

## **Análisis del balance parental reproductivo en un huerto semillero de *Pinus pinaster* Ait.**

E. Merlo\* y J. Fernández-López

*Departamento de Producción Forestal. Centro de Investigaciones Forestales y Ambientales de Lourizán. Apdo. 127. 36080 Pontevedra. España*

---

### **Resumen**

Se analizó la variación de la producción de estróbilos masculinos y femeninos durante cuatro años consecutivos en una muestra al azar de 22 clones de un huerto semillero de *Pinus pinaster* Ait. Los análisis de varianza revelan diferencias significativas entre clones. Las diferencias clonales fueron mayores en estróbilos femeninos que en masculinos. Existió una correlación significativa y moderada en la producción de estróbilos por árbol entre distintos años y entre la producción masculina y femenina anual dentro del árbol. La heredabilidad en base a los ramets individuales osciló entre 0,14 y 0,50 y en base a las medias clonales entre 0,39 y 0,82. Se observó un mayor control genético para la producción de estróbilos femeninos que para masculinos. Los índices de masculinidad indican una alta simetría sexual ( $M_i$  entre 0,47 y 0,49). Los resultados obtenidos nos dan las pautas para futuras actuaciones de gestión, como la conveniencia de podas, el aclareo o la recogida selectiva de piñas.

**Palabras clave:** producción de estróbilos, simetría sexual, variabilidad clonal, diversidad genética.

### **Abstract**

#### **Analysis of the parental reproductive balance in a *Pinus pinaster* Ait. seed orchard**

The number of female and male strobili were assessed for 22 clones in a *Pinus pinaster* Ait. seed orchard along four consecutive years. The data showed that differences for the production of both female and male strobili among clones were very large and statistically significant for all years examined. Differences in female strobili production among clones were more variable than in male strobili. Pearson's correlations between years were highly significant. Both correlations between female and male flowers were moderate and positive for all 4 years. Broad-sense heritabilities for flower production on an individual ramet basis varied from 0.14 to 0.50, while those on a clone-mean basis were much higher, from 0.39 to 0.82. Maleness index indicated high sexual symmetry ( $M_i = 0.47-0.49$ ). The results are useful for planning further activities in the seed orchard such as pruning, roguing or selective cone harvest.

**Key words:** strobilus production, sexual symmetry, clonal variation, genetic diversity.

---

### **Introducción**

*Pinus pinaster* Ait. es una de las especies de mayor importancia forestal en Galicia y la más utilizada en repoblaciones forestales en esta región (Álvarez *et al.*, 2001). Por ello, es una de las especies prioritarias dentro del Plan de Mejora Genética Forestal desarrollado en el CIFA Lourizán. El fin último de dicho programa es la obtención de material forestal de reproducción que mejore la calidad de las plantaciones en caracteres de crecimiento, rectitud de fustes y ramificación.

Actualmente existen dos huertos semilleros de *Pinus pinaster* de la procedencia costera «1a-Noroeste litoral» instalados en Galicia (Fernández-López, 2001), uno de ellos registrado como material de base (BOE nº 23, 26-1-2001) y en producción comercial desde 1995. El objetivo fundamental de estos huertos es obtener semilla de calidad superior a la de otras masas semilleras de la especie, aprovechando los avances del programa de mejora. La calidad de la semilla obtenida depende, entre otras cosas, de la superioridad genética de los árboles *plus* representados en estos huertos (actualmente en fase de evaluación a partir de los ensayos de progenie), del grado de parentesco entre dichos árboles y de la capacidad de combinación entre ellos.

---

\* Autor para la correspondencia: emerlo.cifal@siam-cma.org  
Recibido: 13-01-04; Aceptado: 04-05-04.

En un huerto semillero ideal, la cosecha de semilla debería estar formada por una representación equilibrada de todos los clones. Sin embargo, la realidad se desvía bastante de las expectativas potenciales en el huerto. Para que exista una uniformidad genética completa en la cosecha, es necesario que se cumplan numerosos requisitos: igual producción de gametos masculinos y femeninos por cada clon del huerto; igual viabilidad de los gametos producidos; coincidencia de fenología reproductiva de todos los clones; intercrucamiento al azar de gametos entre todas las posibles parejas de clones; ausencia de polen externo (Askew, 1985). Además debería haber uniformidad en el nivel de fecundación de óvulos, viabilidad de los embriones, etc.

Estas condiciones nunca se cumplen de manera homogénea y por ello es necesario incluir en las labores de gestión de huertos semilleros, el control de los clones representados en la cosecha de semilla. La diversidad genética de la semilla puede estimarse mediante la utilización de marcadores moleculares, pero es un método muy costoso. Existen otras técnicas para estimar la contribución clonal en la cosecha, basadas en el seguimiento de la fenología reproductiva de los clones (Askew and Blush, 1990), seguimiento de la producción clonal de estróbilos masculinos y femeninos (Kang, 2000), de la producción de piña y semilla (El Kassaby *et al.*, 1989; Griffin, 1982; Matziris, 1998; Reynolds and El Kassaby, 1990), combinando la fenología y la producción de estróbilos (Burczyk and Chalupka, 1997; Xie *et al.*, 1994), o incluyendo además la distancia entre ramets (Gömöry *et al.*, 2003; Gömöry *et al.*, 2000).

El aporte de gametos masculinos y femeninos es, para muchos autores, el factor determinante de la participación clonal en la cosecha, y el que más puede alterar el balance parental (Kang, 2000; Xie *et al.*, 1994) sobre todo en aquellos huertos con una buena sincronización de la fenología reproductiva (Askew, 1988), y ausencia de polen externo (Kjaer, 1996). Así, una producción irregular de estróbilos provoca una disminución del número efectivo de clones en la cosecha (Kang and Lindgren, 1998) y como consecuencia una disminución de la diversidad genética en las plantaciones (Lindgren *et al.*, 1996).

Los objetivos de este trabajo son estimar el grado de representación clonal en la semilla producida en el huerto semillero de *Pinus pinaster* durante cuatro años consecutivos a partir de la producción de estróbilos femeninos y masculinos de cada clon y analizar la variabilidad de la contribución clonal en la cosecha para los distintos años. Los resultados de este estudio

servirán para determinar variables de selección en futuras actuaciones de aclareo del huerto y proponer técnicas de gestión que permitan homogeneizar o incluso aumentar la diversidad genética de las cosechas anuales de semilla del huerto.

## Material y Métodos

El presente trabajo se desarrolló sobre un huerto semillero clonal de *Pinus pinaster* localizado cerca de Santiago de Compostela en el concello de Boqueixón (A Coruña) en Galicia. Fue instalado en 1990 por el CIFA Lourizán (Xunta de Galicia) y está constituido por 116 clones que representan una colección de árboles *plus* seleccionados en masas forestales de la región de procedencia «1-a Noroeste Litoral». Los árboles fueron reproducidos por injerto e instalados en 10 bloques completos con un marco de plantación de 5 x 5 m. Cada bloque contiene un único ramet por clon y los clones se distribuyeron al azar con la restricción de que dos ramets de un mismo clon estuvieran a más de 20 m de distancia. En enero de 1997, un año antes de iniciar el estudio, se realizó un descabezado o trasmoche de los árboles. La poda consistió en eliminar la parte de copa por encima del tercer verticilo dejando la altura de copa reducida a 3 m aproximadamente. Al inicio del estudio los árboles tenían una media de 6 años de edad desde el injerto.

Durante cuatro años consecutivos (1998, 1999, 2000 y 2001) se realizó el seguimiento de la producción de estróbilos femeninos y masculinos por árbol en 22 clones seleccionados al azar en 4-5 repeticiones del huerto.

El número de estróbilos femeninos por ramet se estimó a partir del conteo realizado por tres personas girando alrededor de la copa y aproximando el resultado a la media de los tres. Si la diferencia entre dos conteos variaba más del 10% se repetía el proceso.

El número de brotes con estróbilos masculinos por árbol se estimó los tres últimos años (1999, 2000 y 2001) realizando el conteo en la mitad de copa desde una misma posición fija y multiplicando por dos.

Durante el periodo de seguimiento no se realizaron podas de conformación de copa en los ramets seleccionados.

## Análisis estadístico

Se analizó por separado la producción de estróbilos masculinos y estróbilos femeninos para cada año. El

modelo de análisis utilizado fue un modelo general lineal de análisis de varianza que incluye sólo el factor clon (El Kassaby *et al.*, 1989; Kang, 2000; Matziris, 1993) definido por el modelo:

$$Y_{ij} = \mu + c_i + e_{ij}$$

siendo  $Y_{ij}$  el valor observado en el ramet  $j$  del clon  $i$ ,  $\mu$  el valor medio de la variable,  $c_i$  el efecto del clon  $i$  y  $e_{ij}$  el error del modelo. El factor bloque se excluye del modelo tras comprobar que no tiene influencia significativa.

Antes del análisis se realizó una transformación de los datos originales mediante raíz cuadrada para normalizar la distribución de los residuos (Snedecor and Cochran, 1967). La heredabilidad en sentido amplio se estimó sobre la base de ramets individuales ( $H_i^2$ ) y sobre la base de medias clonales ( $H_c^2$ ) según las fórmulas descritas a continuación (Matziris, 1993):

$$H_i^2 = \frac{\sigma_c^2}{\sigma_c^2 + \sigma_e^2}$$

$$H_c^2 = \frac{\sigma_c^2}{\sigma_c^2 + \sigma_e^2/k}$$

donde  $\sigma_c^2$  es la varianza genética clonal,  $\sigma_e^2$  es la varianza entre ramets dentro de clones y  $k$  es el coeficiente del componente de la varianza:  $k = 1/(c-1)(N - \sum n_i^2/N)$ , siendo  $c$  el número de clones,  $n_i$  el número de ramets del clon  $i$  y  $N$  el número total de ramets.

Se analizó la correlación fenotípica de la producción de estróbilos por ramet entre años. Se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson y de Spearman. El coeficiente de Spearman es especialmente útil entre dos variables que no son normales (Snedecor and Cochran, 1967). Por otro lado cada año se analizó la correlación fenotípica entre la producción masculina y femenina por árbol, calculando los dos coeficientes igual que en el caso anterior.

Se calculó la correlación genética entre la producción media clonal de estróbilos en distintos años. Se utilizó la fórmula de correlación genética descrita por Burdon (1977):

$$r_B = \frac{r_{xy}}{H_{c(x)} \cdot H_{c(y)}}$$

donde  $r_{xy}$  es la correlación fenotípica clonal entre años (coeficiente de correlación de Pearson) y  $H_{c(x)}$  y  $H_{c(y)}$  son la raíz cuadrada de la heredabilidad en base a las medias clonales en cada año.

## Balance de participación clonal

El balance de participación clonal femenina y masculina en la cosecha se analizó anualmente a partir de la curva de contribución acumulada (Griffin, 1982). Para obtener dicha curva se calculó el porcentaje de estróbilos masculinos y femeninos que aportó respectivamente cada clon a la producción total anual. Posteriormente se ordenaron los clones de mayor a menor producción y se sumaron correlativamente los porcentajes. La curva es la representación de la contribución acumulada referida a la proporción de clones que la aporta. En el caso ideal de panmixia todos los clones aportarían el mismo número de gametos masculinos y femeninos y se obtendría una diagonal. El mayor o menor grado en que la curva se aparta de la diagonal representa el desequilibrio de participación clonal. Generalmente en la bibliografía se utilizan como valores estimativos de la diversidad clonal el porcentaje de clones necesario para conseguir el 50% de la cosecha, o bien el porcentaje de cosecha aportado por el 50% de los clones.

## Índice de masculinidad

El índice de masculinidad ( $M_i$ ) se aplicó para determinar si existía deficiencia de estróbilos masculinos y estimar la proporción de participación paterna de cada uno de los clones en la cosecha (Kang and Lindgren, 1999). Este índice, descrito por Lloyd (1979), se define según la fórmula:

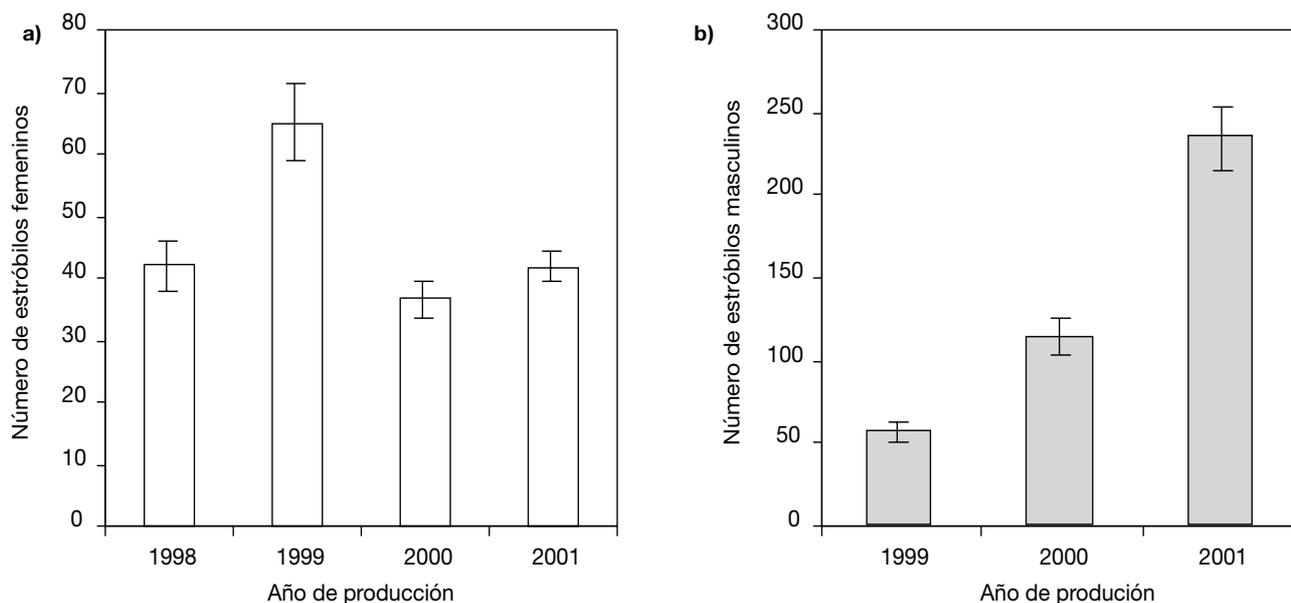
$$M_i = \frac{pm_i}{pf_i + pm_i}$$

siendo  $pm_i$  y  $pf_i$  respectivamente la participación masculina y femenina del clon  $i$  respecto al total de estróbilos de cada sexo para el conjunto de clones. Este índice varía de 0 a 1. Un alto valor de  $M_i$  indica que el clon  $i$  contribuye más al proceso reproductivo como parental paterno que como materno, respecto a los otros clones del huerto (Burczyk and Chalupka, 1997). Para llevar a cabo este estudio se asumió que todos los clones producían la misma cantidad de polen y de óvulos por estróbilo y que en todos los estróbilos femeninos se fecundaban el mismo número de óvulos.

## Resultados

### Producción de estróbilos

Los valores medios anuales de estróbilos femeninos por árbol fueron similares para tres de los cuatro



**Figura 1.** Producción media anual de estróbilos femeninos por ramet (a) y masculinos por ramet (b) durante cuatro y tres años consecutivos respectivamente, en 22 clones de un huerto semillero de *Pinus pinaster*. Las líneas sobre las barras representan el error estándar.

años de estudio (1998, 2000, y 2001) con un valor cercano a 40 estróbilos/árbol. En 1999 se obtuvo una producción media significativamente superior alcanzando un valor medio de 64,9 estróbilos por árbol (Figura 1). El coeficiente de variación obtenido para cada año fue disminuyendo de 0,98 en 1998 a 0,59 en 2001.

La producción media anual de brotes con estróbilos masculinos aumentó exponencialmente de 57,53 brotes/árbol en 1999 a 234,16 brotes/árbol en 2001. El coeficiente de variación de la producción de brotes masculinos permaneció alto los tres años de estudio con una ligera tendencia a reducirse con el paso del tiempo pasando de 0,99 a 0,88.

## Correlación

La producción de estróbilos por ramet entre años estuvo significativamente y positivamente correlacionada tanto para los masculinos como para los femeninos. En el caso de estróbilos femeninos las correlaciones entre años consecutivos eran altas (salvo en los dos últimos años) y fueron disminuyendo paulatinamente entre bienios y trienios (Tabla 1). Para estróbilos masculinos las correlaciones fueron altas en años consecutivos y bienios. En 1999 se obtuvieron coeficientes de Pearson menores que en otros

años, aunque los índices de Spearman continuaron siendo altos.

La producción anual de estróbilos femeninos por árbol estuvo correlacionada de forma altamente significativa y positiva con la producción de estróbilos masculinos. Los coeficientes de Pearson y Spearman fueron similares (Tabla 2). Estos resultados reflejan que, en general, los árboles buenos productores de estróbilos femeninos lo son también de estróbilos masculinos, aunque la tendencia disminuye con el paso de los años según muestra la disminución de los coeficientes de correlación.

**Tabla 1.** Correlación entre años de la producción de estróbilos femeninos y masculinos por ramet. En la tabla se representan bajo la diagonal los coeficientes de correlación de Pearson y sobre la diagonal los coeficientes de Spearman

	Año	1998	1999	2000	2001
Femeninos (n = 96)	1998		0,85	0,70	0,42
	1999	0,80		0,85	0,49
	2000	0,64	0,83		0,52
	2001	0,39	0,36	0,45	
Masculinos (n = 69)	1999			0,85	0,81
	2000		0,68		0,85
	2001		0,63	0,88	

El valor «n» representa el número de árboles. En todos los casos la correlación fue significativa al 99%.

**Tabla 2.** Coeficientes de correlación de Pearson ( $r_p$ ) y de Spearman ( $r_s$ ) entre la producción anual de estróbilos femeninos y masculinos por árbol durante tres años consecutivos

	1999 (n = 75)	2000 (n = 102)	2001 (n = 108)
$r_p$	0,65*	0,55*	0,51*
$r_s$	0,77*	0,75*	0,63*

\* Representa un nivel de significación con  $P < 0,001$ .

### Análisis de varianza y heredabilidad

Se observaron diferencias significativas entre clones en la producción de estróbilos femeninos en los cuatro años de estudio (Tabla 3). En el caso de estróbilos femeninos la varianza entre clones representó un 80 a 83% ( $p < 0,001$ ) sobre el total. Los índices de heredabilidad clonal fueron altos y se estabilizaron en los tres últimos años. El ranking de producción clonal de estróbilos femeninos varió mucho en 1999 respecto a los otros años. Se observaron unos valores moderados de heredabilidad en base a los ramets individuales y relativamente altos en base a las medias clonales. Esto último indica que es posible obtener una

alta ganancia por selección en producción de estróbilos femeninos.

En 1999 la producción de estróbilos masculinos no mostró diferencias significativas entre clones (Tabla 4). Ese año fue el de mayor floración femenina y menor masculina. En 2000 ya se observaron diferencias significativas entre clones y en 2001 se alcanzó un nivel de significación similar al obtenido con estróbilos femeninos. Los dos primeros años, el grado de variación en la producción de estróbilos masculinos fue mayor dentro de clones que entre clones. El porcentaje de varianza entre clones osciló de 39 a 59%. El ranking clonal de producción de estróbilos para los distintos años permaneció relativamente estable. Los valores de heredabilidad tanto individual como clonal fueron menores que para los estróbilos femeninos aunque con tendencia a aumentar (Tabla 4).

Se diferenciaron tres grupos de clones por su producción de estróbilos: el primer grupo, denominados altos productores, mantuvieron una producción superior a la media durante los cuatro años consecutivos; los bajos productores mantuvieron una producción de estróbilos inferior a la media anual los cuatro años consecutivos y los clones intermedios tuvieron una producción

**Tabla 3.** Análisis de varianza y valores de heredabilidad individual y clonal de la producción de estróbilos femeninos durante cuatro años consecutivos, en 22 clones de un huerto semillero de *Pinus pinaster*

Fuente de variación	Estróbilos femeninos							
	1998		1999		2000		2001	
	GI	CM	GI	CM	GI	CM	GI	CM
Entre clones	21	30,67*	21	45,26*	21	20,42*	21	13,26*
Dentro de clones	78	7,12	80	8,41	80	3,56	78	2,37
$H^2_{\text{individual}}$	0,42		0,48		0,50		0,50	
$H^2_{\text{clonal}}$	0,76		0,81		0,82		0,82	

\* Representa un nivel de significación con  $P < 0,001$ .

**Tabla 4.** Análisis de varianza y valores de heredabilidad individual y clonal de la producción de estróbilos masculinos durante tres años consecutivos, sobre una muestra al azar de 22 clones de un huerto semillero de *Pinus pinaster*

Fuente de variación	Estróbilos masculinos					
	1999		2000		2001	
	GI	CM	GI	CM	GI	CM
Entre clones	21	25,71 (ns)	21	54,21*	21	110,93**
Dentro de clones	60	15,68	80	27,23	86	44,98
$H^2_{\text{individual}}$	0,14		0,17		0,23	
$H^2_{\text{clonal}}$	0,39		0,49		0,59	

\* ns: no significativo. \* Representa un nivel de significación con  $P < 0,05$ . \*\* Representa un nivel de significación con  $P < 0,01$

**Tabla 5.** Correlación de la producción clonal de estróbilos entre años. Se representan los coeficientes de correlación de Pearson bajo la diagonal y los coeficientes de correlación genética sobre la diagonal

	Año	1998	1999	2000	2001
Femeninos (n = 22)	1998		ns	0,96*	1,10*
	1999			ns	ns
	2000	0,76	ns		0,98**
	2001	0,87	ns	0,89	
Masculinos (n = 22)	1999			2,01**	1,33*
	2000		0,88		1,25*
	2001		0,64	0,67	

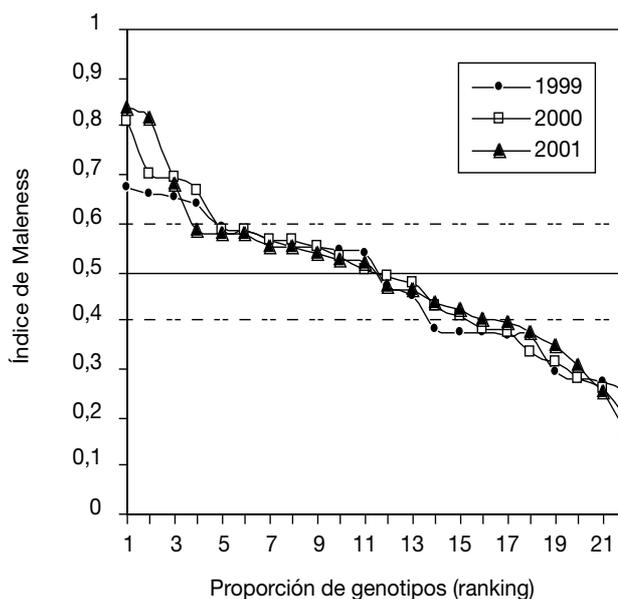
\* Representa un nivel de significación con  $P < 0,01$ . \*\* Representa un valor de significación con  $P < 0,001$ .

variable entre años. En cuanto a la producción de estróbilos femeninos un 27% de los clones se clasificaron como altos productores, un 36% como bajos productores y un 36% como productores intermedios. En cuanto a la producción masculina un 32% de los clones se clasificaron como altos productores, un 36% como bajos productores y un 32% como productores intermedios.

Los años de floración moderada (1998, 2000 y 2001) estuvieron positiva y significativamente correlacionados, con altos índices de correlación fenotípica y genética (Tabla 5). La ausencia de correlación entre 1999 y cualquier otro año en la producción clonal de estróbilos femeninos indica una variación del ranking clonal en ese año respecto a los otros años. Esto sugiere que la abundancia de floración altera la composición genética de la cosecha del huerto. La producción clonal de estróbilos masculinos entre años estuvo correlacionada significativamente con valores fenotípicos moderados y coeficientes altos de correlación genética (Tabla 5).

### Índice de masculinidad

La contribución materna y paterna estuvo muy equilibrada en el conjunto de clones del estudio (Figura 2). El índice medio de masculinidad se aproximó a 0,5 conforme aumentó la edad de los árboles (0,47, 0,48 y 0,49 en 1999, 2000 y 2001 respectivamente). En 1999 el valor más alto de  $Mi$  es de 0,67 y el menor de 0,25. Para el 2000 el rango de variación de este índice osciló entre el 0,81 y 0,19. En el 2001 el rango de variación fue de 0,83 y 0,17. El porcentaje de clones con valores del índice cercanos a 0,5 (entre 0,40 y 0,60) fue aumentando



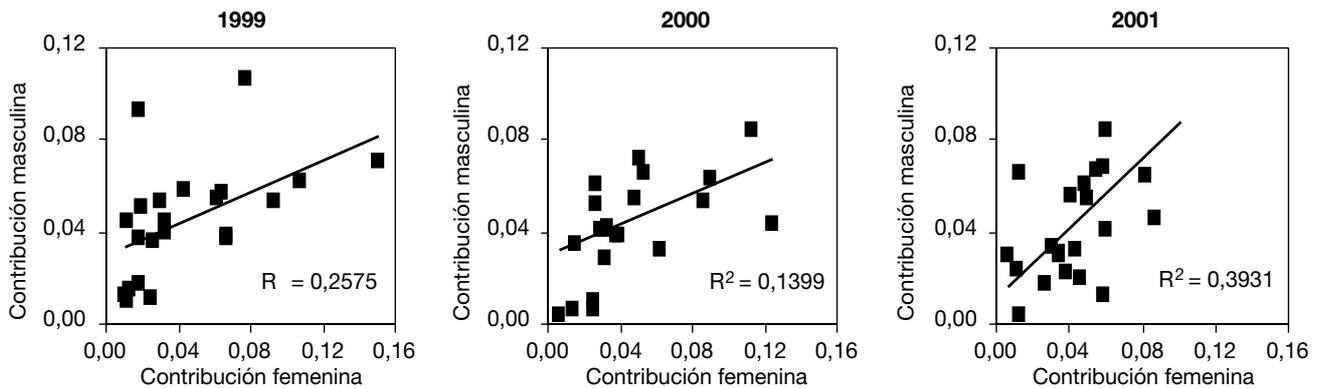
**Figura 2.** Índices de masculinidad ( $Mi$ ) calculados individualmente para cada clon durante tres años consecutivos. La línea horizontal gruesa separa los clones con mayor participación masculina ( $Mi > 0,5$ ) de los de mayor participación femenina ( $Mi < 0,5$ ). Las líneas discontinuas enmarcan los clones con una moderada simetría sexual ( $Mi$  entre 0,4 y 0,6).

do con el paso de los años desde un 41% en 1999, 50% en 2000 y un 60% en 2001. Al mismo tiempo, los valores extremos se acentuaron más y el mayor índice de masculinidad lo obtuvo el mismo clon los tres años consecutivos. Esto implica que existe una tendencia clonal natural a producir un mayor número de estróbilos de un determinado sexo. Se observó además una correlación positiva significativa del índice de masculinidad clonal entre los dos últimos años (datos no presentados).

La regresión entre la contribución clonal anual de estróbilos masculinos y la de femeninos (Figura 3) fue estadísticamente significativa en los tres años ( $F = 14,74$ ;  $P < 0,001$ ) aunque con un coeficiente de determinación moderado (0,25 en 1999, 0,13 en 2000 y 0,39 en 2001). En el mejor de los casos es posible explicar el 39% del total de variación en la contribución clonal de estróbilos masculinos a partir de la contribución de estróbilos femeninos.

### Balance parental

La diversidad clonal de los gametos femeninos durante el proceso reproductivo aumentó anualmente. Así las curvas de distribución acumulada disminuyeron su distorsión y se hicieron más lineales (Figura 4a). Sin embargo,



**Figura 3.** Regresión entre la contribución clonal femenina y masculina durante tres años consecutivos de 22 clones de un huerto semillero de *Pinus pinaster*.

la diversidad clonal de los estróbilos masculinos fue similar tres años consecutivos y la distorsión de las curvas permaneció constante desde 1999 a 2001 (Figura 4b).

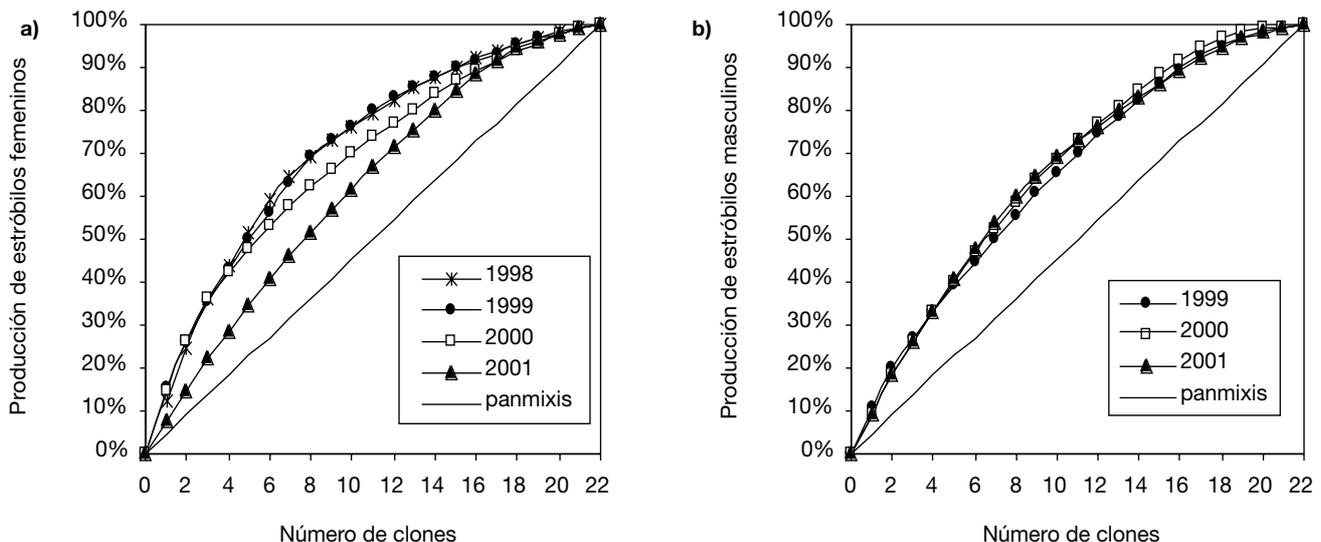
Se observó un alto nivel de participación clonal en la producción de estróbilos femeninos y masculinos en el huerto semillero de *Pinus pinaster* durante los 4 años de este estudio. El 50% de los estróbilos femeninos, lo aportó entre un 27 y 30% de los clones; asimismo el 50% de los clones produjo entre el 64 y 82% de los estróbilos femeninos.

## Discusión

Se puede considerar que el huerto semillero de Serguide ha alcanzado su estabilidad en la producción de

estróbilos femeninos aunque con la posibilidad de tener años intercalados de producción excepcional. Los resultados tanto a nivel productivo como de participación clonal y simetría sexual reflejaron un comportamiento adulto del huerto en el proceso reproductivo.

El control genético es mayor en la producción de estróbilos femeninos que en masculinos. Aún así, los valores de heredabilidad de producción de estróbilos femeninos en base a ramets individuales fueron moderados (Tabla 3). En un huerto semillero de brinzales de *Pinus pinaster* de la misma edad, se observan valores de heredabilidad de producción de piñas que oscilan entre 0,6 y 0,8 (Destremau, 1978). En *Pinus nigra*, la heredabilidad en la producción de estróbilos femeninos oscila de 0,61 a 0,71 (Matziris, 1993). El control genético fue similar al obtenido en huertos se-



**Figura 4.** Balance parental de participación femenina (a) y masculina (b) en el proceso de floración de 22 clones de un huerto semillero de *Pinus pinaster*, durante cuatro y tres años consecutivos respectivamente.

milleros clonales de *Pinus elliotti* de 14 a 17 años de edad ( $h^2=0,50$ , Varnell *et al.*, 1967) y en huertos de *Pinus taeda* de más de 9 años (Byram *et al.*, 1986). El aumento de la heredabilidad con el paso de los años (Tabla 3) no coincide con lo observado en huertos de *Pinus densiflora* donde la heredabilidad disminuye de 0,41 a 0,22 entre 7 y 10 años (Kang, 2000) o de *Pinus taeda* donde la heredabilidad desciende de 0,56 a 0,46 entre 9 y 20 años (Byram *et al.*, 1986).

En el caso de estróbilos masculinos se observó una relación positiva entre la heredabilidad y el nivel de productividad de estróbilos (Tabla 4). La influencia del nivel de producción en los índices de heredabilidad ha sido descrita para la floración femenina en un huerto semillero de *Pinus densiflora* (Kang, 2000). Sobre un huerto semillero de *Picea abies*, también se observa que en años de floración abundante la variación genética disminuye e incluso deja de ser significativa para estróbilos masculinos (Kjaer, 1996). Asimismo en *Pseudotsuga menziesii* la heredabilidad de la producción de piñas disminuye con una alta fructificación (El Kassaby and Cook, 1994). El hecho de que los valores de heredabilidad para la floración masculina fueran mucho más bajos indica que el control genético es menor y por tanto no sería conveniente utilizar la producción de estróbilos masculinos en la selección clonal para futuras actuaciones de aclareo o instalación de nuevos huertos.

Algunos autores muestran que las variaciones clonales en la producción de estróbilos pueden verse influenciadas por diferencias entre ramets distintas a la genética, como la edad, el tamaño o incluso el tipo de reproducción vegetativa (Destremau, 1978; Matziris, 1993). El análisis llevado a cabo en este trabajo no ha tenido en cuenta las posibles diferencias de características dasométricas o de edad existentes entre ramets. La edad de los ramets seleccionados variaba de 4 a 8 años desde la fecha de injertado, pudiendo existir hasta tres años de diferencia entre ramets de un mismo clon. Por ello, se realizó un análisis paralelo (datos no presentados) incluyendo dos covariables en el modelo: el diámetro del árbol en el año 2000 y el año del injerto. En el caso de la floración femenina se observó una influencia significativa del diámetro todos los años y ninguna influencia del año de injertado. Al incluir las covariables en el modelo de análisis, desapareció el efecto significativo del clon ( $P > 0,05$ ) en 1999 en la producción de estróbilos femeninos y disminuyó la heredabilidad hasta 0,13. Esto indica que en el año de mayor floración, el des-

arrollo del árbol influyó más que el carácter clonal en la producción de estróbilos femeninos. En el resto de años, se mantuvo un efecto clonal significativo y unos valores de heredabilidad similares a los obtenidos sin las covariables. En el caso de la floración masculina, con este modelo de análisis se obtuvo un efecto clonal significativo en 1999, que anteriormente no había sido posible observar (Tabla 4). Asimismo, aumentaron los valores de heredabilidad individual y clonal, principalmente los años de menor producción de estróbilos. Tanto el diámetro del árbol como el año de injertado tuvieron un efecto positivo significativo en este caso. En los tres años de estudio, la variación observada dentro de clones fue menor que con el análisis sin covariables. Se comprobó que existía una correlación significativa positiva entre el diámetro del árbol y el número de estróbilos, así como un efecto clonal significativo en el diámetro del árbol. Para futuros estudios deberán tenerse en cuenta la inclusión de alguna covariable asociada al tamaño del árbol en el modelo de análisis.

La producción media de estróbilos femeninos en 1998, 2000 y 2001 (Figura 1) triplicó a la obtenida en huertos semilleros de seis años de edad de esta misma especie, con una producción media de 2 y 16 estróbilos femeninos por árbol (Philippe, 1997). La alta producción de 1999 se considera una producción excepcional (común en esta especie cada 2-3 años) que pudo deberse a factores climáticos (Miguel-Pérez *et al.*, 2002), fenómenos de vecería, o incluso como consecuencia de las podas intensivas realizadas en 1997 (Merlo, 2000 datos no publicados). La correlación positiva de la producción de estróbilos por ramet entre años consecutivos (Tabla 1), no concuerda con la alternancia anual de alta y baja producción que se constató en huertos de *Pinus nigra* (Matziris, 1993) y *Pseudotsuga menziesii* (El Kassaby *et al.*, 1989)). Los niveles productivos de semilla descritos para esta especie en la fase adulta oscilan entre 40 y 135 kilogramos de semilla por hectárea (Alía *et al.*, 1999). Entre 2000 y 2003 la producción de semilla en el huerto se aproximó 50 kilogramos por hectárea (Xunta de Galicia, datos no publicados), cumpliendo por tanto las expectativas de producción para el material de base de esta especie.

La participación clonal en el proceso reproductivo fue alta (Figura 4) y superó a la obtenida en huertos semilleros de diversas especies con edades entre 10 y 14 años, donde el 50% de los estróbilos es aportado por el 25% de los clones y el 50% de los clones más

productivos consiguen el 80-90% del total de estróbilos de ambos sexos (Jonsson *et al.*, 1976). Por otro lado, fue comparable a la obtenida en un huerto semillero adulto de *Pinus sylvestris* con 17 y 19 años de edad (Burczyk and Chalupka, 1997). La ausencia de correlación de la contribución clonal femenina de 1999 con el resto de los años (Tabla 5), coincide con lo observado en un huerto semillero de *Pinus nigra* los años de floración extrema (excesiva o muy escasa) frente a los años de producción moderada (Matziris, 1993). Así, con la abundancia de floración se alteró el ranking clonal pero se mantuvo la proporción de clones representados y por tanto el balance parental en la cosecha del huerto (Figura 4), en contra de lo observado en un huerto semillero clonal de *Pinus densiflora* con 17 y 20 años (Kang, 2000) y en un banco clonal de *Pinus koraiensis* con 8 a 10 años de edad (Kang, 2000; Kang and Lindgren, 1999) donde el alto nivel de fructificación perjudica a la variabilidad clonal de la cosecha. Tampoco se observó un efecto positivo de la floración en la participación clonal según se observa en un huerto semillero de *Picea abies* (Kjaer, 1996). En nuestro caso el aumento de producción de estróbilos se produjo de forma equilibrada para todos los clones. Algunos autores sugieren que la mayor o menor participación clonal puede venir asociada a diferencias de tamaño de copa por un mayor potencial de crecimiento o vigor del clon (Gomory *et al.*, 2000; Kjaer, 1996). En nuestro caso las diferencias de altura de copa entre clones se han reducido gracias a las podas de conformación realizadas en 1997 antes de la ejecución de este estudio y por tanto se sugiere que dicha práctica podría ayudar a controlar el balance parental reproductivo del huerto. Por otro lado los datos de diámetro del árbol en el año 2000 muestran que sólo un 20% de la variación del diámetro está asociada a una variación clonal y casi un 80% de la variación se debe a diferencias dentro de clones (datos no presentados).

Los niveles de producción de estróbilos masculinos son altos y coinciden con los observados en huertos de *Pinus densiflora* (Kang, 2000) y *Picea glauca* (Schoen *et al.*, 1986). El nivel de polen producido en el huerto permite una correcta polinización de los óvulos como así se aprecia en los porcentajes de semilla llena cercanos al 90% (Torres, 2003) obtenidos sobre la piña recogida en enero de 2001, fruto de la polinización llevada a cabo en 1999. Hay que tener en cuenta que estos niveles descienden mucho si las condiciones ambientales durante el proceso de polinización son llu-

viosas y no permiten la suspensión de la nube de polen. El aumento exponencial de la producción de polen en el huerto indica un aumento de la emisión de brotes secundarios portadores de estróbilos masculinos en la copa, probablemente debido a un mayor nivel de sombra, como consecuencia de la poda llevada a cabo en 1997 que ha acelerado la tangencia de copas entre los árboles del huerto. Schoen *et al.* (1986) obtienen correlaciones positivas entre la altura del ramet y la producción de estróbilos masculinos en un huerto semillero de *Picea glauca* y muestran que la variación observada entre clones en la producción de estróbilos masculinos está asociada a la variación en altura. En nuestro caso, el paso de los años ha repercutido positivamente en la producción de estróbilos masculinos. Sin embargo, se ha comprobado que la correcta actuación con podas puede equilibrar la emisión de brotes con conos polínicos y revertir positivamente en el aumento de estróbilos femeninos (Merlo, 2002; datos no publicados).

Los valores clonales del índice de masculinidad son similares a los obtenidos en otras especies como *Pinus densiflora* ( $M_i$  entre 0,78 y 0,22; (Kang, 2000). Este índice es muy práctico porque nos permite, con un solo valor, caracterizar el aporte gamético masculino y femenino del clon. Burczyk and Chalupka (1997) sugieren que existe un control genético de éste índice y lo convierten en un valor muy interesante a tener en cuenta en futuras actuaciones de aclareo o gestión intensiva. En nuestro huerto se observó que los índices clonales de masculinidad obtenidos estaban muy correlacionados positiva y significativamente entre años (datos no presentados). Los clones con un valor alto de  $M_i$  tienen mayor probabilidad de polinizar al resto y por tanto su contribución gamética en la semilla será alta, incluso si no se recoge la piña de ese clon. Además un alto valor de este índice aumenta el riesgo de autopolinización y por tanto de problemas de endogamia en la semilla. Por otro lado, aquellos clones con un índice  $M_i$  muy bajo, apenas intervienen en el proceso de fecundación de óvulos y por tanto la representación de estos en la cosecha dependerá directamente del aporte materno, es decir del número de piñas cosechadas en dicho clon. Basándonos en lo sugerido por Kang (2000) es posible aumentar la diversidad genética de la semilla del huerto realizando la recogida de piñas de manera selectiva. Proponemos utilizar el valor del índice de masculinidad para calcular la proporción de piñas que debe recogerse de cada clon.

La heredabilidad en sentido amplio sobre la base de medias de clones es aplicable para estimar la ganancia por selección clonal, para establecer un nuevo huerto semillero o aclarar el huerto existente (Matziris, 1994). Los altos valores de heredabilidad de la producción de estróbilos femeninos Tabla 3 implican una alta ganancia en la producción de piña tras la selección clonal y promueven la utilización de los índices de producción de estróbilos femeninos como variable de selección junto con las de crecimiento y forma. En el caso de clones de alta superioridad en crecimiento y forma y baja producción de estróbilos se sugiere la aplicación de técnicas de inducción floral para aumentar su contribución en la cosecha.

## Conclusión

A partir de este estudio se ha podido evaluar la participación clonal en el proceso reproductivo del huerto y su estabilidad en el tiempo. La contribución gamética femenina es alta y aumenta con el paso de los años. Sin embargo, los parentales maternos más representados varían de un año a otro y especialmente los años de floración excepcional. El balance parental masculino mantiene un nivel de participación clonal constante y son prácticamente siempre los mismos clones los más representados en la contribución gamética masculina del huerto. El alto control genético demostrado en la producción de estróbilos femeninos permite optimizar la selección de clones en futuras actuaciones del huerto, mediante la inclusión de dicha variable en el proceso de selección. El índice de simetría sexual podría ser utilizado para proponer la recogida selectiva de piñas y aumentar la diversidad genética representada en la cosecha. Las actuaciones de poda e inducción floral también pueden alterar el balance parental representado en la cosecha de semilla.

## Agradecimientos

Este trabajo se ha desarrollado en el Departamento de Producción Forestal del Centro de Investigaciones Forestales de Lourizán, dentro del proyecto INIA SC99-028. La labor de equipo llevada a cabo en la recogida de datos del huerto ha sido fundamental para el desarrollo del estudio. Se agradece al Dr. Rafael Zas su lectura exhaustiva y las correcciones aportadas al texto.

## Bibliografía

- ALÍA R., GALERA R., MARTÍN S., AGÚNDEZ D., MIGUEL J.D., IGLESIAS S., 1999. Mejora genética y masas productoras de semilla de los pinares españoles. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Monografías INIA Forestal No.1. Madrid, 239 pp.
- ÁLVAREZ P., ROSA E., VEGA P., VEGA G., RODRÍGUEZ R., 2001. Viveros forestales y uso de planta forestal en repoblaciones en Galicia. III Congreso Forestal Español, Granada, 25-28 Sept. Vol. III, pp. 232-238.
- ASKEW G.R., 1985. Quantifying uniformity of gamete production in seed orchards. *Silvae Gen* 34(4-5), 186-188.
- ASKEW G.R., 1988. Estimation of gamete pool compositions in clonal seed orchards. *Silvae Gen* 37(5-6), 227-232.
- ASKEW G.R., BLUSH T.D., 1990. Short note: an index of phenological overlap in flowering for clonal conifer seed orchards. *Silvae Gen* 39(3-4), 168-171.
- BURCZYK J., CHALUPKA W., 1997. Flowering and cone production variability and its effect on parental balance in a Scots pine clonal seed orchard. *Ann Sci For* 54(2), 129-144.
- BURDON R.D., 1977. Genetic correlation as a concept for studying genotype-environment interaction in forest tree breeding. *Silvae Gen* 26(5-6), 168-175; 31 ref.
- BYRAM T.D., LOWE W.J., MCGRIFF J.A., 1986. Clonal and annual variation in cone production in loblolly pine seed orchards. *For Sci* 32(4), 1067-1073.
- DESTREMAU D.X., 1978. Flowering variability in a maritime pine seedling seed orchard. *Annales de Recherches Sylvicoles, AFOCEL*, 1978, 7-21.
- EL KASSABY Y.A., FASHLER A.M.K., CROWN M., 1989. Variation in fruitfulness in a Douglas-fir seed orchard and its effect on crop-management decisions. *Silvae Gen* 38(3-4), 113-121.
- EL KASSABY Y.A., COOK C., 1994. Female reproductive energy and reproductive success in a Douglas-fir seed orchard and its impact on genetic diversity. *Silvae Gen* 43(4), 243-246.
- FERNÁNDEZ-LÓPEZ J., 2001. El programa de genética forestal del Centro de Investigaciones Forestales de Lourizán. *Actas de III Congreso Forestal Español*. Granada. Ponencias Invitadas, 12 pp.
- GÖMÖRY D., BRUCHANIK R., PAULE L., 2000. Effective population number estimation of three Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seed orchards based on an integrated assessment of flowering, floral phenology, and seed orchard design. *For Gen* 7(1), 65-75.
- GÖMÖRY D., BRUCHANIK R., LONGAUER R., 2003. Fertility variation and flowering asynchrony in *Pinus sylvestris*: consequences for the genetic structure of progeny in seed orchards. *For Eco Man* 174, 117-126.
- GRIFFIN A.R., 1982. Clonal variation in radiata pine seed orchards. I. Some flowering, cone and seed production traits. *Aus For Res* 12(4), 295-302.
- JONSSON A., EKBERG I., ERIKSSON G., 1976. Flowering in a seed orchard of *Pinus sylvestris* L. *Studia Forestalia Suecica* 135, 38 pp.

- KANG K.S., LINDGREN D., 1998. Fertility variation and its effect on the relatedness of seeds in *Pinus densiflora*, *Pinus thunbergii* and *Pinus koraiensis* clonal seed orchards. *Silvae Gen* 47(4), 196-201.
- KANG K.S., LINDGREN D., 1999. Fertility variation among clones of Korean pine (*Pinus koraiensis* S. et Z.) and its implications on seed orchard management. *For Gen* 6(3), 191-200.
- KANG K.S., 2000. Clonal and annual variation of flower production and composition of gamete gene pool in a clonal seed orchard of *Pinus densiflora*. *Can J For Res* 30(8), 1275-1280.
- KJAER E.D., 1996. Estimation of effective population number in a *Picea abies* (Karst.) seed orchard based on flower assessment. *Scan J For Res* 11(2), 111-121.
- LINDGREN D., GEA L., JEFFERSON P., 1996. Loss of genetic diversity monitored by status number. *Silvae Gen* 45(1), 52-59.
- LLOYD D.G., 1979. Parental strategies of angiosperm. *N Z J Bot* 17, 595-606.
- MATZIRIS D.I., 1993. Variation in cone production in a clonal seed orchard of black pine. *Silvae Gen* 42(2-3), 136-141.
- MATZIRIS D.I., 1994. Genetic variation in the phenology of flowering in black pine. *Silvae Gen* 43(5-6), 321-328.
- MATZIRIS D., 1998. Genetic variation in cone and seed characteristics in a clonal seed orchard of Aleppo pine grown in Greece. *Silvae Gen* 47(1), 37-41.
- MIGUEL-PÉREZ I., GONZÁLEZ MARTÍNEZ S.C., ALÍA R., GIL L., 2002. Fenología del crecimiento y estrategia reproductora del pino negral (*Pinus pinaster* Aiton) en la meseta castellana. *Inv Agrar: Sist Recur For* 11(1), 193-204.
- PHILIPPE G., 1997. Stimulation de la floraison et contrôle de l'avortement floral chez le Pin maritime (Lére tranche). Documento de trabajo. Convention DERF. Cemagref. Nogentsur-Vernisson.
- REYNOLDS S., EL KASSABY Y.A., 1990. Parental balance in Douglas-fir seed orchards-cone crop vs. seed crop. *Silvae Gen* 39(1), 40-42.
- SCHOEN D.J., DENTI D., STEWART S.C., 1986. Strobilus production in a clonal White spruce seed orchard: evidence for unbalanced mating. *Silvae Gen* 35(5-6), 201-205.
- SNEDECOR G., COCHRAN W., 1967. *Statistical methods*. Iowa State University Press, Ames.
- TORRES A.B., 2003. Variabilidad genética de la semilla obtenida en el huerto semillero de *Pinus pinaster* Ait. de Sergude-Boqueixon (A Coruña). Proyecto Fin de Carrera. EPS, Universidad de Santiago de Compostela. Lugo, 120 pp.
- VARNELL R.J., SQUILLACE A.E., BENGTON G.W., 1967. Variation and heritability of fruitfulness in Slash Pine. *Silvae Gen* 16(4), 125-128.
- XIE C.Y., WOODS J., STOEHR M., 1994. Effects of seed orchard inputs on estimating effective population size of seedlots-a computer simulation. *Silvae Gen* 43(2-3), 145-154.