORMACIÓN DE RAÍCES ADVENTICIAS

Na Táboa 7 móstrase unha caracterización xeral de cada unha das variables descritas anteriormente en material e métodos.

**Táboa 7: Estadística básica das variables analizadas para os sistemas radicais das estaquillas enraizadas de híbridos interprocedencias de *P.pinaster*.**

Variable	N	Media	Mín	Máx	C.V.(%)
<b>H<sub>estaq</sub> (cm)</b>	604	8.4	2.0	22.5	36.9
<b>NRP.</b>	607	2.3	1.0	9.0	52.3
<b>P<sub>estaq</sub> (g)</b>	607	2.5	0.5	5.8	38.1
<b>BIF</b>	614	152.0	1.0	830.0	66.9
<b>PUN</b>	614	96.6	4.0	382.0	55.3
<b>L<sub>raíces</sub> (cm)</b>	614	181.4	6.5	629.1	50.8
<b>ARP (cm<sup>2</sup>)</b>	614	22.2	0.75	90.6	52.9
<b>SR (cm<sup>2</sup>)</b>	614	69.8	2.3	284.6	52.9
<b>DR (mm)</b>	614	1.2	0.9	1.7	10.6

Altura da estaquilla obxecto de análise (H<sub>estaq</sub>); Número de raíces principais (NRP); Peso da estaquilla enraizada (P<sub>estaq</sub>); Bifurcacións (BIF); Puntas (PUN); Lonxitude total das raíces (L<sub>raíces</sub>); Área de raíz proxectada (ARP); Superficie das raíces en contacto coa terra (SR); Diámetro medio de raíz (DR)

A altura media da estaquilla é de 8.40 cm cun máximo en 22 cm e un mínimo de 2 cm. Deducimos que o crecemento da estaquilla enraizada é óptimo, comparado co crecemento da planta nai (cunha altura media de 14.9 cm, un máximo en 27 cm e un mínimo en 3.5 cm).

O número de raíces principais é baixo (aproximadamente 2 raíces por planta) o que indica que a pesar de que as raíces formadas parten dun callo de feridas producidas polo corte, hai unha clara tendencia á existencia dunha raíz dominante (raíz principal normalmente de máis de 30 cm), que suxire a idea da existencia dunha raíz axonomorfa da que saen outras laterais. Este é o sistema radicular que caracteriza á

maioría das dicotilédneas e ximnospermas. Shi & Brewbaker (2006) observaron para *P. tadea* un número medio de raíces principais por estaquilla variable entre 2.7 e 12.2.

O número medio de bifurcacións e puntas son elevados, 152 é 96 respectivamente, cuxos valores mínimos e máximos oscilan entre 1 e 830; 4 e 382 respectivamente. A pesar destes datos, que indican un sistema radical moi ramificado en xeral, o diámetro medio toma valores baixos (1.22 mm), variando entre 0.97 e 1.79, o que significa que as raíces son finas (< 2 mm) podendo provocar problemas no momento de establecemento da planta, xa que se pode producir a desecación das raíces co conseguinte risco de provocar a morte da planta no momento de transplante.

Todos os valores presentados na Táboa 7 son bos estimadores da estrutura do sistema radical da estaquilla, posto que ó ser cultivadas á raíz núa en bandexas de polietileno indica que a raíz seguiu o seu proceso natural de crecemento, sen sufrir variacións morfolóxicas impostas polo envase (Merlo et al., 2003).

➤ **Análise da varianza individual para cada factor**

**Táboa 8: Resultados do modelo mixto para as distintas variables analizadas no sistema radical das plantas. Valor de F e niveis de significación dos factores fixos e estimación da varianza dos factores aleatorios.**

	Factores fixos				Factores aleatorios		
	Poboación		h. estaq		G(P)		Residuo
	G.L.	F	G.L.	F	V	p<Z	V
<b>P<sub>estaq</sub></b>	11,24	n.s	35,543	29.36***	0.030	2.24*	0.31
<b>NRP</b>	11,23	2.95*	35,549	1.60*	0.024	0.71 <sup>n.s</sup>	1.37
<b>BIF</b>	11,25	6.10***	35,551	15.22***	331.25	1.80*	4929.28
<b>PUN</b>	11,25	3.93**	35,547	15.74***	168.33	2.34**	1322.72
<b>L<sub>raíces</sub></b>	11,26	5.43**	35,553	18.69***	196.02	1.58 <sup>n.s</sup>	3375.12
<b>ARP</b>	11,25	5.92***	35,552	18.18***	3.30	1.59 <sup>n.s</sup>	62.005
<b>SR</b>	11,25	5.92***	35,552	18.18***	32.57	1.59 <sup>n.s</sup>	611.92
<b>DR</b>	11,24	5.44**	35,553	1.02 <sup>n.s</sup>	0.00059	1.27 <sup>n.s</sup>	0.015

Nivel de significación: \*\*\* F < 0.001; \*\* F < 0.01; \* F < 0.05; n.s. = non significativo) [Representátese os grados de liberdade do numerador e denominador (Gl n,d)].[Ver Anexo 1 para as abreviaturas (P<sub>estaq</sub>; NRP; BIF; PUN; L<sub>raíces</sub>; ARP; SR; DR, h<sub>estaq</sub>; G(P))]

Os resultados da análise da varianza (Táboa 6) mostran que o desenvolvemento do sistema radicular de *P. pinaster* é independente da familia híbrida, sen embargo, sí

observamos un efecto significativo da poboación e da altura da planta nai onde se recolleu a estaquilla, polo que realizamos as seguintes deducións:

- ❖ A influencia da altura inicial da planta nai, introducida como covariable na ecuación do modelo correspondente, podería estar correlacionada co estado do vigor da planta nai. Salinero & De la Mata (1981), demostraron que a supervivencia está ligada ó tratamento hormonal aplicado, á época, ó sustrato e ás condicións ambientais. Experimentos realizados en estudos recentes, demostraron a influencia da aplicación de mist (sistema de rego) e o potencial osmótico do sustrato en relación co potencial osmótico da raíz, de forma que aumentando o potencial do sustrato  $\Psi_{\text{sus}}$  aumentaba o potencial da estaquilla  $\Psi_{\text{cut}}$ , e polo tanto a capacidade de enraizamento incrementouse aproximadamente un 35% (Lebude *et al.*, 2004). Plantas sans e vigorosas tender a producir maior cantidade de raíces que plantas de escasa calidade morfo- fisiolóxica (Richie, 1985. Simpson & Ritchie, 1997)
- ❖ A familia non ten un efecto significativo na supervivencia das plantas. Deducimos que non existe un control xenético no enraizamento a nivel familiar, contrariamente a outras especies como *Leucaena* onde a habilidade de enraizamento de poboacións híbridas se encontra afectada polo xenotipo (Shi & Brewbaker, 2006), ou en especies híbridas do xénero *Pinus*. onde se demostrou que existe un control xenético no porcentaxe de enraizamento atribuído á familia e a efectos dentro das familias (*P. tadea*) (Foster *et al.*, 1990). En estudos sobre as familias híbridas de *Pinus elliottii x Pinus caribea* observouse que a varianza familiar é máis pequena que a varianza entre clons, de maneira que o enraizamento é altamente dependente dos clons (Shepherd *et al.*, 2005). En ensaios próximos, nos que se analizará a supervivencia do segundo estaquillado poderemos analizar a capacidade de enraizamento relacionada co control xenético dos clons e comparar dita varianza coa varianza das familias.

Da Táboa 8 podemos deducir:

- ❖ A altura da estaquilla ten un efecto significativo en tódalas variables exceptuando o diámetro medio das raíces. De feito existe unha correlación positiva entre o tamaño da estaquilla e tódalas variables estudadas (Táboa 9).

Esto significa que a maior tamaño das estaquillas, claramente maior será o seu peso, número de bifurcacións, área proxectada e superficie na área proxectada; é dicir, indica unha concordancia entre o crecemento da parte aérea e a parte radical

- ❖ A poboación afecta significativamente a tódalas variables analizadas, excepto para o peso en verde da estaquilla enraizada (non significativa). Para o resto das variables existe unha clara diferenciación dos valores obtidos en base á poboación, que indica que o desenrolo do sistema radical está claramente afectado pola poboación da que se trate.
- ❖ A familia ten un efecto significativo no peso da estaquilla enraizada, no número de bifurcacións e no número de brotes, polo que existe un control xenético nas variables mencionadas a nivel familiar.

### ➤ Análise das diferenzas existentes entre as poboacións

É de esperar que plantas de rexións de procedencia distinta mostren un sistema radical diferente asociado ás condicións de orixe, onde sufriron un proceso evolutivo de adaptación.

Debido ó sistema de reprodución empregado non teremos sistema radical orixinado no embrión, senón que o enraizamento das estaquillas é producido a partir dunha parte aérea o que se coñece como raíces adventicias. Estas poden ter ou non ramificacións, pero teñen forma e tamaño relativamente homoxéneo.(Fahn,1982)

Á vista das gráficas (**Figura 14**) e (**Figura 15**) pódese observar que o sistema radical máis desenrolado obtense para as estaquillas da procedencia natural IN3, e os menos desenvolto obtéñense nas poboacións naturais de Galicia Costa (SER) e IN2. A poboación híbrida Val x In3 mostra un desenrolo radical inferior a IN3 e similar á poboación materna. As poboacións híbridas obtidas con Galicia Costa ou con IN2 mostraron un sistema radical máis desenvolto. As raíces de maior grosor obtéñense na poboación natural VAL e co híbrido VAL x In2. As tres poboacións naturais que representan Galicia interior teñen o menor diámetro medio de raíz. Harfouche (2003),

estudiou a relación entre a parte aérea e a parte radical para 6 familias vigorosas e 6 familias non vigorosas de pino marítimo de Landas ante distintos réximes de estres hídrico, cuxo resultado demostraron que plantas de familias non vigorosas desenvolveron un profundo sistema radical e exhibiron maior proporción raíz-tallo cás plantas de familias vigorosas. Estes resultados son equiparables ós do noso estudio, dado ue a procedencia In3 é a de maior desenvolvemento do sistema radical sendo unha das menos vigorosas, onde a parte aérea creceu menos.

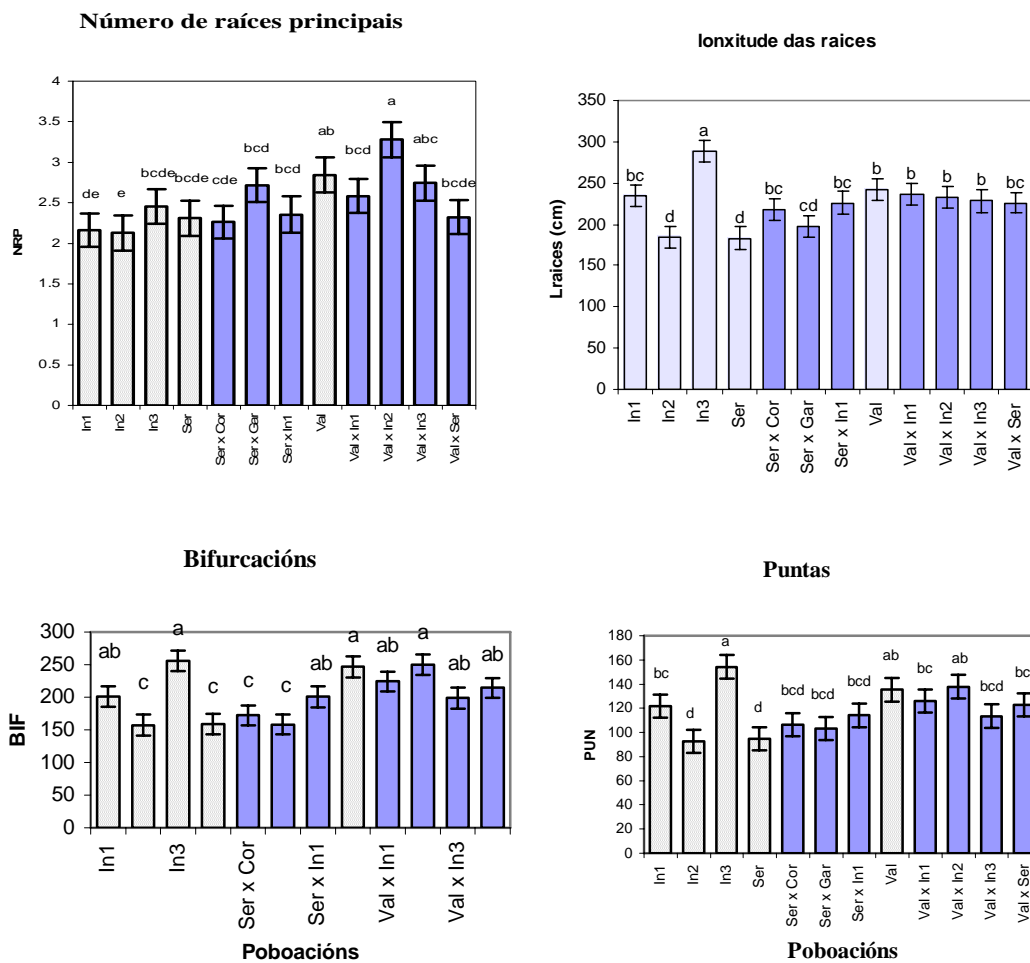


Figura 14: Promedio das variables analizadas NRP; L<sub>raíces</sub>; Bifurcacións e Puntas, definidas en material e métodos para as respectivas poboacións estudadas. As letras distintas indican diferencias significativas (p<0.05) entre as medias corregidas (LSMEANS). [Ver Anexo 1 para as abreviaturas ]

A poboación natural VAL e todos os seus híbridos teñen un comportamento semellante na cantidade de raíz desenrolada para tódalas variables salvo para o número de raíces principais e para o diámetro da raíz.

A poboación híbrida SER x IN1 consegue un desenvolvemento do sistema radical superior á poboación natural Galicia costa (SER) e similar á poboación natural paterna (IN1)

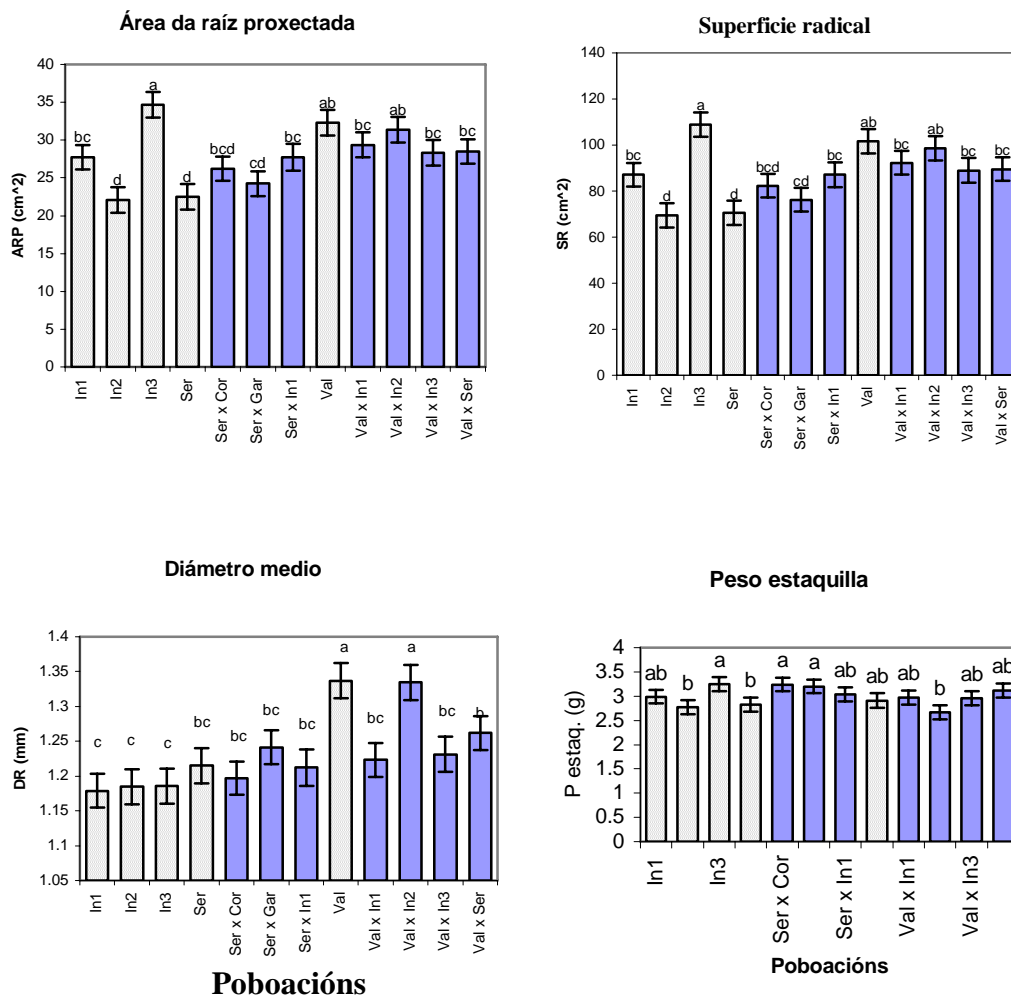


Figura 15: Promedio das variables analizadas definidas en material e métodos para as respectivas poboacións estudadas. As letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre as medias corregidas (LSMEANS). [Ver Anexo 1 para as abreviaturas (Nppais; L; Bifurc; Puntas; Proxec área; Surfarea)].

A comparación entre as poboacións híbridas e as poboacións naturais permite observar se existe ou non efectos de heterosis. Sobre o número de raíces principais



(Figura 14) obtemos valores superiores na emisión de raíces na poboación híbrida Ser x In1 respecto ás correspondentes poboacións naturais. Os posibles efectos de heterosis desta devandita variable son notablemente superiores se comparamos In2 (que toma o valor mínimo para a media de todas as poboacións. 2.1); Val (cunha media de 2.8), e Val x In2 (que toma o valor máximo alcanzado (3.3)). Noutros casos os valores alcanzados pola poboación híbrida foron intermedios ós das correspondentes poboacións naturais, como ocorre en Val x In3 respecto a Val e In3 ( 2.7; 2.8; 2.1 respectivamente) ou en Val x Ser.

O número de bifurcacións, que podería representar o número de raíces secundarias e terciarias, e o número de puntas, que podería representar o número total de raíces, alcanza os máximos na poboación In3, cun valor medio de 256 e 154 para as respectivas variables. É de esperar que dita poboación alcance valores máximos de lonxitude de raíz (288.07 cm). No caso de Val x In3, o nº de bifurcacións e puntas aproxímase á poboación materna (Val) e difire significativamente da poboación paterna (In3). Podería suceder que se manifeste unha acción complementaria de alelos recesivos dos pais ou que estea debida a xenes de acción non aditiva. Por outra banda observamos que o número de bifurcacións e de puntas en Ser, é un dos valores máis baixos, cun promedio de 159 e 95 respectivamente, polo que resulta lóxico que o promedio da lonxitude alcanzada polas raíces sexa baixa (183.34 cm).

A interpretación da área proxectada das raíces e a superficie das mesmas (Figura 15) espérase que sexa igual, xa que a superficie das raíces podería obterse a partires da área proxectada nun plano. En vista dos resultados gráficos observamos que o máximo para as variables estudadas segue sendo igualmente In3, e os mínimos alcanzan o seu valor para Ser.

Os valores máximos para o diámetro medio de raíces concéntranse en VAL e Val x In2 (1.34 e 1.31 respectivamente). A pesar disto os valores promedios son baixos (<2mm). polo que non diferenciamos raíces grosas. Chama a atención que os valores mínimos se concentren nas poboacións naturais do interior de Galicia In1; In2; In3. cuxos valores medios son próximos á 1.18. o que suxire a idea de que esta menor suculencia das raíces, podería influir na adaptación das mesmas a condicións xéricas (Hayden. 1919). Un dos caracteres adaptivos comunmente aceptado das xerófilas é a

presencia de tecidos do xilema ben desenvolto. que colaboran cunha rápida condución cando hai auga dispoñible.

➤ **Relación entre as variables estudadas**

Na Táboa 9 móstranse os índices de correlación entre as variables de desenvolto da parte aérea e radical da estaquilla. Obsérvase que a maior desenvolto da parte aérea da estaquilla, maior desenvolto do sistema radical con máis lonxitude e superficie de raíz. O desenvolvemento da estaquilla apenas interfire no diámetro da raíz (0.09). Isto contradí o observado en estudos realizados sobre *P. pinaster* en condicións artificiais de déficit de auga (Arndt *et al.*, 2001) onde observou que plantas de familias non vigorosas desenvolveron un profundo sistema radical e exhibiron maior proporción raíz- talo que as plantas de familias vigorosas, e estiveron menos afectadas polo stres

	<b>NRP</b>	<b>P<sub>estaq</sub></b>	<b>BIF</b>	<b>PUN</b>	<b>L<sub>raíz</sub> (cm)</b>	<b>ARP (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>SR (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>DR (mm)</b>
<b>H<sub>estaq</sub> (cm)</b>	0.23***	0.77***	0.63***	0.62***	0.68***	0.67***	0.67***	0.09*
<b>NRP</b>		0.27***	0.32***	0.26***	0.26***	0.31***	0.32***	0.27***
<b>P<sub>estaq</sub> (g)</b>			0.69***	0.70***	0.80***	0.79***	0.79***	0.099*
<b>BIB</b>				0.92***	0.89***	0.94***	0.94***	0.30***
<b>PUN</b>					0.91***	0.92***	0.92***	0.12*
<b>L<sub>raíces</sub> (cm)</b>						0.97***	0.97***	0.0076 <sup>n.s</sup>
<b>ARP(cm<sup>2</sup>)</b>							1.00***	0.22***
<b>SR(cm<sup>2</sup>)</b>								0.22***

hídrico que as máis vigorosas.

**Táboa 9: Coeficientes de correlación de Pearson e grado de significación da relación entre as variables estudadas**

Niveis de significación: \*\*\* P < 0.0001; \*\* P < 0.001; P < 0.05; n.s = non significativo. [Ver Anexo 1 para abreviaturas (H<sub>estaq</sub>; NRP; P<sub>estaq</sub>; BIF; PUN; L<sub>raíces</sub>; ARP; SR)]

Observamos unha correlación positiva entre tódalas variables. En xeral podemos dicir que o nivel de relación das variables son altos e significativos (p<0.0001).

A relación ente o número de raíces principais e o resto de variables son significativas pero os seus valores oscilan entre 0.27 e 0.32. Debido á existencia dun sistema radical orixinado a partires do callo de ferida producido polo corte, temos un

sistema radicular fasciculado. A pesar disto observouse unha tendencia á presenza dunha estrutura pivotante [Ver Anexo 2].

Tamén chama a atención a relación entre a altura das estaquillas e o diámetro medio da raíz, xa que inda que están relacionadas significativamente, o seu valor é baixo (0.09 para unha  $p < 0.05$ ), ó igual que a relación entre a lonxitude total das raíces e o diámetro medio, xa que a súa relación non é significativa

## 5. CONCLUSIONES.

Concluimos que o bo comportamento que presentaron as plantas nais tanto na produción (cantidade e calidade) como no enraizado das estaquillas fai que sexa factible a utilización deste tipo de plantas para a reprodución masiva do material seleccionado e abre a posibilidade de mantelas durante o tempo necesario para o testado de dito material.

### **Capacidade de rebrote da planta nai**

Observouse un control xenético a nivel familiar na capacidade de emitir brotes tralo descabezado inicial, pero non no segundo rebrote. Sen embargo as diferencias significativas entre poboacións encontráronse só no segundo rebrote, probablemente ligadas a caracteres adaptativos da zona da que procede. Nalgúns casos obsérvase que a hibridación provoca unha diminución na capacidade de rebrote respecto ás poboacións naturais.

O número de brotes no segundo rebrote é superior o número de brotes emitidos trala eliminación do brote terminal. Existiu unha baixa relación entre o 1º e o 2º rebrote (0.095), podendo indicar que os patróns que rexen a emisión de brotes no primeiro e no segundo caso son distintos.

A altura inicial da planta nai, que representa en certa medida o vigor da planta, influíu positivamente tanto nos brotes lignificados da planta (brotes anteriores ó eliminación da parte apical), e no segundo rebrote. Sen embargo non influíu na primeira brotación probablemente a causa de que o número de brotes emitidos pola planta surxe como resposta fisiolóxica ó descabezado desta.

### **Capacidade de enraizamento das estaquillas**

Os resultados indican que *P. pinaster* é unha especie con gran capacidade de enraizamento xuvenil a pesar dos comentarios críticos dalgúns autores. O sistema

radical das estaquillas enraizadas caracterízase por ter un número baixo de raíces principais (aproximadamente 2 raíces por planta), moi ramificado en xeral, e con raíces finas ( $< 2$  mm).

Non se observo un control xenético na capacidade de enraizamento das familias híbridas de *P. pinaster*, sen embargo si observamos un efecto significativo da poboación e da altura da planta nai onde se recolleu a estaquilla.

Existe unha diferenza significativa clara entre as distintas poboacións para todas as variables de raíz estudadas, que indica que a formación e o tamaño do sistema radicular está claramente afectado pola poboación de orixe.

Observáronse efectos de heterosis sobre o número de raíces principais, e tamén na altura media de crecemento das estaquillas nalgunhas das poboacións híbridas de *pinaster* comparadas.

Existe un alto control xenético a nivel familiar do número de puntas e número de bifurcacións observadas no sistema radical, indicando a importancia da familia no proceso de ramificación radicular.

## 6. REFERENCIAS.

- AFOCEL, 1995. La multiplication par bouturage en vrac: une méthode pour accélérer la diffusion des Variétés de Douglas. Afocel Armf Informations- Forêt. Fascicule n° 517.
- Alia, R., Moro, J., Denis, J.B., 1997. Performance of *Pinus pinaster* provenances in Spain: interpretation of the genotype by environmentinteraction. Can. J. For. Res. 27: 1648-1559.
- Alía, R., Martín, S., De Miguel, J., Galera, R., Agúndez, D., Gordo, J., Catalán, G., Gil, L., 1996. Las regiones de procedencia de *Pinus pinaster* Ait. OA de Parques Nacionales. DGCONA, Madrid. 75pp.
- Alía, R., Moro, J., Denis, J.B., 2001. Ensayos de procedencias de *Pinus pinaster* Ait. en el centro de España: resultados a la edad de 32 años Invest. Agrar. Sist. Recur. For, 10: 333-354.
- Anderson, A. B., Frampton, L. J., Weir, R. J, 1999. . Shoot Production and Rooting Ability of Cuttings from Juvenile Greenhouse Loblolly Pine Hedges. Transactions of the Illinois State Academy of Science. Vol: 92, (1-2): 1-14.
- Arndt, S. K., Clifford, S. C., Wanek, W., Jones, H. G., Popp, M., 2001. Physiological and morphological adaptations of the fruit tree *Ziziphus rotundifolia* in response to progresive drought stress. Tree Physiology. 11: 705-715.
- Bará, T. S., Toval, H. G,1983. Calidad de estación del *Pinus pinaster* Ait. en Galicia. . Comunicaciones INIA,Recursos Naturales. pp 24: 163.
- Bouvarel, P.,1960. Note sur la résistance an froid de quelques provenancesde *Pin maritime*. Rev. For. Franc. 7: 495-508.

- Brewbaker, X. S. J. L., 2006. Vegetative propagation of *Leucaena* Hybrids by cuttings. *Agroforestry Systems*. 66: 77-83.
- Bruce C, N., Ray, D., 1996. Adaptive growth of. Tree root systems in response to wind action and site conditions. *The physiology*. 16: 891-898
- Cooper, W. X., 1994. The concentrated - solution dip method of treating cuttings with growth substances. En: *Proc. American Society for Horticultural Science* 44 : 533-541.
- David, R., 1954. La multiplication vegetative du Pin maritime. *La nature*. pp32-35.
- De la Mata, R., González, E., Zas, R., 2006. Seed and cone traits in a polycrossing hybrids populations of. maritime pine. Indicatorss of. hybridization viability. Xunta de Galicia, poster contribution.
- Destremau, 1982. The Conservation of Forest Genetic Resources. *Population Genetics of Forest Tree*. *Forestry*. 96.
- Fahn, A., 1985. *Anatomía Vegetal*. Ed. Pirámide. pp 289-325.
- Foster, G. S., 1990. Genetic control of rooting ability of stem cuttings from loblolly pine. . *Canadian Journal of Forest Research*. 20: 1361-1368.
- Francllet, A., 1969. Bouturage des resineux et autres especes difficiles. Secondwold consultation on forest tree breeding.
- Francllet, A., 1975. Research on favourable conditions for striking cutting of maritime Pine. *Anales AFOCEL*. pp 99-127.
- Harfouche, A., 2003. Retrospective early test for adult vigor of. *Pinus pinaster* families grown under two water regimes. Implications for early selection. *Annals of Forest Science*. 6: 539-547.

- Hayden, A., 1919. The ecologic subterranean anatomy of some plants of a prairie province in Central Iowa. *Amer J Botany*. 6: 87-105.
- Kramer, P. J., 1945. Absorption of water through suberized roots of trees. *Pl. Physiol.* 21: 37-41.
- Landis, T. D., 1989. Mineral nutrition as an index of seedling quality, *Agriculture Handbook*. 674: 1-70.
- Lebude, A. V., Goldfarb, B., Blazich, F. A., Wise, F. C., Frampton, J., 2004. Mist, substrate water potential and cutting water potential influence rooting of stem cuttings of Loblolly pine *Tree Physiology*. 24: 823-831.
- Lemos, L., Carvalho, A., Araújo, J. A. and Borralho N. M. G, 1997. Short Note: Importance of Additive Genetic and Specific Combining Ability Effects for rooting Ability of Stem Cuttings in *Eucalyptus globulus*. *Silvae Genetica*. 46: 307-308.
- Martins, P., 2005. Efecto de la fertilización de establecimiento en el comportamiento de familias de polinización abierta de *Pinus pinaster*. Proyecto Fin de Carrera, Escuela Politécnica Superior de Ingenieros de Montes. Universidad de Santiago de Compostela. Lugo. pp 1-69.
- Mason, M. E., Nelson, C. D., 1997. Stem cutting production and rooting in a slash pine diallel managed for rapid cutting production. *Southern Forest Tree*. pp 251-260.
- Merlo, E., Fernández-López, J., 2004. Análisis del balance parental reproductivo en un huerto semillero de *Pinus pinaster*. *Ivest. Agrar. Sist. Recur. For.* 13: 387-398.
- Merlo, E., Cifuentes, B., Moreira, L., Argibay, A., 2003. Ensayo piloto para estudiar la influencia del envase y tiempo de cultivo en el desarrollo y estructura del sistema radical del *Pinus pinaster* Ait. En: CIFA Lourizan. Xunta de Galicia.



- Merlo, E., Zas, R., Fernández- López, J.,2005. Ganancia obtenida mediante recogida selectiva de semilla en un huerto semillero de *Pinus pinaster* Ait. In: Proceedings of the IV Congreso Forestal Nacional. Zaragoza.
- Molina, F.,1949. Sobre la mejora genética del *Pinus pinaster*. Montes: 499-510.
- Molina, F. ,1965. Comportamiento racial de *Pinus pinaster* en el noroeste de España. Anales IFIE. 2: 221-238.
- Mullin, T. J., Morgenstern. E. K., Fowler D. P., 1992. Genetic parameters from a clonally replicated test of black spruce ,*Picea mariana*. Can. J. For. Res. 17: 1775-1180.
- O'Rourke, F. L., 1944. Wood type and original position on shoot with reference to rooting in hardwood cutting of blueberry. Proc. Amer. Soc. Horti. Sci. 29: 352-355.
- Ritchie, G. A., 1985. Root Growth Potential: principles, procedures, and predictive ability. En: Evaluating seedling quality: Principles, procedures, and predictive abilities of. Major test Oregon State University: pp 93-104.
- Rodriguez, A., Vega, G., Mesego, J., Castro. M., Román. M.L., Moo C., 1999. Viabilidad del uso de plantas madre de *Pinus pinaster* y *Pinus radiata* para la producción masiva de estaquillas. Centro de Investigaci3n Forestais de Lourizan. Xunta de Galicia.
- Rodríguez, A., Vega, G., 1993.Técnica para la reproducci3n masiva mediante estaquillas juveniles de coníferas I: *Pinus pinaster* y *Pinus radiata*. I Congreso Forestal Espa3ol. Vol II: pp 289-293.
- Rycky, S., L., Alia, R., Agudez, D., Gil, L., 1943. Genetic variation and migration pathway of maritime pine in Iberian Peninsula.

- Salinero, M. C., De la Mata, A., 1981. Avances sobre el estudio del potencial genético del *Pinus pinaster* en la provincia de Pontevedra y análisis de un método para la selección de genotipos adultos. INIA
- Salvador, L., Alia, R., Agundez, D., Gil, L., 2000. Genetic variation and migration pathways of maritime pine *Pinus pinaster* Ait in the Iberian Peninsula. *Theor. Appl. Genet.* 100: 89-95.
- SAS Institute Inc., 2004. SAS® 9.1.2 Qualification Tools User's Guide, Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Shepherd, M., Mellick, R., Toon, P. G., Dale, G., Dieters, M. J., 2005. Genetic control of adventitious rooting on stem cuttings in two *Pinus elliottii* × *P. caribea* hybrid families. *Annals of Forest Science*. Vol. 62 .*Annals of Forest Science*. pp 403-412.
- Simpson, D. G., Ritchie, G.A., 1997. Does RGP predict field performance? A debate. *New Forests*. 13: 253-277.
- Thulin, I. J., Faulds, T., 1968. The use of cuttings in the breeding and afforestation of *Pinus radiata*. *N. Z. J. For.* 13: 66-67.
- Tinus, R. W., 1996. Root a growth potential as ana indicator of drought stress histoy. *Tree Physiology*. 16: 795-799.
- Tjeerd, J. B., Nielsen, K.L., Bas, k., 2000. Sample preparation and scanning protocol for computerised analysis of root length and diameter. *Plant and Soil*. 218: 185-196.
- Van Onsem, J. G., 1953. Synergistic effects of hormone mixtures on the rooting of cutting. *Rept. 13 th hort. Coug.* pp 506-514.

- Vega, P., González M., Moo, C., Vaga, G., 1997. Primeros resultados de los ensayos de progenie del huerto semillero de *Pinus pinaster* Ait. en Sergude, Galicia. Proceedings of the II Congreso Forestal Español. Irati, Navarra: pp 661-666.
- Wignore, B. G., Woods, J. H., 2000. Cultural procedures for Propagation of Rooted Cuttings of Sitka Spruce, Western Hemlock, and Douglas- fir in British Columbia. 46: 0-30
- Zas, R., Merlo E., Fernández-López, J., 2004. Genetic parameter estimates for Maritime pine families in Galicia; Northwest Spain. For. Genet. 53: 175-182.

**ANEXOS**

## ANEXO 1

### Factores investigados.

**D:** Densidade de sementado

**B(D):** efecto do Bloque anidado ó factor Densidade de sementado.

**P:**efecto da Poboación

**C(B):** efecto da Columna anidado ó bloque

**F(B):** efecto da Fila anidado ó bloque

**P\*D:**Interacción Poboación x Densidade de sementado

**P\*B(D):**Interacción Poboación x Bloque (anidado a Densidade de sementado)

**G(D):** efecto do factor Familia anidado ó factor Densidade de sementado

**D\*G(P):** Interacción Densidade de sementado x Familia (anidado á poboación)

### Variables de estudo na emisión de brotes da planta nai.

**B0:** Brotes lingificados procedentes da ramificación antes do despuntado.

**LB:** Lonxitude do brote máis longo.

**B1:** Brotes novos emitidos tralo despunte terminal

**B2:** Brotes emitidos trala eliminación dos brotes novos e brotes lingificados (2 brotación.

**ho:** Altura inicial da planta nai.

**hc.** Altura de corte da planta nai.

### Variables de estudo na formación de raíces.

**h<sub>estaq</sub>:** Altura da estaquilla enraizada obxecto de análise.

**NRP:** Número de raíces principais.

**P<sub>estaq</sub>:** Peso en verde da estaquilla enraizada

**BIF:** Número de bifurcacións das raíces

**PUN:** Número de puntas das raíces.

**L<sub>raíces</sub>:** Lonxitude total das raíces

**ARP:** Área da raíz proxectada.

**SR:** Superficie da raíz en contacto coa terra.

**DR:** Diámetro medio de raíces.

ANEXO 2.



Figura 16: Sistema radicular fasciculado dunha estaquilla enraizada da poboación IN 3. (Sober)



Figura 17: Estructura pivotante dunha mostra dun sistema radicular da poboación natural IN3