

Puesta en mercado de la población de producción compuesta por 12 familias superiores de *Pinus pinaster* Aiton. mediante miniestaquillado

Lario, F.J.^{1*}, Cuenca, B.¹, Ocaña, L.²

¹ TRAGSA, Unidad de Viveros Propios, Maceda, Ourense

² TRAGSA, Subdirección de I + D + i, Madrid

*Corresponding author: flario@tragsa.es

Received: 13 June 2011

Accepted: 28 October 2011

Abstract

Short title: Commercialization of rooted mini-cuttings of P. pinaster

This work aims to use the genetic pool of 12 super-selected genotypes of *Pinus pinaster* Aiton as Base Forestry Material. Genotypes were selected among 116 of first generation breeding cycle. Clonal production tests were conducted with open pollinated genotypes obtained from the 12 selected for its straightness and growth performance in genetic trials of Galicia-Costa and Montaña Soria-Burgos breeding populations. In these tests, 3-5 cm mini-cuttings were employed, and variables assayed were: ortet type, cutting type, rooting atmosphere and date of rooting. Best results (57% final ramet survival) were obtained with apical cuttings coming from the outer hedge and settle to root in October inside the rooting tunnel. Production strategy would be based in a first cutting harvest, 3 months after the sewing, and 4 subsequent harvests every two months, where June cuttings will produce commercial ramets. Within 2.5 years, a single seed would produce 700 ramets.

Keywords: maritime pine, clonation, mini-cutting, production population

Resumen

Título corto: Comercialización de miniestaquillas de P. pinaster

Este trabajo pretende aprovechar a modo de Material Forestal de Base, el acervo genético de 12 genotipos de *Pinus pinaster* Ait. super-seleccionados de entre 116 de primera generación de ciclo de mejora, para producir familias. Se realizaron pruebas de producción clonal con genotipos obtenidos de polinización abierta de los 12 genotipos seleccionados por su comportamiento de rectitud y crecimiento en los correspondientes ensayos genéticos en la Población de Mejora Galicia- Costa y Montaña Soria Burgos. En estas pruebas, se emplearon miniestaquillas de 3 a 5 cm y las variables ensayadas fueron: tipo de ortet, tipo de estaquilla, ambiente de enraizamiento y fecha de estaquillado. Los mejores resultados (57% de supervivencia final del ramet) se obtuvieron empleando estaquillas apicales obtenidas del seto dispuestas a enraizar en el túnel de enraizamiento en el mes de octubre. La estrategia productiva basada en este sistema consistiría en una primera cosecha de estaquillas a los 3 meses de la siembra y 4 cosechas posteriores cada 2 meses, donde el estaquillado de junio produciría los ramets comerciales. En 2,5 años, de una sola semilla se producirían 700 ramets.

Palabras clave: pino marítimo, clonación, miniestaquillado, población de producción

1. Introducción

La alta heterocigosidad de las especies forestales y el alto componente genético aditivo, hacen que la propagación vegetativa ofrezca grandes ventajas para obtener ganancias genéticas (Zobel and Talbert, 1984). El éxito de las técnicas de propagación vegetativa pasa por disponer de una vía de regeneración de plantas (ramets) a partir de porciones de la planta donante (ortet) fiable, reproducible y altamente productiva (Celestino *et al.*, 2005), y se están aplicando de manera comercial ya en diversas especies como *Populus*, *Cryptomeria* y *Eucalyptus*, para la implementación comercial de la Selvicultura Multivarietal (MVF).

La Selvicultura Multivarietal se define como el establecimiento de variedades testadas de árboles en bosques cultivados. Sus grandes ventajas son: mayor ganancia genética que la mejora convencional basada en huertos semilleros; flexibilidad y rápido desarrollo de variedades adecuadas a los cambiantes objetivos ambientales o de mejora, y capacidad para equilibrar ganancia genética y diversidad en las plantaciones. (Park, 2009).

Este último punto requiere especial consideración e implica no sólo escoger la mezcla más adecuada de variedades sino también una adecuada configuración de las plantaciones para evitar alta incidencia de enfermedades. Las plantaciones, no van a tener la misma diversidad que un bosque nativo ni lo pretenden, sino que se deben diseñar para producir la máxima cantidad de madera con la menor huella y evitar así la tala de los bosques naturales (Lane, 2004).

En el caso de las coníferas en general y de *Pinus pinaster* Ait. en particular, este tipo de selvicultura raramente se realiza por la falta de sistemas eficientes de propagación vegetativa. En los últimos años, se han conseguido grandes progresos en la embriogénesis somática de muchas coníferas, con lo que ha comenzado el establecimiento de plantaciones con este tipo de materiales vegetales. Sin embargo, en el caso de *P. pinaster*, la maduración de los embriones constituye un auténtico cuello de botella en la embriogénesis somática, dificultando la regeneración en cantidad de embriones somáticos de calidad (Klimaszewska *et al.*, 2007). Por ello, la técnica de clonación efectiva hasta el momento, es el estaquillado y/o el miniestaquillado (Majada *et al.*, 2009).

2. Material y métodos

Se realizaron ensayos preliminares para determinar el sistema de producción por miniestaquillado más eficiente en las condiciones del Vivero de TRAGSA en Maceda (Ourense).

La Población de Producción para la producción final de prueba fueron genotipos obtenidos de polinización abierta de 12 genotipos seleccionados por su comportamiento de rectitud y crecimiento de dos poblaciones de mejora: los Huertos Semilleros de Monfero (Noroeste Litoral) y de Valsaín (Montaña Soria Burgos) (Zas y Lario, 2008, comunicación personal).

Se sembraron 32 plantas de cada familia: 16 de ellas fueron sembradas en condiciones de seto, esto es en contenedores de 30 litros con turba y vermiculita (3:1) y 1 g/l de abono de liberación lenta, dispuestos en el exterior y sin fertirrigación; y las otras 16 en condiciones de miniset, esto es, en macetas de 2 l con el mismo tipo de sustrato y abono, bajo abrigo y sometidos a fertirrigación (1 vez al mes). Las plantas del huerto de Monfero fueron sembradas en Julio mientras que las de Valsaín fueron sembradas en agosto. El aspecto de las plantas madres en el momento de las cosechas de estaquilla se refleja en la Foto 1.

Las miniestaquillas de cada familia y de cada huerto se cosecharon por separado, de cada uno de los dos tipos de ortet, con un tamaño comprendido entre 3 y 5 cm y se sometieron a una inmersión basal líquida en una solución de AIB hidrosoluble (sal potásica) 1 g/l durante 24 h al cabo de las cuales fueron estaquilladas en bandejas Forespot 300, con perlita A6:A10:turba (1:1:2) sin abono. Las variables consideradas fueron las reflejadas en la Tabla 1.

Cuando la planta madre adquirió un cierto tamaño, y de una fecha de estaquillado a otra, las ramificaciones laterales presentaban crecimientos superiores a 5 cm, se prepararon también estaquillas basales (la porción de tallo por debajo de la estaquilla terminal) para ensayar su capacidad de enraizamiento. Además, en todas las fechas de enraizamiento, de cada familia de cada huerto, y de cada tipo de ortet, la mitad de las estaquillas se dispusieron en el invernadero con nebulización y la otra mitad en el túnel de enraizamiento. En el caso de Valsaín no hubo estaquilla suficiente en los primeros estaquillados para colocarlos en los dos ambientes, por lo que sólo aparecen datos del túnel en octubre y del invernadero en febrero.

A los dos meses de cada fecha de estaquillado, se evaluó el porcentaje de enraizamiento. A los 4 meses se evaluó el porcentaje de supervivencia.

3. Resultados y discusión

La cantidad de estaquilla disponible fue creciendo en cada cosecha. La Tabla 2 recoge la cantidad de estaquilla disponible por huerto en cada fecha de estaquillado.

La producción media en nº de estaquillas/planta y cosecha de Monfero (seto: 12,6; miniset: 8,4) fue siempre mayor que en Valsaín (seto: 5,3; miniset:

5,4), probablemente debido al retraso en la siembra en este último caso. No se apreciaron diferencias en la producción de estaquilla entre el seto y el miniseto de Valsaín pero en el caso de Monfero, la producción media del seto es ligeramente superior (12,6 vs. 8,4) y acusa un retroceso en la producción tras el invierno.

La Tabla 3 presenta los resultados de enraizamiento y supervivencia. Por problemas de disponibilidad de personal, en los estaquillados de febrero y abril sólo se pudo evaluar el enraizamiento y en los de junio y agosto, sólo la supervivencia.

De los resultados obtenidos se puede concluir que las estaquillas basales enraízan mucho peor que las apicales, por lo que tras ensayarlas en dos de las fechas de estaquillado y confirmar lo pobre del resultado, se desestimó su uso posterior.

En general, el material cosechado del seto enraíza mejor, probablemente por estar más lignificado y soportar mejor deshidrataciones y pudriciones. Sin embargo, en abril, el material del miniseto presentó mejores resultados que el del seto en el caso de Monfero tanto en el invernadero como en el túnel y en el caso de Valsaín, en el invernadero. Esto puede deberse a que se realizó una aplicación con oxiclورو de cobre sobre las plantas una semana antes de la cosecha de las estaquillas. En agosto, los resultados del material de seto y miniseto son equivalentes a efectos de enraizado, en ambas procedencias, lo que parece confirmar la necesidad de un buen agostado del material previo a la cosecha y estaquillado.

En el invernadero se consiguen mejores enraizamientos en invierno mientras que a partir de junio los resultados especialmente para el material del seto, son mejores en el túnel, por la mayor humedad ambiental. Las estaquillas del miniseto, más tiernas, en el túnel pudren más y obtienen peores resultados que en el invernadero.

Majada *et al.* (2009) al estaquillar miniesquejes de *P. pinaster* de 3-5 cm, de entre 70 y 120 días de edad desde la germinación, aplicando concentraciones de AIB comprendidas entre 0 y 1 g/l obtienen porcentajes de enraizamiento que oscilan entre el 77 y el 100% respectivamente, muy superiores al máximo de 57% obtenido con nuestros materiales. La razón de esta diferencia puede estar en los diferentes genotipos empleados, pero sobre en las diferencias de temperatura ambiental entre Maceda (Ourense) y Villaviciosa (Asturias). Tanto en las instalaciones empleadas por Majada y col., como en las del vivero de Maceda, el sistema de control de temperatura consiste en el aporte de humedad, lo que en momentos de temperaturas muy elevadas no es suficiente para mantener la temperatura en rangos adecuados. Esto ocurre en Maceda con frecuencia

donde el excesivo aporte de humedad durante el día por este motivo, provoca condensaciones durante la noche, más fría, provocando continuos problemas de pudriciones. En Villaviciosa, sin embargo, las temperaturas son mucho más suaves y la incidencia de este tipo de problemas es menor.

4. Conclusiones

Por facilidad de manejo y puesto que además la producción de estaquilla es mayor, parece más recomendable emplear las miniestaquillas cosechadas del seto frente a las del miniseto, más tiernas y más sujetas a la incidencia de pudriciones y deshidrataciones. Las estaquillas deben obtenerse sólo de la porción terminal de los brotes puesto que el segmento basal presenta un enraizamiento bajo. En cuanto al ambiente de enraizamiento, el más adecuado es el invernadero con nebulización, salvo en los meses de verano. En junio, la mayor humedad ambiental del túnel produce mejores resultados mientras que en agosto, los resultados son equivalentes en ambos ambientes.

4. 1. Estrategia productiva de multiplicación en cascada

Con estas conclusiones se plantea establecer una Población de Producción con árboles sobresalientes seleccionados en la región costera 1A Noroeste Litoral (Huerto de Monfero) y establecer un suministro amplificado mediante multiplicación en cascada.

La primera cosecha de los brotes iniciales se realizaría a los 2-3 meses de la siembra (en las condiciones de Maceda) y las siguientes cosechas se harían con una cadencia de 2 meses. Los estaquillados de junio se realizarían con objeto de producir plantel para trasplantar a envase con formato forestal final y ser comercializados y los del resto del año se destinarían a establecer nuevas plantas madres.

Se emplearán las condiciones de cultivo establecidas para el seto, las estaquillas se dispondrán a enraizar en el invernadero de enraizamiento excepto en los meses de junio y agosto, en los que el enraizamiento se realizará en el túnel. Se ha considerado un porcentaje medio de enraizamiento y supervivencia de 45 y 38 % respectivamente.

Con una progresión de producción de estaquillas de 1, 8, 15, 15, y 20 (la media para cada cosecha del seto) desde el primer al quinto estaquillado y siguientes, se calcula que se podría producir de cada planta madre 3, 33 y 1243 plantas en formato forestal si se hace una producción en cascada durante 3 años. El resumen de este plan productivo se recoge en la Figura 1.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el Ministerio de Investigación, Ciencia e Innovación (PES-310000-2009-4 subproyecto PSS-310000-2009-21). Los desarrollos del material inicial de Monfero fueron de CIF Lourizán, y el promotor de los mismos la Xunta de Galicia. Los desarrollos del material inicial de Valsaín fueron de ETSI Montes (UPM), y el promotor de los mismos el ICONA-Ministerio de Agricultura.

Referencias

Celestino, C., Hernández, I., Carneros, E., López-Vela, D., Toribio, M. 2005. La embriogénesis somática como elemento central de la biotecnología forestal. Invest Agrar: Sist Recur For 14(3), 345-357.

Klimaszewska, K., Trontin, J.F., Becwar, M.R., Devillard, C., Park, Y-S., Lelu-Walter, M.A. 2007. Recent progress in somatic embryogenesis of four *Pinus* spp. Tree and Forestry Science and Biotechnology, 1(1): 11-25.

Majada, J., Aranda, I., Jaramillo, J.P., González, S., Climent J., Cervera, M.T., Kidelman, A.D.,

Feito, I., Alía, R. 2009. Miniestaquillado de *Pinus pinaster* Aiton y establecimiento de un banco clonal de referencia "CLONAPIN". En: Actas del 5ª Congreso Forestal Español. Montes y Sociedad. Saber qué hacer. Ref: 5CFE01-285

Lane, A. 2004. Attack of the clones: somatic embryogenesis in Forestry. Bio Tech Journal, 2: 13-17.

Park, Y-S. 2009. Commercial implementation of conifer somatic embryogenesis in Multi-Varietal Forestry. En: Actas de la VIII Reunión de la Sociedad española de Cultivo *in vitro* de Tejidos Vegetales. Murcia, septiembre de 2009.

Zas, R., Lario, F.J. 2008. Selección de genotipos superiores de *Pinus pinaster* para la propagación masiva de su descendencia mediante embriogénesis somática y estaquillado juvenil. Informe del Proyecto Singular Estratégico Restauración y Gestión Forestal PSE-310000.

Zobel, B., Talbert, J. 1984. Applied forestry improvement. John Willey & Sons, New York, USA.

Tabla 1. Variables ensayadas en las pruebas de miniestaquillado

Tipo de ortet	SETO: planta donante cultivada en contenedor de 30 l en ambiente exterior sin fertirrigación MINISETO: planta donante cultivada en maceta de 2 l bajo abrigo y con fertirrigación
Tipo de estaquillas	APICALES: terminales BASALES: segmentos del brote bajo el ápice
Ambiente de enraizamiento	TÚNEL DE ENRAIZAMIENTO: cama caliente, fog system y menor inercia térmica INVERNADERO CON NEBULIZACIÓN: calefacción ambiental (>15° C), fog system y mayor inercia térmica
Fecha de estaquillado	OTOÑO-INVIERNO: octubre y febrero PRIMAVERA-VERANO: abril, junio y agosto

Tabla 2. Cantidad de estaquilla/planta y cosecha producida en cada huerto

		Seto		Miniseto	
		Apical (nº und)	Basal (nº und)	Apical (nº und)	Basal (nº und)
Monfero	Octubre	9,9		7,5	
	Febrero	2,6		7,6	
	Abril	15,4	2,2	5,7	4,1
	Junio	15,4	3,1	11,4	7,9
	Agosto	19,9		10,1	
	<i>Media</i>	<i>12,6</i>		<i>8,4</i>	
Valsáin	Octubre	0,9		0,9	
	Febrero	2,0		3,7	
	Abril	3,9	0,4	4,1	1,5
	Junio	7,8	2,7	9,5	6,0
	Agosto	11,8		8,8	
	<i>Media</i>	<i>5,3</i>		<i>5,4</i>	

Tabla 3. resultados medios de enraizamiento y/o supervivencia (59 para cada huerto en los diferentes tratamientos

		Seto		Minisetos			
		Apical	Basal	Apical	Basal		
Monfero	Octubre	Invernadero	25,3 ¹	---	40,3	---	
		Túnel	11,3	---	25,6	---	
	Febrero	Invernadero	33,4	---	20,6	---	
		Túnel	27,0	---	14,3	---	
	Abril	Invernadero	31,5/9,2 ²	7,4/2,6	66,4/49,2	36,0/30,2	
		Túnel	7,4/1,7	0/0	27,9/13,6	15,4/6,8	
	Junio	Invernadero	1,6 ³	2,6	13,3	7,0	
		Túnel	38,5	8,6	11,0	1,5	
	Agosto	Invernadero	43,1	---	44,1	---	
		Túnel	44,1	--	41,0	---	
	Octubre	Invernadero	60,1/54,2		10,6/9,7		
		Túnel	67,6/57,0		8,3/5,0		
	Valsain	Octubre	Invernadero	---	---	---	---
			Túnel	34,8	---	6,3	---
Febrero		Invernadero	65,9	---	11,5	---	
		Túnel	---	---	9,6	---	
Abril		Invernadero	48,8/6,8	38,2/9,4	51,6/37,0	35,5/33,2	
		Túnel	21,6/3,6	0/0	15,3/1,7	---	
Junio		Invernadero	11,5	4,6	3,1	6,8	
		Túnel	14,4	6,1	10,6	6,3	
Agosto		Invernadero	34,6	---	39,2	---	
		Túnel	55,3	---	41,3	---	
Octubre		Invernadero	68,3		9,8		
		Túnel	41,6		1,9		

¹ En color gris oscuro, valores sólo de enraizamiento (%). ² En blanco, valores de enraizamiento/supervivencia (%). ³ En gris claro, valores sólo de supervivencia (%)

AÑO 1											AÑO 2											AÑO 3												
F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
S	C	P	C	P	C	P	C	P	C	C	C	P	C	P	C	P	C	P	C	P	C	C	C	P	C	P	C	P						
1		1		8		15		15			20		20		20		20		20			20		20		20								
		E	C	C	C	T	C	P	C	C	C	P	C	P	C	P	C	P	C	C	C	C	P	C	P	C	P							
		1				0,5		0,5			4		6,8		6,8		9		9			9		9		9								
				E	Cr	T	Cp	Cp	Cp	Cp	Cp	Cp	Cp																					
				8		3																												
						E	C	C	C	C	C	T	C	P	C	P	C	P	C	C	C	P	C	P	C	P								
						15					6,8		6,8		54		101		101			135		135		135								
								E	C	C	C	C	C	T	C	P	C	P	C	C	C	P	C	P	C	P								
								15					7		7		56		104			104		139		139								
													E	C	C	C	T	C	P	C	C	C	P	C	P	C	P							
													24				11		11		85			159		159		212						
															E	C	C	C	T	C	C	C	P	C	P	C	P							
															34				15		15			121		226		226						
																	E	Cr	T	Cp	D	D	D	D	D									
																	88		33															
																			E	C	C	C	C	C	T	C	P	C	P					
																			196						88		88		707					
																					E	C	C	C	C	C	T	C	P					
																					335					151		151						
																								E	Cr	Cr	Cr	T	Cp	D	D	D	D	D
																								548			247							
																									E	Cr	Cr	Cr	T	Cp	D	D	D	
																									777			295						
																										E	Cr	T	Cp	D	D	D		
																											1846		702					

Figura 1. Estrategia de producción mediante multiplicación en cascada para cada ortet a amplificar (S: siembra; C: cría; P: poda; E: estaquillado; Cr: cría en alveolo de enraizamiento; Cp: cría en formato forestal para despacho; D: despacho)



Foto 1. Pies madres antes de la cosecha del minisetto (A) y del seto (B)



Foto 2. Ambiente de enraizamiento: túnel de enraizamiento (A) e invernadero con nebulización



Foto 3. Detalle del sistema radical adventicio de la miniestaquilla enraizada