UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE LUGO

INGENIERÍA DE MONTES

EVALUACIÓN EN VIVERO DE FAMILIAS DE POLINIZACIÓN ABIERTA DE *Pinus pinaster* Y CORRELACIÓN CON SU COMPORTAMIENTO ADULTO EN CAMPO

PROYECTO FIN DE CARRERA

Alumno:

CARLOS A. LÓPEZ RODRÍGUEZ

Directores:

RAFAEL ZAS ARREGUI **ESTHER MERLO SÁNCHEZ**

Tutor:

FRANCISCO JAVIER SILVA PANDO

FEBRERO 2006

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE LUGO
INGENIERÍA DE MONTES

EVALUACIÓN EN VIVERO DE FAMILIAS DE POLINIZACIÓN ABIERTA DE *Pinus pinaster* Y CORRELACIÓN CON SU COMPORTAMIENTO ADULTO EN CAMPO

Los Directores:

RAFAEL ZAS ARREGUI ESTHER MERLO SÁNCHEZ

EL Tutor: El Alumno:

FRANCISCO JAVIER SILVA PANDO CARLOS A. LÓPEZ RODRÍGUEZ

Convocatoria: FEBRERO 2006

Este Proyecto de Fin de Carrera se ha realizado en el Departamento de Producción Forestal del Centro de Investigaciones Forestais e Ambientais de Lourizán bajo la dirección de los Drs. Rafael Zas Arregui y Esther Merlo Sánchez y al amparo del Proyecto de Investigación INIA-RTA2-109 “Avance del programa de selección y mejora de *Pinus radiata* D. Don y *Pinus pinaster* Ait. para Galicia” y la ayuda complementaria PGDIT02-PXIC50201PN de la Xunta de Galicia.

Agradecimientos

En primer lugar me gustaría acordarme de mis directores, Rafael Zas Arregui y Esther Merlo Sánchez, por su ayuda y consejos, ya que sin ellos llegar a este punto no hubiese sido posible, ¡sois geniales! Me gustaría especialmente mostrar mi más sincero agradecimiento a Rafa por el tiempo prestado y por haber tenido siempre la mejor disposición para solucionar cualquier problema o duda que se presentase. Quiero agradecerle además el maravilloso trato dispensado durante este tiempo, ¡Muchísimas gracias Rafa!

También me gustaría mostrar mi agradecimiento a todo el Departamento de Producción Forestal por dejarme usar su material y por permitirme "andar como perico por su casa" por sus instalaciones. El agradecimiento es extensible a todo el personal del C.I.F.A. Lourizán, especialmente Ferry y las chicas del vivero por su amabilidad y simpatía y por estar siempre dispuestos a echar una mano en cualquier cosa que hiciera falta.

A todos los que arrimaron el hombro en las mediciones en el vivero, os debo una chic@s ¡muchas gracias! Especialmente tengo mucho que agradecerles a Iván y Diego por todas esas mañanas y tardes midiendo como jabatos. También me gustaría agradecerle a Carlos su eterno buen humor, que hizo más llevadera alguna que otra jornada de viento, lluvia y granizo, (¡graciñas Zenon!).

Para todos los que siempre habéis estado a mi lado durante estos años: mis amigos y, por supuesto, mi familia (por su paciencia infinita) simplemente no hay palabras que expresen mi agradecimiento.

ÍNDICE

1. RESUMEN-ABSTRACT.....1
2. INTRODUCCIÓN.....4
    2.1. LA ESPECIE.....4
    2.2. LA MEJORA GENÉTICA FORESTAL.....6
        2.2.1. BASES DE LA MEJORA GENÉTICA.....7
        2.2.2. LOS PROGRAMAS DE MEJORA GENÉTICA.....9
    2.3. EL PROGRAMA DE MEJORA DE *Pinus pinaster* EN GALICIA.....15
        2.3.1. ZONA COSTERA.....16
        2.3.2. ZONA INTERIOR.....21
    2.4. EL PROBLEMA DE LA SELECCIÓN TEMPRANA EN GENÉTICA FORESTAL.....22
        2.4.1. LA SELECCIÓN TEMPRANA EN *Pinus* pinaster.....24
        2.4.2. LA SELECCIÓN TEMPRANA EN EL PROGRAMA DE MEJORA EN GALICIA.....26
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....32
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....34
        4.1. ENSAYO EN VIVERO.....34
            4.1.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL ENSAYO.....34
            4.1.2. MATERIAL DE ESTUDIO.....35
            4.1.3. SISTEMA DE CULTIVO.....36
            4.1.4. DISEÑO EXPERIMENTAL.....39
            4.1.5. MEDICIONES.....41
        4.2. ENSAYOS ADULTOS EN CAMPO.....42
        4.3.OTROS ENSAYOS TEMPRANOS.....44
            4.3.1.ENSAYOS DE FAMILIA × FERTILIZACIÓN.....44
            4.3.2. ENSAYO DE NUTRIENTES EN INVERNADERO.....46
        4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....48
            4.4.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO EN VIVERO.....48
            4.4.2. CORRELACIONES JA.....50

5. RESULTADOS.....52
5.1. VARIABILIDAD GENÉTICA EN VIVERO.....52
5.2. CORRELACIONES JA.....56
5.3. CORRELACIONES CON OTROS ENSAYOS JUVENILES.....59
5.3.1. ENSAYO DE FAMILIA × FERTILIZACIÓN.....59
5.3.2. ENSAYO DE NUTRIENTES EN INVERNADERO.....60
6. DISCUSIÓN.....63
7. CONCLUSIONES.....72
8. REFERENCIAS.....74
9. ANEXOS.....79

1. RESUMEN

El pino marítimo (*Pinus pinaster* Ait.) es una de las especies forestales más importantes en Galicia, por ello en la década de los 80 el Departamento de Producción Forestal del C.I.F.A. de Lourizán puso en marcha el programa de mejora de *P. pinaster* para Galicia con la selección de árboles superiores o plus y establecimiento de los pertinentes huertos semilleros y ensayos de progenie para la especie. Se ponía así en marcha la Primera Generación del Programa de Mejora de *P. pinaster* en Galicia. Aprovechando la siembra de nuevo material que se utilizará en una nueva colección de ensayos de progenie de polinización abierta plantada en 2005 (con objeto de evaluar en campo el material evitando los efectos de posibles deformaciones en los sistemas radicales derivados del cultivo en envase en vivero y conocidos coloquialmente como "efecto cepellón),se han evaluado en vivero un total de 19680 plantas de 116 familias de polinización abierta (todas las familias de primera generación del programa de mejora de *P. pinaster* en la costa de Galicia) y 3 testigos comerciales. El diseño experimental es de bloques incompletos α-lattice. Las plantas se cultivan en contenedor de 125 cc enterrados en eras labradas para impedir el repicado de la raíz principal. A su vez, se estudia la relación del comportamiento en vivero con los resultados de las mismas familias evaluadas en campo mediante análisis retrospectivo vivero-campo. Para ello se utilizan las mediciones de altura, diámetro y volumen en 4 ensayos de progenie a los 8 años de edad. También mediante análisis retrospectivo se estudia la relación del material en vivero con las mismas familias evaluadas en campo e invernadero en otros ensayos tempranos con la intención de evaluar la sensibilidad del material juvenil a las condiciones de vivero e invernadero. Los resultados de los análisis indican un importante control genético de la altura en vivero ($h^2_i = 0,48 \pm 0,06$) y moderado para el estado ontogénico ($h^2_i = 0,20 \pm 0,03$). Coincidiendo con resultados previos, las correlaciones juvenil-adulto resultaron muy bajas y altamente variables entre sitios. Dos de las posibles causas ofrecidas para explicar las bajas correlaciones JA encontradas en trabajos previos (escaso número de familias y tratamientos de cultivo excesivamente artificiales en invernadero) pierden peso con los resultados del presente trabajo mientras que otras de las posibles causas apuntadas (fuerte interacción G × E en los ambientes adultos en campo y juveniles en vivero e invernadero y el denominado "efecto cepellón") ganan enteros como principales causantes de dichas bajas correlaciones.

Palabras clave: selección temprana, correlación juvenil-adulto, análisis retrospectivo, variación genética juvenil, Pino marítimo.

1. ABSTRACT

Maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) is one of the most important forest tree species in Galicia. Therefore in the 80´s the "Departamento de Producción Forestal del C.I.F.A. de Lourizán" started the breeding program of *P. pinaster* for Galicia with the selection of superior or plus trees and establishment of the pertinent seed orchards and progeny tests for the species. In this way the First Generation of the Improvement Program of *P. pinaster* in Galicia was started. Taking advantage from the nursery material to be utilized in a new open-pollinated progeny test collection planted in 2005 (with the aim to evaluate the material avoiding the effects of possible deformations in the radical systems as a product of using containerized seedlings, 19680 plants from 116 open-pollinated families (all the first generation *P. pinaster* breeding population in the coastal area of Galicia) and 3 commercial seed lotes. The experimental design was α-lattice incomplete block design. The plants were cultivated in 125 cc containers buried in the soil to avoid the cutting-off of the main root. At the same time, the relationship between the behavior in the nursery and the results of the same families evaluated in field was studied by means of nursery-field retrospective tests. Height, diameter and volume in 4 progeny tests at age 8 were utilized. The relationship of the nursery material with the same families evaluated in field or greenhouse in other early tests was also studied to evaluate the sensibility of the the material to the juvenile enviroment. The results of the analyses indicated an important genetic control of height in the nursery (h^2_i = 0,48 ± 0,06) and moderate for the ontogenic state (h^2_i = 0,20 ± 0,03). As previously found results, the juvenile-mature correlations turned out to be very low and highly variable among sites. Two of the possible causes offered to explain the low JM correlations found in previous works (the scarce number of families and the excessively artificial tratament in greenhouse) lose weight with the results of the present work, while other of the possible causes pointed out (strong G×E interaction in the adult field environments and in nursery and greenhouse juvenile enviroments, and

the called “container effect”) became the more important reasons of the mentioned low correlations.

Key words: early selection, juvenile-mature correlation, retrospective tests, genetic juvenile variation, Maritime pine.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. LA ESPECIE

Pinus pinaster Ait. es una conífera natural de la región mediterránea occidental y de la fachada atlántica de Europa que constituye masas forestales en Francia, España, Portugal, Italia, Marruecos, Argelia y Túnez (Figura 1). En España es el pino que ocupa de forma natural mayor superficie, siendo también con el que más se ha repoblado (Rodríguez Sollaeiro *et al.*,1997).

Figura 1: Área ocupada por *P. pinaster* en la Península Ibérica y suroeste de Francia.

P. pinaster es un árbol de la familia de las pináceas que alcanza una altura de 20 a 30 metros como norma general, aunque en condiciones excepcionales se han medido pinos que rondan los 40 metros.

El tronco tiene tendencia a ser flexuoso, sobre todo si lo comparamos con el pino insigne o el silvestre. El grado de rectitud depende sin embargo mucho de las razas y de la calidad de la estación. El sistema radical es bastante desarrollado y profundo, sobre todo en los suelos con fondo, lo que le confiere una buena resistencia al viento. Las ramas aparecen a lo largo del tronco agrupadas en verticilos.

La copa es piramidal en los pinos jóvenes, luego se va haciendo redondeada e irregular. En los pinos viejos la copa es muy reducida en relación a la altura del árbol. El follaje deja pasar bastante luz al suelo.

La corteza ya es áspera en los pinos jóvenes, luego se hace gruesa y muy resquebrajada. En general el porcentaje de corteza es muy elevado, lo que es un inconveniente para el aprovechamiento de la madera.

Los ramillos son fuertes y de color pardo-rojizo, presentando hojas aciculares que van en grupos de dos. Estas son de color verde oscuro, muy largas y gruesas, con punta fuerte y punzante. Las flores masculinas aparecen en espigas a lo largo del extremo del crecimiento anual, son amarillas y de 1 a 2 centímetros de largas. Los conos femeninos son pequeños, de color rojo a violeta y aparecen en grupos de 2 o 3 en el extremo del crecimiento, y solo en la parte superior de la copa.

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

En Galicia, donde recibe los nombres vulgares de pino gallego, piñeiro do país o piñeiro bravo, esta especie parece haber estado presente como especie natural, aunque de forma bastante puntual y asociado a los arenales costeros. Pero sin duda la gran expansión de su área se debe a la acción del hombre, que utilizó este árbol en repoblación desde el siglo XVIII. Esas repoblaciones fueron realizadas por los mismos campesinos, que sembraban en sus fincas semilla procedente de Portugal, a menudo en mezcla con cereal o tojo. En el siglo XIX *P. pinaster* se extiende por toda la Galicia costera y por el occidente asturiano, siempre en cotas bajas. Ya en el siglo XX son las administraciones públicas las que, con sus programas de repoblación, más aumentan la superficie ocupada por esta especie. Se consiguen unos resultados desiguales en cuanto a calidad de las masas, ya que en ciertos casos se empleó en condiciones estacionales límite, o bien se partió de semilla de origen no adecuado. La actividad selvícola desarrollada se liga a una floreciente industria de aserrado, casi siempre de carácter familiar.

En la actualidad el pino marítimo, ocupa en masas puras, cerca de 400.000 ha y más de 200.000 ha en masas mixtas con roble y eucalipto (27% de la superficie forestal gallega), con un incremento anual de volumen cercano a los 3·10 m³/año (Xunta-de-Galicia, 2001). *Pinus pinaster* y *Pinus radiata* son las dos especies más plantadas en Galicia, ambas con valores medios muy similares, aunque con ligera ventaja para la primera. El ritmo repoblador del pino gallego se muestra muy condicionado por la existencia de subvenciones, de forma que en el máximo de uso de planta en repoblación se sitúa en la campaña 1998/99 coincidiendo con el máximo en la superficie plantada mediante subvenciones. A partir de este máximo de uso de planta en repoblación la tendencia ha sido progresivamente decreciente, si bien en las dos últimas campañas se mantiene un ritmo repoblador considerable (3147 ha/año) superior al correspondiente a *P. radiata*. Las cifras gallegas para *P. pinaster* son superiores a las de las comunidades asturiana y castellano-leonesa (Álvarez, *et al.,* 2005)

No se debe dudar de las excelentes características productivas del pino radiata o del eucalipto, si bien podemos hacer las siguientes consideraciones acerca de *P. pinaster*: 1.- El pino gallego es un árbol enormemente frugal que vive y crece sobre suelos muy someros, arenosos y poco fértiles, donde otras especies no serían una alternativa productiva. 2.- Resiste más el frío que el eucalipto, pudiendo usarse en repoblación a altitudes limitantes para este (500 - 800 metros). 3.- *P. pinaster* tiene facilidad para regenerar de forma natural, por lo que con los cuidados selvícolas necesarios pueden ahorrarse los costes de repoblación tras la corta final. 4.- El paisaje costero gallego ha estado caracterizado durante más de 300 años por la presencia del pino del país. 5.- Las mejores calidades de pino gallego costero ofrecen unos crecimientos medios máximos de unos 20 m^3/ha año, con turnos de corta de 30 años, lo que indica la capacidad productiva de nuestro pino (Rodríguez Sollaeiro *et al.*,1997).

2.2. LA MEJORA GENÉTICA FORESTAL

La mejora genética forestal, como mejora genética vegetal que es, tiene como fin específico la obtención y uso de genotipos que mejor satisfagan las necesidades humanas. Si bien, presenta una serie de peculiaridades tales como la longevidad de las especies forestales, su tamaño o la disponibilidad de semilla de una determinada

condición genética que hacen que su enfoque deba ser distinto al de la mejora vegetal en general. Lo que se pretende en la mejora genética de especies forestales es la mejora de uno o varios caracteres de los árboles para obtener material forestal de reproducción mejorado con el que obtener una mayor rentabilidad de las masas forestales. Esta rentabilidad se puede obtener con el aumento de la productividad, con una disminución de la incidencia de enfermedades o plagas o con cualquier otro logro que permita mejorar el comportamiento de la masa forestal en relación al fin o fines que se persigan con su existencia.

2.2.1. BASES DE LA MEJORA GENÉTICA

El mejorador trata de conseguir las mejores combinaciones de genes, esto es, las más favorables a sus intereses o lo que es lo mismo, trata de obtener los mejores genotipos posibles. Para ello cuenta con una serie de mecanismos como son la selección, los cruzamientos o la ingeniería genética. El mejorador dispone de una serie de individuos y en ellos observa los caracteres que le interesan, es decir los fenotipos disponibles; pero el fenotipo no se transmite, desaparece con el individuo, lo que se transmite son los genes por medio de los gametos. Así el problema fundamental de la mejora es descubrir los individuos poseedores de los mejores genotipos conociendo únicamente sus fenotipos. Si existiera una correlación total entre fenotipo y genotipo, es decir si a cada fenotipo le correspondiese un solo genotipo y a la inversa, el problema estaría resuelto pero esto no es así.

Así pues, el mejorador parte de una población de la cual observa su aspecto externo, sus fenotipos como ya hemos dicho, y se centra en una serie de caracteres que le interesa mejorar (por razones económicas, etc) de su población (en el caso forestal la altura o la resistencia a las plagas por ejemplo). Esa población posee una variabilidad puesto que no todos los individuos son iguales entre sí, variabilidad que será función de la genética de la población y del ambiente en que está presente dicha población.

El siguiente problema al que se enfrenta el mejorador basta con que uno considere a sus semejantes para darse cuenta de que todos ellos difieren en multitud de caracteres, pero que estas diferencias son casi siempre cuestión de grados y casi nunca

presentan distinciones claramente definidas. Por ejemplo, si clasificáramos a los individuos en función de la estatura, no podríamos etiquetarlos en dos grupos de “altos” y “bajos” ya que existen todos los grados de estatura y una división en clases sería puramente arbitraria. A esta variación sin discontinuidades naturales se le llama *variación continua* y a los caracteres que la exhiben *caracteres cuantitativos* o *métricos* ya que su estudio depende de la medición en lugar de la enumeración. En genética forestal la práctica totalidad de los caracteres de interés poseen una variación continua por lo que este problema se torna aquí fundamental.

¿Cómo puede explicarse que la variación intrínsecamente discontinua causada por la segregación genética se traduzca en la variación continua de los caracteres métricos? Las razones son dos: una es la segregación simultánea de muchos genes con el efecto sobre el mismo carácter, y la otra es la superposición de una variación realmente continua producida por causas no genéticas. Resumiendo, que sobre la manifestación de un caracter están actuando un número más o menos elevado de genes cuyos efectos son relativamente pequeños y se suman para producir el carácter (son los denominados poligenes) y además sobre la manifestación de dichos genes está actuando una variación no genética (ambiental pues) cuyo efecto es equivalente a “limar” las aristas de la discontinuidad genética que debería existir entre clases adyacentes. Esto es lo que hace que este tipo de caracteres, que son los que nos interesan desde el punto de vista forestal, no pueden abarcarse desde la genética mendeliana básica, aunque por supuesto no son ajenos a la misma.

Así pues, y enlazando con lo dicho al principio del apartado, el valor observado cuando se mide un caracter de un individuo es el *valor fenotípico* de dicho individuo que como hemos visto en una primera aproximación es resultante de la combinación de su genotipo (o conjunto particular de genes que posee un individuo) y el ambiente (todas las circunstancias no genéticas que influyen en el valor fenotípico). Podemos decir así que el genotipo confiere un cierto valor a un individuo y el ambiente produce una cierta desviación de dicho valor, ya sea en un sentido o en otro. Simbólicamente:

$$P = G + E \quad (1)$$

donde P es el valor fenotípico, G el valor genotípico y E es la desviación ambiental.

Teniendo en cuenta que en la mejora genética se van a manejar poblaciones de individuos en las cuales se quieren mejorar uno o varios caracteres, los valores anteriormente definidos con carácter individual, para definirlos a nivel de población hay que recurrir a expresar la cantidad de variación en términos de varianza:

$$V_P = V_G + V_E \quad (2)$$

Las varianzas son una de las propiedades de las poblaciones respecto a los caracteres métricos, las otras dos son las medias y las covarianzas. La subdivisión natural de la población en familias nos permite partir la varianza en componentes que constituyen la base para la medición del grado de parecido de parientes.

2.2.2. LOS PROGRAMAS DE MEJORA GENÉTICA

Todo programa de mejora genética tiene como punto de partida la selección del material de base y por tanto se ha de iniciar por la localización y señalización en el monte de los árboles a utilizar. Estos son los denominados *árboles plus* (Figura 2) que son individuos recomendados para su empleo en el huerto semillero o para reproducción al haber pasado una primera selección. Tienen un fenotipo sobresaliente en crecimiento, forma, calidad de la madera o adaptación al medio, o en varios de ellos. Así mediante un proceso de elección el mejorador va a poder disponer de unos determinados genotipos con los que se pretenderá alcanzar la máxima ganancia genética, al menor coste y lo más rápidamente posible. Hay que recalcar que lo que se elige son en realidad los mejores fenotipos (que es lo que se ve) que se evalúan a través de una serie de parámetros cualitativos o cuantitativos y no se puede estar seguro de que estos sean también los mejores genotipos pues el ambiente puede actuar tanto impidiendo como magnificando el potencial genético de un árbol.

Figura 2: Árbol designado como plus por su fenotipo sobresaliente.

A la selección de árboles fenotípicamente sobresalientes, paso obligado en todo programa de mejora genética, le debe seguir el testado de su bondad genotípica. En otro caso los caracteres considerados como sobresalientes podrían deberse a una fuerte componente ambiental que no se ve reflejada en la heredabilidad del caracter o caracteres en cuestión. Los ensayos genéticos son imprescindibles para evaluar los resultados de los programas de mejora genética de las especies forestales. Estos ensayos exigen la realización de cruzamientos en que se conocen ambos genitores o sólo uno de ellos (en general la madre) y a través de cuya descendencia se comprueba la presunta superioridad de los árboles seleccionados para el caracter o caracteres seleccionados. Los *ensayos de progenie* nos dan la aptitud de los progenitores para transmitir a su descendencia los rasgos por los que fueron seleccionados. Además a largo plazo los ensayos de progenie también tienen la importante función de ser fuente de material vegetal para posteriores selecciones. Asimismo de ellos van a derivar los datos con los que se estimen los componentes de la varianza, la heredabilidad y, en suma, se calcule la ganancia genética para cada uno de los caracteres de interés. Dentro de los ensayos de progenie, los de semifratrías (half-sib families) de polinización abierta son los más ampliamente utilizados por la facilidad de obtención del material para obtener la *heredabilidad* en sentido estricto de los caracteres objeto de mejora y permitir obtener el ranking de los genotipos representados en base a su valor de mejora (breeding value).

La estimación de la heredabilidad de los caracteres objeto de estudio es una de las funciones principales de los ensayos de progenie. Conocer la heredabilidad de los caracteres que se quieren mejorar, y que ésta sea lo mayor posible, es indispensable para que el programa de mejora genética sea funcional. La heredabilidad de un carácter métrico es una de sus propiedades más importantes y su aspecto más destacable es su función predictiva, puesto que representa el grado en que el valor fenotípico proporciona una indicación fiable del *valor* mejorante o *valor de mejora*. Este valor de mejora de un individuo es la medida de su calidad como padre y puesto que cada individuo transmite a su descendencia sus genes (no su genotipo), es la parte aditiva de ese genotipo la que determina la superioridad genética del padre o su valor de mejora. Puesto que los valores fenotípicos individuales son los únicos que pueden evaluarse directamente (pero su influencia en la generación siguiente viene marcado por el valor *mejorante*), cuando el mejorador escoge a los futuros padres de acuerdo con sus valores fenotípicos, su éxito, a la hora de modificar las características de la población, sólo puede predecirse a partir del conocimiento de la correspondencia entre valores fenotípicos y mejorantes (o aditivos). Esta correspondencia es lo que mide la heredabilidad. La heredabilidad se define como el cociente entre la varianza genética aditiva y la varianza fenotípica:

$$h^2 = V_A / V_P \quad (3)$$

Debemos resaltar que la heredabilidad así calculada es la denominada heredabilidad en sentido estricto, frente a la heredabilidad en sentido amplio que se definiría como el cociente entre la varianza genética total y la varianza fenotípica, ambos valores coincidirían en el caso de que toda la varianza genotípica fuese aditiva.

La heredabilidad muestra pues el grado de control genético que posee un determinado caracter en una población concreta; representa la proporción del caracter que es debida al genotipo (a su valor aditivo en concreto). Es importante tener en cuenta que la heredabilidad no es una propiedad exclusiva del carácter sino también de la población, así como de las condiciones ambientales en que se desarrollan los individuos y de la forma en que se evalúa el fenotipo. Así pues la heredabilidad no es un parámetro universal para cada caracter en cada especie sino una herramienta para utilizar de forma rigurosa y exclusiva en el material donde la hemos calculado y su valor no es utilizable en otras poblaciones con otras condiciones distintas. Esto es debido a que el valor de la

heredabilidad depende de la magnitud de todos los componentes de la varianza (y por tanto también de la varianza ambiental), y por tanto se verá afectado por los cambios que experimente cualquiera de ellos.

La importancia práctica del cálculo de la heredabilidad es que a través de ella podemos calcular la *ganancia genética* también conocida como respuesta o efectividad de la selección y que se puede definir como la diferencia entre el valor medio de la población mejorada y el valor medio de la población inicial. Esto es, la ganancia genética mide la superioridad de la nueva generación respecto de la generación parental. La ganancia genética es dependiente de tres parámetros relacionados por las siguientes igualdades (Falconer y Mackay, 2001):

$$G = h^2 * S \quad (4)$$

$$G = h^2 * i * \sigma \quad (5)$$

donde h^2 es la heredabilidad del caracter; S es el diferencial de selección: $S = i * \sigma$; i es la intensidad de selección, y σ es la desviación típica de la población base (Michel Rodríguez y Gil Sánchez, 1989).

La heredabilidad se estima a partir del *parecido entre parientes*. El grado de parecido es una propiedad del carácter que puede determinarse mediante mediciones relativamente sencillas que se toman en la población sin necesidad de usar técnicas experimentales especialmente complejas. El grado de parecido proporciona el medio de estimar la magnitud de la varianza aditiva y por tanto nos permite también estimar la heredabilidad del carácter en cuestión. Es pues el análisis de la varianza una poderosa herramienta a través de la cual podemos estimar la heredabilidad de un carácter en una población determinada

Por último decir que la heredabilidad puede calcularse sobre una base individual o familiar, la primera como una fracción de la varianza aditiva sobre la varianza de los valores fenotípicos individuales de los árboles, la segunda como una fracción de la parte de la varianza aditiva sobre la varianza de las medias familiares (Falconer y Mackay, 2001). Las *heredabilidades individuales* se usan para determinar las respuestas esperadas de la selección individual, que es la selección de árboles superiores o plus de acuerdo con su propia superioridad individual fenotípica. Las *heredabilidades*

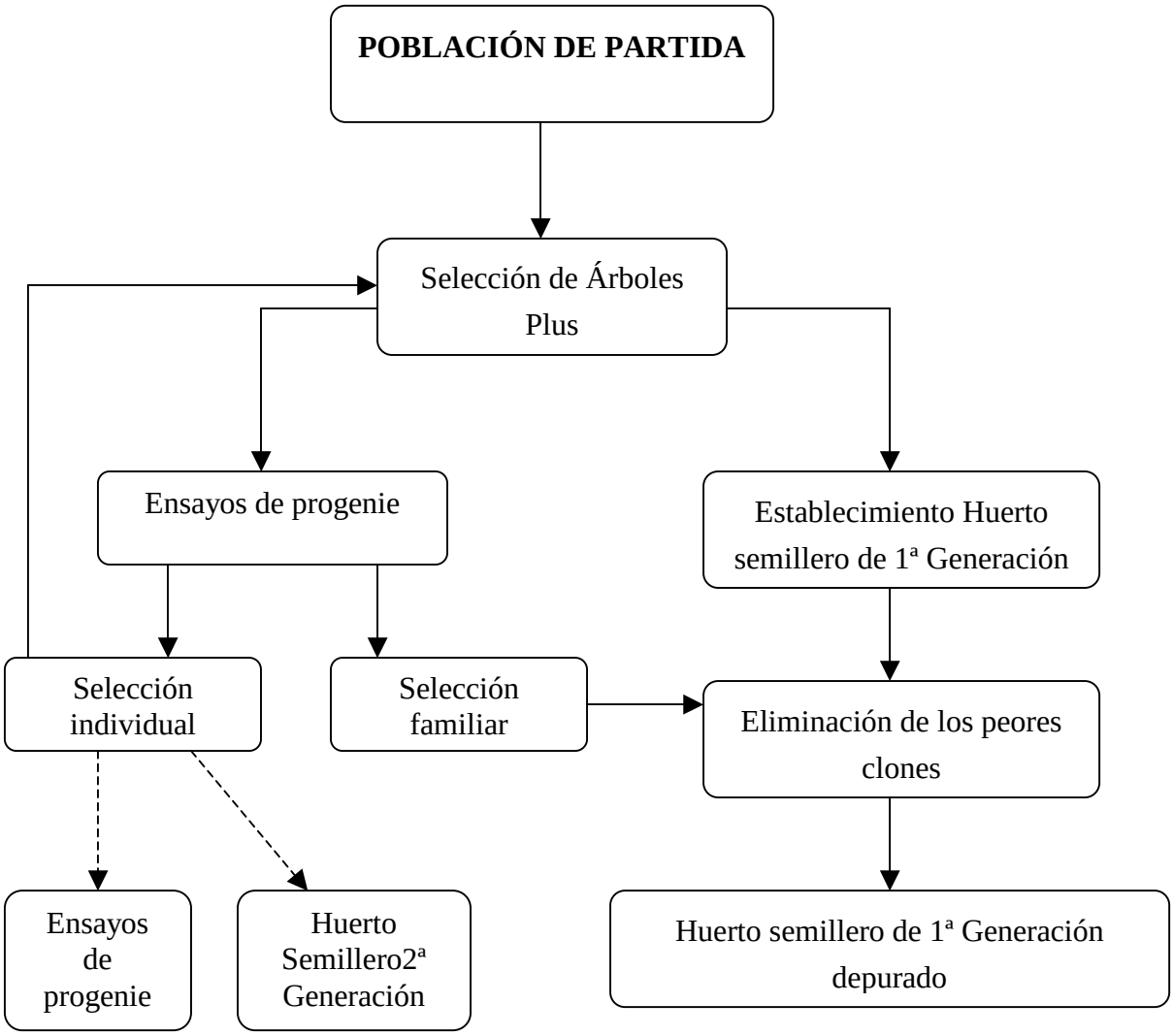
familiares se usan para determinar las respuestas esperadas de la selección de familias o en la selección de árboles superiores de acuerdo con la superioridad de su progenie.

El objetivo final de todo programa de mejora es la producción masiva de los individuos mejorados con fines de repoblación. Para ello se acudirá al uso de brinzales obtenidos de semilla mejorada procedente de huertos semilleros y al empleo cuando sea preceptivo de métodos de propagación vegetativa, que permitan una ganancia máxima derivada de la captura de toda la variación genética. Un *huerto semillero forestal* es, según la definición adoptada por la O.C.D.E., una plantación de clones o de progenies seleccionadas, suficientemente aislada o manejada para que la polinización exógena sea inexistente o escasa y dirigido hacia la producción de semillas de modo frecuente, abundante y de fácil recogida. Un huerto semillero se inicia, como vimos en el apartado anterior, a partir de la selección fenotípica de árboles y su establecimiento tiene lugar mediante propagación vegetativa (estacas o injertos) en los llamados “huertos clonales” o por semillas en los “huertos de brinzales”. El fundamento del huerto se encuentra en la reproducción sexual de las plantas establecidas, por eso éstas se sitúa según un diseño determinado por los objetivos. Las exigencias de aislamiento respecto a masas de la misma especie, a fin de que no penetre en el huerto polen no deseado, dependerán del porcentaje de contaminación externa admisible. Así para *P. pinaster* dichas exigencias están reguladas a un mínimo de 500 metros.

Un programa de mejora genética forestal no termina con la consecución de los huertos semilleros en su etapa productiva ni tan siquiera tras haber eliminado aquellos clones que han demostrado una escasa capacidad de combinación general. Un programa de mejora exige estar provisto de una dinamicidad tal que de forma continua y permanente exista una renovación del material vegetal mediante la incorporación de nuevos clones y la eliminación de los que se vaya comprobando que son menos aptos a través de las sucesivas poblaciones de mejora. Así estamos ante un proceso que se verifica cíclicamente y de forma continuada, en cada ciclo se incorpora nuevo material y se produce una nueva selección y los mejores genotipos de las sucesivas poblaciones de mejora se irán incorporando a las sucesivas generaciones de huertos semilleros. Así en este proceso en cada generación del programa de mejora la ganancia genética esperada será mayor. Una representación esquematizada del ciclo del que se compone un programa de mejora genética se pude ver en la Figura 3 donde se puede ver que la

mejora genética forestal es un proceso continuo que se retroalimenta y no cesa en un determinado punto.

Figura 3: Representación esquemática simplificada de un programa de mejora clásico.



(Así continúa el ciclo en las siguientes generaciones de mejora)

Teniendo en cuenta que el fin último de un programa de mejora forestal es mejorar determinadas características de los árboles en el momento del aprovechamiento final se plantea un problema: las sucesivas evaluaciones del material seleccionado en un programa de mejora no se pueden retrasar tanto tiempo y es preciso establecer sistemas de evaluación temprana que permitan predecir el comportamiento futuro con suficiente antelación y sin que halla que esperar al turno de explotación de la especie en cuestión que debido a la longevidad de las especies forestales podría alargarse muchísimo en el tiempo. Así pues para que el programa de selección recurrente sea operativo es preciso establecer una **estrategia de selección temprana** que reduzca los ciclos de mejora y aumente la ganancia obtenida por unidad de tiempo.

Por último mencionar que en todo programa de mejora genética es básico el desarrollo y mantenimiento de una base genética poblacional amplia, que permita su uso en programas a largo plazo que conduzcan a una mejora continuada a la vez que atiendan a las necesidades de las generaciones futuras. Para ello es indispensable que se desarrolle una fase de investigación en este sentido que discurra paralelamente al desarrollo operacional.

2.3. EL PROGRAMA DE MEJORA DE *Pinus pinaster* EN GALICIA

P. pinaster presenta gran diferencia genética entre poblaciones en caracteres de crecimiento y supervivencia, resultado de adaptaciones a distintos ambientes y de la fragmentación de su área (Alía *et al.*, 1995). Ciñéndonos a la situación gallega, la zona costera de Galicia cuenta con una población de pinos considerada como autóctona, o en cualquier caso perfectamente adaptada al medio, y con unas características excelentes de crecimiento y ramosidad, aunque mediocres en cuanto a forma. Estas masas, con árboles de excelente poda natural aunque con cierta tendencia a la curvatura, parecen derivar de las portuguesas, a partir de las repoblaciones realizadas por los propietarios privados y las Administraciones forestales en los últimos 300 años. En la zona interior de Galicia el aspecto general de los pinares de *P. pinaster* es bien distinto: la ramosidad es mucho más acusada, el crecimiento en altura es en general inferior y los árboles tienen mayores porcentajes de corteza y mayores diámetros. Gran parte de estas repoblaciones se efectuaron con semilla procedente de la Meseta Central

castellana, por lo que deben considerarse una procedencia diferente a la costera gallega. Estas diferencias se traducen para el caso que nos ocupa en la distinción en la comunidad gallega de dos zonas con problemáticas distintas y que han de tratarse de forma individualizada: la zona litoral y la zona interior. Así, el Decreto 135/2004 por el que se crea el "Rexistro Galego de Materiais de Base para a Producción de Materiais Forestais de Reproducción" (D.O.G.A. Nº 129 de 6 julio de 2004 según el R.D. 289/2003, de 7 de marzo, sobre comercialización de los materiales forestales de reproducción) distingue las regiones de procedencia *Galicia Litoral* y *Montañas* y *Mesetas Interiores de Galicia*.

2.3.1. ZONA COSTERA

En la década de los 80 el Departamento de Producción Forestal del C.I.F.A. de Lourizán puso en marcha el programa de mejora de *P. pinaster* para Galicia. En 1986 se iniciaron las actividades de mejora sobre esta especie mediante la selección fenotípica de más de 200 árboles élite en masas naturales por los servicios forestales dentro de la procedencia "1a, Norooeste Litoral" (Alía *et al*., 1996). Esta primera selección fue cribada hasta 128 árboles superiores por técnicos. Al igual que en otros países (Alazard, 2001; Butcher y Hopkins, 1993) la selección se realizó en base a caracteres fenotípicos de crecimiento (altura y diámetro), forma y ramosidad. Los árboles plus seleccionados se clonaron por injerto para el establecimiento de huertos semilleros. El primero en instalarse fue en Sergude (concello de Boqueixón, A Coruña), localidad cercana a Santiago de Compostela, en Diciembre de 1991 (Figuras 4 y 5).

Figura 4: Huerto semillero de P. pinaster en Sergude (A Coruña).

La selección de los árboles superiores para incluir en el huerto se realizó entre los años 1986 y 1988 (Figura 5), procediendo a la recogida de púas para la realización de injertos y de piñas para la instalación de ensayos de progenie con cruzamiento abierto. Los 128 clones primeramente seleccionados se quedaron en 116 por causas ajenas a la selección (principalmente porque los injertos no prendían) que se situaron siguiendo un diseño en 10 bloques completos aleatorios con un marco de 5×5 m, totalizando una superficie de 3,2 hectáreas (Vega *et al*., 1993). No existen masas de *P. pinaster* cercanas al huerto semillero así que la contaminación por polen exógeno se supone que es mínima (Merlo y Fernández-López, 2004).

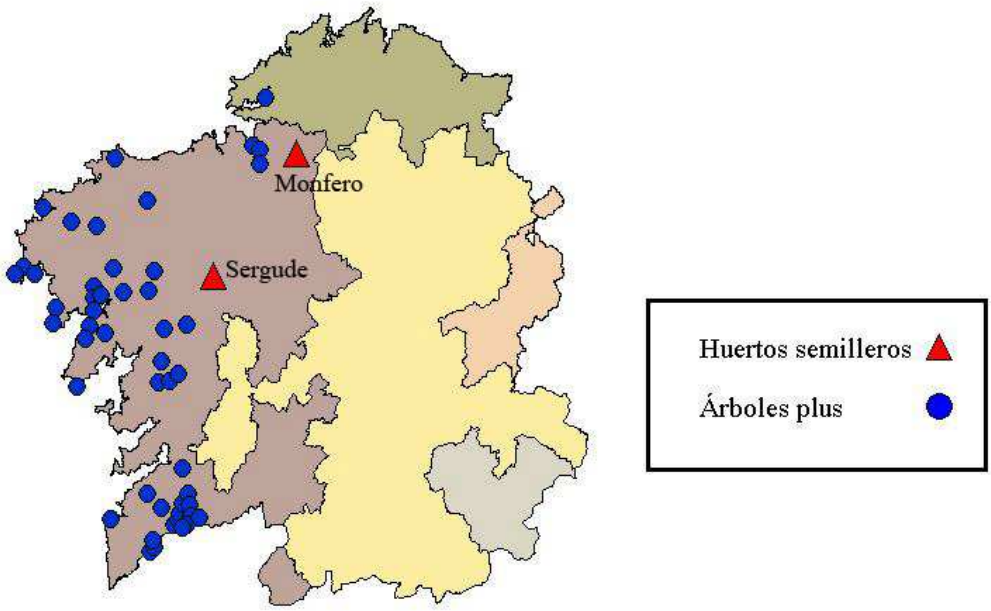


Figura 5 : Localización de los árboles plus y de los huertos semilleros de P. pinaster dentro de la RIU 1.

Para la evaluación de las selecciones se instalaron los perceptivos ensayos de progenie de polinización abierta con un número de progenies comprendido entre 30 y 111 (Figura 6). Las primeras evaluaciones a los seis años de los ensayos de progenie instalados en el año 1991 en el área atlántica de Galicia (Rois y Brión, A Coruña) indican el mayor crecimiento de las progenies del ensayo con respecto a la semilla comercial. Se observó además la existencia una serie de familias candidatas a ser eliminadas debido a su inferior comportamiento (Vega *et al.* 1997). La estimación de parámetros genéticos a los 8 años de edad en los ensayos instalados entre los años 1994 y 1995 en la zona costera en las localidades de As Neves, Lalín, Bamio y Cortegada (Figura 6) indica que el crecimiento en altura, el policiclismo, la longitud media del entrenudo y el ángulo de inserción de ramas muestran heredabilidades individuales moderadas y son susceptibles de mejora por selección recurrente (Zas *et al*., 2004a). Otros caracteres como la rectitud, inclinación, bifurcación, crecimiento diametral y número y tamaño de ramas muestran heredabilidades familiares moderadas. La eliminación de los peores parentales del huerto basándose en el comportamiento de sus progenies generará, por tanto, un aumento en la ganancia genética esperada (Zas *et al*.,

2004a). La evaluación completa de los ensayos de progenie instalados permite el aclareo de los huertos semilleros con la consiguiente ganancia por eliminación de los peores parentales. Ahora bien, existe un método alternativo al aclareo del huerto semillero que permite conseguir una ganancia en la calidad de la semilla sin tener que eliminar genotipos en el huerto (conservándose así la variabilidad en el mismo), es la **recogida selectiva.** La recogida selectiva se basa en la recolección de semilla en base al valor genético de los genotipos que la aportan. Implica la recogida de piña sobre un porcentaje de clones seleccionados en base al valor de mejora (ver Aptdo 2.2.2.) anteriormente calculado, y asume que todos los genotipos representados en el huerto aportan polen. Consiste pues en una selección en el huerto semillero sobre las madres. La recogida selectiva se plantea como una buena alternativa en huertos de primera generación donde los resultados de los ensayos de progenie sean demasiado preliminares como para eliminar un número alto de clones. Además, en algunos casos, el aclareo del huerto semillero repercute en la cantidad de semilla de calidad ofertada en el caso de que exista una alta demanda o los clones con mayor valor genético apenas produzcan semilla (Merlo *et al.*, 2005). Esta línea de actuación plantea, por un lado, la conservación de los huertos semilleros actuales sin aclarar a modo de banco clonal y la realización de recogida selectiva en los mismos y, por otro lado, la instalación de nuevos huertos semilleros de primera generación con 70 de las 116 progenies actuales que han sido objeto de selección familiar eliminando los peores clones en cuanto a rectitud y longitud de entrenudo (Merlo y Zas, en preparación).

Por otro lado, la selección de los mejores individuos en los ensayos de progenie permitirá establecer una segunda generación de mejora con el consiguiente aumento de la ganancia genética esperada.

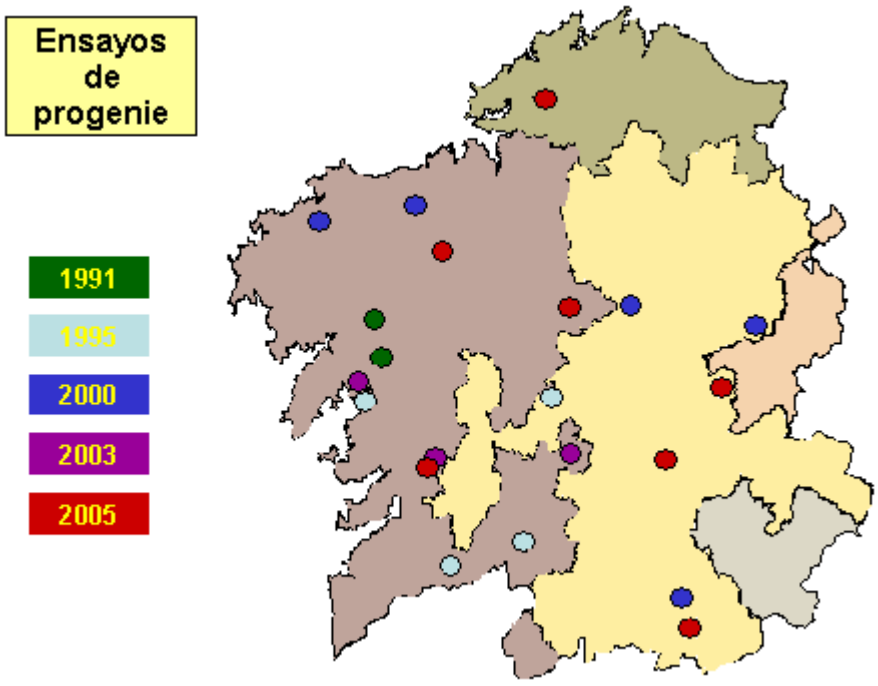


Figura 6: Localización de todos los ensayos de progenie realizados en las RIU´s entre los años 1991 y 2005.

En la actualidad el huerto semillero de Sergude produce semilla de alta calidad genética para la reforestación en la región Atlántica de Galicia. Los 116 clones representados se encuentran aprobados como el material de base para la obtención de semilla de categoría cualificada (BOE nº 23, 26/1/2001). Actualmente el huerto semillero de Sergude produce ente 150 y 300 kg de semilla al año que suponen aproximadamente entre 20-30 % de las necesidades gallegas.

En 1998 se instaló el segundo huerto semillero de esta especie en Monfero (A Coruña) con el mismo material representado en el huerto de Sergude y que ha entrado en producción en los últimos años aunque con una contribución escasa a la producción total de semilla.

En la actualidad se está preparando el material para la instalación de aproximadamente 6 ha de nuevos huertos semilleros que aún no tienen emplazamiento definitivo. Se prevé que se pueda así cubrir la demanda actual de semilla mejorada en nuestra comunidad, o cuando menos la demanda de la zona costera.

2.3.2. ZONA INTERIOR

La oferta de material mejorado para la zona interior se limita en la actualidad a la semilla generada en los tres rodales semilleros aprobados hasta la fecha en la RIU 2. Aunque para esta zona no existe un programa de mejora clásico como el de la zona costera, existen distintas líneas de investigación abiertas con el objeto de mejorar la oferta de material de reproducción mejorado para esta zona. Caben destacar tres líneas de investigación paralelas, de las cuales las dos últimas están actualmente en marcha en el Departamento de Producción del C.I.F.A. Lourizán:

La primera es equivalente a la estrategia seguida en la zona costera, seleccionando árboles superiores en la propia región de procedencia, instalando ensayos de progenie de los mismos y clonándolos por injerto para el establecimiento de huertos semilleros para la zona interior. Sin embargo la masiva importación de semilla (de origen desconocido) realizada en las repoblaciones durante el período 1940-1982 así como la escasez de masas de calidad en el interior puede conllevar a utilizar un material de base no necesariamente adaptado a la región y/o de insuficiente calidad.

La segunda se centra en los estudios de interacción genotipo – disponibilidad de agua en el material de mejora de la zona costera en condiciones controladas. Debido a las importantes diferencias en las condiciones de sequía estival entre las áreas atlánticas y áreas mediterráneas de Galicia es de vital importancia el estudio de la estabilidad del material mejorado frente a diferentes regímenes de agua y intensidades de sequía para determinar si es posible el uso del material costero en el interior. La selección de familias estables frente a la sequía o de familias específicamente adaptadas a condiciones de baja disponibilidad de agua son alternativas posibles para la zona interior. Los resultados de estos estudios no persuaden de usar el material más estable de la zona costera en la zona más seca del interior de Galicia (Zas y Fernández-López, 2005). La evaluación de los nuevos ensayos de progenie establecidos en 2005 permitirá contrastar si los resultados en condiciones controladas se confirman en las evaluaciones reales en campo (Figura 6).

Finalmente, se están realizando hibridaciones entre el material de mejora costero con individuos seleccionados en el interior o de otras regiones de procedencia españolas más continentales y mediterráneas. Se pretende combinar las buenas cualidades de crecimiento y forma del material selecto de la costa con la mayor resistencia a la sequía estival y a extremos térmicos de los árboles de la zona interior o de procedencias nemoromediterráneas. Para ello se han seleccionado un total de 11 árboles plus en la zona interior, utilizados como padres en polinizaciones controladas realizadas en el huerto semillero de Sergude y también se han realizado polinizaciones con polen de las procedencias Córcega, Garganta, Boniches y Soria-Burgos. Con la semilla obtenida en estos cruzamientos se establecerán nuevos ensayos de progenie tanto en campo como en condiciones controladas en el 2006.

2.4. EL PROBLEMA DE LA SELECCIÓN TEMPRANA EN GENÉTICA FORESTAL

A la hora de llevar a cabo un programa de mejora genética forestal hay que tener clara la premisa de que nos encontramos ante un proceso continuado y dinámico, no acaba pues cuando se han establecido los huertos semilleros de primera generación ni cuando se han aclarado éstos eliminando los peores genotipos. Es éste un proceso recurrente y continuo y cada nueva generación del programa es precedida por un nuevo proceso de selección y evaluación del material, así como de incorporación de nuevo material para enriquecer la base genética. Así, es de esperar que en cada generación de mejora se produzca un aumento progresivo de las ganancias genéticas que se traducirá en una ganancia en términos económicos fundamentalmente.

El principal problema de la mejora genética forestal se deriva de los largos turnos de explotación de las especies forestales. El fin último de un programa de mejora forestal es mejorar determinadas características de los árboles en el momento del aprovechamiento final. Sin embargo, las sucesivas evaluaciones del material seleccionado en un programa de mejora no se pueden retrasar tanto tiempo y es preciso establecer sistemas de evaluación temprana que permitan predecir el comportamiento futuro con suficiente antelación y aumenten la ganancia genética por unidad de tiempo

(Wu, 1999) así como reducir el tamaño y coste de los ensayos de campo mediante la eliminación temprana de las peores familias (Wu, 1998).

A la vista de esto, parece inexcusable que para que un programa de mejora genética forestal sea completamente operativo sea llevada a cabo una estrategia de selección temprana que haga viable económica y temporalmente dicho programa. El fundamento de la selección temprana se encuentra en las correlaciones entre caracteres adultos y juveniles. Que dos caracteres se encuentren correlacionados significa en la práctica que conociendo la manifestación de uno de los caracteres podremos predecir la manifestación del otro o, en otras palabras, que seleccionando por uno de ellos se obtendrá una ganancia genética en el otro. Esto se debe a que ambos caracteres se encuentran relacionados entre sí a través de diversos fenómenos entre los cuales se encuentra la pleytropía (Falconer y Mackay, 2001). Es este un fenómeno por el cual alguno de los genes que tienen influencia sobre un caracter también la tienen sobre el otro carácter. En la mejora genética la correlación entre caracteres es de la mayor importancia y por tanto su estudio así como el de los mecanismos que la ponen en juego se vuelve clave.

El enfoque de la correlación entre caracteres se puede hacer de dos maneras: por un lado, la correlación entre caracteres a una misma edad y su aplicación más directa sería la selección indirecta para una característica X, a través de otra Y, mucho más fácil de medir, identificar o de mayor heredabilidad para lograr mayor progreso genético. El otro enfoque sería el de la correlación entre caracteres juveniles y adultos y la aplicación práctica de dicha correlación sería la posibilidad de realizar selección temprana. A la hora de la estimación de estas correlaciones juvenil-adulto (JA) una de las estrategias más típicas es recurrir a los denominados *análisis retrospectivos*, donde la información obtenida en ensayos adultos (generalmente en ensayos de progenie) se compara con la información obtenida en ensayos juveniles de las mismas familias (pero no de los mismos individuos) cultivadas en vivero o invernadero por un corto periodo de tiempo (Zas, 2004). Básicamente con este tipo de análisis lo que conseguimos es saber si un caracter juvenil es bueno o no a la hora de predecir el comportamiento adulto del material. Así por ejemplo si conseguimos saber que la altura en estado adulto esta correlacionada positiva y significativamente con la altura al año de edad podremos realizar la selección en este estado juvenil sin esperar a que lleguen a adultos los

individuos. Son por tanto los análisis retrospectivos la herramienta básica que permite la puesta en marcha de una estrategia de selección temprana pues nos permite no tener que esperar el largo periodo de tiempo que exigiría la longevidad de las especies forestales para realizar las comparaciones entre distintas edades.

La selección temprana posee dos aplicaciones fundamentales (Adams *et al*, 2001). La primera es la selección en una sola etapa en la que los genotipos superiores se identifican basándose en su comportamiento juvenil. De esta manera se reduce enormemente el tiempo de selección y con ello se aumenta la ganancia por unidad de tiempo. La segunda es aprovechar la evaluación juvenil para identificar y eliminar de la población de mejora los peores genotipos. Con esta estrategia, aplicada normalmente a ensayos en invernadero o vivero, se consigue reducir el número de familias a testar en campo reduciéndose el tamaño de los ensayos, aumentando con ello la homogeneidad espacial y la eficiencia estadística de los ensayos de progenie y reduciendo a su vez, y esto también es muy importante, los costes de los ensayos en campo. La selección final se realizará posteriormente sobre los resultados en los ensayos de campo. Esta selección en dos etapas es especialmente interesante ya que se ha visto que su eficiencia es mucho mayor que la de la selección en una sola etapa aún cuando las correlaciones JA sean bajas (Zas *et al.*, 2004c). La selección en dos etapas es especialmente interesante en Galicia donde es difícil encontrar sitios de gran calidad y homogeneidad de condiciones para el establecimiento de grandes ensayos de progenie.

2.4.1. LA SELECCIÓN TEMPRANA EN *Pinus pinaster*

En los últimos tiempos se han llevado a cabo importantes investigaciones con el objetivo de obtener un procedimiento fiable de selección temprana, incluyendo estas experiencias la selección de los mejores caracteres juveniles (e.g. Harfouche, 2003; Kremer *et al*., 1991; Kremer y Xu, 1989; Williams, 1988), de las mejores condiciones medioambientales (e.g. Eriksson *et al*., 1993; Jonsson *et al*., 2000; Karlsson *et al*., 2002; Mari *et al.*, 2002; Sonesson *et al.*, 2001) así como de las edades juveniles ideales que maximicen las correlaciones juvenil – adulto (JA) (e.g. Lambeth *et al*, 1980).

En el caso del pino marítimo se han llevado a cabo tres líneas de investigación en Francia. Por un lado los estudios juveniles se han centrado en encontrar caracteres juveniles apropiados para el testado juvenil, viéndose que algunos caracteres eran mejores como predictores del desarrollo adulto que otros. En este sentido se han llevado a cabo estudios para determinar el potencial de utilizar parámetros derivados de curvas de crecimiento juveniles como predictores del comportamiento adulto (Kremer y Xu, 1989). Así con el modelado de una curva de crecimiento se pueden reducir la información del crecimiento juvenil a unos pocos parámetros interpretables y que permiten realizar comparaciones. Las ventajas del análisis de las curvas de crecimiento han sido explotadas en estudios genéticos de especies forestales buscando caracteres robustos de criba (e.g. Magnussen, 1993) o para el modelado del control genético del crecimiento a lo largo del tiempo (e.g Danjon, 1994a). Se han adaptado funciones matemáticas lineales y no lineales a las relaciones crecimiento-tiempo de árboles individuales y los parámetros resultantes de dichas curvas se han usado como caracteres simples para evaluaciones genéticas. Dentro del programa de mejora de *P. pinaster* en Galicia (Zas, 2004. Submitted) también se prueban dos posibles modelos de curvas de crecimiento (uno lineal y otro no lineal), cuyos parámetros fueron estimados y sometidos a análisis estadísticos y genéticos con la intención de estudiar su potencial como caracteres para selección temprana. Al igual que para otros caracteres simples en invernadero tales como altura, diámetro o pesos de masas secas (Zas *et al*, 2004c) los parámetros de la curva de crecimiento resultaron pobres predictores para el estado adulto encontrándose varias razones para explicar estas pobres correlaciones JA (ver Apartado 2.4.2.).

Por otro lado se ha intentado acelerar la maduración de las plántulas mediante su cultivo en condiciones de crecimiento muy favorables. Lascoux *et al*. (1992) cultivaron plantas de *P.pinaster* bajo condiciones de periodo de iluminación extendida y ordinaria comparando diferentes caracteres de crecimiento y fenológicos con ensayos adultos de entre 8 y 18 años, comprobando el efecto de la aceleración de la maduración de las plantas al someterlas a luz continua. Este autor observó que en promedio se obtenían mejores correlaciones JA en condiciones de luz continua que en las normales.

Más recientemente, Harfouche (2003) ha intentado aumentar las correlaciones JA mediante la imitación de las condiciones de sequía estival que se produce en Las Landas (Francia), pero los resultados del experimento no dieron resultados que apoyasen dicha hipótesis. La razón más probable puede ser el hecho de que las condiciones en campo son función de una serie de factores complejos e interrelacinados entre los cuales probablemente la sequía estival no sea el único ni el factor de mayor efecto sobre las correlaciones JA. Esta línea de estudio está sometida a cierta controversia puesto que existen estudios que apoyan la hipótesis de que las correlaciones JA pueden ser mejoradas mediante la imitación de las condiciones que limitan el crecimiento en campo, pero también existen estudios que no apoyan dicha hipótesis. Cannel *et al.* (1978) estudiaron plantas de 1 año de edad de *P. taeda* encontrando fuertes correlaciones entre la tasa de crecimiento en condiciones de estrés hídrico en vivero y la de ensayos de campo en condiciones de buen drenaje así como entre condiciones de vivero de alto riego con ensayos de campo en suelos pobremente drenados. En estudios con *P. sylvestris*, Eriksson *et al*. (1993) encontraron fuertes correlaciones JA en caracteres de crecimiento ente tratamientos en vivero con alto aporte de fertilización nitrogenada y ensayos adultos entre 10 y 28 años en dos sitios.

Se ha intentado también encontrar cuáles son las edades juveniles a las que se maximizan las correlaciones JA. El hecho de que la edad juvenil sea lo más temprana posible se plantea de lo más relevante si se pretende que el programa se selección sea totalmente operativo. Retrasar demasiado la selección presenta una serie de problemas tales como alargarse demasiado en el tiempo, el aumento de tamaño y coste de los ensayos de campo, la mayor dificultad en las mediciones, etc.

2.4.2. LA SELECCIÓN TEMPRANA EN EL PROGRAMA DE MEJORA EN GALICIA

Con el fin de establecer una **estrategia de selección temprana** se ha abierto una línea de investigación en el Centro de Investigacións Forestais e Ambientais de Lourizán (C.I.F.A. Lourizán) que busca establecer un protocolo de cultivo en invernadero/vivero que optimice las correlaciones JA y permita realizar selecciones

efectivas en tan sólo un período vegetativo (Zas *et al.*, 2004c; Zas y Fernández-López, 2005; Zas, 2004, no publicado).

Para el estudio de estas correlaciones, 24 familias de polinización abierta procedentes de un huerto semillero clonal de primera generación se cultivaron en invernadero bajo dos regímenes diferentes de nutrientes cruzados con dos regímenes de irrigación (Zas y Fernández-López, 2005). Se analizaron varios caracteres (altura, diámetro del cuello de la raíz y pesos secos) 30 semanas después del sembrado y se compararon con los resultados del análisis de campo de cuatro tests de progenie de ocho años de edad establecidos en el área costera de Galicia (de los cuales se midieron altura, diámetro y volumen). Se vio que no existía un patrón detectable de correlación juvenil-adulto respecto a las combinaciones de tratamientos en invernadero y las disponibilidades de agua y/o fertilidad en los tests de campo ya que para la mayoría de los casos, excepto en unos pocos, las correlaciones juvenil-adulto fueron débiles o incluso negativas (Zas *et al*., 2004c).

Varias razones pueden ser las causantes de las bajas e inconsistentes correlaciones JA obtenidas en dicho estudio, entre las que se detectaron las siguientes (Zas *et al.* 2004c):

1- La falta de correlación entre el crecimiento en altura en las primeras etapas y el crecimiento a edades maduras para *P. pinaster* puede ser debido a **diferentes patrones de crecimiento a ambas edades**. Esto ya fue constatado por Kremer y Xu (1989) y se explica por la diferencia entre el crecimiento en las primeras edades frente al crecimiento en árboles mayores. En condiciones normales, *P. pinaster* muestra crecimiento libre durante el primer periodo de crecimiento (simultánea iniciación y elongación de los entrenudos) mientras que el crecimiento predeterminado o fijo es la principal forma de crecimiento en árboles adultos. Así las pobres correlaciones JA entre plantas de un año y adultos pueden ser debidos a un diferente control genético del crecimiento libre y cíclico. A similares conclusiones llegan Wu *et al.* (1997) en sus estudios con *Pinus contorta ssp. latifolia Englm* y Williams (1987) en *Pinus taeda L.* En ambos estudios se hallaron correlaciones JA significativas positivas en caracteres de segundo pero no para el primer periodo vegetativo. Lascoux *et al*.

(1993a) también encuentra que la consistencia del ranking entre el fitotrón y en campo mejoran después del primer periodo vegetativo en familias de *P. pinaster*. Estos autores sugieren que las plantas han de alcanzar un mínimo estado de desarrollo que asegure la transición desde el crecimiento libre inicial hasta el crecimiento cíclico antes de que los caracteres juveniles se conviertan en un criterio fiable de selección. Estas hipótesis apoyan el intentar mejorar las correlaciones JA mediante la aceleración de las condiciones de crecimiento en estado juvenil, induciendo la formación de una yema durante la primera temporada de crecimiento (generando crecimiento cíclico) y obteniendo mejores correlaciones JA que en condiciones normales (Kremer y Xu, 1989; Lascoux *et al*., 1992; 1993a; 1993b; Nguyen *et al*., 1995).

2- Los tratamientos de cultivo utilizados en el ensayo de invernadero se diseñaron para comprobar la estabilidad del material de reproducción en relación con las disponibilidades de agua y nutrientes utilizándose niveles extremos de ambos factores para ello (muy alta y muy baja disponibilidad de agua y nutrientes) (Zas y Fernández-López, 2005). Las condiciones ambientales resultantes son probablemente muy diferentes a las naturales en campo

3- Varios estudios retrospectivos han señalado que las correlaciones JA entre caracteres de crecimiento de la madera son mayores al aumentar la edad de los ensayos de campo (e.g. Jonsson *et al*., 2000). En estos estudios las bajas correlaciones a edades jóvenes (hasta 10-13 años) se atribuyen a **influencias no genéticas en el crecimiento durante la fase de establecimiento**. Así es de esperar que las correlaciones JA aumenten gradualmente cuando el crecimiento durante la fase de establecimiento se convierta en una componente menor del crecimiento total (cf Franklin, 1979). Particularmente, en los ensayos de campo utilizados en los estudios de correlaciones JA el estrés postplantación tuvo una gran importancia porque las plantas fueron cultivadas durante un largo periodo en pequeños contenedores (superleach, 125cc). Esta afirmación está íntimamente relacionada con el apartado siguiente.

4- Las plantas utilizadas en los ensayos de progenie adultos pueden estar sufriendo **problemas en sus sistemas radicales** derivados de malformaciones provocadas por el cultivo en vivero en envases con autorrepicado, conocidas coloquialmente como **"efecto cepellón"** (Figura 7). El efecto cepellón da como resultado la deformación de las raíces afectando tanto a la estabilidad de las plantas en campo frente al viento que induciendo inclinaciones y pérdidas de rectitud del tallo, como, posiblemente, a la capacidad de crecimiento de las plantas, enmascarando las verdaderas diferencias genéticas entre familias. Este efecto derivado del tipo de envase está hoy en día siendo objeto de gran discusión (Cifuentes *et al*., 2004).

Figura 7: Raíces con la típica deformación resultante del denominado "efecto cepellón".

El mal desarrollo de las plantaciones de *P. pinaster* en contenedor se advirtió por primera vez en 1998. Este mal desarrollo aparece en jóvenes plantaciones que hasta los 4-6 años se mostraban como aparentemente saludables. A partir de ese momento muestran una serie de síntomas muy típicos que pueden aparecer individual o conjuntamente. Así aparecen árboles inclinados debido al viento y en algunos casos caen. En ocasiones recuperan el crecimiento vertical aunque cuando lo recuperan conservan la curvatura en la

base del tronco consecuencia del vuelco, curvatura que puede disimularse con el engrosamiento del tronco en etapas posteriores pero que conlleva la lógica pérdida de calidad tecnológica de la troza basal. Es típica también la aparición de un hueco entre el suelo y el cuello de la raíz debido al bamboleo de la planta con el viento. Al principio se pensó que estos síntomas podían ser principalmente debidos a una mala preparación del suelo con insuficiente profundidad de laboreo, así como a la incidencia de fuertes vientos, aunque posteriormente se vio que en la aparición de dichos problemas, el uso de contenedores se erige como una de las principales causas (Cifuentes *et al*., 2004).

Aunque el uso de contenedores en *P. pinaster* sufrió una bajada tras el descubrimiento de este fenómeno, su uso ha sido y sigue siendo mayoritario; baste el dato de que durante las campañas 97/98 y 98/99 el 90% de las plantaciones de *P. pinaster* de nuestra comunidad se realizaron en contenedor. Esto se debe a que la aplicación de contenedores en el cultivo de plantas ha demostrado ventajas técnicas y económicas hasta el punto de imponerse, como ya hemos dicho, en climas húmedos como el norte de España (Merlo, 2000).

5- Cuando un genotipo se expresa de diferentes maneras en diferentes ambientes se dice que existe **interacción genotipo-ambiente (G×E**). El amplio espectro de variación de las correlaciones para el mismo caracter en diferentes tratamientos y sitios sugiere un gran impacto de la interacción genotipo-ambiente (G×E) en las estimaciones de las correlaciones juvenil-adulto. La interacción G×E tanto en campo como en invernadero fue cuantitativamente importante y se debió a unas pocas familias especialmente sensibles a las variaciones ambientales (Zas *et al*., 2004b, Zas y Fernández López, 2005). Eliminando estas familias de la población de reproducción, la interacción G×E no resulta significativa.

6- La elección de familias para el estudio de las correlaciones JA puede tener un efecto importante en éstas. Teniendo esto en cuenta, el número de familias utilizado en el estudio de Zas *et al.* (2004c) (entre 13 y 22 familias) puede no haber sido suficiente para una estimación robusta de las correlaciones JA.

7- La semilla usada en los ensayos de campo se recolectó cuando los huertos semilleros eran muy jóvenes y la polinización estaba restringida a los clones que emitieron tempranamente el polen. Contrariamente las semillas usadas en el invernadero se recolectaron varios años después cuando todos los clones emitían polen. Los **diferentes patrones de polinización** pueden haber influido en las correlaciones juvenil-adulto estimadas

El hecho de encontrar bajas correlaciones entre caracteres juveniles y caracteres adultos no es ni un hecho extraño ni aislado ya que ya ha sido constatado en muchas especies (Abraitis *et al*., 1998; Jansson *et al*., 1998; Karlsson *et al*., 2002; Mari *et al*., 2002; Sonesson *et al.*, 2002) así como en la especie que nos ocupa (Harfouche, 2003). Sin embargo también existen muchos ejemplos de buenas correlaciones JA (Adams *et al.*, 2001; Bridgewater y Mckeand, 1997; Jonsson *et al.*, 2000) que animan en perseverar en la línea de seguir buscando aquellos ambientes y caracteres juveniles que maximicen las correlaciones y que deriven en la obtención de un mejor protocolo de selección temprana que tenga como fin último el desarrollo de un programa de mejora lo más eficiente posible.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Para que la selección temprana sea eficiente se requiere una alta heredabilidad de los caracteres juveniles y una alta correlación juvenil – adulto. Los estudios destinados a optimizar una estrategia de selección temprana tienen como objetivo principal conseguir altos valores de estos parámetros. A la vista de los resultado preliminares obtenidos por Zas *et al.* 2004c se ha visto que las correlaciones JA son bajas y se ha planteado además que existen una serie de posibles hipótesis que explican estos resultados (ver Aptdo 2.4.2.). En el presente proyecto se pretende estudiar, analizar y descartar o confirmar la relevancia de algunas de ellas:

- Se plantea el desarrollar unas condiciones en el vivero que puedan ser más similares a las condiciones naturales en campo, evitando de este modo los ambientes extremos de cultivo utilizados en los ensayos precedentes (ver punto 2 del Aptdo 2.4.2.).

- Se han incluido en el estudio un número mayor de familias (se han utilizado todas las familias de primera generación del Programa de Mejora en curso) para procurar una estimación de las correlaciones JA más robusta y fiable (punto 6 del Aptdo 2.4.2.).

Para la realización del contraste de dichas hipótesis el presente proyecto aprovecha la medición en vivero del material a utilizar en la instalación de una nueva serie de ensayos de progenie de primera generación en el que se utiliza un novedoso sistema de cultivo en contenedor con el que se pretende eliminar los problemas derivados de efecto cepellón detectados en los sistemas radicales y que permita mantener las ventajas que el uso de contenedores tiene sobre el cultivo a raíz desnuda (ver punto 4 del Aptdo 2.4.2.). Los pormenores del mismo son minuciosamente detallados en el apartado de Materiales y Métodos del presente proyecto.

De esta manera los objetivos concretos de este proyecto que pueden resumirse en tres:

1. Estudiar la variabilidad genética entre familias de *P. pinaster* en vivero. En el estudio están presentes 116 familias de polinización abierta obtenidas a partir de todos los clones del huerto semillero de Sergude. Dicho huerto está registrado como material de base (BOE nº 23, 23/1/2001) para la obtención de semilla de categoría cualificada. Además se encuentran presentes 3 testigos comerciales para realizar la comparación.

2. Estudiar la correlación JA mediante un análisis retrospectivo consistente en la comparación de las mediciones en vivero con las mediciones ya efectuadas en ensayos de progenie a la edad de cinco y ocho años. Se ha planteado pues eliminar o disminuir al máximo varias de las posibles causas de baja correlación detectadas en el estudio anterior como puede ser el cultivo en condiciones de vivero extremas y el menor número de familias presentes en el estudio.

3. Estudiar la correlación del comportamiento en vivero con otros ensayos de material joven para estudiar la relevancia del sistema de cultivo juvenil en el comportamiento del material lo que es indicativo de la importancia de la interacción G×E como posible causa de las pobres correlaciones JA.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

El siguiente capítulo se divide en 4 apartados. En el primero de ellos se explica pormenorizadamente el ensayo en vivero que constituye parte central del presente proyecto. En este apartado se describe todo lo referente al material utilizado en el ensayo, el diseño experimental así como el novedoso sistema de cultivo llevado a cabo. En el segundo apartado se describen los ensayos adultos de progenie con los cuales se hace la comparación de los resultados en vivero. En el tercer apartado del capítulo se describen los ensayos tempranos con los que también se comparan los resultados del ensayo de vivero. Por último, en el cuarto apartado se especifican los análisis estadísticos llevados a cabo.

4.1. ENSAYO EN VIVERO

4.1.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL ENSAYO

Este trabajo se plantea sobre un ensayo establecido en vivero en septiembre de 2004 (Figura 8) aprovechando la siembra de la planta que se utilizará en una nueva colección de ensayos de progenie de polinización abierta a plantar en primavera de 2005. El objeto de esta nueva colección de ensayos es la evaluación en campo del material evitando los efectos de posibles deformaciones en los sistemas radicales derivados del cultivo en envase en vivero y conocidos coloquialmente como “efecto cepellón”. Las deformaciones en las raíces alteran el potencial de crecimiento de las plantas y afectan drásticamente a la estabilidad de éstas, provocando la inclinación de las plantas y, consecuentemente, importantes curvaturas en los fustes (Cifuentes *et al.*, 2004; Lario y Ocaña, 2004). Estos problemas pueden ser la causa de las malas formas y escasos crecimientos de los ensayos de progenie instalados en la década de los 90 (Zas *et al*., 2004a).

Figura 8: Vista del ensayo de vivero puesto en marcha por el Departamento de Producción del C.I.F.A. Lourizán.

Este ensayo ha sido puesto en marcha por el departamento de Producción forestal del C.I.F.A. Lourizán en los viveros de las instalaciones de dicho centro.

4.1.2. MATERIAL DE ESTUDIO

En el ensayo están presentes 116 familias de polinización abierta obtenidas a partir de todos los clones del huerto semillero de primera generación de Sergude (42º 49’ N, 8º 27’ W) y 3 lotes de semilla comercial a modo de testigos. Las semillas de las familias de polinización abierta proceden de árboles plus de la zona atlántica costera seleccionados por sus características superiores de crecimiento, forma del tallo y ramosidad dentro de la procedencia ‘1a, Noroeste Litoral’ (Alía *et al*., 1996) (Figura 5). Los testigos comerciales son lotes de semilla no mejorada empleada comúnmente en el área costera e interior de Galicia (TCOS y TINT) y el tercero es un testigo comercial utilizado en Las Landas francesas (TFRA).

4.1.3. SISTEMA DE CULTIVO

Las semillas de las 116 familias fueron sembradas en camas en el mes de septiembre de 2004. Los envases usados son tipo superleach (125cc) que se rellenaron con turba y corteza triturada (cada una en un porcentaje del 50%). Al mes, las bandejas fueron trasladadas a las eras. Las eras fueron preparadas mediante labrado y adición de corteza triturada con el fin de mullir la tierra y se cubrieron con plástico negro con la función de evitar la germinación de hierbas que pudiesen competir con las plantas. Se aplicaron periódicamente fungicidas a modo preventivo y se abonó semanalmente mediante fertirrigación utilizando formulaciones multielemento según los protocolos de fertilización estándar utilizados en el vivero de Lourizán para coníferas.

El sistema de cultivo en vivero llevado a cabo es novedoso y se diseñó con la intención de eliminar el efecto cepellón derivado del tipo de envases usados tradicionalmente en C.I.F.A Lourizán (superleach, 125cc). El uso de planta con cepellón frente al cultivo a raíz desnuda tiene la función de atenuar el stress post-plantación al intentar reducir en la medida de lo posible el cambio brusco de las condiciones controladas de vivero a las condiciones en campo. Recientemente se ha visto, que el tipo de cultivo usado hasta ahora (envase repicado inferiormente por la acción del aire) lejos de procurar unas mejores condiciones para la planta en el momento de su establecimiento en campo hace que se produzcan deformaciones en la raíz, tales como la formación de un callo, que posteriormente comprometen la estabilidad de la planta en campo. Se planteó resolver esto con un novedoso cultivo en vivero, basándonos en las indicaciones de Cifuentes *et al.* (2004). Lo que se ha hecho es evitar el repicado inferior de los envases para lo cual éstos han sido colocados sobre el terreno, de este modo la raíz pivotante una vez llega al fondo del envase sigue creciendo hacia abajo (Figura 9).

Figura 9: Vista de una bandeja enterrada en la era, solución llevada a cabo para evitar el repicado inferior de las raíces.

Con este diseño se desfavorece la formación de raicillas secundarias, que eran las causantes de la aparición de deformaciones pues en su crecimiento al topar con las paredes del envase y continuar su crecimiento hacia abajo, al llegar al fondo del envase se producía un efecto de "embudo" entre las múltiples raíces que provocaba la formación de un callo causante de la deformación. El efecto de sujeción del cepellón que producían estas raíces secundarias ha sido sustituido por la incorporación de una semilla de trigo cuyas raíces al crecer llevan a cabo dicha función de sujeción siendo además su competencia con la planta de pino poco significativa. El trigo es eliminado una vez se planta en campo y tras haber realizado ya su función; es importante proceder a la eliminación de la semilla del trigo y no sólo la parte aérea para evitar así su rebrote (Figuras 10 y 11).

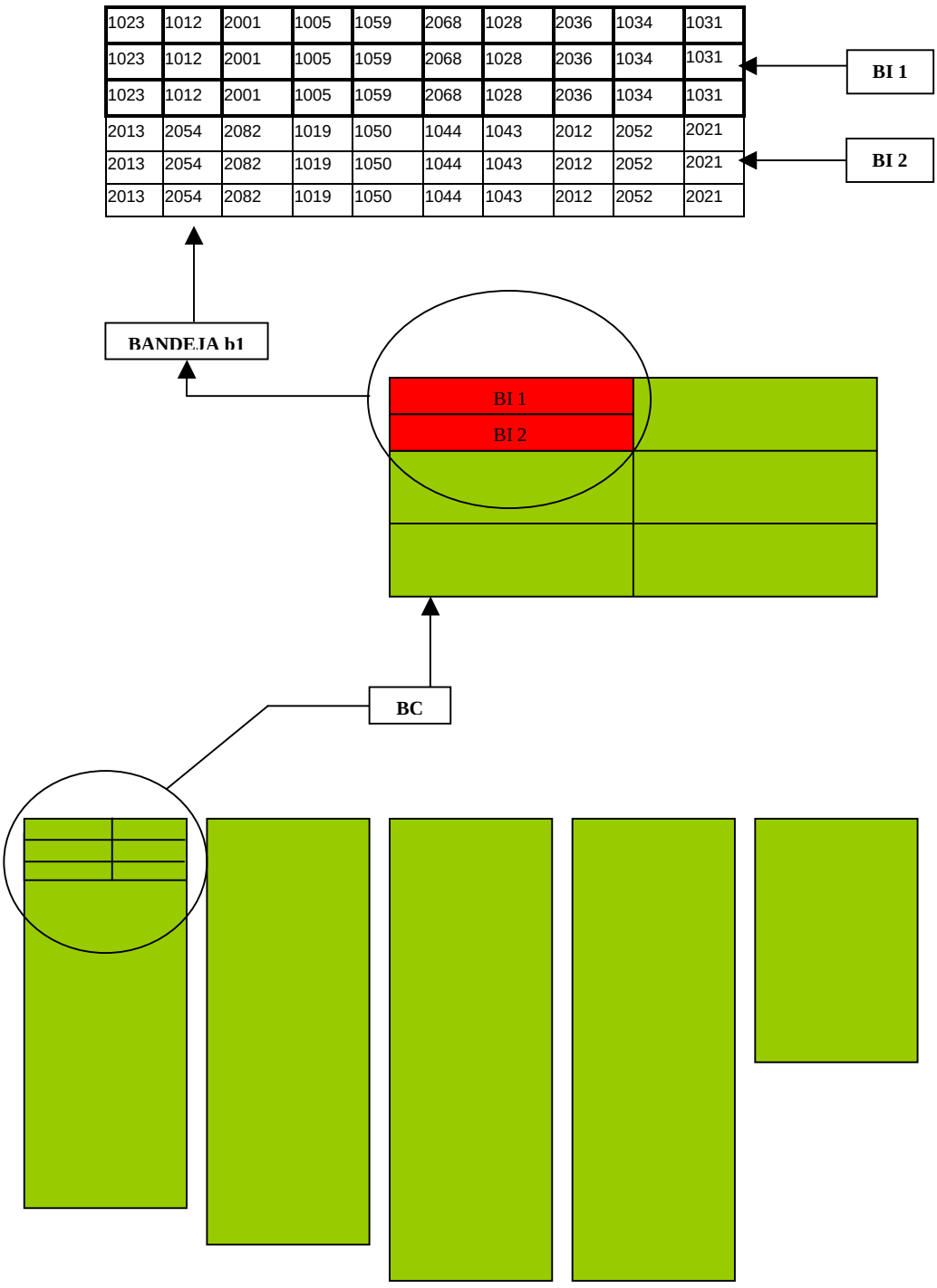
Figura 10: Envases con la plantas de trigo ya germinadas.

Figura 11: Cepellón extraído de su correspondiente envase. Se observa la función de sujección llevada a cabo por las raíces del trigo que hacen que el cepellón no se deshaga una vez extraído del envase.

4.1.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

Una vez germinada la semilla en los superleach, éstos se clavaron en una era labrada en el vivero del CIFA Lourizán siguiendo un diseño de bloques incompletos resoluble α-lattice con bloques de 10 familias cada uno y 3 plantas de cada familia por unidad experimental, utilizando el programa Cyc Design (John y Williams, 1995). Este diseño se mantendrá posteriormente en los ensayos en campo. Cada 12 bloques incompletos (BI) se compone un bloque completo (BC). En total se formaron 656 bloques incompletos (56 bloques completos) con un total de 19680 plantas evaluadas. Con el diseño experimental en un ensayo lo que se pretende es el control del componente ambiental o varianza ambiental, que por definición engloba toda la variación de origen no genético. Así pues, esta varianza ambiental, que es una fuente de error que reduce la precisión de los estudios genéticos, se pretende reducir tanto como sea posible mediante un adecuado diseño experimental así como con un manejo cuidadoso del material. En resumen, lo que se pretende es reducir los efectos no genéticos de tal manera que si una familia tiene un mejor comportamiento que otra en relación a una determinada característica, que esa diferencia de comportamiento sea debida efectivamente a un efecto genético. Los factores climáticos y los relacionados con la nutrición son las causas externas más comunes de variación ambiental y éstos se encuentran, al menos parcialmente, bajo control experimental. Lo que se planteó fue reducir al máximo el tamaño de los bloques para que así se mantengan unas condiciones ambientales lo más homogéneas posibles dentro de cada bloque (obviamente cuanto mayor sea el bloque más difícil será mantener unas condiciones constantes dentro de él). Los envases fueron situados en bandejas con capacidad para 60 plantas. Teniendo en cuenta que cada bloque incompleto está compuesto por 30 plantas (10 familias $\times$ 3 plantas/ u.e.), cada bandeja alberga 2 bloques incompletos que ocupaban una superficie de aproximadamente 20×50 cm cada uno.

Figura 12: Diseño experimental en vivero. En verde las 5 eras que se establecieron en el vivero (dos filas de bandejas por era). Dentro de las eras se establecieron un total de 328 bandejas que se corresponden con 656 bloques incompletos (BI) (dos por bandeja) y que se agrupan a su vez en un total de 56 bloques completos (6 bandejas forman un bloque completo, BC). En el detalle de la bandeja 1 (b1) se puede apreciar la distribución aleatoria de las familias. Se aprecian además los dos bloques incompletos de los que consta cada bandeja.



4.1.5. MEDICIONES

En marzo de 2005, aproximadamente 25 semanas después de la siembra, se midió la altura total (H) y el estado ontogénico (EO) de todas las plantas. El estado ontogénico se evaluó en función del estado de desarrollo del tallo, de las acículas cotiledonares, juveniles y adultas, y de las ramificaciones, utilizando una escala global de 6 niveles (desde 0: sólo acículas cotiledonares, hasta 5: presencia de ramificaciones elongadas con ramificaciones secundarias) (Figuras 13 y 14).

Figura 13: Escala ontogénica : 0 estado cotiledonar; 1 emergencia de la plúmula del epicótilo; 2 alargamiento del epicótilo; 3 formación de yemas axilares; 4 alargamiento de brotes axilares; 5 formación de brotes axilares secundarios.

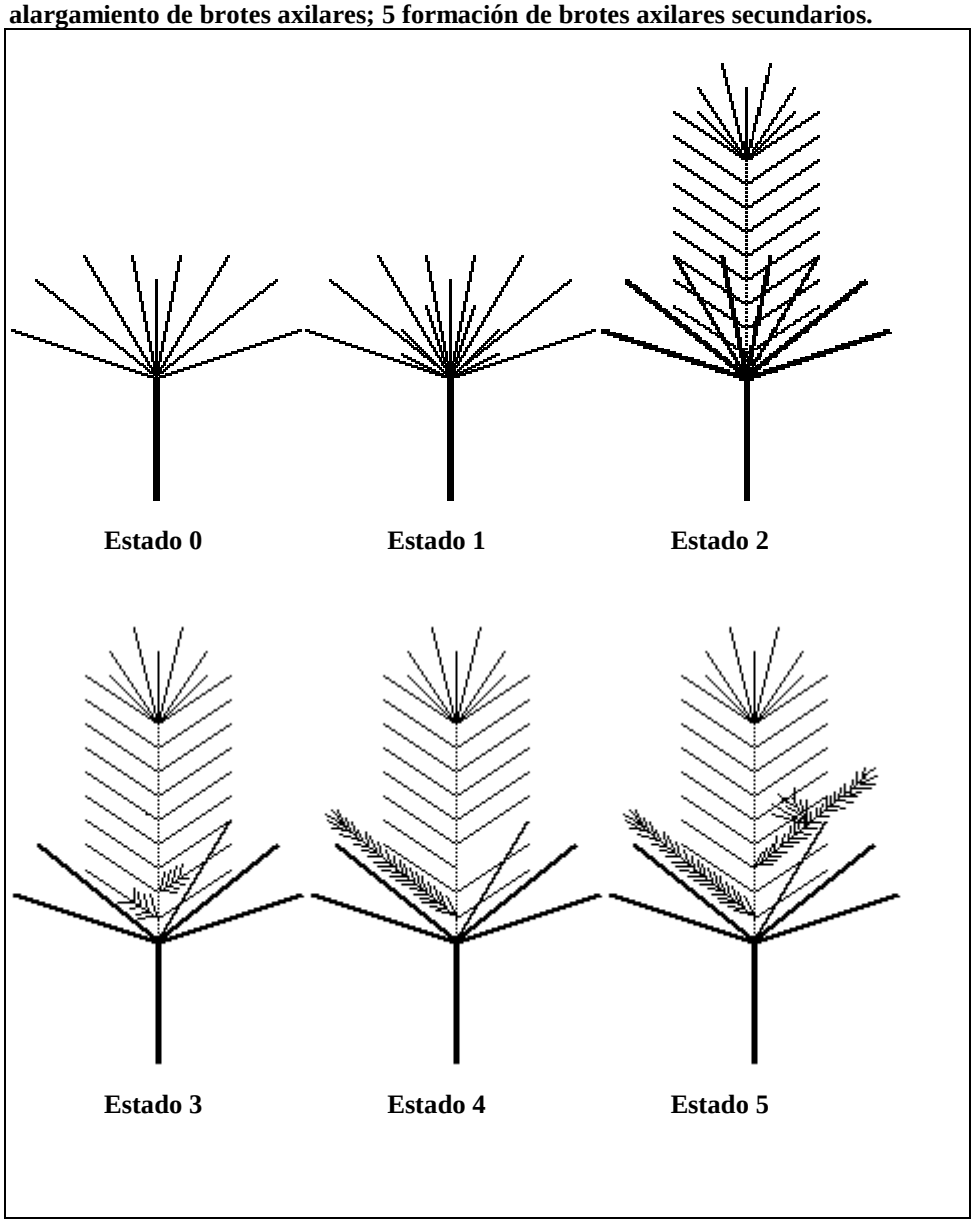


Figura 14: Diferentes fases del desarrollo del estado ontogénico en el vivero.

4.2. ENSAYOS ADULTOS EN CAMPO

Las familias ensayadas en vivero están presentes en entre 2 y 4 ensayos de progenie adultos instalados entre los años 1994 y 1995 en las localidades de As Neves, Bamio, Cortegada y Lalín (Figura 6) (ver Anexos), cuyas características principales se resumen en la Tabla 1. Los cuatro sitios de ensayo se encuentran dentro y son representativos de la Región de Identificación y Utilización (RIU) del material forestal de reproducción número 1 (García *et al.*, 2001), que constituye, a priori, la zona de mejora del material seleccionado.

Los sitios se incluyen dentro del área climática Atlántica, caracterizada por precipitaciones anuales relativamente altas, una baja sequía estival y una baja oscilación anual de las temperaturas (Tabla 1). Cortegada y Lalín muestran una ligera influencia mediterránea con unas menores precipitaciones anuales y estivales. Todos los sitios presentan suelos ácidos con relativamente bajos niveles de nutrientes.

Tabla 1: Características básicas de los ensayos de progenie adultos

	As Neves	**Bamio**	**Cortegada**	**Lalin**
Latitud (ºN)	42º 08'	42º 38'	42º 13'	42º 39'
Longitud (ºW)	8º 24'	8º 44'	8º 07'	7º 59'
Altitud (m)	525	300	530	700
Roca madre	Granito	Granito	Esquisto	Esquisto
Temperatura media anual (ºC)	12.6	13.1	12.6	11.3
Precipitación anual (mm)	1760	1730	1106	1202
Precipitación estival (mm)	143	186	118	93
Fecha de plantación	Nov-94	Oct-94	Nov-95	Nov-95
Número de familias comunes con el ensayo de vivero	82	73	94	90

Los cuatro ensayos siguen un diseño de bloques completos al azar con 10 bloques y 5 plantas alineadas por familia y bloque. El espaciamiento es de 3 × 3 en todos los sitios. Ocho años después de la plantación se midió la altura total (H8) y el diámetro a la altura del pecho (D8) de todos los árboles de los 4 ensayos, y se calculó el índice volumétrico V8 como $V = H D^2$. En Cortegada y Lalín se dispone, a su vez, de mediciones de la altura total a los 3 y 5 años. Los resultados de los ensayos genéticos se encuentran publicados en Zas *et al*. (2004a), mostrándose en la Tabla 2 las estimaciones de las heredabilidades individuales (h_i^2) y familiares (h_f^2) así como sus errores estándar.

Tabla 2: Heredabilidades individuales (h_i^2) y familiares (h_f^2) y sus errores estándar para los 4 ensayos de progenie adultos en campo (Zas et al., 2004a).

Variable en campo [1]	As Neves		Bamio		Cortegada		Lalín	
	h_i^2+se	h_f^2+se	h_i^2+se	h_f^2+se	h_i^2+se	h_f^2+se	h_i^2+se	h_f^2+se
H3					0,16±0,08	0,61±0,06		
H5					0,12±0,08	0,53±0,05	0,14±0,08	0,60±0,05
H8	0,17±0,04	0,63±0,06	0,11±0,03	0,50±0,05	0,13±0,04	0,54±0,06	0,14±0,04	0,59±0,06
D8	0,11±0,03	0,52±0,05	0,03±0,02	0,22±0,03	0,11±0,04	0,52±0,05	0,04±0,02	0,31±0,04
V8	0,10±0,03	0,50±0,05	0,04±0,02	0,27±0,03	0,10±0,03	0,49±0,05	0,05±0,02	0,34±0,04

(1) D = Diámetro, H = altura, V = Volumen. El número indica la edad en años desde la plantación.

4.3.OTROS ENSAYOS TEMPRANOS

4.3.1.ENSAYOS DE FAMILIA × FERTILIZACIÓN

De las familias ensayadas en vivero, 28 aleatoriamente seleccionadas se encuentran presentes en 3 ensayos factoriales de familia × fertilización puestos en marcha por el departamento de Producción forestal del C.I.F.A. Lourizán en las localidades de Cea, Rebordelo y Rianxo entre los años 2003 y 2004 (Figura 6) (ver Anexos) y cuyas características principales se resumen en la Tabla 3. El objetivo de los ensayos es analizar la influencia de la disponibilidad de nutrientes en el comportamiento del material de mejora, estudiando la relevancia de la interacción familia × fertilización. Dentro de cada sitio se plantaron las 28 familias seleccionadas y 4 lotes de semilla comercial como testigos, bajo 9 tratamientos de fertilización.

Los sitios se incluyen dentro del área climática Atlántica con unas precipitaciones anuales relativamente altas (especialmente Rebordelo), una baja sequía estival y una baja oscilación anual de las temperaturas (Tabla 3). Cea, situada en el límite entre las RIU 1 y RIU 2, muestra una ligera influencia mediterránea con unas

menores precipitaciones anuales y estivales. Los valores de pH que caracterizan a los suelos de estas parcelas como muy ácidos, consecuencia de la roca madre sobre la que se han formado. Son suelos muy parecidos, especialmente Rianxo y Rebordelo. Tienen mucha materia orgánica y N, siendo Cea la que menos N presenta. Los niveles de nutrientes son relativamente bajos.

Tabla 3: Características básicas de los ensayos factoriales de familia × fertilización

	Cea	**Rebordelo**	**Rianxo**
Latitud (ºN)	42,47º	42,46º	42,60º
Longitud (ºW)	7,94º	8,48º	8,77º
Altitud (m)	520	530	90
Roca madre	Granito	Gneis	Granito
Temperatura media anual (ºC)	12	11,3	14,5
Precipitación anual (mm)	1227	2380	1872
Precipitación media (mm)	198	273	245
Fecha de plantación	Feb 2004	Abr 2003	Abr 2003
Número de familias comunes con el ensayo de vivero	28	28	28

Las tres parcelas se distribuyeron conforme a un diseño *split-plot* con 10 bloques. Cada bloque se divide en 9 *whole plots* sobre los que se reparten al azar los 9 tratamientos de fertilización de establecimiento. Dentro de cada *whole plot* se reparten al azar una planta de cada una de las 32 unidades genéticas (28 familias + 3 testigos de semilla comercial + 1 planta extra de *P. radiata*). El número total de plantas por ensayo es de 32 plantas/unidad experimental x 10 bloques x 9 tratamientos = 2880 plantas en cada ensayo. El efecto de la fertilización, familia e interacción familia × fertilización en el crecimiento en altura (o diámetro) uno y dos años después de la plantación se analizó en Martíns (2005) (aunque en el presente proyecto sólo hemos tenido en cuenta las mediciones del primer año tras la plantación correspondientes al diámetro D1 en Rianxo y a la altura H1 en las tres parcelas).

En la Tabla 4 se muestran las estimaciones de las heredabilidades individuales (h_i^2) y familiares (h_f^2) y sus errores estándar para los ensayos de familia × fertilización. Los análisis genéticos y resultados extraídos de estos ensayos dieron lugar a un PFC en la EPS de Lugo (Martíns, 2005).

Tabla 4: Heredabilidades individuales (h_i^2) y familiares (h_f^2) y sus errores estándar para los ensayos de familia × fertilización (Martíns, 2005).

Variable en campo [1]	Rebordelo		Rianxo		Cea	
	h_i^2+se	h_f^2+se	h_i^2+se	h_f^2+se	h_i^2+se	h_f^2+se
H1	0,38±0,11	0,90±0,25	0,15±0,05	0,73±0,12	0,13±0,05	0,74±0,11
D1			0,16±0,05	0,75±0,13		

(1) D = Diámetro, H = altura. El número indica la edad en años desde la plantación.

4.3.2. ENSAYO DE NUTRIENTES EN INVERNADERO

De las familias ensayadas en vivero, 29 se encuentran presentes en un ensayo en condiciones controladas realizado en los invernaderos del C.I.F.A. Lourizán (ver Anexos) cuyo propósito era estimar el impacto de las interacciones Genotipo × Nutriente y Genotipo × Disponibilidad de agua en el programa de mejora de *P. pinaster* para Galicia. Las familias fueron seleccionadas al azar de entre los 116 árboles superiores del huerto semillero clonal de Sergude. Las familias fueron cultivadas durante 23 semanas en invernadero bajo un diseño en split-plot. Se aplicaron por sub-irrigación dos regímenes de nutrientes combinados con otros dos de agua. Los dos regímenes diferentes de irrigación fueron el tratamiento de alto suministro de agua (water high, w:H) en el que se regaba hasta capacidad de campo cada día y el tratamiento de sequía (water low, w:L) en el que se inducía una sequía periódica dejando secar los envases hasta el 20-40 % de la capacidad de campo. Las dos soluciones de nutrientes fueron el tratamiento alto en nutrientes (nutrient high, n:H) y el tratamiento con limitación de nutrientes (nutrient low, n:L). El tratamiento alto en nutrientes (n:H) consistía en una solución completa de nutrientes de 100 mg N/kg (consistente en macronutrientes con proporción en peso 100N: 20P: 70K: 7Ca: 9Mg: 9S

y micronutrientes) mientras que el de bajo contenido en nutrientes (n:L) consistía en la disolución de la de alto contenido en nutrientes (n:H) diluida 10 veces.

El diseño fue de cuatro bloques en split-plot con los tratamientos actuando como factor principal (whole factor) y las familias como factor secundario (split factor). Los cuatro tratamientos (w:H-n:H, w:L-n:H, w:H-n:L, w:L-n:L) se asignaron aleatoriamente a cada una de los cuatro whole plots en los que se dividió cada uno de los cuatro bloques. Dentro de cada whole plot, cada familia fue representada por 5 plantas dispuestas en 5 sub-bloques. Se evaluaron altura (H), diámetro del cuello de la raíz (D) y pesos secos de tallos (SDW) y raíces (RDW) aunque en el presente proyecto sólo se han tenido en cuenta las alturas.

En la Tabla 5 se muestran las estimaciones de las heredabilidades individuales (h_i^2) y familiares (h_f^2) y sus errores estándar para el ensayo de nutrientes en invernadero. Información detallada del estudio así como de los análisis genéticos y los resultados extraídos se encuentran en Zas y Fernández-López (2005).

Tabla 5: Heredabilidades individuales (h_i^2) y familiares (h_f^2) y sus errores estándar para la altura (H) a las 23 semanas en el ensayo de nutrientes en invernadero (Zas y Fernández-López, 2005).

Tratamiento de cultivo[1]	h_i^2+se	h_f^2+se
H(nL,wL)	0,26 ± 0,13	0,57 ± 0,13
H(nL,wH)	0,31 ± 0,14	0,61 ± 0,14
H(nH,wH)	0,24 ± 0,12	0,45 ± 0,10
H(nH,wL)	0,16 ± 0,10	0,54 ± 0,12

(1) Tratamientos: water high (w:H); water low (w:L); nutrient high (n:H) y nutrient low (n:L).

4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

4.4.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO EN VIVERO

El análisis del ensayo en vivero se ha realizado suponiendo distintos modelos estadísticos. Tratándose de un modelo resoluble, el análisis se puede realizar asumiendo el diseño de bloques incompletos (BI) o el diseño de bloques completos (BC) subyacente. A su vez, por tratarse de una medición tan temprana, es esperable una fuerte influencia maternal transmitida por medio de las características fenotípicas de la semilla. El uso del peso medio de las semillas (PS) de cada familia como covariable en el análisis se presenta como una alternativa para eliminar este efecto. Por último, para la estimación de las medias ajustando al fuerte desequilibrio del diseño de BI es preciso utilizar procedimientos adecuados, como el LSMEAN del PROC MIXED del paquete SAS (Sas-Institute, 1999). Este procedimiento estima las medias de cada familia ajustando el valor según los bloques en los que ésta está presente, y requiere que el factor sea considerado fijo. Por el contrario, para la estima de la varianza familiar y de los parámetros genéticos derivados de ésta es preciso considerar el factor familia como factor al azar.

El modelo más completo utilizado fue:

$$Y_{ijkl} = \mu + F_i + BI_j(R_k) + R_k + PS_i + \varepsilon_{ijkl} \qquad (6)$$

donde Y_{ijkl} es el valor individual de H o de EO, μ es la media global, F_i es el efecto de la familia i (i = 1,...,119), $BI_j(R_k)$ es el efecto del BI j (j = 1,...,656) dentro de la réplica k (k = 1,...,56), R_k es el efecto de la réplica k, PS_i es el efecto covariante del peso medio de las semillas de la familia i, y ε_{ijkl} es el error residual (l = 1, 2, 3). Todos los factores se consideraron al azar excepto la covariable PS y el efecto de la familia (F) para la estimación de las medias ajustadas. Cuando se analiza suponiendo un diseño de BC el término $BI_j(R_k)$ no se considera.

Como no disponemos del peso individual de todas las semillas, sino únicamente del peso promedio familiar (PS_i), cuando se pretende estimar las medias ajustadas (LSMEANS) de cada familia considerando el peso promedio de la semilla como

covariable, ésta se queda sin grados de libertad, no pudiéndose estimar las medias familiares. Para solventar esto se procedió a un análisis en dos etapas, en donde primero se estiman las medias familiares ajustadas sin considerar la covariable. A continuación se estima la relación entre estas medias familiares y el peso promedio de las semillas de cada familia, obteniéndose una recta de ajuste lineal ($Media_i = a + b\ PS_i$) que es utilizada para eliminar el efecto promedio del peso de la semilla en las observaciones individuales:

$$Y'_{ijkl} = Y_{ijkl} - (a + b \cdot PS_i) \qquad (7)$$

donde Y'_{ijkl} es la observación individual ajustada al peso de la semilla que se analiza posteriormente con el modelo (6) sin considerar la covariable. Con ello se obtienen las medias ajustadas familiares de lo que cada familia creció de más o de menos respecto a lo que le correspondía por el peso medio de la semilla de esa familia.

A partir de la estima de los componentes de la varianza se calculó la heredabilidad individual y familiar de cada variable en cada supuesto:

$$h_i^2 = \frac{4\sigma_f^2}{\sigma_f^2 + \sigma_e^2} \qquad (8) \qquad\qquad h_f^2 = \frac{\sigma_f^2}{\sigma_e^2 / RN + \sigma_f^2} \qquad (9)$$

donde σ^2_f y σ^2_e son los componentes de la varianza familiar y residual y R y N son el número de réplicas (R = 56) y el número de plantas por unidad experimental (N = 3). Los errores estándar se estimaron según Wright (1976).

4.4.2. CORRELACIONES JA

El estudio de las correlaciones juvenil-adulto (JA) y de las correlaciones con otros ensayos tempranos se realizaron calculando la correlación de Pearson entre las medias familiares para todas las combinaciones de variables y sitios de ensayo. En total se evaluaron 4 variables en vivero (H y EO con y sin PS) × 3 variables en campo (H8, D8, V8) × 4 sitios = 48 combinaciones, a las que hay que sumar otras 12 combinaciones con las mediciones de altura a los 5 años en Cortegada y Lalin, y a los 3 en Cortegada; sumando un total de 60 combinaciones con los ensayos de progenie adultos. Las 4 variables de vivero se combinaron también con 4 variables de campo del ensayo de familia × fertilización (H1 en 3 sitios y D1 además en Rianxo), lo que supone 16 combinaciones más. Por último las 4 variables de vivero se combinaron con las 4 variables del ensayo de invernadero correspondientes a la medición de la altura para cada uno de los tratamientos, lo que supone 16 combinaciones más. Así hasta un total de 60+16+16=92 combinaciones de variables para las que fueron calculadas las correlaciones. Para todas estas combinaciones se calculó, a su vez, la correlación genética mediante (Burdon, 1977):

$$r_B = \frac{r_{xy}}{h_{f(x)} \cdot h_{f(y)}} \qquad (10)$$

siendo r_{xy} la correlación de las medias familiares y $h_{f(x)}$ y $h_{f(y)}$ la raíz cuadrada de la heredabilidad familiar de carácter juvenil *x* y del carácter adulto *y*, respectivamente. Las heredabilidades familiares de los caracteres adultos en los ensayos de progenie así como en otros ensayos tempranos han sido previamente publicadas en Zas *et al*. (2004a), Martíns (2005) y Zas y Fernández-López (2005) y se encuentran reflejadas en las tablas 2, 4 y 5 del presente proyecto.

Los errores estándar de las correlaciones genéticas fueron calculados según la fórmula aproximada de la desviación típica, deducida por Reeve (1955) y Robertson (1959) :

$$\sigma_{(r_A)} = \frac{1 - {r_A}^2}{\sqrt{2}} \sqrt{\left[\frac{\sigma_{({h_x}^2)} \cdot \sigma_{({h_y}^2)}}{{h_x}^2 \cdot {h_y}^2} \right]} \qquad (11)$$

donde σ indica la desviación típica o error estándar. Se corresponde esta fórmula a una estima basada en las dos covarianzas cruzadas y, si sólo se usa una, debe ignorarse el término de la raíz cuadrada del denominador (Falconer y Mackay, 2001).

5. RESULTADOS

5.1. VARIABILIDAD GENÉTICA EN VIVERO

Los resultados del análisis de varianza de la evaluación en vivero bajo los distintos supuestos de análisis se resumen en la Tabla 6:

Tabla 6: Componentes de la varianza y estimación de la heredabilidad individual (h_i^2) y familiar (h_f^2) para la altura y el estado ontogénico en vivero, asumiendo distintos modelos estadísticos (ver Material y Métodos).

Variable y modelo estadístico	Componentes de la varianza (%)[1]					
	σ^2_f	$\sigma^2_{BI(R)}$	σ^2_R	σ^2_e	$h_i^2 \pm se$	$h_f^2 \pm se$
Altura en vivero (H)						
Bloques completos (BC) sin covariable	17,4***		9,1***	73,5	0,77±0,08	0,98±0,27
Bloques incompletos (BI) sin covariable	17,1***	8,7***	5,0***	69,2	0,79±0,09	0,98±0,28
BC con peso semilla (PS) como covariab.	10,4***		9,8***	79,8	0,46±0,06	0,96±0,18
BI con PS como covariable	10,2***	9,4***	5,4***	75,0	0,48±0,06	0,96±0,19
Estado ontogénico (EO)						
BC sin covariable	6,2***		9,1***	84,7	0,27±0,04	0,92±0,12
BI sin covariable	6,0***	8,2***	10,9**	74,9	0,30±0,04	0,93±0,13
BC con PS como covariable	4,2***		9,3***	86,5	0,19±0,03	0,89±0,08
BI con PS como covariable	4,1***	8,4***	11,1**	76,4	0,20±0,03	0,90±0,09

(1) σ^2_f, $\sigma^2_{BI(R)}$, σ^2_R y σ^2_e son los componentes de la varianza de las familias, bloques incompletos dentro de cada réplica, réplicas y error, respectivamente.

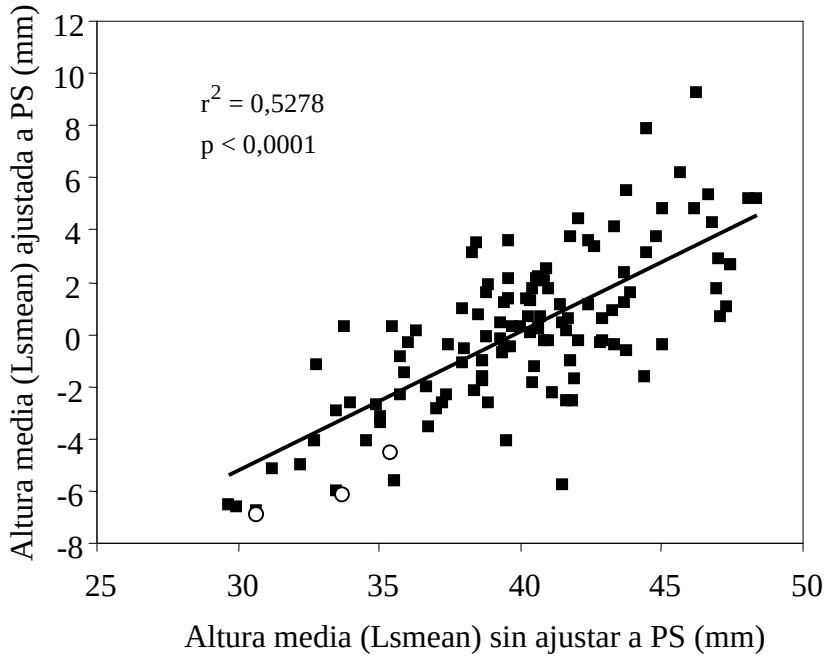
Niveles de significación: * = p< 0,05; ** = p< 0,01; *** = p< 0,001; ns = no significante.

La altura tras 25 semanas desde la germinación muestra un alto control genético, mientras que para el estado ontogénico, el control genético es sólo moderado. Para ambas variables, el análisis considerando el diseño de bloques incompletos disminuye la varianza residual, sin afectar demasiado a las estimaciones de la heredabilidad ni a la estimación de las medias y/o rankings familiares. La relación entre las medias ajustadas estimadas según un diseño de BI o BC resultó muy estrecha (r^2 = 0,994) con cambios de ranking para cada familia de sólo 2,1±2,4 posiciones (media + error estándar) en un rango de 116 familias. Por el contrario, la consideración del peso promedio familiar de

las semillas como covariable redujo de forma importante la estimación de la heredabilidad y afectó drásticamente a la estimación de medias familiares. El promedio de los cambios de ranking familiares entre ambos análisis resultó de 20,3±17,9, llegando a cambios de 70 posiciones para alguna familia. Las estimaciones de la heredabilidad individual para la altura (Tabla 6) da valores altos o moderados, variando entre 0,79 y 0,46 mientras que para el estado ontogénico estos valores son sensiblemente menores (de 0,19 a 0,30). Es destacable que la utilización del peso de semilla como covariable reduce los valores de la heredabilidad en torno a un 40% para el caso de la altura y en un 30% para el estado ontogénico. Las estimaciones de la heredabilidad familiar son muy elevadas, especialmente para la altura donde rondan el valor de 1.

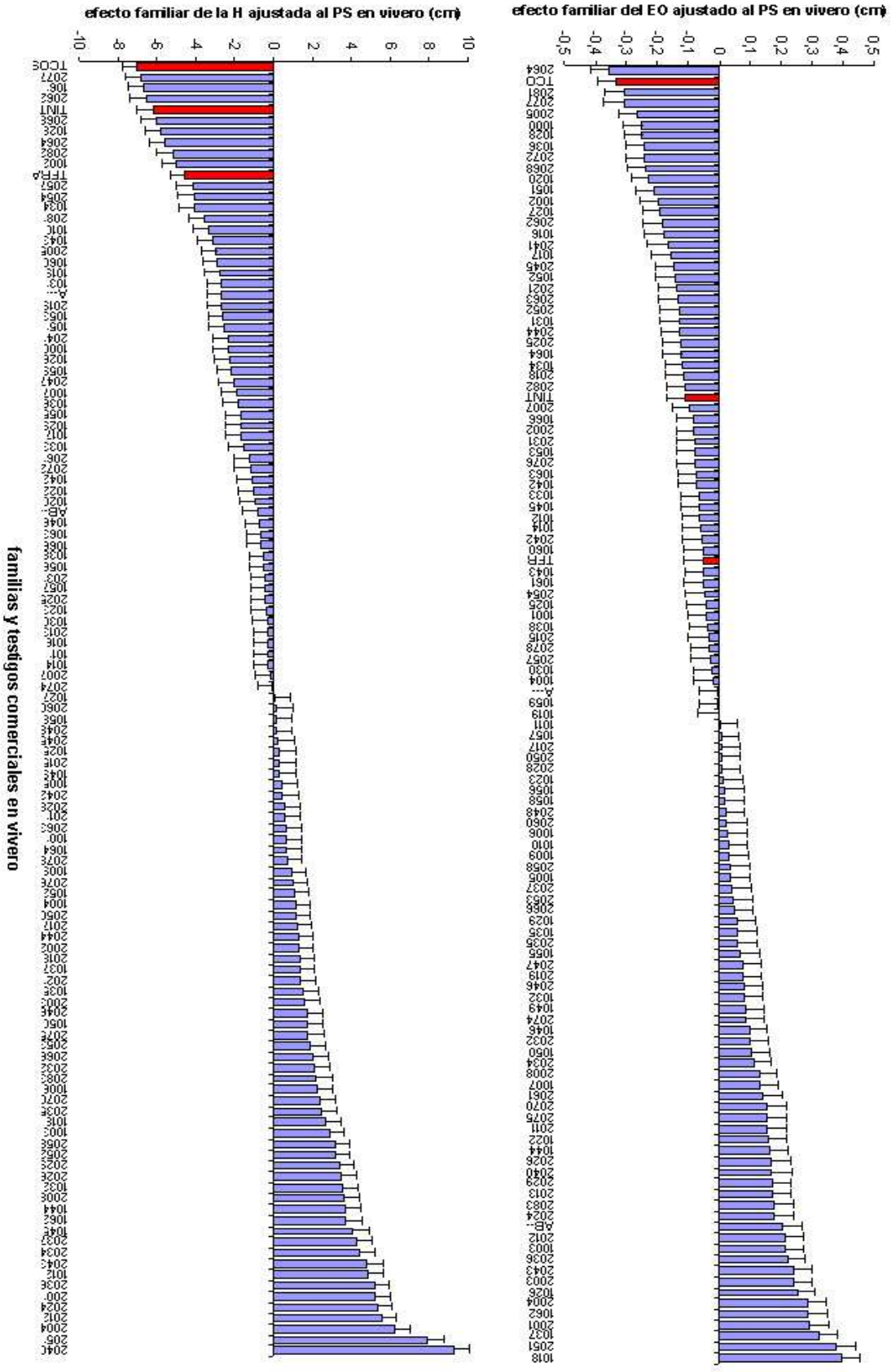
La relación entre las alturas medias familiares (Lsmean ajustada al desequilibrio entre bloques) eliminando y sin eliminar el efecto del peso promedio de la semilla de cada familia (PS) no resultó muy estrecha ($r^2 = 0,53$) (Figura 15) lo que da idea de la importancia de tener en cuentas los efectos maternales a la hora de la estimación de las medias familiares en los procesos de selección.

Figura 15: Relación entre las alturas medias familiares (Lsmean ajustada al desequilibrio entre bloques) eliminando y sin eliminar el efecto del peso promedio de la semilla de cada familia (PS). Cada punto representa una familia. Los círculos abiertos se corresponde con los testigos comerciales



En las Figuras 15 y 16 se puede observar la superioridad de la mayoría de las familias respecto a los testigos comerciales. Prácticamente todas las familias mostraron un crecimiento significativamente mayor que los testigos. El testigo comercial de Galicia Costa (TCOS) fue el que peores resultados mostró apareciendo en última posición con un crecimiento significativamente inferior a todas excepto 6 familias. El testigo comercial francés (TFRA) mostró resultados ligeramente mejores no distinguiéndose significativamente de 14 de las 116 familias. En cuanto al estado ontogénico (EO), los testigos ocupan posiciones que son bajas aunque no tan claramente como para el caso de las alturas, a excepción del TCOS que se mantiene claramente en las últimas posiciones. En cualquier caso se comprueba en la Figura 16 que los testigos siempre se encuentran por debajo de la media, tanto para el crecimiento en altura como para el estado ontogénico.

Figura 16: Desviación de la medias familiares para el estado ontogénico (EO) y la altura (H) ajustadas al peso de semilla (PS) con respecto a la media global en el vivero. Los testigos comerciales se encuentran señalados en rojo.



5.2. CORRELACIONES JA

Para el estudio de correlación JA (Tabla 7) se consideraron las medias ajustadas al diseño de BC, no se consideran los resultados considerando el diseño de BI puesto que debido a la gran relación existente entre ambos (r^2 = 0,994) los resultados son prácticamente análogos. Se consideraron además los valores de la variable sin transformar y transformada según el peso promedio familiar de la semilla.

Tabla 7: Correlaciones de medias familiares entre la evaluación en vivero y distintas variables evaluadas en 4 ensayos de progenie adultos en campo teniendo en cuenta el diseño de BC. En negrita se identifican las correlaciones de medias familiares significativas (p<0,05).

Variable en vivero[1]	Variable en campo[2]	As Neves	Bamio	Cortegada	Lalín
EO	H8	**-0,26**	0,01	-0,07	0,02
	D8	-0,20	0,11	0,00	0,11
	V8	**-0,26**	0,15	0,00	0,10
	H5			-0,21	0,05
	H3			-0,13	
EOSW	H8	-0,12	0,05	-0,07	0,11
	D8	-0,10	0,14	-0,04	0,16
	V8	-0,16	0,17	-0,03	0,17
	H5			**-0,22**	0,07
	H3			-0,16	
H	H8	**-0,27**	0,05	-0,06	0,09
	D8	**-0,25**	0,15	-0,05	0,11
	V8	**-0,29**	0,16	-0,02	0,10
	H5			-0,16	0,07
	H3			-0,06	
HSW	H8	-0,11	0,11	-0,06	**0,24**
	D8	-0,16	0,21	-0,11	0,19
	V8	-0,19	0,22	-0,07	**0,22**
	H5			-0,17	0,10
	H3			-0,08	

(1) H = Altura en vivero, EO = Estado ontogénico; SW indica medias familiares ajustadas al peso de semilla (seed weight, SW) como covariable.
(2) D = Diámetro, H = altura, V = Volumen. El número indica la edad en años desde la plantación.

Al igual que en estudios precedentes, las correlaciones JA son pobres e incluso negativas, mostrando una gran variabilidad entre sitios. Sólo 8 de las 60 combinaciones analizadas (aproximadamente el 13%) se asocian con correlaciones de medias familiares significativas ($p<0,05$) de las cuales tan sólo 2 son positivas (HSW en Lalín). Son destacables las correlaciones negativas con todas las variables en dos de los sitios (As Neves y Cortegada) frente a correlaciones positivas en los otros dos (Bamio y Lalín).

En la Tabla 8 se muestran las estimaciones de las correlaciones genéticas con sus correspondientes errores estándar teniendo en cuenta el diseño de BC:

Tabla 8: Correlaciones genéticas con sus correspondientes errores estándar entre la evaluación en vivero y distintas variables evaluadas en 4 ensayos de progenie adultos en campo teniendo en cuenta el diseño de BC. En negrita se identifican las correlaciones que se asocian con correlaciones de medias familiares significativas (p<0.05).

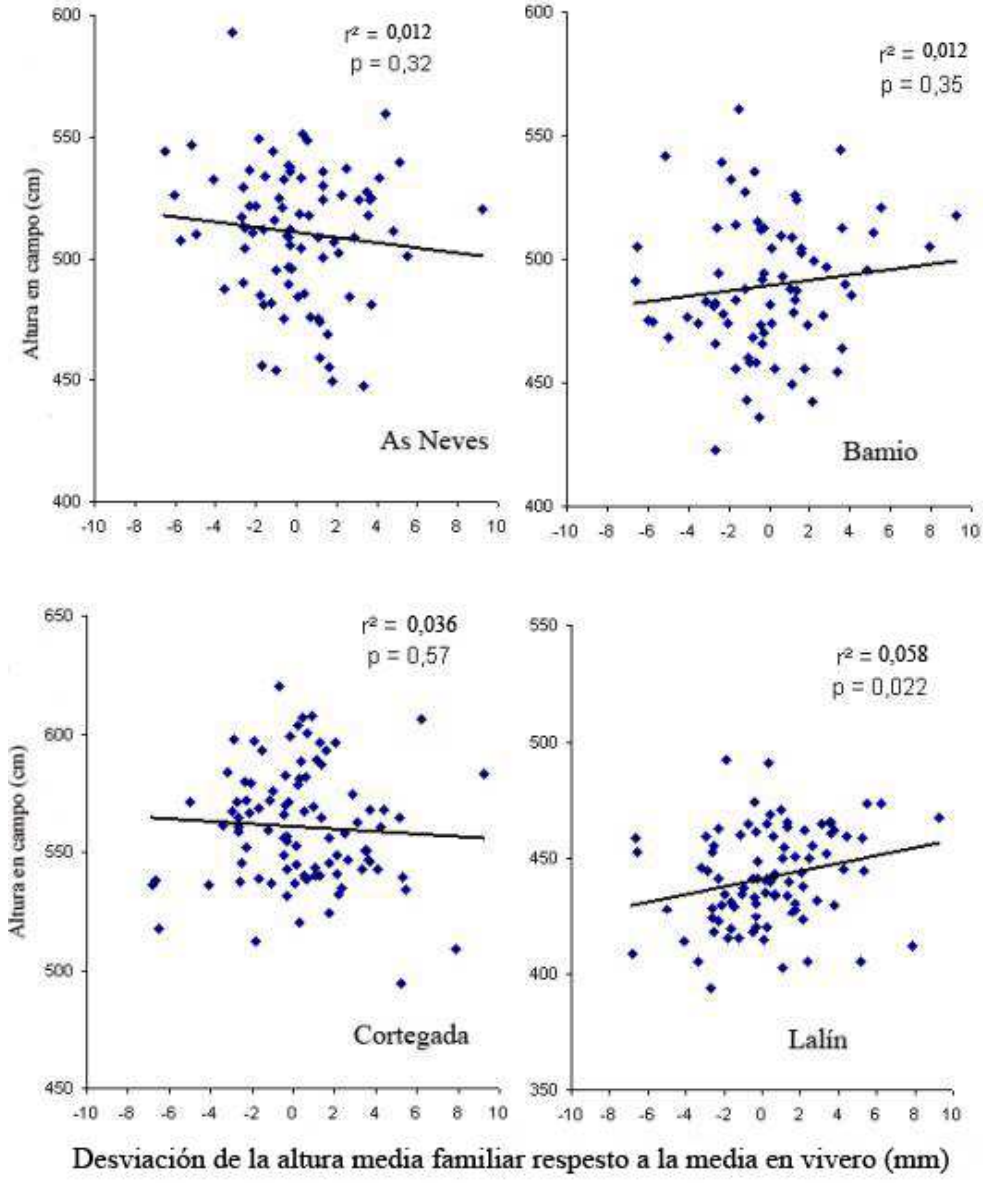
Variable en vivero[1]	Variable en campo[2]	As Neves	Bamio	Cortegada	Lalín
EO	H8	**-0,34±0,12**	0,01±0,14	-0,10±0,15	0,03±0,15
	D8	-0,29±0,13	0,25±0,21	-0,01±0,16	0,21±0,18
	V8	**-0,39±0,13**	0,30±0,18	0,00±0,15	0,17±0,17
	H5			-0,30±0,20	0,07±0,20
	H3			-0,17±0,19	
EOSW	H8	-0,16±0,13	0,07±0,15	-0,11±0,15	0,15±0,15
	D8	-0,15±0,14	0,32±0,21	-0,06±0,17	0,30±0,18
	V8	-0,24±0,15	0,35±0,17	-0,05±0,15	0,31±0,16
	H5			**-0,32±0,21**	0,10±0,21
	H3			-0,22±0,19	
H	H8	**-0,35±0,10**	0,07±0,12	-0,08±0,13	0,11±0,12
	D8	**-0,36±0,10**	0,32±0,17	-0,07±0,14	0,20±0,15
	V8	**-0,42±0,10**	0,32±0,14	-0,03±0,12	0,18±0,14
	H5			-0,22±0,18	0,09±0,17
	H3			-0,07±0,16	
HSW	H8	-0,14±0,12	0,16±0,13	-0,08±0,14	**0,32±0,12**
	D8	-0,23±0,13	0,46±0,16	-0,16±0,15	0,35±0,16
	V8	-0,27±0,13	0,43±0,15	-0,10±0,14	**0,39±0,14**
	H5			-0,24±0,20	0,13±0,19
	H3			-0,10±0,18	

(1) H = Altura en vivero, EO = Estado ontogénico; SW son medias familiares ajustadas al peso de semilla (seed weight, SW) como covariable.

(2) D = Diámetro, H = altura, V = Volumen. El número indica la edad en años desde la plantación .

Como ejemplo (Figura 17) se ilustra la correlación de las medias familiares para cuatro pares de variables mediante sus respectivas rectas de regresión. Las variables consideradas son, por un lado la altura media familiar ajustada al PS en el vivero (lo que representa realmente este dato son los valores relativos de la desviación de las alturas medias familiares eliminando el efecto del PS con respecto a la altura media total en vivero), y por otro lado, la altura media familiar medida a los 8 años desde la plantación en los cuatro ensayos de progenie.

Figura 17: Relación entre las alturas medias familiares ajustadas al peso de semilla en vivero y la altura media familiar en 4 ensayos adultos de progenie en campo.



5.3. CORRELACIONES CON OTROS ENSAYOS JUVENILES

5.3.1. ENSAYO DE FAMILIA × FERTILIZACIÓN

En las Tablas 9 y 10 se muestran las correlaciones de las medias familiares y las correlaciones genéticas y sus correspondientes errores estándar entre la evaluación en vivero y la altura (H1) y diámetro (D1) en tres ensayos familia × fertilización en campo al año de vida, considerando y sin considerar el PS como covariable. Para el estudio de correlación se consideraron las medias ajustadas al diseño de BC en vivero, al igual que para el estudio de las correlaciones JA, debido a la gran relación existente entre los diseños de BC y BI ($r^2 = 0.994$) (ver Aptdo 5.1.).

Los efectos familiares en los ensayos familia × fertilización se estimaron para el conjunto de los tratamientos de fertilización.

Tabla 9: Correlaciones de medias familiares entre la evaluación en vivero y distintas variables evaluadas en 3 ensayos tempranos familia × fertilización en campo teniendo en cuenta el diseño de BC. No se encontraron correlaciones de medias familiares significativas (p<0.05).

Variable en vivero[1]	Variable en campo[2]	Rianxo	Rebordelo	Cea
EO	D1	0,22		
	H1	-0,34	0,15	-0,08
EOSW	D1	0,11		
	H1	-0,20	0,08	0,06
H	D1	0,24		
	H1	-0,24	-0,25	0,09
HSW	D1	0,11		
	H1	-0,06	-0,01	- 0,11

(1) H = Altura en vivero, EO = Estado ontogénico; SW son medias familiares ajustadas al peso de semilla (seed weight, SW) como covariable.
(2) D = Diámetro, H = altura. El número indica la edad en años desde la plantación

Tabla 10: Correlaciones genéticas con sus correspondientes errores estándar entre la evaluación en vivero y distintas variables evaluadas en 3 ensayos tempranos de familia × fertilización teniendo en cuenta el diseño de BC. No se encontraron correlaciones que se asocian con correlaciones de medias familiares significativas (p<0.05).

Variable en vivero[1]	Variable en campo[2]	Rebordelo	Rianxo	Cea
EO	D1		0,26±0,13	
	H1	0,16±0,14	-0,41±0,13	-0,10±0,17
EOSW	D1		0,13±0,15	
	H1	0,09±0,15	-0,25±0,15	0,07±0,17
H	D1		0,27±0,12	
	H1	0,09±0,12	-0,29±0,12	-0,29±0,13
HSW	D1		0,13±0,14	
	H1	-0,01±0,14	-0,07±0,15	-0,13±0,16

(1) H = Altura en vivero, EO = Estado ontogénico; SW son medias familiares ajustadas al peso de semilla (seed weight, SW) como covariable.
(2) D = Diámetro, H = altura. El número indica la edad en años desde la plantación

Las correlaciones son pobres e incluso negativas, mostrando una gran variabilidad entre sitios. Ninguna de las 16 combinaciones analizadas se asocian con correlaciones de medias familiares significativas (p<0,05). Es destacable que el ensayo de Rianxo muestra las mayores correlaciones en comparación con los otros dos ensayos.

5.3.2. ENSAYO DE NUTRIENTES EN INVERNADERO

En las Tablas 11 y 12 se muestran las correlaciones de las medias familiares y las correlaciones genéticas y sus correspondientes errores estándar entre la evaluación en vivero y 4 variables de un ensayo temprano en condiciones controladas en invernadero, considerando y sin considerar el PS como covariable.

Tabla 11: Correlaciones de medias familiares entre la evaluación en vivero y la altura (H) evaluada en un ensayo temprano en invernadero bajo 4 tratamientos de fertirrigación. En negrita se identifican las correlaciones de medias familiares significativas (p<0.05).

Variable en vivero[1]	H(nL,wL)[2]	H(nH,wL)	H(nL,wH)	H(nH,wH)
EO	0,36	-0,28	0,34	-0,25
EOSW	0,19	-0,21	0,29	-0,24
H	**0,43**	-0,30	0,34	-0,11
HSW	0,21	-0,25	0,28	-0,02

(1) H = Altura en vivero, EO = Estado ontogénico; SW son medias familiares ajustadas al peso de semilla (seed weight, SW) como covariable.
(2) H = Altura en invernadero. Entre paréntesis se muestran los cuatro tratamientos: water high (w:H); water low (w:L); nutrient high (n:H) y nutrient low (n:L).

Tabla 12: Correlaciones genéticas con sus correspondientes errores estándar entre la evaluación en vivero y la altura (H) evaluada en un ensayo temprano en invernadero bajo 4 tratamientos de fertirrigación. En negrita se identifican las correlaciones que se asocian con correlaciones de medias familiares significativas (p<0.05).

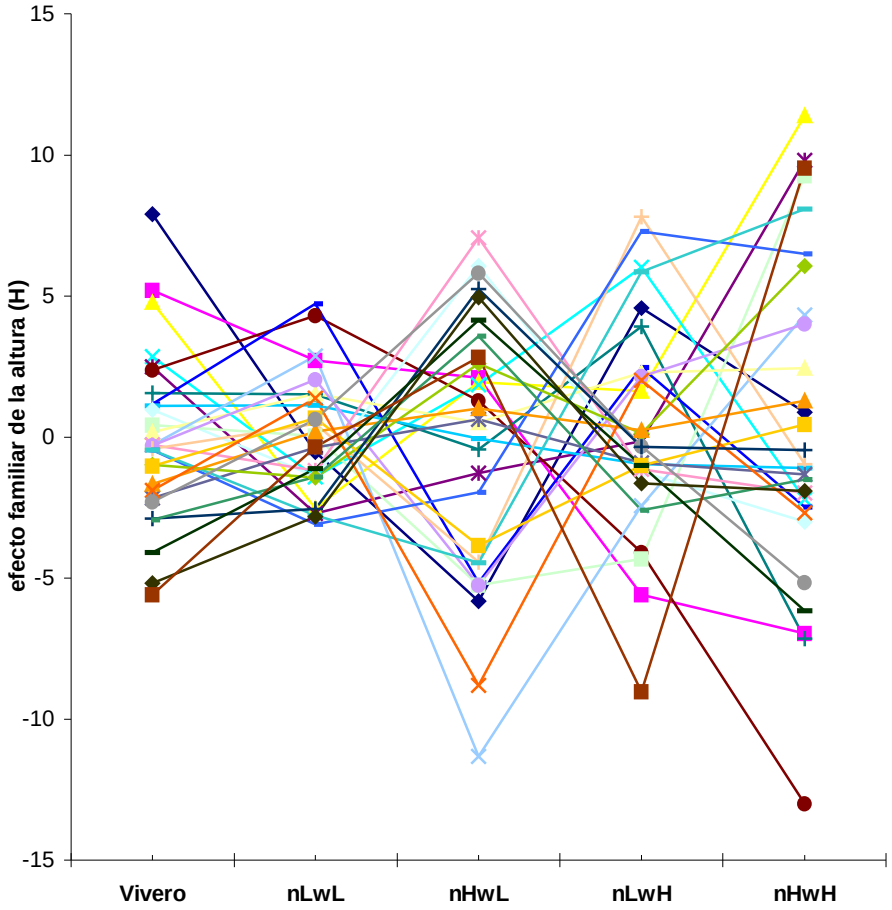
Variable en vivero[1]	H(nL,wL)[2]	H(nH,wL)	H(nL,wH)	H(nH,wH)
EO	0,50 ± 0,14	-0,44 ± 0,18	0,45 ± 0,15	-0,35 ± 0,17
EOSW	0,27 ± 0,18	-0,33 ± 0,20	0,39 ± 0,16	-0,34 ± 0 ,18
H	**0,57 ± 0,11**	-0,45± 0,15	0,43 ± 0,12	-0,14 ± 0,16
HSW	0,28 ± 0,17	-0,39 ± 0,18	0,37 ± 0,15	-0,03 ± 0, 18

(1) H = Altura en vivero, EO = Estado ontogénico; SW son medias familiares ajustadas al peso de semilla (seed weight, SW) como covariable.
(2) H = Altura en invernadero. Entre paréntesis se muestran los cuatro tratamientos: water high (w:H); water low (w:L); nutrient high (n:H) y nutrient low (n:L).

Las correlaciones son bajas, resultando la mitad negativas. Se aprecia una gran variabilidad entre tratamientos. Tan sólo 1 de las 16 combinaciones analizadas (6,25%) se asocian con correlaciones de medias familiares significativas (p<0,05). Son destacables las correlaciones negativas de los dos tratamientos con alto contenido en nutrientes, nutrient high (n:H), frente a las positivas en los de bajo aporte de nutrientes. También es destacable el hecho de que las correlaciones calculadas teniendo en cuenta el peso de semilla como covariable resultan menores que las respectivas calculadas sin el peso de semilla.

En la Figura 18 se ilustran los cambios de posición que sufren las familias entre el vivero y el ensayo de invernadero lo cual es sintomático de la gran sensibilidad del material al tipo de cultivo juvenil realizado en el vivero e invernadero. Se comprueba que las familias sufren unos grandes cambios de posición. Así, familias que ocupan posiciones delanteras en el vivero cambian bruscamente de posición en el invernadero y pasan a ocupar posiciones traseras en cuanto a crecimiento y a la inversa.

Figura 18: Cambios de posición entre las familias en vivero e invernadero. Se muestran los efectos familiares de las alturas en vivero ajustadas al PS y de la altura en un ensayo bajo cuatro tratamientos de fertirrigación en condiciones controladas en invernadero (nLwL, nHwL, nLwH y nHwH).



6. DISCUSIÓN

Variabilidad genética en vivero:

Los resultados indican que existe una importante variación genética en el material estudiado (116 progenies presentes en el Programa de Mejora) como se extrae del análisis de componentes de la varianza y estimación de la heredabilidad individual y familiar para la altura y el estado ontogénico en vivero. Las estimaciones de la heredabilidad individual para la altura dan valores altos o moderados, variando entre 0,79 y 0,46 mientras que para el estado ontogénico estos valores son sensiblemente menores (de 0,19 a 0,30). En cuanto a las estimaciones de la heredabilidad familiar son muy elevadas, especialmente para la altura donde rondan el valor de 1. Los bajos errores estándar obtenidos en los cálculos (especialmente en las heredabilidades individuales) son indicativo de la buena precisión de las estimaciones. Estos altos valores de las heredabilidades señalan la **facilidad de comparación y selección del material en vivero** debido a las mayores diferencias existentes entre familias. Estos resultados son sin duda debidos al gran tamaño del ensayo y al buen diseño experimental llevado a cabo. El hecho de que la heredabilidad tenga un alto valor indica que el componente aditivo es el principal factor de variación existente en nuestro material (recuérdese que $h^2 = V_A / V_P$**;** ver capítulo 2.2.2.) y en tal caso la correlación entre fenotipo y genotipo será alta y por tanto podremos escoger con confianza los mejores fenotipos sabiendo que en ellos están los mejores genotipos. Las estimaciones de la heredabilidad individual para esta especie son superiores a las encontradas en otros trabajos (Danjon, 1994a; Magnussen y Kremer, 1994; Vega *et al.*, 1997; Kusnandar *et al.*, 1998; Zas *et al.*, 2004c; Zas y Fernández-López, 2005; Zas *et al*., 2005a) y coinciden con otros trabajos, que encuentran para *P. pinaster* a diferentes edades, heredabilidades individuales moderadas y familiares altas (Alía y Moro, 1996; Zas *et al*., 2004a, 2004c; Zas *et al*., 2005a). La importancia práctica de los resultados obtenido radica en la interpretación de los especialmente altos valores de la heredabilidad familiar que sugieren que se pueden esperar ***importantes ganancias a través de la selección familiar***. Las heredabilidades familiares son siempre mayores que las individuales y el hecho de que la magnitud de las primeras sea mucho mayor que la de las segundas refleja la gran exactitud de la utilización de la progenie como guía del valor reproductor del individuo. Ahora bien, sería erróneo concluir que la selección

familiar sea siempre preferible a la individual puesto que no se pueden esperar que las respuestas absolutas de la selección familiar sean substancialmente mayores que los de la individual hasta que las heredabilidades individuales caigan por debajo de 0,20 (Falconer y Mackay, 2001; Turner y Young, 1969) o incluso valores menores si se consideran las respuestas por unidad de tiempo. A este respecto hay que decir que en este estudio los valores de la heredabilidad individual no caen por debajo de este valor considerado por diversos autores como crítico.

Teniendo en cuenta que las mediciones realizadas son muy tempranas, es esperable una **fuerte influencia maternal** transmitida por medio de las características fenotípicas de la semilla que pueden enmascarar el potencial genético real de las familias o individuos. La mayoría de los estudios sobre efectos maternales se centran en caracteres de expresión temprana en el ciclo vital de la planta, tales como el peso y tamaño de semilla (Mazer y Wolfe, 1998), el periodo de durmancia, el tiempo de germinación (e.g., Schmid y Dolt, 1994) o la temperatura necesaria para la germinación. Se ha visto que los efectos maternales sobre el peso y tamaño de las semillas son a menudo altamente significativos en plantas (e.g., Roach y Wulff, 1987; Waser *et al*. 1995; Byers *et al.* 1997; Lipow y Wyatt, 1999) y es bien sabido que una de sus consecuencias es su influencia en la velocidad de crecimiento de las jóvenes plantas como constatan diversos autores en diversos géneros (e.g., Mazer y Gorchov 1996; Byers *et al.*, 1997; Martins-Corder *et al*., 1998; Lopez *et al*., 2000; Watson *et al*., 2001). Estas diferencias son debidas, por ejemplo, a diferencias en el tiempo de germinación entre las familias debidas a las distintas características de las semillas (Wennstrom *et al*., 2002). Son pues los efectos maternales una fuente frecuente y, a menudo, problemática de parecido ambiental. Así, es preciso un adecuado diseño experimental que limite en lo posible este efecto y permita discernir el efecto genético del no genético. El uso del peso medio de las semillas (PS) de cada familia como covariable en el análisis se presenta como una alternativa para eliminar este efecto. Se observa en el presente estudio que la utilización del peso de semilla como covariable reduce los valores de la heredabilidad en torno a un 40% para el caso de la altura y en un 30% para el estado ontogénico. La sensibilidad de los análisis frente a la inclusión o no del peso promedio de la semilla (PS) como covariable es un indicativo de la importancia de estos efectos maternales. Las estimaciones de la heredabilidad sin ajustar al peso de las semillas están, seguramente, sobreestimadas. Esto sugiere que la selección temprana no

es aconsejable si no se tienen en cuenta los efectos maternales en el cálculo de las heredabilidades de los caracteres juveniles (López *et al*., 2003). Sin embargo, el peso de la semilla puede no sólo deberse a características fenotípicas de la madre sino también, posiblemente, a características genéticas de éstas que pudieran estar correlacionadas con su valor de mejora en relación al potencial de crecimiento (e.g. a mayor potencial de crecimiento, mayor peso de semilla). De esta manera, la heredabilidad estimada utilizando el peso de las semillas como covariable está probablemente subestimada y, por tanto, la heredabilidad real se encuentra entre ambas estimaciones (con/sin PS como covariable). Ahora bien, los efectos maternales no genéticos que se muestran tan importantes en el vivero disminuyen su influencia con los años y en contraposición la expresión de los efectos genéticos aumenta con la edad. Así López *et al.* (2003) demuestran en sus estudios con *Eucalyptus globulus* que el efecto del peso de la semilla persiste durante un año en campo y si bien ésto es lo más común, los efectos maternales pueden persistir todavía en edad adulta (e.g., Helenum *et al*., 1996) e incluso mantenerse a lo largo de generaciones (e.g., Byers *et al*., 1997). No es ésta la única forma de tener en cuenta los efectos maternales y evitar sus influencias, así otra solución posible es la llevada a cabo en Nueva Zelanda, donde se testan los genitores masculinos mediante polinización controlada de madres que producen pesos de semilla homogéneos (Luis Gea, Forest Research New Zealand, comunicación personal). Los efectos maternales no son un fenómeno exclusivo de plantas ni mucho menos y también en genética animal revisten mucha importancia. En animales los efectos maternales son debidos a que las crías están sujetas al ambiente materno durante las primeras etapas de su vida, y esto influye sobre los valores fenotípicos de muchos caracteres métricos, siendo esto una causa de que los hijos de una misma madre se parezcan entre sí. Un ejemplo de esto sería el que para madres grandes, que dan más leche que las pequeñas, sus crías crezcan más (Falconer y Mackay, 2001). La solución habitualmente usada para evitar los efectos maternales en el manejo de animales es testar el semen de los padres con madres homogéneas.

De los resultados obtenidos se puede observar la superioridad de la mayoría de las familias respecto a los testigos comerciales ya que prácticamente todas las familias mostraron un crecimiento significativamente mayor que los testigos (Figura 9). Al margen de las bajas correlaciones JA, la **superioridad de la práctica totalidad del material de mejora** respecto a los testigos comerciales sugiere una importante ganancia

genética utilizando la semilla de primera generación de los huertos semilleros de *P. pinaster* en Galicia, actualmente certificados como material de base de la categoría 'cualificada' (BOE nº 23, 26/1/2001). Esta superioridad concuerda con resultados previos a edades tempranas en campo (Vega *et al.*, 1997, Martíns , 2005) y en invernadero (Zas y Fernández-López, 2005). Esto es muy valorado por los viveristas, los únicos hasta ahora realmente conscientes del valor de la semilla procedente de huerto semillero frente a la semilla comercial corriente. Sin embargo, para la certificación del material del HS como controlado es preciso confirmar esta superioridad del material juvenil a edades adultas. Las bajas correlaciones JA encontradas impiden aprovechar estos resultados juveniles con este propósito.

El análisis del ensayo en vivero se ha realizado suponiendo distintos modelos estadísticos. Tratándose de un modelo resoluble, el análisis se puede realizar asumiendo el diseño de bloques incompletos (BI) o el diseño de bloques completos (BC) subyacente. Para ambas variables, el análisis bajo ambos supuestos da unos resultados similares. Esto se debe fundamentalmente al relativamente pequeño tamaño e igualdad de condiciones del sitio que hace que existan unas condiciones más o menos homogéneas en todo el vivero así como al gran tamaño del ensayo con 56 BC y más de 150 plantas por familia. La **similitud entre el análisis considerando el diseño de BC y de BI** no sería esperable en campo donde las condiciones se vuelven muy heterogéneas, viéndose que el diseño de BC no es capaz de absorber dicha heterogeneidad (Zas, 2006).

El sistema de cultivo utilizado en vivero resultó eficaz a pesar de ser relativamente complicado. Las raíces tuvieron un buen desarrollo y se evitó el efecto de "embudo" entre las múltiples raíces que provocaba la formación de un callo que posteriormente pudiera comprometer la estabilidad de la planta en campo. Con la utilización de las semillas de trigo se consiguió satisfactoriamente el efecto deseado de sujeción del cepellón que producían las raíces secundarias, comprobándose que el cepellón se mantenía unido y compacto al ser extraído del envase. Así, a priori, el sistema de cultivo llevado a cabo resulta un éxito si bien se ha de esperar a ver los resultados de las plantaciones en el campo. Con la evaluación de la nueva colección de ensayos de progenie se podrá ver si se ha solucionado por completo el problema del

"efecto cepellón" y hacer las consideraciones oportunas acerca del sistema de cultivo llevado a cabo.

Correlaciones JA:

Al igual que en estudios precedentes **las correlaciones JA son bajas** y negativas en la mitad de los casos. Que se confirmen resultados de estudios anteriores hace que varias de las hipótesis de partida pierdan peso como causantes de las bajas correlaciones JA en Zas *et al.* (2004c). Este es el caso de la utilización de tratamientos extremos y del número de familias utilizadas en el estudio, puntos que se han solucionado en el presente estudio mediante el desarrollo en vivero de condiciones más suaves y la inclusión de todas las familias de primera generación del Programa de Mejora de *P. pinaster* en curso. No parecen estas dos causas ser pues las causantes de las bajas correlaciones JA tal y como se apuntaba en Zas *et al.* (2004c) o al menos ser las principales causantes. Por el contrario el resto de causas señaladas cobran peso a la luz de los resultados obtenidos en el presente estudio.

Las bajas correlaciones no sólo las encontramos con los ensayos adultos de progenie en campo sino también con los otros ensayos juveniles, tanto con el de familia × fertilización al año de vida en campo como con el de nutrientes en el invernadero dentro del primer periodo vegetativo. Estas bajas correlaciones con los ensayos juveniles apuntan hacia la trascendencia de la interacción G × E en ambientes juveniles. Parece ser que existe pues demasiada **sensibilidad del material al tipo de cultivo** realizado en vivero o en invernadero como para poder predecir el comportamiento de dicho material en campo. Esta influencia crucial del tipo de cultivo llevado cabo queda claramente patente cuando se observa los resultados de las correlaciones con el ensayo de disponibilidad de nutrientes y agua en el invernadero donde se produce un cambio drástico de los resultados en función del tipo de tratamiento llevado a cabo. Así los tratamientos con un alto con alto contenido de nutrientes (nH) presentan correlaciones negativas frente a los de baja disponibilidad en nutrientes (nL) que las presentan positivas, estando aquí incluida además la única correlación significativa encontrada. Sigue pues abierto el debate de si existe algún ambiente juvenil que pueda maximizar las correlaciones JA. En los últimos tiempos se han llevado a cabo importantes investigaciones con el objetivo de obtener las mejores condiciones medioambientales

(e.g. Eriksson *et al*., 1993; Jonsson *et al*., 2000; Karlsson *et al*., 2002; Mari *et al.*, 2002; Sonesson *et al.*, 2001) que maximicen las correlaciones JA. Lascoux *et al*. (1992) cultivaron plantas de *P.pinaster* bajo condiciones de periodo de iluminación extendida y ordinaria, comprobando el efecto de la aceleración de la maduración de las plantas al someterlas a luz continua y observó que en promedio se obtenían mejores correlaciones JA en condiciones de luz continua que en las normales. Más recientemente, Harfouche (2003) ha intentado aumentar las correlaciones JA mediante la imitación de las condiciones de sequía estival que se produce en Las Landas (Francia), pero los resultados del experimento no dieron resultados que apoyasen dicha hipótesis**.**

El amplio espectro de variación de las correlaciones para el mismo caracter en diferentes sitios (con los ensayos de As Neves y Cortegada las correlaciones son de signo negativo frente a Bamio y Lalín que son positivas) sugiere que sigue existiendo un gran impacto de la interacción genotipo-ambiente (G×E) en las estimaciones de las correlaciones JA.

Se aprecia que dentro de las correlaciones encontradas entre el vivero y los cuatro ensayos de progenie adultos aparecen más correlaciones significativas cuando no se tiene en cuenta el PS como covariable en los cálculos. Esto posiblemente sea debido a que los efectos maternales aún siguen actuando en el material adulto, esta posibilidad la apuntan diversos autores (e.g., Helenum *et al*., 1996).

También cobra peso la hipótesis de que las pobres correlaciones entre el crecimiento en altura en las primeras etapas y el crecimiento a edades maduras para *P. pinaster* puede ser debido a **diferentes patrones de crecimiento** a ambas edades (Kremer y Xu, 1989). En condiciones normales, *P. pinaster* muestra crecimiento libre durante el primer periodo de crecimiento mientras que el crecimiento predeterminado o fijo es la principal forma de crecimiento en árboles adultos. Diversos autores (Williams, 1987; Lascoux *et al*., 1993a; Wu *et al.*, 1997) han comprobado en diversas especies que las plantas han de alcanzar un mínimo estado de desarrollo que asegure la transición desde el crecimiento libre inicial hasta el crecimiento cíclico antes de que los caracteres juveniles se conviertan en un criterio fiable de selección. Esta hipótesis se ve fortalecida por el hecho de que tampoco se haya encontrado relación con los datos del ensayo de familia × fertilización al año de vida en campo. Hay que tener en cuenta aquí además el

hecho del policiclismo que presenta la especie en Galicia Costa por el hecho de ser una región húmeda que favorece el desarrollo de este caracter. La facultad de brotar en varias ocasiones durante la misma temporada de crecimiento es un carácter muy ligado a las condiciones climáticas del año así como a la capacidad de los genotipos de expresar un segundo ciclo de crecimiento (Kremer, 1981). Para *P. pinaster*, Guignard (1983) comprobó que las familias monocíclicas presentaban un sistema radical mayor que las policíclicas, lo que les daba una mayor capacidad de adaptación al sitio durante la fase de establecimiento.

Otra de las hipótesis señaladas en Zas *et al.* 2004c para explicar las bajas correlaciones JA es el hecho de que las plantas utilizadas en los ensayos de progenie adultos pueden estar sufriendo problemas en sus sistemas radicales conocidos coloquialmente como **"efecto cepellón"**. No se podrán hacer consideraciones al respecto hasta que la nueva colección de ensayos de progenie, a partir del material del presente estudio, llegue a una edad adulta para que pueda ser evaluada y se vea si dicho problema en las raíces ha sido solucionado.

Otro factor importante es la edad a la que están realizadas las mediciones del material considerado en el estudio como adulto (5 y 8 años). A estas edades realmente el material no se puede considerar como adulto sino como una fase avanzada del estado juvenil y en la que todavía el efecto de los cambios medioambientales y fisiológicos afecta al crecimiento de las jóvenes plantas. Varios estudios retrospectivos han señalado que las correlaciones JA entre caracteres de crecimiento de la madera son mayores al aumentar la edad de los ensayos de campo (e.g. Jonsson *et al*., 2000). En estos estudios las bajas correlaciones a edades jóvenes (hasta 10-13 años) se atribuyen a **influencias no genéticas en el crecimiento durante la fase de establecimiento**. Esta causa toma importancia como factor causante de bajas correlaciones JA. Cabe preguntarse qué es lo que pasará con este material a edades más avanzadas así como a la edad de turno. Habrá pues que seguir esta línea de estudio y ver si existen correlaciones entre este material juvenil y material estrictamente adulto. En Francia este problema parece ya estar solucionado puesto que han conseguido poder realizar selección efectiva del material a los 8 años de edad debido a que las correlaciones y heredabilidades obtenidas así lo permiten. En la actualidad el programa de mejora francés se encuentra en la cuarta generación.

Por otro lado, surge otra línea de estudio con la realización de **"farm field test"**. Se trata de ensayos de progenie establecidos usando una intensiva preparación del terreno, espaciamientos pequeños y control absoluto de la vegetación, mediante los cuales se puede obtener información genética de alta calidad (Woods *et al.*, 1995). En estos ensayos se testa material joven, de entre 2 y 3 años, pudiéndose comprobar si este material no tan joven presenta mejores correlaciones con ensayos adultos. Se presentan los "farm field test" como método intermedio entre los ensayos juveniles en vivero o invernadero y los ensayos de campo a más largo plazo. En la última década el uso de este tipo de ensayos ha aumentado y así, se han convertido en una herramienta importante en países como Canadá. La realización de este tipo de ensayos parece la línea a seguir, teniendo en cuenta la inminente puesta en marcha de la segunda generación del programa de mejora y las escasas correlaciones JA encontradas hasta la fecha. Todo lo que se avance en este terreno supondrá una ganancia en el programa de mejora mediante un aumento de la eficiencia de la selección temprana.

Implicaciones de cara a la selección temprana:

De cara a llevar a cabo una estrategia de selección temprana son necesarios dos supuestos, por un lado que los caracteres juveniles tengan una alta heredabilidad y por otro lado que exista una buena correlación JA. En general la existencia de bajas correlaciones JA y la fuerte interacción G × E (tanto en los ambientes juveniles como en los ensayos adultos en campo) dificultan la posibilidad de realizar la selección temprana. Así, a la vista de los resultados obtenidos **la selección temprana (al menos realizada en una sola etapa) parece poco viable** puesto que no parece posible la identificación de los genotipos superiores basándose únicamente en su comportamiento juvenil. Ahora bien, esto no significa que halla que desistir en la obtención de una estrategia eficiente de selección temprana puesto que aún **existe la posibilidad de realizar una selección en dos etapas**. Esta selección en dos etapas se presenta como especialmente interesante para Galicia Costa puesto que se ha visto que su eficiencia es mucho mayor que la de la selección en una sola etapa aún cuando las correlaciones JA sean bajas (Zas *et al.,* 2004c). Esta parece pues la línea de estudio a seguir en los próximos tiempos. La selección en dos etapas aprovecha la evaluación juvenil para

identificar y eliminar de la población de mejora los peores genotipos. Se consigue así reducir el número de familias a testar en campo. Esto hace posible reducir el tamaño de los ensayos (aumentando con ello la homogeneidad espacial y la eficiencia estadística de los ensayos de progenie) y abaratar los costes de dichos ensayos en campo. La selección final se realizará posteriormente sobre los resultados en los ensayos de campo. Además hay que añadir que dados los condicionantes que presenta Galicia, donde es difícil encontrar sitios de gran calidad y homogeneidad de condiciones para el establecimiento de los ensayos de progenie, la selección en dos etapas es especialmente interesante. A la vista de los resultados del presente estudio, si bien no es posible la identificación de los genotipos superiores basándose únicamente en su comportamiento juvenil, si parece posible la eliminación de la población de los genotipos que parecen claramente peores a la media con lo cual la puerta hacia la selección en dos etapas se mantiene abierta. El proseguir en esta línea de estudio se hace fundamental puesto que se está a las puertas de la “segunda generación del Programa de Mejora” y el hecho de poder realizar un primer filtrado de los genotipos en el vivero se vuelve importantísimo.

7. CONCLUSIONES

1- La variabilidad genética del material en vivero es elevada para los dos caracteres estudiados: altura y estado ontogénico, con heredabilidades individuales de moderadas a altas para la altura (0,46-0,79) y sensiblemente menores para el estado ontogénico (0,19-0,30) y heredabilidades familiares muy altas de entre 0,96 y 0,98 para la altura y 0,89 y 0,93 para el estado ontogénico.

2- El material mejorado se confirma como claramente superior al material comercial en el vivero.

3- Existe una fuerte influencia maternal transmitida por medio de las características fenotípicas de la semilla que pueden enmascarar el potencial genético real de las familias o individuos. Por ello es muy importante la utilización del PS como covariable a la hora de estimar los parámetros genéticos.

4- Las correlaciones JA son pobres e inconstantes. Se consideran como causas principales de estas bajas correlaciones:

   i. Una fuerte interacción G × E en los ambientes adultos en campo.

   ii. Diferentes patrones de crecimiento entre edades juveniles y maduras (crecimiento libre durante el primer periodo de crecimiento frente a crecimiento predeterminado o fijo en árboles adultos).

   iii. El denominado “efecto cepellón” que puede estar afectando a la expresión del potencial genético en los ensayos de campo.

5- Pierden peso como causa de bajas correlaciones JA la utilización de un escaso número de familias y el uso de tratamientos extremos en edades tempranas.

6- Las bajas correlaciones con otros ensayos juveniles sugieren que existe una fuerte interacción G × E en dichos ambientes lo cual indica que existe demasiada sensibilidad del material al tipo de cultivo realizado en vivero o en invernadero como para poder predecir el comportamiento de dicho material en campo.

Se plantea como inexcusable de cara avanzar en la estrategia de selección temprana:

- Realización de “farm field test” a más de un año.

- Profundizar en los estudios de la interacción G × E tanto en campo como en vivero e invernadero pues a la luz de los resultados su influencia parece clave.

- Esperar a los resultados de los nuevos ensayos de cara a descartar o reafirmar las causas de bajas correlaciones JA apuntadas en Zas *et al.* 2004c.

8. REFERENCIAS

Abraitis R., Norell L., Eriksson G.,1998. Retrospective studies on nitrogen response *of Pinus sylvestris* L. open pollinated families. Forest Genet. 5: 39–45.

Adams W.T., Aitken S.N., Joyce D.G., Howe G.T., Vargas-Hernandez J., 2001. Evaluating efficacy of early testing for stem growth in coastal Douglas-fir, Silvae Genet. 50: 93–176.

Alazard, P., 2001. Gain genetique des graines issues de la premiere generation de vergers de Pin maritime. Information Forets, Afocel 628: 6 p.

Alía, R., Gil, L. y Pardos, J.A. 1995. Performance of 43 *Pinus pinaster* provenances on 5 locations in Central Spain. *Silvae Genetica* 44: 75-81.

Alía, R., Moro, J., 1996. Comportamiento de procedencias de *Pinus pinaster* Ait. en el centro de España. Invest. Agrar. Sist. Recur. For. 5, 57-75.

Alía, R., Martin, 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, 75 pp.

Álvarez, P., Rosa, E., Vega, P., Vega, G., Rodríguez, R., 2001. Viveros forestales y uso de planta forestal en repoblación en Galicia. En: Proceedings del III Congreso Forestal Nacional. Granada, pp. 232-238.

Álvarez, P., Vega, P., Vega, G., Rodríguez-Soalleiro, R., 2005. Influencias de las líneas de ayudas a la reforestación en la actividad repobladora y especies empleadas en Galicia. Actas del IV Congreso Forestal Nacional. Zaragoza.

Bridgwater, F. E. and McKeand, S. E., 1997. Early family evaluation for growth of loblolly pine. For. Genet. 4(1): 51-58.

Burdon, R.D., 1977. Genetic correlation as a concept for studying genotype-environment interaction in forest tree breeding. *Silvae Genet.* 26(5-6): 168-175.

Butcher, T. B. And Hopkins, E. R., 1993. Realised gains from breeding *Pinus pinaster*. For. Eco. Manage. 58(3-4): 221-231.

Byers, D.L., Platenkamp, G.A.J., and Shaw, R.G., 1997. Variation in seed characters in *Nemophila menziesii* — evidence of a genetic basis for maternal effect. Evolution, 51: 1445–1456.

Cannell, M. G. R., Bridgwater, F. E. *et al*., 1978. Seedling growth rates, water stress responses and root-shoot relationships related to eight-year volumes among families of *Pinus taeda* L. Silvae Genetica 27(6): 237-24.

Cifuentes, B., Merlo, E., Vázquez, M., Moreira, L. and Argibay, A., 2004. Technical problems and solutions of cultivation in containers of *Pinus pinaster* Ait. *In* Proceedings of the IUFRO International Meeting on The Economics and Management of High Productivity Plantations. Lugo, Spain. *Edited by* J.G. Álvarez, C. Goulding, A. Rojo, R. Rodríguez, T. Zoralioglu and A.D. Ruíz-González.

Danjon, F., 1994a. Heritabilities and genetic correlations for estimated growth curve parameters in Maritime pine. Theoretical and Applied Genetics 89: 911-921.

Danjon, F., 1994b. Stand features and height growth in a 36-year-old maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) provenance test. Silvae Genetica 43(1): 52-62.

Eriksson G., Jonsson A., Dormling I., Norell L., Stener L.G, 1993. Retrospective early tests of *Pinus sylvestris* L. seedlings grown under five nutrient regimes, For. Sci. 39: 95–117.

Falconer, D.S. and Mackay, T.F.C., 2001. Introducción a la genética cuantitativa, 4th Ed. Editorial Acribia S.A., Zaragoza, Spain.

Franklin, E. C.,1979. Model rating levels of genetic variance to stand development of four North American conifers. Silvae Genet. 25(5-6): 207-212.

García, J. M., De-Miguel, J., Alía, R. y Iglesias, S., 2001. *Regiones de Identificación y Utilización de material forestal de reproducción*. Ministerio de Medio Ambiente. Serie Cartográfica. Madrid.

Guignard, P., 1983. Controle génetique du développement de semis de pin maritime (*Pinus pinaster* Ait.). Mise en évidence des effects maternels sur la croissance juvénile. D.E.A. Université de Bourdeaux II.

Harfouche, A., 2003. Retrospective early tets for adult vigor of *Pinus pinaster* families grown under two water regimenes. Implications for early selection. Ann. For. Sci. 60(6): 539-547.

Helenurm, K., and Scaal, B.A., 1996. Genetic and maternal effects on offspring fitness in case of *Lupinus texensis* (Fabacea). Am. J. Bot. 83: 1596–1608.

Jansson A., Jonsson A., Eriksson G., 1998. Efficiency of early testing in *Pinus sylvestris* L. grown under two different spacings in growth chamber. Silvae Genet. 47: 298–306.

Jonsson A., Eriksson G., Ye Z.H., Yeh F.C., 2000. A retrospective early test of *Pinus sylvestris* seeedlings grown at wide and dense spacing, Can. J. For. Res. 30: 1443–1452.

John, J. A. and E. R. Williams, 1995. Cyclic and computer generated designs. London, Monographs on Statistics and Aplied Probability 38, Chapmann & Hall.

Karlsson, B., Mari, S. and Eriksson, G, 2002. Juvenile-mature genetic correlations in *Picea abies* (L.) Karst. under different nutrient and mycorryza regimes. Silvae Genet. 51(4): 171-175.

Kremer, A., 1981. Determinisme genetique de la croissance en hauteur du pin maritime (*Pinus pinaster* Ait). II. Comportement interannuel. Interaction genotype × annee. Ann. Sci. For. 38(3): 331-354.

Kremer, A. and Xu, L.A. 1989. Relationship between first-season free growth components and later field height growth in maritime pine (*Pinus pinaster*). Can. J. For. Res. 19: 690-699.

Kremer, A., Lascoux, D. M. and Nguyen, A., 1991. Morphogenetic subdivision of height growth and early selection in maritime pine. Procedings of the 21st Southern Forest Tree Improvement Conference, Knoxville, TN, USA, p.203-221.

Kusnandar, D., Galwey, N. W. *et al.,* 1998. Age trends in variances and heritabilities for diameter and height in maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) in Western Australia. Silvae Genetica 47(2-3): 136-141.

Lambeth, C. C., 1980. Juvenile-mature correlations in Pinaceae and implications for early selection. Forest Science 26(4): 571-580.

Lario, F. J. & Ocaña, L., 2004. Base mecánica de la inestabilidad de *Pinus pinaster* Ait. en las plantaciones juveniles de climas atlánticos. *Cuad. Soc. Esp. Cienc. For.* 17: 175-180.

Lascoux, D.M., Kremer A., Dormling I., 1992. Germination and phenology of 1-year-old maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) seedlings under continuous light. Trees 7: 48-58.

Lascoux D.M., Kremer A., Dormling I., 1993a. Growth and phenology of 1-year old maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) seedlings under continuous light. Implications for early selection, Can. J. For. Res. 23: 1325–1336.

Lascoux D.M., Novitol Paino E., Sierra de Grado R., Kremer A., Dormling I., 1993b. Maturation of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) seedlings after exposure to a period of continuous light. Tree Physiol. 12:363–378.

Lipow, S.R., and Wyatt, R., 1999. Diallel crosses reveal patterns of variation in fruit-set, seed mass, and seed number in *Asclepias incarnata*. Heredity, 83: 310–318.

Lopez, M., Humara, J.M., Casares, A., and Majada, J., 2000. The effect of temperature and water stress on laboratory germination of *Eucalyptus globulus* Labill. seeds of different sizes. Ann. For. Sci. 57: 245–250.

López, G. A., Potts, B. M., Vaillancourt, R. M. and Apiolaza, L., 2003. Maternal and carryover effects on early growth of Eucalyptus globulus. Can. J. For. Res. 33: 2108–2115.

Magnussen, S., 1993. Growth differentiation in white spruce crop tree progenies. Silvae Genetica 42(4-5): 258-266.

Magnussen, S., Kremer, A., 1994. Secondary leader growth as a selection criterion in

Pinus pinaster. Scan. J. For. Res. 9, 233-244.

Mari, S., Jonsson, A., Thompson, D. and Eriksson, G., 2002. Variation in nutrient utilization and juvenile growth in open-pollinizated families of *Picea sitchensis* (Bong.) Carr. grown in a phytotron and correlations with field perfomance. Silvae Genet. 51(5-6): 225-232.

Martins-Corder, M.P., Mori, E.S., Carvalho, M.T.V., and Derbyshire, E., 1998. Genetic diversity of three size classes of seeds of *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus*. Silvae Genet. 47: 6–14.

Martíns Garbín, P., 2005. Efecto de la fertilización de establecimiento en el comportamiento de familias de polinización abierta de *Pinus pinaster*. Proyecto Fin de Carrera, EPS de Lugo, Ingeniería de Montes. Universidad de Santiago de Compostela, Lugo, 61 pp.

Mazer, S.J. and Gorchov, D.L. 1996. Parental effects on progeny phenotype in plants — distinguishing genetic and environmental causes. Evolution, 50: 44–53.

Mazer, S.J., and Wolfe, L.M. 1998. Density-mediated maternal effects on seed size in wild radish. *In* Maternal effects as adaptations. *Edited by* T. Mousseau and C. Fox. Oxford University Press, New York. pp. 323–343.

Merlo, E., 2000. Conclusiones obtenidas de las "Xornadas de supervivencia e estabilidad das repoboacións forestais con plantas en cepellón". VIFOGA-COEFTFG. Silleda, 28 a 29 de septiembre de 2000.

Merlo, E. y Fernández-López, J., 2004. Análisis del balance parental reproductivo en un huerto semillero de *Pinus pinaster*. Investigación Agraria. Sistemas y Recursos Forestales 13(2): 387-398.

Merlo, E., Zas, R. y Fernández López, J., 2005. Ganancia obtenida mediante recogida selectiva de semilla en un huerto semillero de *Pinus pinaster* Ait. Actas del IV Congreso Forestal Nacional, Zaragoza.

Merlo, E. y Zas, R. Estrategia de mejora para *Pinus pinaster* Ait. en Galicia (en preparación).

Michel Rodríguez, M. y Gil Sánchez, L., 1989. Selección de las poblaciones de mejora. En: Mejora Genética de Especies Arbóreas Forestales. De. J. A. Pardos. Fundación Conde del valle de Salazar. Madrid, pp. 4-19.

Nguyen, A., Dormling, I. And Kremer, A., 1995. Characterization of *Pinus pinaster* seedlings growth in different photo- and thermoperiods in phytotron as a basis for early selection. Scan. J. For. Res. 10(2): 129-139.

Reeve, E.C.R., 1955. The variance of the genetic correlation coefficient. Biometrics, 11, 357-74.

Roach, D.A., and Wulff, R.D., 1987. Maternal effects in plants. Annu. Rev. Ecol. Syst. 18: 209–235.

Robertson, A., 1959. The sampling variance of the genetic correlation coefficient. Biometrics, 15, 469-85.

Rodríguez Soalleiro, R., Alvarez González, J.G., Cela González, M., Mansilla Vázquez ,P., Vega Alonso, P., González Rosales, M., Ruíz Zorrilla ,P., Vega Alonso ,G. 1997. Manual de selvicultura de *Pinus pinaster*. Universidad de Santiago de Compostela. 75 pp.

SAS-Institute 1999. SAS/STAT User's guide, Version 8. SAS Institute Inc., Cary, NC.

Schmid, B. and Dolt, C. 1994. Effects of maternal and paternal environment and genotype on offspring phenotype in *Solidago altissima* L. Evolution, 48: 1525–1549.

Sonesson, J. and Eriksson, G., 2000. Genotypic stability and genetic parameters for growth and biomass traits in a water × temperature factorial experiment with *Pinus sylvestris* L. seedlings. For. Sci. 46: 487-495.

Sonesson, J., G. Jansson, et al., 2001. Retrospective genetic tests of *Pinus sylvestris* L. in growth chambers with two irrigation regimes and two temperatures. Scandinavian Journal of Forest Research 16(1): 21-29.

Sonesson, J., Jansson, G. and Eriksson, G., 2002. Restrospective genetic testing of *Picea abies* under controlled temperature and moisture regimes. Can. J. For. Res. 32(1): 81-91.

Turner, H. S. and Young, S. S. N., 1969. Quantitative Genetics in Sheep Breeding. (Macmillan of Australia: Melbourne).

Vega, P., Vega, G., González, M., Rodríguez, A., 1993. Mejora del *Pinus pinaster* Ait. en Galicia. En: Silva-Pando, J., Vega, G. (Eds.), Proceedings del I Congreso Forestal Español. Pontevedra, Spain, Xunta de Galicia, pp. 129-134.

Vega, P., González, M., Moo, C., Vega, G., 1997. Primeros resultados de los ensayos de progenie del huerto semillero de *Pinus pinaster* Ait. en Sergude (Galicia). En: Puertas, F., Rivas, M. (Eds.), Proceedings del II Congreso Forestal Español.

Waser, N.M., Shaw, R.G., and Price, M.V., 1995. Seed set and seed mass in *Ipomopsis aggregata* — variance partitioning and inferences about postpollination selection. Evolution, 49: 80–88.

Watson, M., Williams, D., Potts, B., and Krygsman, M., 2001. Seed quality and early seedling growth in *Eucalyptus globulus*. *In* Developing the Eucalypt of the Future. IUFRO International Symposium, 10–15 September 2001, Valdivia, Chile. *Edited by* S. Barros. INFOR, Chile.

Wennstrom, U., Bergsten, U. and Nilsson, J.E., 2002. Effects of seed weight and seed type on early seedling growth of *Pinus sylvestris* under harsh and optimal conditions. Scan. J. For. Res. 17: 118-130.

Williams, C. G., 1987. The influence of shoot ontogey on juvenile-mature correlations in loblolly pine families. For. Sci. 33(2): 411-422.

Williams, C. G., 1988. Accelerated shot-term genetic testing for loblolly pine families. Can. J. For. Res. 18: 1085-1089.

Woods, J. H., Kolotelo, D. and Yanchuk. A. D., 1995. Early selection of coastal Douglas-fir in a farm-field test environment. Silvae Genetica 44(4): 178-186.

Wright, J. W., 1976. Introduction to forest genetics. Academic press, NY.

Wu, H. X., Yeh, F. C., Dhir, N. K., Pharis, R. P. & Dancik, B. P. 1997. Genotype by environment interaction and genetic correlation of greenhouse and field performance in *Pinus contorta* ssp. latifolia. Silvae Genet. 46: 170± 175.

Wu, H. X., 1998. Study of early selection in tree breeding. 1. Advantage of early selection through increase of selection intensity and reduction of field test size. Silvae Genet. 47(2-3): 146-155.

Wu, H. X., 1999. Study of early selection in tree breeding. 2. Advantage of early selection through shortening the breeding cycle. Silvae Genet. 48(2): 78-83.

Xunta-de-Galicia, 2001. O monte galego en cifras. Xunta de Galicia, Dirección Xeral de Montes e Medio Ambiente Natural, Santiago de Compostela, Spain, 227 pp.

Zas, R., 2004. Genetic analysis and correlation with field performance of seasonal growth curve parameters of *Pinus pinaster* seedlings. Manuscrito no publicado.

Zas, R., Merlo, E. and Fernández-López, J. 2004a. Genetic parameter estimates for Maritime pine in the Atlantic coast of North-west Spain. For. Genet. 11: 45-53.

Zas, R., Merlo, E. and Fernández-López, J. 2004b. Genotype x environment interaction in Maritime pine families in Galicia, Northwest Spain. Silvae Genet. 53: 175-182.

Zas, R., Merlo, E. and Fernández-López, J. 2004c. Juvenile - mature genetic correlation in *Pinus pinaster* Ait. under different nutrient x water regimes. Silvae Genet. 53: 124-129.

Zas, R. and Fernández-López, J. 2005. Juvenile genetic parameters and genotypic stability of *Pinus pinaster* Ait. open pollinated families under different water and nutrient regimes. For. Sci. 51(2): 165-174.

Zas, R., Sampedro, L., Prada, E., Fernández-López, J., 2005. Genetic variation of *Pinus pinaster* Ait. seedlings in susceptibility to *Hylobius abietis* L. Ann. For. Sci. 62:681-688.

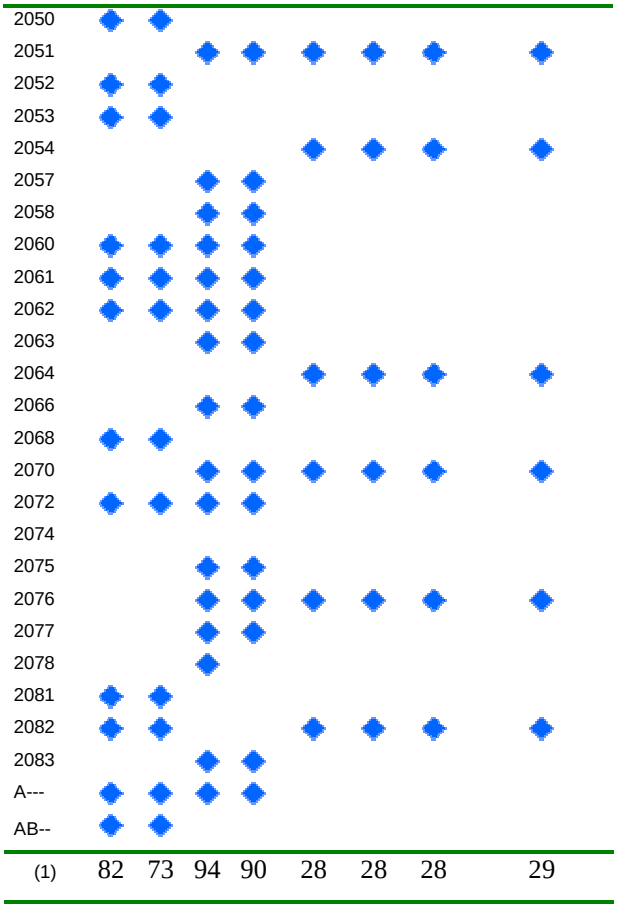
Zas, R., 2006. Iterative kriking for removing spatial autocorrelation in the analysis of forest genetics trials. Tree genetics and genomics, in press.

9. ANEXOS

Tabla 13: Familias comunes entre el ensayo de vivero y los ensayos con los cuales se calculan las correlaciones: Ensayos de progenie adultos (A: As Neves; B: Bamio; C: Cortegada; L: Lalín); Ensayos de familia × fertilización (Cea; Rb: Rebordelo; Ria: Rianxo) y Ensayo de invernadero (Invernad.).

	Ensayos de progenie				Familia × fertilización			Invernad
G	A	B	C	L	Cea	Rb	Ria	
1000	◆	◆	◆	◆				
1001	◆		◆	◆	◆	◆	◆	◆
1002	◆	◆	◆	◆				
1003	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆
1004	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆
1005	◆		◆	◆				
1006	◆	◆	◆	◆				
1007	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆
1009			◆					
1010			◆	◆				
1011	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆
1012	◆	◆						
1014	◆	◆	◆	◆				
1016	◆	◆	◆	◆				
1017	◆	◆	◆	◆				
1018	◆	◆	◆	◆				
1019	◆	◆	◆	◆				
1020	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆
1022	◆	◆			◆	◆	◆	◆
1023	◆	◆	◆	◆				
1025	◆	◆	◆	◆				
1026			◆	◆				
1027	◆	◆	◆	◆				
1028	◆	◆						
1029	◆	◆		◆	◆	◆	◆	◆
1030	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆
1031	◆	◆	◆	◆				
1032	◆	◆	◆	◆				
1033	◆	◆	◆	◆				
1034	◆	◆						
1035	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆
1036	◆		◆	◆				
1037	◆	◆	◆	◆				
1038			◆	◆	◆	◆	◆	◆
1042	◆	◆	◆	◆				
1043	◆	◆	◆	◆				
1044	◆	◆	◆	◆				
1045	◆	◆	◆					
1046	◆	◆	◆	◆				
1049	◆		◆	◆				
1050	◆	◆	◆	◆				
1051	◆	◆	◆	◆				
1052	◆	◆	◆	◆				
1053	◆	◆	◆	◆				
1055	◆	◆	◆					

	Ensayos de progenie				Familia × fertilización			Invernad.
G	A	B	C	L	Cea	Rb	Ria	
1056	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆
1057	◆	◆	◆	◆				
1058			◆	◆				
1059	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆
1060			◆	◆	◆	◆	◆	◆
1061			◆	◆				
1062	◆	◆	◆	◆				
1063	◆	◆						
1064	◆	◆	◆	◆				
1066	◆	◆						
2001			◆	◆	◆	◆	◆	◆
2002	◆	◆	◆	◆				
2003	◆	◆						
2004			◆	◆				
2005			◆	◆				◆
2007			◆					
2008	◆	◆	◆	◆				
2011			◆	◆				
2012	◆	◆	◆	◆				
2013	◆		◆	◆	◆	◆	◆	◆
2015			◆	◆				
2017	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆
2018	◆	◆	◆	◆				
2019	◆	◆	◆	◆				
2021	◆	◆	◆	◆				
2024			◆	◆				
2025	◆	◆						
2026	◆	◆	◆	◆				
2028	◆	◆	◆	◆				
2029	◆	◆	◆	◆				
2031	◆		◆	◆	◆	◆	◆	◆
2032	◆	◆	◆	◆				
2034	◆		◆	◆				
2035	◆		◆	◆	◆	◆	◆	◆
2036	◆	◆	◆	◆				
2037			◆	◆				
2040	◆	◆	◆	◆				
2041	◆	◆	◆	◆				
2042			◆	◆	◆	◆	◆	◆
2043					◆	◆	◆	◆
2044								
2045	◆		◆	◆				
2046			◆	◆				
2047	◆	◆	◆	◆				
2048					◆	◆	◆	◆



(1) Número de familias en común entre el vivero y cada uno de los ensayos.