CONSERVACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE POBLACIONES DE *TAXUS BACCATA* L. EN LA COMUNIDAD DE MADRID. PRIMEROS RESULTADOS SOBRE SU CAPACIDAD DE ENRAIZAMIENTO.

J. ALEGRE; C. FERNÁNDEZ-ALFONSO; M. TORIBIO; D. LÓPEZ-VELA; N. ALONSO.

Instituto Madrileño de Investigación Agraria y Alimentaria (I.M.I.A.). Finca "El Encín" Apdo. 127. 28800 Alcalá de Henares. Madrid.

RESUMEN

El tejo europeo (*Taxus baccata* L.), pese a su amplia distribución, es una especie amenazada que en la actualidad únicamente forma pequeñas manchas relicticas. La conservación de los recursos genéticos es una de las prioridades en el ámbito forestal, y la propagación vegetativa puede jugar un importante papel en programas de conservación "ex situ". Se han estudiado los factores que afectan a la capacidad de enraizamiento en estaquillas, tomadas en primavera, de cinco poblaciones de tejo de la Comunidad de Madrid. Se observaron diferencias atribuibles a la población de origen, y al genotipo individual. El material procedente de pies femeninos enraizó peor que el procedente de pies masculinos. Posiblemente, esto se debió a que muchas estaquillas desarrollaron frutos durante el periodo de enraizamiento. Las estaquillas obtenidas de brotes epicórmicos enraizaron mejor que las estaquillas terminales, lo que sugiere un importante efecto de la edad ontogénica sobre la capacidad de enraizamiento. A partir de las plantas obtenidas se ha iniciado la creación "ex situ" de una colección con material clonal procedente de diferentes poblaciones de tejo de la Comunidad de Madrid.

P.C.: *Taxus baccata*, conservación, propagación vegetativa, tipo de estaquilla.

SUMMARY

The European yew (*Taxus baccata* L.) is a widely distributed tree species but, at present, it is considered an endangered species, forming relictic stands. The conservation of genetic resources is one of the current priorities in forest management, and vegetative propagation may play an important role in "ex situ" conservation. We report here on factors affecting the rooting ability of cuttings taken in spring from trees located in five isolated stands of the Community of Madrid.

Besides the effect of individual genotypes, we recorded significant differences among the provenances included in this study. Cuttings from female trees rooted worse than those from male trees, probably due to the process of fruit formation that many of them underwent simultaneously with rooting. Epicormic shoots rooted better than terminal cuttings, suggesting an important effect of ontogenic ageing on the rooting ability. An "ex situ" collection of clonal material from five locations has been established.

K.W.: *Taxus baccata*, conservation, vegetative propagation, type of cutting.

INTRODUCCIÓN

El tejo europeo (*Taxus baccata* L.) se encuentra en una fase de regresión evolutiva. El género *Taxus* fue abundante, posiblemente fundamental, en bosques de épocas anteriores a las glaciaciones cuaternarias, y al comienzo del período Holoceno. En la actualidad, sin embargo, el tejo es un árbol escaso y, aunque está presente prácticamente en todo el hemisferio norte, sólo aparece en pequeños rodales dispersos dentro de formaciones boscosas dominadas por otras especies (Cortés et al, 2000). El proceso de regresión natural se ha visto acelerado por acción del hombre hasta el punto de que el tejo se considera especie amenazada, por lo que se han establecido normas de protección de ámbito europeo, nacional y autonómico. La Comunidad de Madrid no es ajena a esta situación, en su territorio existe riesgo de extinción de poblaciones de esta especie, con lo que ello supone en cuanto a erosión de recursos fitogenéticos. Con el fin de preservar las poblaciones de tejo en la Comunidad de Madrid, el IMIA inició, en mayo de 2000, un programa de conservación que contempla la creación de bancos clonales y la caracterización de las poblaciones por sus contenidos en taxanos y capacidades morfogénicas.

La mayor parte de la información publicada en relación con el estaquillado del tejo se refiere a variedades ornamentales, fundamentalmente de la especie *T. cuspidata* e híbridos de *Taxus x media*.

Las estaquillas de tejo, en general, enraizan con dificultad, y su enraizamiento mejora mediante la aplicación de AIB en concentraciones elevadas (Lanphear, 1963; Chong et al. 1992). En trabajos realizados con poblaciones naturales de *T. baccata* se pone de manifiesto que son necesarios periodos de enraizamiento prolongados, de entre 5 y 11 meses (Schneck, 1996; Iglesias-Díaz et al., 1997). Suele considerarse que la mejor época para realizar el estaquillado del tejo es el final del otoño y el comienzo del invierno (Lanphear, 1963; Scheer, 1976; Shugert, 1985), aunque Rodríguez et al. (1994) obtuvieron mejores resultados estaquillando en primavera. Otros factores, que pueden tener una notable influencia sobre la capacidad de enraizamiento del tejo, y que no pueden soslayarse en un programa de conservación, son la edad de la planta donante (Goo et al., 1990; Schneck, 1996), el genotipo (Schneck, 1996; Mitchell, 1997) y el sexo (Iglesias Díaz et al., 1997).

En el marco del programa de conservación, antes citado, y con la doble finalidad de establecer bancos clonales y profundizar en el estudio de los factores que determinan la capacidad de enraizamiento del tejo, se diseñaron una serie de ensayos de enraizamiento que contemplan como factores de variación la población, el genotipo, la edad, el sexo, la época de estaquillado y el tipo de estaquilla. En la presente comunicación se expone el análisis de los resultados obtenidos en los primeros ensayos de propagación, realizados en primavera.

MATERIAL Y MÉTODOS

Durante la primera quincena de mayo de 2000, se muestrearon cinco poblaciones de tejo situadas en diferentes parajes de la sierra madrileña: el arroyo de la Peñota (AP), el arroyo de la Navazuela (AN), la Fuente de los Geólogos (FG), el Hueco de las Hoces (HH) y el arroyo de la Trocha (AT). El número de árboles muestreado en cada población osciló entre 3 y 6. En los pies que tenían flores se determinó el sexo de la planta donante. En cada individuo, para elaborar posteriormente las estaquillas, se cortaron fragmentos terminales de ramas bajas, hasta un diámetro máximo de 1,5 cm. En los árboles en que fue posible, se recolectaron brotes epicórmicos. Por último, con el fin de poder llevar a cabo posteriores recolecciones de material en los mismos pies, los árboles muestreados se etiquetaron y se fotografiaron.

Al día siguiente de la recolección, se elaboraron estaquillas terminales, de 10-15 cm de longitud, a partir de brotes laterales que se separaron de la rama principal dejando un pequeño talón. Tanto en las estaquillas terminales como en las epicórmicas, se eliminaron las hojas del tercio inferior y su base se sumergió durante 5 s en una disolución alcohólica (50 % de etanol) de AIB (5000 ppm).

Las estaquillas se pusieron en bandejas de alveolos, con un sustrato comercial de grano fino formado por turba y arena, que se mezcló, al 50 % en volumen, con perlita A-13. Por cada litro de sustrato se incorporaron 0,5 g de Benomilo y 0,5 g de fungicida cúprico (37,5 % de oxicloruro de cobre y 15 % de Zineb). El estaquillado se efectuó en un invernadero con ambiente controlado en el que la humedad relativa se mantuvo próxima al 80 %, y la temperatura entre 25 y 30 °C. No se aplicó calor de fondo.

Se realizó un primer recuento de las estaquillas enraizadas al cabo de 5 meses y otro posterior a los 6 meses. Los resultados se analizaron empleando el procedimiento FREQ del SAS versión 6.12.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estaquillas terminales.

Para el conjunto de las 1800 estaquillas terminales, se obtuvo, a los 5 meses, una tasa media de enraizamiento del 18 %, que ascendió hasta el 24 % en el segundo recuento, realizado a los 6 meses. Es un porcentaje de enraizamiento muy bajo si se compara con los resultados obtenidos, también en primavera y con *T. baccata*, por Rodríguez et al. (1994), si bien estos autores emplearon material de un sólo genotipo.

Las tasas medias de enraizamiento obtenidas para cada población oscilaron entre el 3,8 % y el 33,5 % (Tabla 1). Las diferencias en la capacidad de enraizamiento, asociadas a la población de origen del material, fueron muy significativas ($\chi^2 = 148,9$; $p = 0,001$), y se mantuvieron ($p = 0,001$) cuando se analizó la influencia del factor población controlando el posible efecto del factor sexo, mediante la aplicación del test de Mantel-Haenszel.

Tabla 1.- Efecto de la población de origen y del genotipo, dentro de la población, sobre los porcentajes de enraizamiento obtenidos en estaquillas terminales, al cabo de 5 meses.

Población	Número de individuos	Número de estaquillas	% enraizamiento			Efecto del individuo
			Medio	máximo	mínimo	
AP	5	238	3,8	11	0	$\chi^2 = 23$; $p = 0,001$
AN	3	372	4,6	14	0	$\chi^2 = 15$; $p = 0,004$
FG	4	297	19,5	54	2	$\chi^2 = 107$; $p = 0,001$
HH	6	500	20,2	56	1	$\chi^2 = 87$; $p = 0,001$
AT	5	394	33,5	75	4	$\chi^2 = 142$; $p = 0,001$

p = valor de la probabilidad para la hipótesis nula.

Tabla 2.- Valores de χ^2 obtenidos para la comparación de poblaciones dos a dos.

Población	AP	AN	FG	HH	AT
AP	-	$\chi^2 = 0,3$ (ns)	$\chi^2 = 43$ (0,001)	$\chi^2 = 50$ (0,001)	$\chi^2 = 110$ (0,001)
AN	-	-	$\chi^2 = 26$ (0,001)	$\chi^2 = 30$ (0,001)	$\chi^2 = 71$ (0,001)
FG	-	-	-	$\chi^2 = 0,05$ (ns)	$\chi^2 = 17$ (0,001)
HH	-	-	-	-	$\chi^2 = 20$ (0,001)
AT	-	-	-	-	-

Entre paréntesis figura el valor de la probabilidad para la hipótesis nula.

Cuando las poblaciones se compararon dos a dos, el porcentaje de enraizamiento obtenido en la población AT fue significativamente mayor que los obtenidos en las poblaciones FG y HH, y los de estas, significativamente superiores que los de AP y AN (Tabla 2).

Dentro de cada población se observaron diferencias muy significativas en la capacidad de enraizamiento asociadas al individuo (Tabla 1). Las tasas de enraizamiento individuales oscilaron entre el 0 % y el 11 % en la población AP, el 0 % y el 14 % en la población AN, el 2 % y el 54 % en la población FG, el 1% y el 56 % en la población HH y el 4 % y el 75 % en la población AT. En este estaquillado de primavera, no se consiguió el enraizamiento en 3 de los 23 árboles que se muestrearon.

El sexo de la planta donante (Tabla 3), aunque en menor medida, también tuvo un efecto significativo sobre la capacidad de enraizamiento ($\chi^2 = 6,8$; $p = 0,009$). La tasa de enraizamiento obtenida en los pies masculinos (26,7 %) fue mayor que la obtenida en los pies

Tabla 3.- Efecto del sexo de la planta donante sobre el porcentaje de enraizamiento obtenido en estaquillas terminales.

Sexo	Número de estaquillas	% enraizamiento	χ^2	p
Pies masculinos (n = 7)	554	26.7	6.8	0.009
Pies femeninos (n = 8)	658	20.4		

p = valor de la probabilidad para la hipótesis nula.

femeninos (20,4 %). Cuando se analizó la influencia del sexo, controlando el efecto del factor población, el test de Mantel-Haenszel indicó que la tasa de enraizamiento de las estaquillas procedentes de pies masculinos fue, realmente, 1,7 veces mayor que la obtenida en las procedentes de pies femeninos ($P = 0,001$). Este resultado contrasta con los descritos por Schneck (1996) y Mitchell (1997), que no encontraron diferencias atribuibles al sexo. Sin embargo, ambos autores realizaron el estaquillado en otoño. Las diferencias que hemos observado entre sexos podrían estar relacionadas con la época del año en que se realizó el estaquillado (primavera). Durante el proceso de enraizamiento un gran número de las estaquillas procedentes de pies femeninos fructificaron, y por ello las diferencias observadas podrían ser atribuibles al proceso de fructificación más que al sexo en sí mismo.

No hemos incluido, en este primer análisis estadístico de los resultados, el efecto de la edad sobre la tasa de enraizamiento. Sin embargo, no se observó una relación evidente entre la edad de la planta donante y la tasa de enraizamiento: los peores resultados se obtuvieron para la población AP,

formada por ejemplares de tejo extremadamente jóvenes, y dentro de cada población, los individuos jóvenes no siempre dieron mejores resultados que los individuos centenarios. Estas observaciones son coherentes con los resultados obtenidos por Schneck (1996) en poblaciones naturales de *T. baccata*, ya que si bien obtuvo diferencias entre clases de edad, las tasas de enraizamiento que logró en los individuos más jóvenes fueron inferiores a las logradas en la clase de mayor edad. Esto indica la posible existencia de un fuerte efecto de la edad ontogénica y/o fisiológica, más importante que el efecto de la edad cronológica del árbol, sobre la capacidad de enraizamiento de las estaquillas recolectadas.

Estaquillas epicórmicas.

Sólo fue posible recoger un número aceptable de estaquillas epicórmicas en 3 de los 23 individuos que se muestrearon. Para estos 3 individuos se compararon los resultados obtenidos empleando ambos tipos de estaquilla (Tabla 4). En conjunto, las estaquillas epicórmicas dieron un porcentaje de enraizamiento (59 %) muy superior al obtenido con estaquillas terminales (15 %). La utilización de estaquillas epicórmicas incrementó significativamente la tasa de enraizamiento en los tres individuos: 93 % vs. 13 % en el individuo AT4, 84 % vs. 30 % en el individuo HH6 y 20 % vs. 1 % en el individuo HH1.

Tabla 4. Efecto del tipo de estaquilla sobre el porcentaje de enraizamiento.

	Tipo de estaquilla	Número de estaquillas	% enraizamiento	χ^2	P
Total	Epicórmica	70	59	57.2	0.001
	Terminal	250	15		
Individuo AT4	Epicórmica	15	93	43.4	0.001
	Terminal	84	13		
Individuo HH6	Epicórmica	25	84	22.4	0.001
	Terminal	82	30		
Individuo HH1	Epicórmica	30	20	13.7	0.001
	Terminal	85	1		

p = valor de la probabilidad para la hipótesis nula.

CONCLUSIONES

Las plantas obtenidas con el estaquillado de primavera, han permitido iniciar la creación “*ex situ*” de una colección de material clonal, identificado, procedente de diferentes poblaciones de tejo de la Comunidad de Madrid.

El genotipo de la planta donante tiene una influencia decisiva sobre la capacidad de enraizamiento. Esta gran variabilidad clonal resulta muy importante en el desarrollo de programas de reforestación que utilicen el estaquillado como vía de multiplicación. Si no se tiene un conocimiento previo de la capacidad de enraizamiento del material de partida, y no se controlan las procedencias individuales durante el proceso de propagación, las plantas obtenidas pueden proceder, mayoritariamente, de un número muy limitado de genotipos, dando lugar a la utilización de un material vegetal con escasa diversidad genética.

En individuos recalcitrantes el empleo de estaquillas epicórmicas puede resultar especialmente interesante, facilitando el establecimiento, *ex situ*, de setos con material de características juveniles, que permitan obtener de tasas de multiplicación aceptables.

AGRADECIMIENTOS

Los autores manifiestan su agradecimiento a la Asociación para la Recuperación de los Bosques Autóctonos (ARBA), y en especial a D. Fernando Vasco, por su colaboración y su ayuda en la localización de las poblaciones de tejo. Igualmente, agradecen la colaboración de la Dirección Gral. del Medio Natural de la Comunidad de Madrid, de su servicio de guardería forestal, de D. Salustiano Iglesias y la DGCONA. Este trabajo se ha realizado con el soporte económico concedido al proyecto FP00-03AG por el Instituto Madrileño de Investigación Agraria y Alimentaria (IMIA).

BIBLIOGRAFÍA

- CHONG, C.; ALLEN, O.B. & BARNES, H.W. (1992). *Comparative rooting of stem cuttings of selected woody landscape shrub and tree taxa to varying concentrations of IBA in Talc, ethanol and glycol carriers*. J. Environ. Hort. 10(4): 245-250.
- CORTÉS C.; VASCO, F. & BLANCO, E. (2000). *El libro del tejo (taxus baccata L.). Un proyecto para su conservación*. ARBA. Madrid. 336 pp.
- GOO, G.H.; LEE, K.Y.; YOUN, K.S. & KWON, Y.H. (1990). *Effect of ortet age and types of cuttings on rooting, cyclophysis and topophysis of rooted cuttings in Taxus cuspidata S. et Z.* Journal of Korean Forestry Society. 79(4): 359-366.
- IGLESIAS-DIAZ, M.I.; SOTO-FERNÁNDEZ, J. & CABEZAL-GÓMEZ L.M. (1997). *Propagación por estaquillado y análisis del contenido en deacetilbaccatina III en poblaciones naturales y cultivadas de tejo (Taxus baccata, L.) en Galicia*. Actas del II Congreso Forestal Español. 319-324.
- LANPHEAR, F.O. (1963). *The seasonal response in rooting of evergreen cuttings*. Proc. Int. Plant Prop. Soc. 3, 144-148.
- MITCHELL, A.K. (1997). *Propagation and growth of Pacific yew (Taxus brevifolia Nutt.) cuttings*. Northwest Science. 71(1), 56-63.
- RODRIGUEZ, A.; VEGA-ALONSO, G. & IGLESIAS SAUCE, S. (1994). *El estaquillado de tres especies de taxaceas y su aplicación en la conservación del T. Baccata*. ITEA. Vol. Extra nº 5. 240-246.
- SCHEER, C. (1976). *Taxus propagation by cuttings*. Proc. Int. Plant Prop. Soc. 26, 173-179.
- SCHNECK, V. (1996). *Investigations on the dependence of clone in rootability and the quality of the root system with propagation by cuttings of 40 to 350-year-old yew (Taxus baccata L.) trees*. Silvae Genetica. 45(5-6), 246-249.
- SHUGERT, R. (1985). *Taxus production in the U.S.A.* Proc. Int. Plant Prop. Soc. 35, 149-153.