

APLICACIONES TÉCNICA DE INDUCCIÓN FLORAL EN *Pseudotsuga menziesii*

E. MERLO*; C. MOO* & G. PHILIPPE**

* CENTRO DE INVESTIGACIONES FORESTALES DE LOURIZÀN. APDO. 127.36080.

PONTEVEDRA

** CEMAGREF. DIVISION AMELORATION GENETIQUE ET PEPINIERES FORESTIERES.

DOMAINE DES BARRES 45290 NOGENT-SUR-VERNISSON. FRANCIA

RESUMEN

En esta comunicación describimos la realización de un ensayo en Bande (Orense), integrado dentro del proyecto EUDIREC, donde se ponen en práctica, sobre un número reducido de árboles, las técnicas más comúnmente aplicadas para provocar y potenciar la floración en *Pseudotsuga menziesii*, y que nos permitirán en este año contrastar y evaluar la eficacia de las mismas, y la posibilidad de su aplicación práctica en nuestra zona.

P.C.: *Pseudotsuga menziesii*, Floración, Anillado, Giberelinas

SUMMARY

This paper describes a trial in Bande (Orense), integrated in EURIDEC project, where some flowering induction techniques are applied to stimulate flowering in *Pseudotsuga menziesii* and to evaluate their efficacy.

K.W.: *Pseudotsuga menziesii*, Flowering, Girdling, Gibberellin.

INTRODUCCIÓN

La *Pseudotsuga menziesii* es cada vez más utilizada en repoblaciones comerciales en el norte de España, y la demanda de semilla de esta especie va en aumento. La selección de orígenes adecuados de semilla es imprescindible para obtener resultados adecuados (VEGA 1993). Sin embargo, en muchos casos, la planta comercial utilizada, procede de semilla recogida en huertos y rodales semilleros, existentes en otros países, y, en los cuales, no tienen por qué estar representadas las procedencias aptas para nuestra zona. Esto nos podría llevar, el día de mañana, a poblaciones adultas de Douglas con crecimientos más bajos de los deseados o, en el peor de los casos, a masas muy poco vigorosas y con un bajo porcentaje de supervivencia.

Nuestro objetivo es comenzar a producir la semilla a partir de la selección fenotípica en las mejores procedencias de *Pseudotsuga menziesii*, que hoy ya han sido determinadas a raíz de los resultados de la red de ensayos instalada por el C.I.F Lourizán (TOVAL 1987, VEGA 1993, VEGA y JENKINSON sin publicar). La falta de maduración sexual, en estas parcelas, es ahora nuestro principal problema para continuar con el proceso de mejora de esta especie. La *Pseudotsuga* como casi todas las pináceas puede tardar en fructificar en condiciones normales, entre 15 y 40 años. La colección de test IUFRO fue instalada entre 1978-1981 y los árboles apenas empiezan a producir piñas en algunas zonas. Nos proponemos intentar acelerar este proceso y forzar la floración mediante actuaciones diversas, que induzcan el comienzo de la misma.

Hay que decir que son muchas las variables que regulan el proceso de floración, tanto exógenas como endógenas. Podemos señalar, entre las primeras, temperatura (Ross 1986), iluminación (Ross y Pharis 1987), sequía estival (Bonnet-Masimbert 1982), así como una pluviometría anual preferiblemente alta, que van a venir marcadas directamente por la elección del sitio. En cuanto a la cantidad de nutrientes, que depende de la fertilidad del suelo, se puede influir con una aplicación externa (Ebell, 1972), o con la aplicación de diversos tratamientos culturales. Dentro de las variables endógenas están la edad, el vigor, la concentración de ciertas fitohormonas y, evidentemente, el carácter genético que va a determinar la buena o mala aptitud de un individuo a la floración.

Aún no se ha llegado a explicar totalmente, en qué manera influyen las distintas variables. Incluso muchas hipótesis son objeto de controversia. A pesar de todo, la floración en Pináceas ha sido ampliamente estudiada desde los años 70 por numerosos investigadores y gracias a eso, hoy se conocen técnicas capaces de interferir en este proceso, solventar los problemas de maduración sexual tardía y potenciar la floración. Actualmente se utilizan de manera rutinaria en los huertos semilleros de la mayoría de los países.

Los métodos son muchos y diversos, destacando el anillado, la fertilización nitrogenada, la poda de raíces, el estrés hídrico, el control de la temperatura, la aplicación de ciertas fitohormonas y los reguladores del crecimiento (giberelinas, citoquininas, ácido abscísico, ...). De todos estos, los que se muestran más eficaces y de fácil aplicación son, entre los tratamientos culturales, el anillado y la fertilización nitrogenada y, entre los tratamientos hormonales, la aplicación de GA 4/7.

Se describe, a continuación, un ensayo puesto en práctica en la primavera del 96, en el que utilizamos un tratamiento cultural, uno hormonal y uno conjunto (cultural + hormonal), comparándolos con un testigo. Tras dar unas referencias del estado fenológico de la planta, que justifica la elección de las técnicas a emplear, mostramos la forma de aplicación de las mismas y el momento oportuno de actuación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este ensayo ha sido realizado en uno de los test de procedencias IUFRO, y concretamente en la parcela de Bande situada al suroeste de la provincia de Orense y a 800 m de altitud media.

Esta parcela se plantó en enero de 1980 y ocupa una superficie de 4,9 ha. En ella se han representado 22 procedencias y su diseño son tres bloques completos distribuidos al azar estando cada procedencia representada en cada bloque por grupos de 81 plantas (9x9) y a un marco de plantación de 2x2 m.

Para realizar este ensayo de inducción floral se escogieron los árboles intentando maximizar las condiciones de iluminación que favorecen la floración. De los 3 bloques existentes, son los bloques I y II los que tienen exposición sur, estando además encajados entre dos pistas que delimitan la parte alta y baja de los mismos. En abril de 1996 se eligen 60 árboles del borde superior de los bloques I y II que incluyen a las procedencias siguientes: 1124, 1059, 1097, 1065 y 1064.

Las técnicas de inducción utilizadas fueron seleccionadas para un protocolo común, puesto en práctica en Italia y España, considerado dentro del TASK 4.1. del proyecto EUDIREC. Con la aplicación de estas técnicas se intentan conseguir dos cosas: primero aumentar el número de meristemas axilares que se van a diferenciar (aumentando con ello la probabilidad), y segundo influir en el estado de diferenciación de los mismos, favoreciendo la evolución de éstos hacia yemas florales.

El ensayo consta de 4 modalidades:

Modalidad 1: testigo

Modalidad 2: anillado

Modalidad 3: aplicación de GA 4/7

Modalidad 4: anillado y aplicación de GA 4/7

Se sorteó el orden de aplicación de las mismas y se repite sucesivamente empezando por un extremo y hasta cubrir el número total de 60 árboles. Teniendo en cuenta las marras, en alguna de las procedencias, y los árboles despreciados por un aspecto externo poco favorable, este ensayo se extiende sobre las dos primeras filas del borde superior, y un árbol de la tercera fila. Los árboles han sido marcados de distinta manera según la modalidad, salvo los árboles testigos a los que no se les ha realizado marca alguna. Los árboles de la modalidad 2 quedan señalizados con un círculo de pintura amarilla de aproximadamente 4 cm de diámetro y situado a la altura a la que se realizó el anillado. Los árboles de la modalidad 3 se marcan, de la misma manera, pero con pintura roja, y los árboles de la modalidad 4 llevan las dos marcas, roja y amarilla.

Modalidad 1:

Si las condiciones de sitio son muy favorables, y los árboles vigorosos y con buena actitud a la floración, debemos tener en cuenta la posibilidad de una floración natural. Hablamos, además, de árboles de 17 años de edad que podrían perfectamente empezar a fructificar. Estos árboles están intercalados entre los árboles tratados y, por lo tanto bajo las mismas condiciones de iluminación, temperatura, etc. No sufrirán ningún tipo de tratamiento.

Modalidad 2:

La formación de meristemos axilares abarca desde el momento en que empieza la actividad de la yema, durante la elongación, y hasta la apertura de la misma (7 semanas aproximadamente) (Owens 1972). Es un proceso de mitosis celular que puede verse influido por un aumento en la cantidad de nutrientes. Con el anillado, además de someter a la planta a un estrés, impedimos un retorno de la savia elaborada hacia la raíz quedando así acumulados en la parte alta del árbol todos los productos resultantes de la fotosíntesis y algunas fitohormonas (Owens y Blake 1989).

El anillado consistió en realizar en la base del tronco dos incisiones semicirculares a nivel de la corteza separadas entre ellas de 8 a 12 cm y solapadas unos 5 cm. Para seccionar la corteza se utiliza una sierra, intentando profundizar lo suficiente para cortar los vasos del floema, pero sin dañar la madera.

El momento justo de realizar esta técnica no se conoce, se sabe que debe hacerse antes del desborre, entre 4 y 6 semanas más tarde del comienzo de la actividad en la yema. Hay dos tendencias: realizarlo un mes antes de iniciar el período de diferenciación floral o realizarlo apenas un par de semanas antes del desborre.

Por cuestión de tiempo, el anillado se realizó en una fecha común (20 de abril) en todos los árboles incluidos dentro de esta modalidad y de la modalidad 4. El estado de evolución de las yemas variaba de unos árboles a otros pero sin llegar al desborre. A la vez que se realizó el anillado, se anotó el estado fenológico no sólo de estos, sino de los 60 árboles incluidos en el ensayo y en algunos casos, incluso, la existencia de piñas. Se distinguieron 6 estados:

- A yemas cerradas
- B yemas hinchadas
- C yemas iniciando elongación (1-2 cm)
- D yemas elongadas (3 cm)
- E asomando acículas
- F pincel de agujas

Modalidad 3:

A partir del desborre (una vez que del nuevo brote ya está asomando el pincel de acículas), comienza la diferenciación de estos meristemos axilares hacia yemas vegetativas, latentes o florales. La evolución hacia un tipo u otro de yema, va a estar influenciado por la cantidad de fitohormona polar o no polar existente en ese momento.

Para el caso de la *Pseudotsuga*, de entre las hormonas endógenas, podemos distinguir algunas más polares que potencian el crecimiento vegetativo (GA1 y GA3) y otras menos polares que potencian la floración (GA4 y GA7) (Pharis 1975). La cantidad de unas y otras puede alterarse si logramos interferir en la evolución del ciclo bioquímico y lo hacemos bascular hacia GA potenciadoras de una función u otra (Moritz et al 1989). Distintos factores como iluminación y temperatura pueden influir directamente en este ciclo. Por otra parte, se ha demostrado que el efecto de una pérdida de crecimiento de la raíz, potencia la acumulación de GA inductoras de la floración en los meristemos axilares (Pharis et al 1987). El anillado también puede provocar este efecto, aunque no está explicado si es un efecto directo de acumulación de fitohormonas en la parte superior del árbol o que deriva, indirectamente, de provocar la inhibición del desarrollo de la raíz. Así mismo, la aplicación exógena de GA4/7, tendrá efecto sobre la floración si consigue aumentar la concentración de GA endógenas en los meristemos axilares justo en el momento en que estos pueden evolucionar hacia yemas florales (Pharis y Ross 1986).

La hormona utilizada es GA 4/7 pura diluida en etanol en relación de 100 mg/ml. La dosis de GA4/7 aplicada, varía en función de la altura del árbol en relación 10 mg por m de altura. Nos basamos para ello, en los datos de las alturas tomadas en junio 1995. La aplicación de esta hormona se hace por inyección en la madera, sobre el eje principal, a 20-30 cm de la base del tronco y, por encima de la incisión del anillado para los árboles de la modalidad 4. Dependiendo de la dosis se realizaron con un taladro de 7 mm, 1, 2 ó más agujeros cruzados y con una inclinación de aproximadamente de 45° hacia la base del tronco, para facilitar la aplicación de la dosis e impedir el riesgo de vaciado. La aplicación se hace con una jeringa de 1 ml, provista de aguja. Tras introducir la cantidad apropiada en el agujero, este se sella con silicona.

La fecha de aplicación es muy importante en este caso. Para ser plenamente eficaz debe coincidir con el periodo de diferenciación de meristemos, es decir, en el desborre, cuando del nuevo brote empieza a asomar el pincel de agujas. Debido al desfase fenológico existente, no sólo entre procedencias, sino incluso entre individuos, la aplicación de giberelinas se realizó en 4 fechas distintas, y cada vez sólo sobre los árboles de la modalidad 3 y 4, que se encontraban en el estado fenológico F (desborre en las 3/4 partes del árbol).

Modalidad 4:

Esta modalidad incluye a las dos anteriores, lo que implica dos aplicaciones de tratamientos distintos sobre el mismo árbol, en fechas distintas. Supuestamente esta modalidad será la que dé los mejores resultados, como se ha venido comprobando en otros casos.

CONCLUSIONES

Los resultados de este ensayo no se tendrán hasta mediados del 97, tras realizar el conteo de piñas. En el invierno del 96-97 ya podría haber sido posible una estimación de los resultados a raíz de un conteo de las yemas florales femeninas (que pueden ser diferenciadas, desde el mes de septiembre), pero es un trabajo muy costoso, e implica una gran especialización para el reconocimiento de las mismas.

El número de modalidades por procedencia no se ha mantenido constante, por lo que este efecto no podrá ser comparado. Si se analizará, sin embargo, el efecto de borde entre los árboles de la fila exterior e interior, y el efecto altura del árbol, todo ello cruzado con la modalidad de tratamiento, la fecha de actuación y estado de desarrollo de yemas.

Hay que aclarar que la aplicación de estas técnicas de inducción floral sólo tienen sentido y justificación económica cuando las condiciones del medio, en el que están instaladas estas masas, son condiciones medias para una floración natural. La eficacia de estos tratamientos no se puede asegurar al 100%, a pesar de una correcta aplicación hecha en el momento oportuno .

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ebell L.F. 1972.: Cone-induction response of Douglas fir to form of nitrogen fertilizer and time of treatment. *Canadian Journal of Forest Research*, 2: 317-326.

Bonnet-Masimbert M. 1982.: Influence de l'état d'activité des racines sur la floraison induite par des gibbèrellines 4 et 7 chez *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco. *Silvae Genetica*, 31: 178-183

Moritz T., Philipson J.J., Oden P.C. 1989.: Metabolism of tritiated and deuterated gibberellins A1,A4 and A9 in sitka spruce (*Picea sitchensis*) shoots during the period of cone-bud differentiation. *Physiol. Plant*

Owens J.N. 1972.: The reproductive cycle of Douglas-fir. *Canadian Forestry Service*, 23 p.

Owens J.N., Blake M.D. 1985.: Forest tree seed production. Rapport d'information, PI-X-53F

Pharis R.P. 1975 Promotion of flowering in conifers by gibberellin. *The Forestry Chronicle*, 244-248.

Pharis R.P., Ross S.D. 1986.: Pinaceae, hormonal promotion of flowering. In: *CRC Handbook of Flowering*, Halevy A.H. (ed.), CRC Press, Vol., pp. 269-286

Pharis R.P., Webber J.E., Ross S.D. 1987 The promotion of flowering in forest trees by gibberellin A4/7 and cultural treatments: a review of the possible mechanisms. *Forest Ecology and Management*, 19: 65-84.

Ross S.D., Pharis R.P. 1985.: Promotion of flowering in tree crops: different mechanisms and techniques, with special reference to conifers. In: *Attributes of Trees as Crop Plants*, Cannell

M.G.R., Jackson J.E. (eds.), *Natural Environment Research Council*, pp. 383-397.

Ross S.D., Pharis R.P. 1985.: Status of flowering in conifers: a constraint to tree improvement. In: *20th Meeting of the Canadian Tree Improvement Association*, Quebec, 1985, 17 p.

Toval, G. 1985.: Resultados en dos sitios de ensayo de procedencias de la colección IUFRO de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb) Franco en Galicia. IUFRO meeting *Breeding Strategy for Douglas-fir as a introduced Species*. Vienna, Austria 1985.

Vega Alonso, G. et al. 1993.: La introducción de *Pseudotsuga menziesii* en el norte de España. Ponencias y Comunicaciones. *Congreso Forestal Español*. pp 65-70.