

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION

FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES

Departamento de Silvicultura

**EFECTO DE LA ENDOGAMIA EN EL VIGOR DE SEMILLAS Y
PLANTAS DE *Pinus radiata* D. Don, EN PROGENIES CON
DIFERENTE TIPO DE POLINIZACION**



MEMORIA DE TITULO
PRESENTADA A LA FACULTAD
DE CIENCIAS FORESTALES
DE LA UNIVERSIDAD DE
CONCEPCION PARA OPTAR AL
TITULO DE INGENIERO
FORESTAL.

CONCEPCION - CHILE

1997

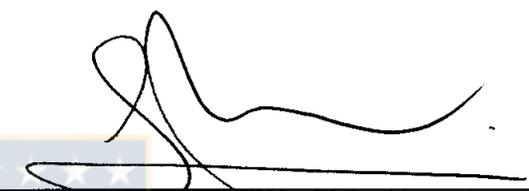
Efecto de la endogamia en el vigor de semillas y plantas de *Pinus radiata* D. Don, en progenies con diferente tipo de polinización.

Profesor Asesor



René Escobar Rodríguez
Profesor Asociado
Técnico Forestal

Profesor Asesor





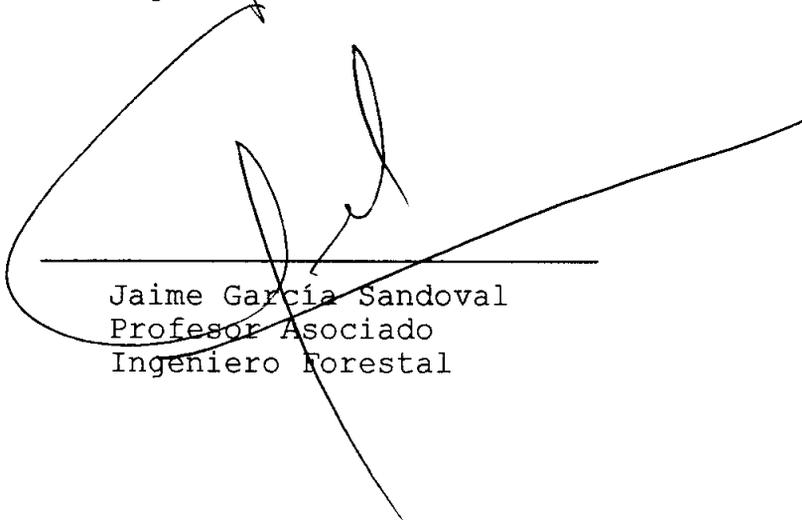
Gustavo Moreno Díaz
Profesor Instructor
Ingeniero Forestal

Director Departamento
de Silvicultura



Eduardo Peña Fernández
Profesor Asociado
Ingeniero Forestal Ms.c.

Decano Facultad de
Ciencias Forestales



Jaime García Sandoval
Profesor Asociado
Ingeniero Forestal



A mis Padres
y Hermano

AGRADECIMIENTOS

El autor quiere agradecer sinceramente a las siguientes personas e instituciones:

- Al Sr. René Escobar R. Docente de la Facultad de Ciencias Forestales, por su orientación, apoyo y dedicación en la estructuración final de este trabajo.
- Al Director del Centro de Semillas Forestales de CONAF, Don Jorge López H., por permitirme realizar este trabajo y de esta manera acrecentar mis conocimientos.
- Al Sr. Gustavo Moreno D., Ingeniero Forestal y Asesor técnico del Centro de Semilla, por sus consejos, amistad y ayuda brindada, y por ser un pilar en la concreción de esta obra.
- A las Sras. Brígida Reyes F y Gladys Jiménez M, Técnicos Forestales del laboratorio de semilla, por su ayuda y buena disposición, además de su simpatía junto a la Sra. Alejandra Elzel, secretaria del Centro de Semilla, lo que permitió un trabajo más ameno y agradable.
- Al Sr. Luis Acuña E., Técnico Forestal, por sus conocimientos y excelente disposición a ayudar.
- Al Sr. Fernando Contreras, por su ayuda brindada en el laboratorio de Semillas de la Facultad de Cs. Forestales de la Universidad de Concepción.

INDICE DE MATERIAS

CAPITULOS		PAGINA
I	INTRODUCCIÓN.....	1
II	ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.....	3
	2.1 Endogamia.....	3
	2.2 Efectos de la endogamia.....	5
	2.3 Relación entre la endogamia y el vigor....	12
	2.4 Calidad de semillas.....	13
	2.5 Vigor.....	15
	2.5.1 Factores que alteran el vigor.....	16
	2.5.2 Viabilidad , germinación y vigor.....	16
	2.5.3 Relación entre vigor y deterioro.....	17
	2.6 Pruebas de vigor.....	19
	2.6.1 Pruebas más comunes para el vigor de la semilla.....	20
III	MATERIALES Y METODOS.....	24
	3.1 Lugar de estudio.....	24
	3.2 Material.....	24
	3.3 Pruebas de vigor en laboratorio.....	25
	3.4 Descripción de las pruebas de laboratorio.	26
	3.5 Ensayos en invernadero.....	30
	3.6 Mediciones realizadas a las plantas.....	31
	3.7 Diseño Experimental.....	32
	3.8 Correlaciones.....	33

IV	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	34
4.1	Laboratorio.....	34
4.1.1	Resultado de pruebas de vigor de semilla utilizando los lotes originales..	34
4.1.1.1	Peso de mil semillas.....	35
4.1.1.2	Tamaño de la semilla.....	35
4.1.1.3	Prueba de tetrazolio.....	39
4.1.2	Resultados de pruebas de vigor, utilizando sólo semillas viables.....	40
4.1.2.1	Prueba de Germinación en Frío.....	40
4.1.2.2	Prueba de Frío Previo.....	41
4.1.2.3	Prueba de agotamiento.....	42
4.1.2.4	Prueba de Hiltner.....	42
4.1.2.5	Peso seco (aéreo y radicular) de las Plántulas.....	43
4.1.2.6	Prueba de Emergencia.....	44
4.1.2.7	Indicadores de la velocidad de emergencia.....	45
4.1.2.7.1	Conteo de la emergencia a los 14 días.....	46
4.1.2.7.2	Tiempo Medio de Emergencia.....	46
4.1.2.7.3	Emergencia acumulada hasta el día de máximo incremento.....	46
4.1.2.7.4	Emergencia acumulada en el día del tiempo medio de emergencia.....	47
4.1.2.7.5	Valor de germinación de Czabator.....	47
4.2	Variables morfológicas de las plantas....	49
4.2.1	Altura.....	50
4.2.2	Diámetro de Cuello.....	51
4.2.3	Peso seco (aéreo y radicular).....	50
4.2.4	Relación tallo-raíz.....	53

4.3	Análisis fisiológico de las Plantas.....	55
4.3.1	Conductividad electrolítica.....	56
4.3.2	Porcentaje de emergencia.....	57
4.3.3	Velocidad de emergencia.....	57
4.4	Plantas de autocruzamiento.....	58
4.5	Correlaciones entre pruebas de vigor y variables medidas a las plantas.....	60
V	CONCLUSIONES.....	64
VI	RESUMEN Y SUMMARY.....	66
VI	BIBLIOGRAFÍA.....	68
VII	APENDICE.....	75



INDICE DE TABLAS

TABLA N°		PAGINA
	<u>En el texto</u>	
1	Valores medios de las pruebas que utilizaron semillas del lote original.....	34
2	Valores medios de las pruebas de vigor, que utilizan solo semillas viables.....	40
3	Valores medios de los indicadores de la velocidad de emergencia y de la prueba de emergencia.....	45
4	Valores medios de la germinación media diaria y el valor máximo de Czabator.....	47
5	Valores medios de las variables morfológicas de las plantas.....	49
6	Análisis de las plantas, a través de pruebas fisiológicas.....	56
7	Porcentaje de mortalidad natural de las plantas a los seis meses de desarrollo.....	60
8	Coefficiente de correlación (r), entre los test de vigor de semilla y las variables medidas a las plantas.....	61

En el Apéndice

1-A	Condiciones ambientales durante los seis meses...	75
2-A	Resultado del peso de mil semillas.....	75
3-A	Resultados de la composición y diámetros medios ponderados de cada lote de semillas.....	75
4-A	Resultados de la prueba del tetrazolio.....	76
5-A	Correlación entre viabilidad, tamaño y peso de mil semillas.....	76
6-A	Resultados de la prueba de germinación en frío...	76
7-A	Resultados de la prueba de frío previo.....	77
8-A	Resultados de la prueba de agotamiento.....	77
9-A	Resultados de la prueba de hiltner.....	77
10-A	Resultado del peso seco total y seccionado en aéreo (Ae) y radicular (Ra) de las plántulas.....	78
11-A	Resultados de la prueba de emergencia.....	78
12-A	Resultados del conteo de la emergencia a los 14 días.....	78
13-A	Resultados del tiempo medio emergencia.....	79
14-A	Resultados de la emergencia acumulada hasta el día de máximo incremento.....	79
15-A	Resultados de la emergencia acumulada hasta el día del tiempo medio de emergencia.....	79
16-A	Resultado del valor máximo Czabator	80
17-A	Resultado de la germinación media diaria.....	80
18-A	Resultado de la valor germinación de Czabator....	80
19-A	Resultado de la altura.....	81

20-A	Resultado del diámetro de cuello.....	81
21-A	Resultados del peso seco total, aéreo (Ae) y radicular (Ra).....	81
22-A	Resultados de la relación tallo-raíz.....	82
23-A	Resultado del porcentaje de emergencia.....	82
24-A	Resultados de la velocidad de emergencia.....	82
25-A	Resultados relativos de la conductividad electrolítica.....	83
26-A	Correlación entre los indicadores de la velocidad de emergencia en laboratorio, con la velocidad de emergencia de las plantas en terreno.....	83



INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°		PAGINA
	<u>En el texto</u>	
1	Cambio en el coeficiente de endogamia (F), en diferentes sistemas de autofecundación a través de las generaciones.....	6
2	Efecto del Coeficiente de Endogamia en el Crecimiento.....	7
3	Relación entre germinación y vigor de la semilla....	18
4	Participación porcentual por calibre de semillas de <i>Pinus radiata</i> provenientes de autocruzamiento (clon 21 x clon 21).....	36
5	Participación porcentual por calibre de semillas de <i>Pinus radiata</i> provenientes de polinización libre (clon 21 como madre).....	37
6	Participación porcentual por calibre de semillas de <i>Pinus radiata</i> provenientes de cruzamiento controlado C2 (clon 21 x clon 2).....	38
7	Participación porcentual por calibre de semillas de <i>Pinus radiata</i> provenientes de cruzamiento controlado C11 (clon 21 x clon 11).....	38
8	Desarrollo de la emergencia de cada lote de semillas, durante los 28 días.....	49
9	Desarrollo de la altura, durante los seis meses de crecimiento de las plantas.....	50
10	Desarrollo del diámetro de cuello durante los seis meses de desarrollo de las plantas.....	52

I INTRODUCCION

La endogamia se define como el cruzamiento de individuos emparentados con pérdida de heterocigotía, donde el caso extremo es la autofecundación. Es por esta razón que en la mayoría de los programas de mejoramiento genético forestal sólo se selecciona un árbol por rodal, para utilizarlo en huertos semilleros (Barrett, 1980; Zobel y Talbert, 1984).

El fenómeno ocurre cuando el polen de un árbol con determinado genotipo poliniza sus mismas flores o se producen polinizaciones entre miembros de un mismo clon, produciendo un incremento de los homocigotos dentro del genotipo, por lo cual árboles autopolinizados producen menos madera que la proveniente de cruzamientos libres (Zobel y Talbert, 1984; Claire and Outi, 1996).

Los efectos perjudiciales de la endogamia han sido largamente observados en las plantas (Darwin 1876; citado por Claire y Outi, 1996). Zobel y Talbert(1984), mencionan que se producen poca cantidad de semillas, bajo vigor de los individuos endogámicos y drástica disminución del tamaño de la población. Barrett (1980), sugiere no seleccionar árboles aislados, muy próximos entre sí, descartar rodales pequeños e impedir la cosecha en años de baja producción de semilla. Para el caso de huertos semilleros Moreno (1996)¹ propone utilizar 40-50 clones iniciales; para maximizar el efecto de panmixia o polinización al azar entre clones y minimizar la

¹ Gustavo Moreno Díaz, 1996, Ingeniero Forestal, Asesor Técnico U.G. de Genética y Control Fitosanitario-CONAF.

endogamia, ambas medidas a través de un buen diseño de plantación.

Las semillas varían en sus tasas de germinación, crecimiento y tamaño de las plantas producidas, fenómeno que se conoce como calidad fisiológica o vigor de semillas (Bonner et al., 1994). No es una propiedad simple de medir, sino un concepto que describe diversas características asociadas con la semilla que germinará y la consiguiente planta (Perry, 1981).

La utilización de semillas de alto vigor, derivará en plantas normales con rápido crecimiento y uniformidad, bajo un amplio rango de condiciones de campo (Bonner et al., 1994) y los efectos de esta característica pueden persistir hasta influenciar al crecimiento de la planta madura, uniformidad y rendimiento de la cosecha (Poulsen, 1993). Como se aprecia existe una relación entre vigor y endogamia, conceptos a considerar en la colecta de semilla, evitando así problemas posteriores.

Este estudio tiene como objetivo evaluar el efecto de la endogamia en el vigor de semillas y plantas de *Pinus radiata* D. Don, entre progenies derivadas de polinización libre, polinización controlada y autopolinización; determinar cuales pruebas de vigor realizadas en laboratorio presentan buena correlación con las variables de las plantas luego de seis meses de desarrollo bajo condiciones semi-controladas de invernadero. Las pruebas se realizaron con semillas, provenientes del huerto semillero clonal "Chillán", perteneciente a la Corporación Nacional Forestal (CONAF).

II ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

2.1 Endogamia

Endogamia o intracruzamiento es el cruzamiento de individuos emparentados con pérdida de heterocigotía. El caso extremo es la autofecundación y existe toda una gradación desde la retrocruza con uno de los padres, cruzamiento entre hermanos, primos, etc. hasta entre miembros de una pequeña población aislada (Barrett, 1980).

Si un individuo se autofecunda, para cada carácter heterocigoto aparecen en la progenie un 25% de los individuos con el efecto de este recesivo; en efecto $Aa \times Aa = 25\% AA + 50\% Aa + 25\% aa$. Si el individuo autofecundado posee muchos recesivos su efecto acumulativo en la progenie puede ser importante, llegando a traducirse en una pérdida de vigor (Barrett, 1980). El nivel de endogamia está determinado no sólo por la naturaleza del sistema reproductivo, sino también por la estructura familiar, la cual está influenciada por las características de la dispersión del polen y semillas. Este último factor puede aumentar el parentesco de los individuos próximos entre sí en una población de apareamiento y de este modo, se puede incrementar el potencial de endogamia. Este incremento en las tasas de autocruzamiento trae asociado un incremento en la frecuencia de alelos recesivos perjudiciales o letales, y esto en conjunto un aumento de la magnitud de la depresión endogámica (Couvét et al., 1996).

La endogamia se ve favorecida en el caso de flores perfectas hermafroditas; así opera la fecundación en especies tropicales con muchos árboles por hectárea y remotas posibilidades de fecundación (Moreno, 1996)¹.

La longevidad de algunos árboles, más que la media, puede traducirse en la existencia de relativamente pocos individuos dominando en el pool genético. Esto, combinado con otros factores como floración no sincronizada en cuanto a flores masculinas versus flores femeninas y una relación desequilibrada de sexos puede aumentar potencialmente, el nivel de endogamia (National Research Council, 1991).

Estas cruces entre individuos emparentados, con la forma extrema (autopolinización), ocurren en muchas especies tanto de coníferas como de latifoliadas (Zobel y Talbert, 1984). Es así como al estudiar los ciclos de vida del *Pinus leucodermis*, Morgante et al. (1993) determinaron que las coníferas son plantas incompatibles que usualmente muestran autocruzamiento, pero en niveles bajos y con un severo efecto de depresión en estos individuos. A su vez Ellis et al. (1992), estudiando tres especies de *Eucalyptus* (*E. spathulata*, *E. cladocalyx* y *E. leptophylla*) determinaron bajos niveles de autocruzamiento en estas especies debido a la presencia de un sistema de autoincompatibilidad a nivel del pistilo en las flores de estos árboles. Según Eaton (1993), la autopolinización parece ser normal en el género, pero con porcentajes variables entre unas y otras especies; sus efectos en los *Eucalyptus* son entre otros la pérdida de

¹ Gustavo Moreno Díaz, 1996, Ingeniero Forestal, Asesor Técnico U.G. de Genética y Control Fitosanitario-CONAF.

vigor, mayor tendencia a la bifurcación y mayor variabilidad en la forma de crecer.

La endogamia se mide por el coeficiente de endogamia (F), que se utiliza para medir la pérdida de heterocigotía. Estos dos conceptos se reúnen en la expresión $H = 1 - F$, en que H es el coeficiente de heterocigotía, que se pierde a un ritmo de $\frac{1}{2}$ en cada generación para el caso de autofecundación (Barrett, 1980). Se utiliza el símbolo ΔF para expresar el cambio en la cantidad de endogamia por generación:

$$\Delta F = 1/2N, \quad N = \text{n}^\circ \text{ de individuos}$$

La expresión anterior se utiliza para número similar de individuos usados como padre y madre, ahora si el número difiere se cambia la expresión a la siguiente:

$$\Delta F = \frac{N(\sigma) + N(\varphi)}{8 * (N(\sigma) * N(\varphi))}$$

Donde:

$N(\sigma)$ = números de árboles utilizados como padre.

$N(\varphi)$ = números de árboles utilizados como madre.

2.2 Efectos de la endogamia

El efecto que causa la endogamia a través de las sucesivas generaciones va a depender del sistema de cruce y de la relación que exista entre los participantes de ella; esto se puede apreciar en la figura 1 donde se percibe la homocigotía a medida que transcurre el tiempo.

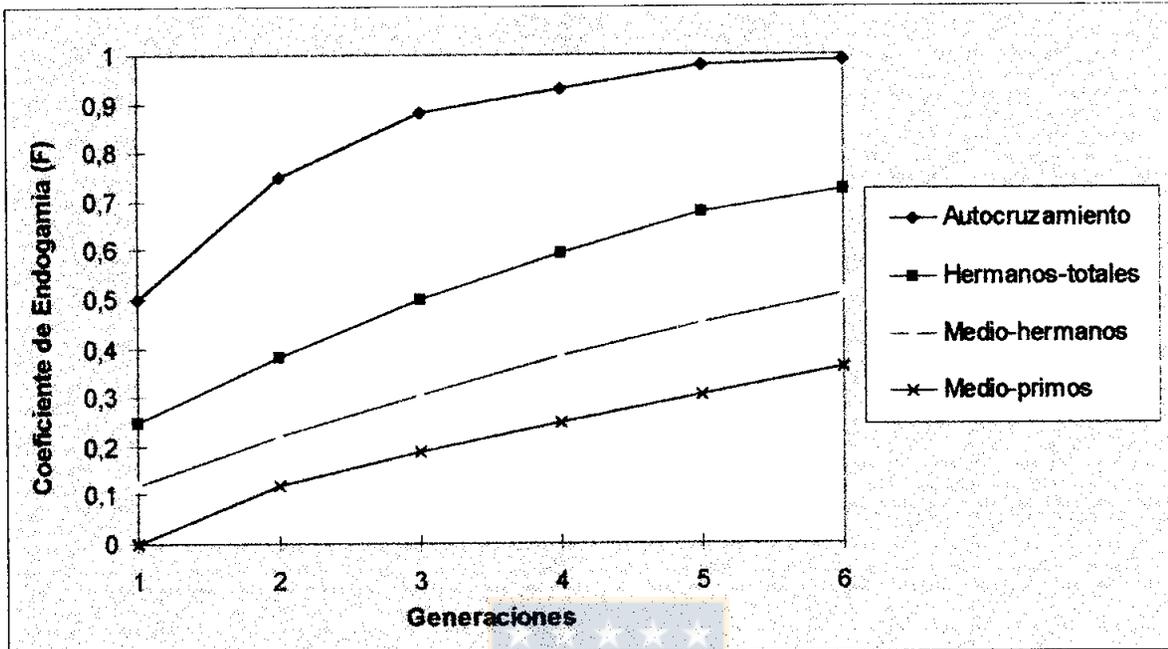


Figura 1: Cambio en el coeficiente de endogamia (F) en diferentes sistemas de autofecundación a través de las generaciones (Wright, 1964; Claire y Outi, 1996).

Ahora bien, es importante señalar que la endogamia es muy relevante en la práctica forestal (figura 2), como se ha detectado en varias especies arbóreas, puesto que la tasa de crecimiento en éstas, disminuye linealmente de acuerdo con el incremento del coeficiente F, por lo menos en el rango de 0 a 0,5 (Wellendorf y Ditlevsen, 1992; Durel et al., 1996). Esto mismo fue establecido por Hauser y Loeschcke (1995), quienes determinaron que se produce una función lineal decreciente entre el crecimiento y el aumento del coeficiente de endogamia (F), y este aumento produce una menor variabilidad dentro de la especie y de los individuos endogámicos (Wang et al., 1996).

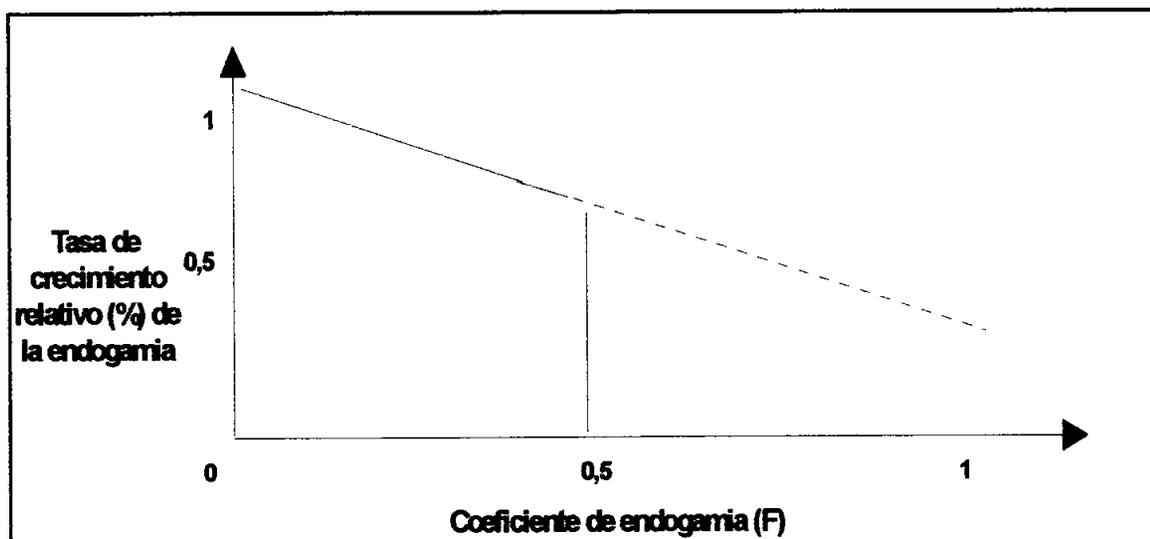


Figura 2: Efecto del Coeficiente de Endogamia en el crecimiento (Wellendorf y Ditlevsen, 1992).

La base genética de la depresión por endogamia no puede ser explicada mediante un modelo simple. Por una parte porque ella se debe a la homocigotía de genes recesivos perjudiciales o letales y por otra debido a las normas de reacción más estrechas de los locus homocigotos. Algunas de las consecuencias de la endogamia llegan a ser visibles en un ambiente favorable, por ejemplo, baja viabilidad de la semilla, plántulas albinas, desviación de color y malformaciones, entre otros; pero la depresión endogámica se expresa en mayor forma bajo años desfavorables (Durel et al., 1996); es así como las diferencias en las tasas de crecimiento son mucho más pronunciadas bajo las condiciones de campo (Hadders y Koski, 1975). Al'tshuler et al. (1992) corroboran estos resultados al demostrar que en individuos con alto porcentaje de homocigotos existe un mayor potencial de genes recesivos dañinos o letales que se expresan produciendo una caída en la viabilidad de las semillas y

rendimiento de las plantas. El hecho de que en condiciones óptimas el efecto de la depresión endogámica sea menor, se debe a que los genes recesivos letales son menos afectados y se manifiestan de mejor forma (Wang et al., 1996).

Otras consecuencias comunes que pueden generarse de la endogamia según Zobel y Talbert (1984) son:

- a) No se forman semillas llenas.
- b) Las semillas se forman, pero no germinan.
- c) Las semillas germinan, pero las plántulas son anormales y con frecuencia sólo sobreviven muy poco tiempo.
- d) Las plántulas sobreviven, pero son pequeñas, débiles, amarillentas y de crecimiento lento. Algunas de ellas es posible reconocerlas y eliminarlas del vivero antes de plantarlas en el campo.
- e) Las plántulas crecen más lentamente que las normales, pero su apariencia no es lo bastante anormal para detectarlas y eliminarlas de las camas del vivero. Este resultado es bastante común y muy riesgoso, ya que árboles autopolinizados producen menos madera que la que se obtendría de plantas de cruzamiento libre.
- f) Las plántulas crecen igual, o a veces mejor que las plantas normales, sin embargo son raros los árboles autopolinizados que crecen de esta manera.

Dentro de esta lista de efectos de la endogamia Hauser y Loeschcke (1995), señalan que las semillas autocruzadas germinan más lentamente y en un porcentaje menor, y las plantas poseen baja supervivencia, menor floración y fructificación.

Por otro lado Daniel et al. (1982), señalan que los rodales naturales están integrados por familias y grupos de ellas, por lo que puede esperarse cierto grado de cruzamiento consanguíneo y menor vigor asociados con este tipo de cruzamiento considerado normal en la mayoría de las poblaciones forestales naturales. El mismo autor señala que las semillas con consanguinidad dan por resultado la producción de plántulas de calidad inferior, por lo que hace dudosa la recolección de semilla de rodales tratados por cortas sucesivas.

Por su parte Claire y Outi (1996) señalan algunos de los principales efectos producto de la depresión endogámica, señalando que: a nivel embrionario, desde la polinización a la germinación, la depresión endogámica en las semillas se manifiesta típicamente con semillas vacías, lo que evidencia la incompatibilidad en la autofecundación, y reduce el número de semillas llenas al producirse muerte embrionaria; en este período de desarrollo los factores ambientales no poseen importancia. Muchos de estos embriones mueren debido a que en ellos aumentan los homocigotos de genes letales o perjudiciales; por lo cual si los embriones se mueren las semillas resultan vacías (Claire y Outi, 1996).

La acción de la depresión endogámica, desde que es plántula hasta que es adulto, se exhibe tempranamente en las plantas autofecundadas, y se incrementa con la edad; es así como a temprana edad las progenies de autocruzamiento presentan fuerte depresión en crecimiento, al igual que una alta mortalidad a través de los diferentes estados de desarrollo, en relación a las plantas de cruzamiento libre. A modo de

ejemplo en un vivero de *Pinus radiata* la depresión endogámica fue de 18.2 % para las plantas de autocruzamiento (Claire y Outi, 1996).

También se han estudiado otras características, como la densidad aparente; es así como existe un estudio en *Pinus radiata* (Wilcox, 1983 citado por Claire y Outi, 1996), donde no se determina un efecto de la endogamia con respecto a plantas de cruzamiento libre, y recientes estudios en *Picea abies* han mostrado una pequeña depresión de un 6 % a la edad de 10 años (Claire y Outi, 1996).

Como se mencionó anteriormente los efectos de la endogamia son producidos por el aumento en la proporción de genes recesivos letales en los individuos generados por autocruza (Fisher, 1965), y estos genes recesivos al ser expresados producen una serie de problemas, que se pueden disipar si son seguidos de una polinización cruzada; sin embargo, cuando una línea autocruzada proviene de material plus, este puede no poseer genes recesivos (Fisher, 1965).

Sin embargo, Barrett (1980) señala que experiencias realizadas en *Pinus taeda* en los Estados Unidos, demostraron que existe una pérdida de vigor entre las progenies de individuos autofecundados cuando son comparadas con las progenies de los mismos individuos en polinización libre. Este autor menciona que otras especies forestales han demostrado que pueden tener crecimientos en un 50 % menor comparadas con los testigos. Es así como Sorenson y Miles (1992), citados por Eaton (1993), dan a conocer los efectos que determinaron de la autopolinización, los cuales coinciden

con el resto de los autores mencionados; ellos dicen que la autopolinización provoca menor crecimiento, altura y supervivencia en árboles jóvenes de pino ponderosa, pino oregón y abeto noble (*Abies grandis*).

En Japón trabajando en una plantación de *Cryptomeria japonica*, Kurinobu et al., (1991) determinaron la diferencia en altura al sembrar bajo invernadero semillas de segunda generación de autocruzamiento (F2) y semillas de polinización controlada. Luego de un año el resultado fue una reducción de un 7% en altura en plantas F2 y la razón dada para explicar esta causa de depresión fue la retención de genes recesivos perjudiciales por parte de las plantas autofecundadas.

También, hay casos como el de *Picea omorika* en la ex-Yugoeslavia (Wright, 1964) en que a pesar de la consanguinidad, establecida hace mucho tiempo, se presenta una escasa degeneración debida a este fenómeno. Ello se debería a que la población es lo bastante pequeña para que una proporción apreciable de los factores recesivos perjudiciales pueda ser fijada naturalmente o eliminada. Por tanto, parece ser que la autofecundación en hábitats reducidos no da origen a tantos genes indeseables como en el caso de hábitats más extensos.

Sobre este mismo tema estudios en *Pinus sylvestris* determinaron que la depresión endogámica se presenta muy temprano a nivel de embrión, donde la presencia de genes letales elimina una gran proporción de descendencia de origen autopolinizado, así se impide la producción de individuos con

alto porcentaje de genes recesivos letales. Esta reacción es típica de la mayoría de las coníferas y también entre alguna especies de angiospermas perennes (Karkkainen et al., 1993).

2.3 Relación entre la endogamia y el vigor

Según Zobel y Talbert (1984) el vigor suele disminuir considerablemente cuando ocurren cruza entre parientes o autopolinización. David et al. (1993), realizaron estudios donde compararon poblaciones con alto y bajo nivel de autocruzamiento, llegando a la conclusión que el vigor expresado en tamaño de la población y su nivel de adaptación a nuevos ambientes, es mejor donde existe una mayor polinización libre entre los diferentes individuos de la población.

Sin embargo, no siempre la autofecundación trae aparejada una pérdida de vigor. En el caso de las plantas autógamias existen estructuras florales que promueven la autofecundación, por lo cual se cree que deben haber desarrollado mecanismos para eliminar los genes nocivos a través de muchas generaciones (Barrett, 1980).

Las cruza endogámicas producen poca cantidad de semillas, bajo vigor de los individuos endogámicos y la drástica disminución del tamaño de los individuos de la población (Zobel y Talbert, 1984), también el porcentaje de emergencia de campo y vigor de los árboles es significativamente más alto en semillas obtenidas por polinización cruzada (Devadas et al., 1992).

Pero lo más dramático del efecto de depresión endogámica, en términos económicos, es la pérdida de volumen en plantaciones comerciales, por disminución de la tasa de crecimiento. Es así como en un ensayo con *Picea abies* en Suecia se compararon cuatro progenies derivadas de autocruzamiento y cuatro de polinización libre; y se determinó que a los 61 años el volumen de estas últimas era 2,3 veces mayor que el de las primeras (Hadders y Koski, 1975). En *Pinus radiata*, según trabajos desarrollados por Matheson (1982), al comparar progenies de autocruzamiento con cruzamiento libre, a los 11 años, las primeras tenían un 20% menos de crecimiento y a los 24 años la diferencia había aumentado a un 60% en crecimiento. En este mismo trabajo el autor señala que la segunda generación de autocruzamiento presenta un desarrollo similar al de la primera y lo que es más importante, si se cruzan dos individuos de distintas progenies generadas por autocruzamiento, en su descendencia se restaura el vigor de la línea. Zobel y Talbert (1984) mencionan la experiencia de Sniezko (1982), quien trabajó con individuos endogámicos de primera generación (S1) y realizó cruces $S1 \times S1$, encontrando aumento de heterosis y recuperación de la depresión endogámica, pero los individuos resultantes no pudieron restaurar el nivel de vigor de sus progenitores.

2.4 Calidad de semillas

Según Popingis (1977) citado por Torregrosa (1994), calidad de semillas es la sumatoria de todos los atributos genéticos, físicos, fisiológicos y sanitarios que afectan su capacidad de originar plantas de alta productividad. El mismo autor, señala que la calidad fisiológica de la semilla comprende

todas aquellas características que indican su capacidad para desempeñar las funciones vitales y que el momento en el cual la semilla alcanza su máximo peso de materia seca, presenta su máxima calidad fisiológica; luego de alcanzado este punto, comienza a decrecer o deteriorarse. Este proceso depende de la especie, factores genéticos, factores adversos que afectaron a la planta madre y factores que actúan sobre la semilla tales como temperaturas extremas, daños causados por insectos, microorganismos, variaciones de humedad y otros.

Por su parte, Perry (1981) señala que el éxito está en la calidad de la semilla, ya que el desarrollo de la plántula en los primeros días depende exclusivamente de las reservas contenidas en ellas y de la eficiencia de conversión de éstas.

Bonner et al. (1994) señalan que la calidad de las semillas difieren debido a que estas varían en sus tasas de germinación, de crecimiento y tamaño de plantas producidas. El mismo autor piensa que la calidad de la semilla es un término general que puede referirse a la pureza, capacidad germinativa o vigor de un lote de semillas. Para Perry (1981), la calidad está constituida por tres elementos o criterios: pureza, germinación y estado sanitario. En el primero, se determina la proporción en peso de semillas intactas del total; en el segundo, el porcentaje de semillas viables y en el tercero, la presencia de patógenos en el lote de semillas.

La importancia de poseer semillas de alta calidad fisiológica o alto vigor es que los efectos de esta característica

pueden persistir hasta influenciar al crecimiento de la planta madura, uniformidad y rendimiento de la cosecha. También el alto grado de vigor influye en una mayor facilidad de almacenamiento, mínimo desperdicio de semillas, uniformidad de plantas en vivero, mayor certeza en la producción de plantas y mayores posibilidades de desarrollar técnicas avanzadas de producción de plantas y de métodos de plantación (Poulsen, 1993).

2.5 Vigor

Existen una serie de definiciones que explican el concepto de vigor, las cuales establecen que éste es una propiedad fisiológica determinada por el genotipo y modificada por el ambiente, condiciones de manejo, nutrición de las plantas, madurez en el momento de la cosecha, tamaño y peso seco, edad, condiciones de secado y almacenaje de la semilla, entre otros (Popinigis, 1977 citado por Torregrosa 1994). Como se aprecia no es una sencilla propiedad medible como la germinación, sino un concepto que describe diversas características, todas ellas asociadas con aspectos de la semilla que germina y la consiguiente plántula (Perry, 1981).

Vigor de semillas se define:

a) Según AOSA (Association of Official Seed Analysts), vigor representa "aquéllas propiedades de la semilla que determinan el potencial para una emergencia rápida y uniforme, y el desarrollo de plantas normales bajo un amplio rango de condiciones de campo".

b) Según ISTA (International Seed Testing Association), vigor es "la suma de las propiedades que determinan el nivel potencial de actividad y comportamiento de la semilla o del lote durante la germinación y emergencia de las plantas".

c) Según IUFRO (Internatinal Union of Forestry Research Organizations), el vigor representa "aquellas propiedades de la semilla que determinan el potencial para una emergencia rápida y uniforme, y el desarrollo de plantas normales bajo un amplio rango de condiciones de campo".

2.5.1 Factores que alteran el vigor. Para Perry (1981) las causas de las variaciones en el vigor son variadas y diversas y los más comúnmente conocidos son: a) Constitución genética b) Condiciones ambientales y nutrición de la planta madre c) Estado de madurez en la cosecha d) Tamaño de la semilla, peso y densidad e) Integridad mecánica f) Deterioro y envejecimiento y g) Patógenos.

2.5.2 Viabilidad , germinación y vigor. No hay que confundir la viabilidad y el vigor. La primera se relaciona con la capacidad potencial de las semillas para germinar y desarrollar una nueva planta; mientras que el vigor está referido a la fuerza o vitalidad que éstas pueden presentar para germinar y emerger en forma rápida y soportar en mayor o menor grado condiciones adversas del medio ambiente (Torregrosa, 1994). La relación entre vigor y germinación se ilustra en la figura 3, y la definición de esta última característica está dada por la AOSA (Association of Official Seed Analysts) organismo que define la germinación como "la emergencia y desarrollo a partir del embrión de la semilla,

de aquellas estructuras esenciales las cuales, según el tipo de semilla en cuestión, son indicadora de la capacidad para producir una planta normal bajo condiciones favorables" (McDonald, 1993).

De acuerdo con Ferguson (1993), es necesario determinar el vigor de la semilla porque los análisis de germinación se hacen bajo condiciones de laboratorio, muy controladas que luego no existirán en el campo; por esto, los datos de germinación en laboratorio no se relacionan bien con los resultados en el campo. En estos análisis el umbral máximo de germinación rara vez se logra en terreno; el porcentaje de germinación es la suma de plantas fuertes y débiles y estas últimas, no lograrán sobrevivir en terreno.

Las semillas alcanzan su máxima capacidad germinativa y vigor durante el proceso de maduración a su máximo peso seco o en el estado de "maduración fisiológica", después de este estado empieza el deterioro de la semilla hasta llegar a su muerte (figura 3). Este proceso no puede ser detenido, pero la tasa de deterioro puede ser controlada en algún grado (Bonner et al., 1994).

2.5.3 Relación entre vigor y deterioro. El vigor de la semilla declina más rápido que la capacidad de germinar (figura 3). El primer signo de deterioro es una pérdida de vigor y es así como una semilla puede germinar aún en el caso de que algunas de sus funciones fisiológicas hayan sido afectadas. La capacidad para producir plantas bajo condiciones de stress y el crecimiento y rendimiento de estas plantas puede verse afectado con la declinación del vigor

(Bonner et al., 1994). Es así como lotes de semillas con valores similares de germinación, pueden diferenciarse por su edad fisiológica (período de deterioro) y por ello, diferir en su vigor y capacidad de desarrollo (Hampton y Tekrony, 1995).

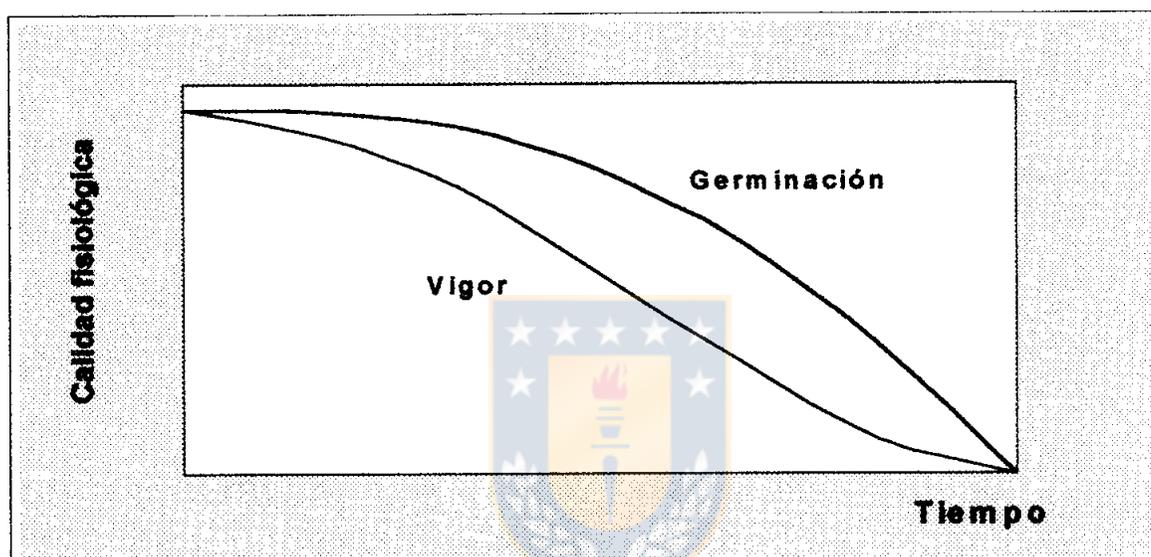


Figura 3: Relación entre germinación y vigor de la semilla (Torregrosa, 1994).

Una vez comenzado el deterioro, después de la maduración fisiológica (post-cosecha), el proceso es progresivo y secuencial y es muy difícil determinar las causas primarias de las secundarias (Powell, 1988 citado por Hampton y Tekrony, 1995). Este mismo autor, señala que probablemente la causa fundamental del deterioro de semillas son los daños físicos y fisiológicos de las membranas celulares de las semillas afectadas.

Entre las consecuencias del deterioro de semillas están la reducción progresiva de su capacidad de desarrollo,

reducciones en la velocidad y uniformidad de germinación, reducción a la tolerancia de stress ambientales y plantas con menor emergencia y crecimiento (Hampton y Tekrony, 1995).

2.6 Pruebas de vigor

Un ensayo de vigor puede proporcionar un resultado reproducible que puede estar más estrechamente relacionado con el comportamiento de la semilla en el campo bajo ciertas condiciones que el ensayo de germinación. Se han desarrollado diversas técnicas que en general, se pueden dividir en ensayos directos e indirectos; en los ensayos directos, los factores de stress que se esperan reduzcan la emergencia en el campo se establecen en el laboratorio bajo condiciones controladas; la idea es simular las condiciones de campo. En cambio, los ensayos indirectos son aquellos en que la característica de la semilla, medida en el laboratorio, se compara con su comportamiento en el campo, estos ensayos miden características fisiológicas de la semilla (Perry, 1981; Torregrosa, 1994).

Este último autor agrega que la principal ventaja de los test directos, es que evalúan simultáneamente todos los componentes de vigor de la semilla, por otro lado los test indirectos de vigor tienen la ventaja de controlar todas las variables, permitiendo resultados reproducibles.

Según esto se han agrupado en tres clases:

a) Test Bioquímicos: miden los cambios bioquímicos que están asociados con una reducción del vigor y de la germinación de la semilla. Ej. Test de tetrazolio.

b) Test Fisiológicos: miden los cambios en las actividades fisiológicas como consecuencia de la reducción del vigor de las semillas; un ejemplo de este tipo es el test de crecimiento de las plántulas.

c) Test de resistencia: Miden la reacción de las semillas frente a determinadas condiciones adversas (stress ambiental).

2.6.1 Pruebas más comunes para el vigor de la semilla. Bonner et al. (1994) proponen los siguientes indicadores de vigor:

a) Evaluación del crecimiento de las plantas:

i) Clasificación del vigor de las plantas: en laboratorio después del ensayo de germinación clasificarlas en débiles o fuertes.

ii) Tasa de crecimiento de las plantas: después de la germinación en laboratorio se mide el peso seco y/o el largo del tallo de las plantas.

b) Pruebas de stress:

i) Envejecimiento acelerado: las semillas se someten a 40°-45°C por 3-4 días, con humedad cercana al 100% y luego se realiza el test normal de germinación.

ii) Prueba de frío previo: las semillas se colocan en sustrato inerte a 10°C, por 6 días con alto contenido de humedad (95%) y luego se hace el test normal de germinación.

iii) Prueba de germinación en frío: hacer germinar las semillas a 15°C por 21 días y luego medir el largo de las plántulas.

c) Pruebas bioquímicas:

i) Cloruro de tetrazolio: algunos lo interpretan como un test rápido de germinación, pero otros lo interpretan como test de vigor. Se requiere experiencia, para determinar la viabilidad de las semillas.

ii) Adenosín trifosfato (ATP): no muy usado.

iii) Descarboxilasa del ácido glutámico: test de actividad enzimática que mide eliminación de CO₂.

iv) Captación de oxígeno: requiere un respirómetro, resultados poco claros.

v) Prueba de exudados: el deterioro de las membranas celulares permite la exudación de sustancias cuando la semilla es sumergida en agua. A mayor cantidad de exudados, menor vigor.

d) Medición de la tasa de germinación:

i) Conteos iniciales de germinación: a los 7 ó 14 días.

ii) Percentiles: el tiempo que se requiere para lograr el 50%, 75% y 90% de germinación.

iii) Tiempo medio de germinación: para determinar la velocidad de germinación.

iv) Capacidad germinativa: porcentaje de semillas que germinan.

v) Valor máximo y de germinación de Czabator : en la fórmula de Czabator VM es el mayor cuociente obtenido de la división del porcentaje acumulado de germinación en cada día por el mismo día de orden y GMD corresponde al porcentaje final de germinación dividido por el total de días del ensayo, de esta manera el valor de germinación de Czabator corresponde a:

$$VG = VM * GMD .$$

A su vez, Poulsen (1993) menciona los siguientes métodos para medir la calidad de la semilla:

a) Test bioquímicos:

i) Test de conductividad: Mide la integridad de las membranas celulares, ya que si están dañadas ocurre pérdida de contenido celular, después de la imbibición y se produce un aumento de la conductividad eléctrica del agua. Por lo cual a mayor conductividad, menor vigor.

ii) El test de tetrazolio: explicado anteriormente por Bonner et al. (1994).

b) Test que involucran germinación:

i) Tiempo Medio de Germinación

ii) Envejecimiento acelerado

iii) Prueba de frío previo

Ya descritos con detalle por Bonner et al. (1994) anteriormente.

iv) Prueba de Hiltner: Se procede como un test normal de germinación excepto por la cubierta de la semilla: ésta se cubre con una capa de 3-4 cm de espesor de grava o arena gruesa. Se registran las emergencias que ocurren diariamente.

v) Prueba de Agotamiento: La semilla se hace germinar y emerger en la oscuridad por un período de 21 a 28 días. Las plantas se etiolarán y recurrirán sólo a las reservas de la semilla. Se mide peso seco de las plantas, al final del período especificado.

vi) Respuesta a stress de temperatura y agua: Se mide el porcentaje de germinación después de un stress de temperatura y agua (alta T° con bajo contenido de humedad).

vii) Tamaño y densidad de la semilla: El tamaño y el peso de las semillas han sido siempre buenos indicadores de viabilidad y vigor de las plantas, o sea, son buenos estimadores de la calidad de la semilla. El tamaño afecta el crecimiento de las plantas por varios años.



III MATERIALES Y METODOS

3.1 Lugar de estudio

El estudio fue realizado en el Centro de Semillas Forestales de la Corporación Nacional Forestal (CONAF), ubicado en el kilómetro 5 del camino Chillán-Coihueco, donde se llevó a cabo la mayoría de las pruebas y en el laboratorio de semillas de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de Concepción.

3.2 Material

Se utilizaron 4 lotes de semillas de *Pinus radiata*, procedentes del huerto semillero de CONAF ubicado en Chillán y para simplificar los nombres de cada uno de los lotes, se utilizó la siguiente nomenclatura:

- A : Lote de semilla de autopolinización del clon 21 (clon 21 como madre x clon 21 como padre).
- L : Lote de semilla de polinización libre, entre el clon 21, actuando como madre y fecundada por varios clones del huerto semillero como padres (clon 21).
- C2 : Lote de semilla de polinización controlada entre el clon 21 (madre) y el clon 2 (padre), pertenecientes al mismo huerto semillero (clon 21 x clon 2).
- C11: Lote de semilla de polinización controlada entre el clon 21 (como madre) y el clon 11 (como padre), pertenecientes ambos al huerto semillero (clon 21 x clon 11).

En las mediciones del año 1994 realizadas por la Cooperativa de Mejoramiento Genético (CMG) el clon 21 se ubicó en el 4° lugar del ranking del ensayo de progenies de polinización abierta, entre 47 clones, esta clasificación mencionada por Zobel y Talbert (1984) se refiere a que un huerto semillero debe constar de 45 a 50 clones, donde los 25 primeros rankeados son los mejores y el resto, se consideran malos para una futura depuración, es así como el clon 11 se ubicó vigésimo en el ranking y el clon 2 considerado malo ocupó el lugar 31. Toda la semilla se cosechó en 1995 y se almacenó a una temperatura de 3 a 5°C.

3.3. Pruebas de vigor en laboratorio

Se seleccionaron los siguientes indicadores del vigor de semillas propuestos por Bonner et al. (1994) y Poulsen (1993):

- a) Peso de mil semillas
- b) Tamaño de la semilla
- c) Prueba de tetrazolio
- d) Prueba de frío previo
- e) Prueba de germinación en frío
- f) Prueba de Hiltner
- g) Prueba de agotamiento
- h) Prueba de emergencia
- i) Prueba peso seco plántulas

Para las pruebas a) b) y c) se utilizaron los lotes de semillas originales los cuales presentaban semillas viables y no viables, el resto de las pruebas, se trabajó sólo con

semillas viables y diámetros similares, para homogeneizar el efecto de la profundidad de siembra en relación con el tamaño de las mismas.

Para diferenciar las semillas viables de las no viables se utilizó el test de flotación y la separación por diámetros similares se realizó calibrando los lotes, a través de harneros de diámetros 5 mm, 4.5 mm y 4 mm, dividiendo los lotes de semilla en cuatro grupos: sobre 5, entre 5-4.5, entre 4.5-4 y bajo 4 mm.

Cada lote de semillas antes de ser utilizado fue pretratado, remojando en agua por un lapso de 72 horas a una temperatura de 4°C.

3.4 Descripción de las pruebas de laboratorio

a) Peso mil de semillas: Se midió en gramos y por medio de interpolación se determinó el número de semillas por kilogramo. Para esto se seleccionaron cuatro muestras del lote original y de cada muestra, se eligieron al azar, 250 unidades las que se pesaron para calcular el valor medio de mil semillas para cada lote analizado.

b) Tamaño de la semilla: Se determinó el diámetro promedio de cada lote de semilla ponderando clase diámetrica, por frecuencia de peso. El lote de semilla se calibró y cada grupo se pesó y multiplicó por la clase diámetrica de su calibre, la suma de estos valores se dividió por el peso total del lote, determinandose así el valor ponderado del tamaño de la semilla.

c) Prueba de Tetrazolio: A las semillas se les eliminó la cubierta seminal para sumergirlas en una solución al 0.5% de cloruro de tetrazolio, por 24 horas a una temperatura de 30°C, luego de este periodo se analizaron según su color; semillas de color pálido se asumen como no viables y las rojizas fueron cortadas para extraer el embrión de su interior. Embriones rojizos indican semillas viables, en cambio si presentan sectores pálidos o necróticos se asumen como no viables (Hampton y Tekrony, 1995).

d) Prueba de frío: Se pusieron semillas en una cámara a 10°C constante, en tierra no esterilizada y una humedad sobre el 85% por un periodo de 6 días; posteriormente se evalúa la capacidad germinativa luego de 28 días en una germinadora Jacobsen, donde se asume como semillas vigorosas germinaciones sobre el 80% (Hampton y Tekrony, 1995).

e) Prueba de germinación en frío: Las semillas se pusieron a germinar a 15°C constante, por 21 días. Al final del ensayo se midió el largo de la combinación hipocotilo-radícula y para ello se utilizó una cámara con control de temperatura y cajas de madera con arena como sustrato para hacer germinar y emerger a las plántulas. Plantas con un largo de la combinación hipocotilo-radícula mayor a 4 cm se clasifican como plantas vigorosas (Hampton y Tekrony, 1995).

f) Prueba de Hiltner: Las semillas se ponen a germinar bajo una capa de 3-4 cm de grava o arena gruesa. Se registra el porcentaje de emergencia que ocurre hasta el día 28 (Poulsen, 1993).

En este caso la capa inferior estuvo formada por arena y la capa superior por ladrillo molido, con un tamaño máximo de partículas de 2-3 mm, el cual fue lavado y esterilizado antes de ser usado (Perry, 1981; Hampton y Tekrony, 1995); se utilizaron cajas de madera las que se pusieron en un incubador a 22°C y humedad relativa sobre el 80%. Se consideran semilla de alto vigor porcentajes de emergencias sobre 85% (Perry, 1981; Hampton y Tekrony, 1995).

g) Prueba de Agotamiento: Las semillas se hicieron germinar y emerger en la oscuridad en una incubadora a 22°C y humedad relativa sobre el 80% por un período de 21 días. Para ello, se utilizó cajas de madera con arena de sustrato y tapadas para mantener las plántulas en la oscuridad, con el objetivo que se etiolen y recurran a las reservas de la semilla (Bonner, 1986; Poulsen, 1993). Al final del ensayo cada unidad muestral fue secada al horno y pesada en una balanza electrónica con una precisión de 0.1 gramos.

h) Prueba de Emergencia: También conocido como método de la arena (Hampton y Tekrony, 1995), consiste en realizar la germinación y emergencia de las semillas en arena como sustrato. Las semillas se sembraron en cajas de madera con arena a una temperatura de 22°C y humedad relativa sobre el 80% y se registraron las emergencias diarias, manteniendo las plántulas hasta el día 28 momento en el cual se determina el porcentaje de emergencia. Se asume que lotes con porcentajes sobre el 80%, presentan alto vigor de semilla.

Con los resultados de esta prueba se realizaron además mediciones de los siguientes indicadores de velocidad:

i)Conteo inicial a los 14 días: emergencia acumulada hasta el día 14.

ii)Tiempo medio de emergencia: se determinó de la siguiente forma:

$$TME = \frac{\sum(E_i D_i)}{\sum E_i}$$

En: emergencia del día n.
Dn: número de orden del día respectivo.

iii)Emergencia acumulada hasta el día de máximo incremento: se determinó con la máxima diferencia entre la emergencia del día y la emergencia del día anterior.

iv)Emergencia acumulada hasta el día del Tiempo Medio de Emergencia: porcentaje de emergencia acumulado, registrado para ese día.

v)Valor de germinación de Czabator : Se determinó el máximo valor de Czabator, a través del cociente máximo del porcentaje acumulado de emergencia, dividido por su día correspondiente, y también la germinación media diaria dividiendo el porcentaje final de emergencia por el tiempo del ensayo, en este caso 28 días. El producto de ambos valores determina el valor de germinación.

i)Peso seco plántulas: Se evaluó a los 28 días (Bonner et al., 1994), para lo cual las plántulas de cada unidad muestral fueron seccionadas en su parte aérea y radicular, secadas al horno y pesadas en la balanza electrónica con precisión de 0.1 gramos.

3.5 Ensayos en invernadero

Se utilizó un invernadero con condiciones ambientales semi-controladas, con camas calientes, control de temperatura de

sustrato, riego programable y sin control de temperatura ambiental.

Se utilizaron bandejas de aislapol de 84 cavidades, tubetes del tipo speedling de forma piramidal con 4.2 x 4.2 cm de ancho y 10.5 cm de largo y un orificio de 1 cm² en la base, dando un volumen interior de 135 cc. Se utilizó semilla viable y calibrada, colocandose en forma manual una unidad por cavidad.

El sustrato fue compost de corteza de pino el cual una semana antes de la siembra, se fumigó con Captan en dosis de 100 g/10 litros de agua y se desinfectó con Karate en dosis de 4 ml por cada 10 litros de agua. Se regó diariamente y se aplicó Captan en dosis de 25 g/10 litros de agua cada 15 días y producida la emergencia, se utilizó Nitrofoska en una concentración de 40 ml/10 litros de agua, el cual se aplicó, por primera vez cuando las plantas tenían el 2°-3° par de acículas (Liegel y Venator).

Se realizaron controles constantes de temperatura de sustrato, ambiente (máxima y mínima) y humedad relativa del lugar (tabla 1-A, apéndice). La cama caliente se utilizó sólo durante los primeros dos meses, a una temperatura de 25°C +/-1°C para apoyar el proceso de germinación, a los 75 días las bandejas fueron trasladadas a la intemperie.

3.6 Mediciones realizadas a las plantas

a) Altura: Se midió seleccionando una muestra con una frecuencia quincenal, desde el día de la siembra a través de reglillas graduadas cada 5 mm.

b) Diámetro de Cuello: Se midió con pie de metro seleccionando una muestra, con precisión de 0.1 mm, midiendo por primera vez a los 30 días de la siembra, para continuar con una frecuencia quincenal.

c) Peso Seco: Se determinó al final de los seis meses seleccionando una muestra, seccionando las plantas en su parte aérea y radicular. Las plantas fueron sometidas a una temperatura de 103°C por un tiempo máximo de 17 horas o hasta estabilizarse en su peso y luego llevadas a una balanza electrónica para determinar esta variable (Bonner et al., 1994)

d) Porcentaje de emergencia: Se determinó a los 30 días de la siembra, contando el número de semillas emergidas en relación al número total sembradas.

e) Velocidad de emergencia: Se determinó registrando el número de plántulas emergidas durante los primeros 30 días, a través del Tiempo Medio de Emergencia (Czabator, 1962; Bonner et al., 1994), de la siguiente forma:

$$TME = \frac{\sum(EiDi)}{\sum Ei} \quad \begin{array}{l} \text{En: emergencia del día } n. \\ \text{Dn: número de orden del día respectivo.} \end{array}$$

g) Test de Conductividad: Dura entre 48 y 72 horas y determina el daño a nivel celular al evaluar fisiológicamente

la calidad de la planta a través de la concentración de electrolitos que se difunden de las membranas celulares de las plantas, al ser sumergidas en agua (Hampton y Tekrony, 1995).

Se utilizaron 2 a 3 cm del ápice del tallo, las muestras se dejaron 24 horas en 50 mm de agua desionizada, al final del periodo se midió su conductividad electrolítica con precisión de $0.1 \mu\text{S}/\text{cm}^{-1}/\text{g}$, para lo cual se utilizó un conductivímetro digital. Posteriormente las muestras se secaron en un horno por 4 horas a 90°C , para luego de 24 horas medir nuevamente la conductividad (Glerum, 1985). La medición se expresó en porcentaje relativo, a través del cociente entre la conductividad antes del secado y después del secado. Los puntos críticos para interpretar resultados son bajo un 10%, considerado como buenas plantas y sobre 20% donde ya delatan presencias de daños celulares (Glerum, 1985).

A excepción de la velocidad y porcentaje de emergencia, las muestras de plantas que se utilizaron para determinar las otras variables, se calcularon con un error de muestreo de un 10%.

3.7 Diseño Experimental

Para todos los casos se utilizó un diseño del tipo completamente al azar con un muestreo aleatorio simple con repeticiones, las que variaron en 4 ó 6 dependiendo de la prueba de la siguiente forma:

1) La prueba de tetrazolio se realizó con unidades experimentales de 50 semillas con 4 repeticiones, el resto de

las pruebas de laboratorio utilizó unidades experimentales de 25 semillas con 6 repeticiones.

2) En invernadero la unidad experimental fue de 36 semillas por bandeja con 4 repeticiones.

Los valores obtenidos fueron analizados estadísticamente de acuerdo al diseño utilizado; cuando hubo diferencias significativas entre ellos estas se identificaron a través del test de comparación múltiple de Tukey. El nivel de confianza utilizado para estas pruebas fue de un 95% ($P \leq 0.05$), (Steel y Torrie, 1988).

Para los análisis estadísticos los resultados en porcentajes, se analizaron a través la transformación arcoseno (Y), donde $Y = \text{Arcoseno } \sqrt{\text{Porcentaje}}$. Esta transformación se realiza debido a que la aplicación válida de las pruebas de significancia en el análisis de la varianza exige que los errores experimentales se distribuyan normal e independiente con una varianza común (Steel y Torrie, 1988).

3.8 Correlaciones

Para identificar los mejores indicadores del vigor de semilla se determinó el coeficiente de correlación entre las pruebas de laboratorio y las variables de las plantas luego de seis meses de desarrollo. El coeficiente de correlación se calculó a través de los valores medios, con un nivel de confianza de 5%, y para la significancia se utilizó la prueba "t" (Bonner, 1986). Cada coeficiente de correlación se comparó con el valor crítico, determinando su nivel de significancia. (Steel y Torrie, 1988).

IV RESULTADO Y DISCUSIONES

4.1 Laboratorio

A continuación se presentan los resultados obtenidos en las pruebas y características medidas a los lotes de semillas en los laboratorios. Se clasificaron en dos grupos: el primero donde se utilizaron los lotes originales de semillas, es decir semillas viables y no viables y el segundo grupo, donde sólo se utilizó semillas viables.

4.1.1 Resultado de pruebas de vigor de semilla utilizando los lotes originales. En la tabla 1, se presentan los valores medios para características y pruebas de vigor de semilla realizadas en laboratorio a los lotes de autocruzamiento (A), cruzamiento libre (L) y cruzamientos controlados 21x2 (C2) y 21x11 (C11), además de los resultados de la prueba de Tukey.

TABLA 1: VALORES MEDIOS DE LAS PRUEBAS QUE UTILIZARON SEMILLAS DEL LOTE ORIGINAL.

Lotes de semilla	Peso de mil semillas (g)	Número de semillas por kilogramo (n°)	Tamaño de semillas (mm)	Prueba de tetrazolio (%)
A	20.9 a	47 847 a	4.77 a	10.25 a
L	43.7 b	22 883 b	4.43 b	91.50 b
C2	38.7 c	25 840 c	4.32 b	96.00 b
C11	39.3 c	25 445 c	4.35 b	94.00 b

Dentro de cada columna, valores con letras iguales no presentan diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

4.1.1.1 Peso de mil semillas. Sus valores medios se aprecian en la tabla 1 y sus resultados en el apéndice 2-A, mostrando que los únicos lotes de semillas que no presentan diferencias significativas son los de cruzamientos controlados C2 y C11, y que las semillas más grandes y por lo tanto, menor cantidad de ellas por kilogramo, son las del lote de cruzamiento libre (L), que tienen un peso promedio de 43.7 g para mil semillas y 22 883 unidades por kilogramo; inversamente el lote con semillas más livianas fue el de autocruzamiento (A) con 20.9 g en el peso de mil semillas y 47 847 semillas por kilogramo, debido principalmente a la gran proporción de semillas vacías o con endosperma deshidratado lo que se traduce en una baja viabilidad.

Este efecto, probablemente, se produce porque muchos de estos embriones mueren por el aumento de los homocigotos y de genes perjudiciales o letales; por lo cual las semillas resultan vacías (Claire y Outi, 1996).

4.1.1.2 Tamaño de la semilla. Los valores medios de esta variable se muestra en la tabla 1, donde las semillas de mayor diámetro medio son las del lote de autocruzamiento (A), con 4.77 mm, el cual es significativamente diferente al resto de los lotes de semilla, los cuales no presentaron diferencias entre ellos. Es así como el lote de cruzamiento libre (L) presentó un valor promedio de 4.43 mm y los lotes de cruzamientos controlados C2 y C11, presentaron valores medios de 4.32 mm y 4.35 mm, respectivamente. Los resultados de la composición de los lotes se aprecian en la tabla 3-A.

La participación porcentual por calibre respecto a un kilogramo de semilla, en los lotes analizados fue diferente; la composición del lote de autocruzamiento (A), presentó un 74% de semillas con un tamaño entre 4.5 a 5 mm y un 15% con semillas sobre 5 mm, por lo cual concentró un 89 % de semillas sobre 4.5 mm de tamaño, razón por la cual presentó un mayor valor promedio en el tamaño (figura 4).

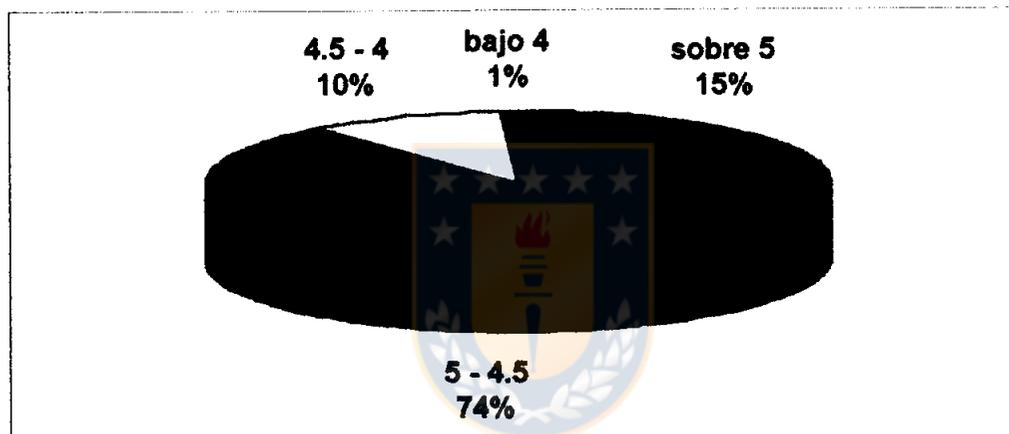


Figura 4 : Participación porcentual por calibre de semillas de *Pinus radiata* provenientes de autocruzamiento (clon 21x clon 21).

El lote de cruzamiento libre (L), presentó entre 4 y 4.5 mm la mayor participación porcentual en el tamaño con un 57% , seguido de un 36% en el rango de 4.5 a 5 mm lo que muestra que sus semillas se concentraron principalmente entre los 4 a 5 mm, obteniendo dentro de éste rango un 93% de semillas (figura 5).

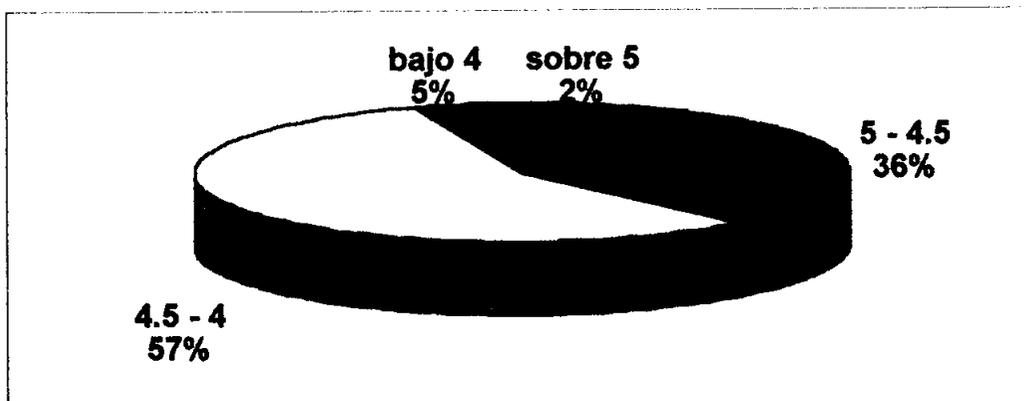


Figura 5 : Participación porcentual por calibre de semillas de *Pinus radiata* provenientes de polinización libre (clon 21 como madre).

Los lotes de cruzamientos controlados presentaron un comportamiento similar de la variable en análisis (figuras 6 y 7), es así como C2 y C11 lograron la mayor participación porcentual en la composición de las semillas, entre los 4.5 a 4 mm con valores de 57% y 60% respectivamente, seguidos de rango entre 4.5 a 5 mm donde mostraron valores de 25% y 27% respectivamente, sus semillas se concentraron entre 4 a 5 mm, rango en el cual C2 presentó un 82% y C11 un 87% de semillas.

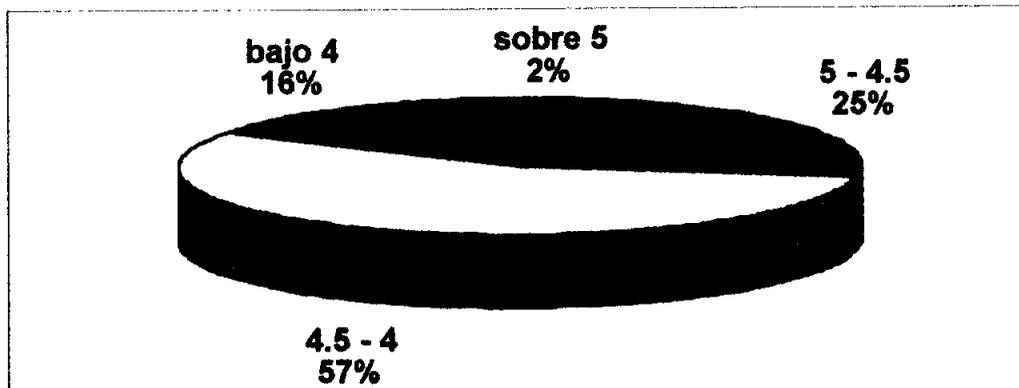


Figura 6 : Participación porcentual por calibre de semillas de *Pinus radiata* provenientes de cruzamiento controlado C2 (clon 21 x clon 2).

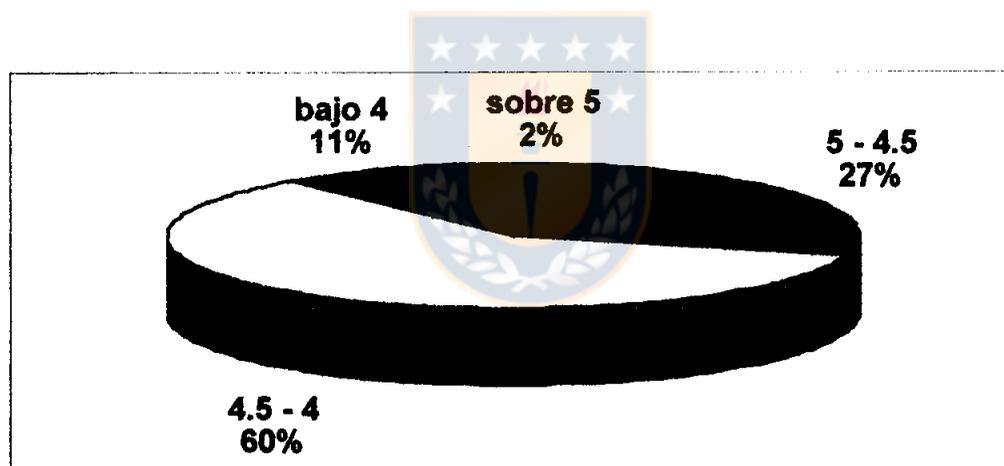


Figura 7 : Participación porcentual por calibre de semillas de *Pinus radiata* provenientes de cruzamiento controlado C11 (clon 21 x clon 11).

Al separar la muestra de semilla en calibres distintos para cada lote en estudio, se aprecia que el tamaño de la semilla no es uniforme y cambia según el tipo de polinización, es así como el autocruzamiento presentó un mayor tamaño respecto a los sistema de polinización cruzada, a pesar de ser la misma

especie. Estas diferencias se explicarían por la participación del clon 21 como aportador de polen en el caso de autocruzamiento, produciéndose un efecto "paterno", tal vez debido a la superioridad genética que presenta el clon mencionado, dentro del huerto (cuarto lugar del ranking), con respecto a los clones 2 y 11, y por sobre el promedio de clones que fertilizó al clon 21, en el caso del lote de semillas de cruzamiento libre (L).

4.1.1.3 Prueba de tetrazolio. La tabla 1 muestra que el valor más alto se presentó con el lote de cruzamiento controlado C2, con una viabilidad de un 96%, seguido por el lote C11, con un 94% y luego el lote de cruzamiento libre (L), con una viabilidad de 91.5%. Los resultados de estos lotes (tablae 4-A), no presentaron diferencias significativas entre ellos, caso contrario, el lote de autocruzamiento presentó un valor medio de viabilidad de un 10.25% el cual es significativamente diferente al resto. Los resultados de la viabilidad muestran los efectos de la depresión endogámica y coinciden con lo planteado por Al'tshuler et al. (1992), en el sentido que en individuos con alto porcentaje de homocigotos existe un mayor potencial de genes recesivos letales que se expresan produciendo una caída en la viabilidad de las semillas. La relación entre esta variables y el número de unidades por kilogramo a través del peso de mil semillas entregó un coeficiente de correlación de 0.96, altamente significativo (tabla 5-A).

Los mejores resultados los obtuvieron los lotes C2 y C11, y esto se explicaría por las mayores probabilidades de que se produzca la fertilización al realizar cruzamientos

controlados, ya que el polen se aplica en forma localizada y en el periodo receptivo de los estróbilos femeninos (Moreno, 1996)¹.

4.1.2 Resultados de pruebas de vigor, utilizando sólo semillas viables. Los valores medios de los resultados de las pruebas de laboratorio se presentan en la tabla 2.

TABLA 2 : VALORES MEDIOS DE LAS PRUEBAS DE VIGOR, QUE UTILIZARON SOLO SEMILLAS VIABLES.

Lotes de semilla	Prueba germinación en frío (cm)	Prueba frío previo (%)	Prueba de agotamiento (g)	Prueba Hiltner (%)	Peso Seco plántulas		
					radícula (g)	aéreo (g)	total (g)
A	3.78 a	94.8 a	0.86 a	81.3 a	0.52 a	0.57 a	1.09 a
L	8.59 b	96.0 a	1.12 ab	94.0 b	0.72 b	0.83 b	1.55 b
C2	8.82 b	95.2 a	1.32 b	90.0 ab	0.65 b	0.72 b	1.37 b
C11	8.55 b	99.2 a	1.20 b	90.0 ab	0.67 b	0.77 b	1.44 b

Dentro de cada columna, valores con letras iguales no presentan diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

4.1.2.1 Prueba de Germinación en Frío. Los resultados se aprecian en el apéndice 6-A, y los valores medios de las mediciones de la combinación radícula-hipocotilo de las plántulas emergidas se muestran en la tabla 2, donde el lote de autocruzamiento obtuvo un largo promedio de 3.78 cm presentando diferencias significativas con los lotes de semillas alógamas que no presentan tal diferencia entre ellos. Es así como el mayor valor de las mediciones lo obtuvo el lote de semillas de cruzamiento controlado C2 con un valor medio de 8.82 cm, mientras que los lotes de

¹ Gustavo Moreno Díaz, 1996, Ingeniero Forestal, Asesor Técnico U.G. de Genética y Control Fitosanitario-CONAF.

cruzamiento libre L y controlado C11 presentaron valores medios de 8.59 y 8.55 cm, respectivamente.

Para la ISTA lotes de semillas con un largo mayor a cuatro centímetros se asumen como vigorosos (Hampton y Tekrony, 1995), y el lote de autocruzamiento muestra el efecto de la depresión endogámica, al presentar un valor inferior a cuatro centímetros y una germinación de un 24%, en comparación a los lotes de semillas alógamas que presentan valores sobre los 8.5 cm y germinaciones sobre el 90%, la explicación de la baja germinación de las semillas de autocruzamiento en temperaturas que no son las óptimas, en este caso 15°C, se debe a los efectos de los genes letales los cuales afectan en forma más pronunciadas bajo condiciones de campo adversas, por la menor calidad fisiológica que presentan las semillas, las cuales dan a conocer diferencias en las tasas de crecimiento con las semillas de polinización cruzada (Hadders y Koski 1975).

4.1.2.2 Prueba de Frío Previo. Los valores medios de esta prueba se muestran en la tabla 2, donde se aprecia que no existen diferencias significativas entre las medias, lo que lleva a deducir que en condiciones óptimas el efecto endogámico en semillas viables no afecta, como lo expresan Wang et al. (1996). Estos resultados (apéndice 7-A) concuerdan con lo expuesto por Edwards y El-Kassaby (1995), quienes expresan que la germinación está bajo fuerte control genético maternal, al presentar los lotes madre común; es así como el lote de autocruzamiento (A), presentó la germinación media más baja con un 94.8%, y el lote de cruzamiento controlado C11 la más alta con 99.2%.

4.1.2.3 Prueba de agotamiento. Los valores medios de los resultados (apéndice 8-A) del peso seco de cada unidad muestral se aprecian en la tabla 2, donde el lote de autocruzamiento presentó el valor más bajo, con un peso seco de 0.86 g el cual presentó diferencias significativas sólo con los lotes de cruzamientos controlados, donde C2 obtuvo un peso seco de 1.32 g, y C11 un valor medio de 1.20 g. El lote de polinización libre (L) no presentó diferencias con el resto de los lotes al mostrar un valor medio de 1.12 gramos.

Una explicación para esto último podría radicar en el hecho cierto de la no standarización de esta prueba, la cual puede abarcar entre 21 y 28 días (Bonner, 1986; Poulsen, 1993). En este caso, la duración del ensayo fue de 21 días, por lo cual, es probable que no se hayan producido diferencias más substanciales en las tasas de crecimiento por asumir un periodo corto de tiempo, por esto se recomienda realizar la prueba con 28 días de duración. De todas maneras, los lotes de cruzamientos alógamos presentaron mayores valores que el lote autógeno; lo que concuerda con Perry (1981), que señala que el éxito está en la calidad de la semilla, ya que el desarrollo de la plántula en los primeros días depende exclusivamente de las reservas contenidas en ellas y de la eficiencia de conversión de éstas.

4.1.2.4 Prueba de Hiltner. Los valores medios de los porcentajes finales de emergencia de cada lote de semilla, luego de 28 días bajo 3 cm de sustrato grueso y en condiciones controladas se aprecian en la tabla 2, donde las semillas de autocruzamiento presentaron el porcentaje más bajo con un 81.3% de emergencia, el cual muestra diferencias

significativas con el lote de semilla de polinización libre (L) que registró el mayor valor medio con un porcentaje de emergencia de 94%. La diferencia con los lotes de cruzamientos controlados (C2 y C11), no fue significativa, obteniendo ambos un porcentaje de emergencia de un 90%.

Para la interpretación de resultados la ISTA (Hampton y Tekrony, 1995), asume que porcentajes de emergencias sobre el 85% se clasifican como semillas vigorosas, por lo tanto, con los resultados obtenidos en esta prueba (apéndice 9-A) se observa un efecto depresivo endogámico en relación al vigor y emergencia en semillas de autopolinización, y se puede concluir que para obtener semillas vigorosas y por consiguiente a futuro buenas plantas, son más beneficiosos los sistemas de cruza que tienden a la heterocigotía como lo son la polinización controlada y la polinización libre.

4.1.2.5 Peso seco (aéreo y radicular) de las Plántulas. Los valores medios de los resultados (apéndice 10-A) del peso a los 28 días, se muestran en la tabla 2, la que presenta diferencias significativas entre las plántulas alógamas y la autógena, tanto en el peso seco radicular como en el aéreo.

Es así como las plántulas del lote de polinización libre (L) presenta el mayor peso seco radicular con un valor medio de 0.72 g y en forma inversa las de autocruzamiento (A) el valor medio más bajo con 0.52 g de biomasa. Así mismo el lote de polinización libre (L) presentó el peso seco aéreo de mayor valor medio, con 0.83 g de biomasa y el lote de autocruzamiento (A) el valor más bajo con 0.57 gramos.

Tales diferencias entre las plántulas de semillas alógamas con las de autocruzamiento se explican por el efecto de la depresión endogámica que provoca un retraso notable en el crecimiento de las plantas autógamas, lo que permite deducir que a temprana edad las plantas de autocruzamiento presentan un menor vigor en el crecimiento, respecto a plantas de polinización cruzada; ya que el desarrollo de la plántula en los primeros días depende exclusivamente de las reservas contenidas en ellas y de la eficiencia de conversión de éstas (Perry, 1981; Claire y Outi 1996).

4.1.2.6 Prueba de emergencia. La tabla 3 muestra los valores medios, donde el lote de autocruzamiento presentó diferencias significativas con el resto al obtener el valor más bajo con un porcentaje de emergencia de un 84.0%, en cambio el valor más alto lo obtuvo el lote de polinización libre (L) con un 96.0%. Los lotes de cruzamientos controlados C2 y C11, obtuvieron porcentajes de emergencias con valores medios de 93.3% y 94.7%, respectivamente los cuales no presentan diferencias significativas con el lote de semillas de polinización libre(L). Los resultados se aprecian en el apéndice 11-A.

La ISTA asume como buen valor sobre el 80% de emergencias (Hampton y Tekrony, 1995), basándose en lo anterior, bajo condiciones controladas todos los lotes lograron un buen resultado; es así como las semillas de autocruzamiento (A), presentaron un porcentaje de emergencia de un 84.7%, lo que demuestra que bajo condiciones óptimas el efecto depresivo en semillas viables de autocruzamiento es menor y se logran manifestar de mejor forma (Wang et al., 1996) y que en

coníferas, la variación genética de la germinación está bajo fuerte control genético maternal (al presentar madre común), debido a su mayor participación en los componentes de la semilla (Edwards y El-Kassaby, 1995; Giannini y Bellari, 1995). Las diferencias entre el lote autógamo con los alógamos, se podrían deber a que en los últimos se logran formar combinaciones genéticamente superiores probablemente por una acumulación de heterocigotos, lo que deriva en un mayor porcentaje de germinación y posterior emergencia.

4.1.2.7 Indicadores de la velocidad de emergencia. Con los datos de la prueba de emergencia cuyo desarrollo se aprecia en la figura 4, se realizaron mediciones de los siguientes indicadores de la velocidad de emergencia, donde los valores medios se muestran en la tabla 3, para lo cual se asumió que dentro de los 28 días, el número de semillas que emergieron (plántulas), era igual al número de semillas germinadas, por lo cual los indicadores se trabajaron con los datos de las emergencias diarias. Los resultados de cada indicador se aprecian en el apéndice en las tablas 12-A, a la 18-A.

TABLA 3: VALORES MEDIOS DE LOS INDICADORES DE LA VELOCIDAD DE EMERGENCIA Y DE LA PRUEBA DE EMERGENCIA.

Lotes de semilla	Prueba emergencia (%)	Conteo al día 14 (%)	Tiempo medio emergencia (TME) (días)	Emergencia acumulada día máximo incremento (%)	Emergencia acumulada en el día del TME (%)	Valor germinación Czabator (VGC) (%/días)
A	84.0 a	82.8 a	10.5 a	72.81 a	70.67 a	19.36 a
L	96.0 b	89.2 a	11.2 a	78.85 a	76.00 a	23.83 a
C2	93.3 b	88.9 a	10.3 a	79.95 a	78.00 a	24.63 a
C11	94.7 b	90.8 a	11.0 a	76.45 a	72.00 a	24.63 a

Dentro de cada columna, valores con letras iguales no presentan diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

4.1.2.7.1 Conteo de la emergencia a los 14 días. Los resultados transformados no presentaron diferencias significativas entre los valores medios (tabla 3). Como se explicó anteriormente en la prueba de emergencia, en condiciones óptimas las semillas viables, tanto alógamas como autógamias presentan buenas germinaciones y emergencias, debido al efecto maternal que controla las germinaciones (Giannini y Bellari, 1995), es por ello que a los 14 días las emergencias de los lotes no presentaron diferencias significativas entre ellas, lo que demuestra que el efecto endogámico no afecta la velocidad de emergencia, bajo ambiente controlado, en semillas autógamias viables (Wang et al., 1996).

4.1.2.7.2 Tiempo Medio de Emergencia. Los resultados determinaron que no existían diferencias significativas entre las medias (tabla 3), al emerger los lotes de semillas aproximadamente en un mismo tiempo medio, por lo que se concluye que el efecto endogámico no influye en la velocidad de emergencia, de las semillas viables. Una explicación para la ausencia de diferencias significativas en el tiempo medio es un fuerte efecto "materno" que influye en la germinación y emergencia de los lotes en estudios los cuales presentan en común, al clon 21 actuando como madre (Giannini y Bellari, 1995).

4.1.2.7.3 Emergencia acumulada en el día de máximo incremento. Los valores medios muestran en la tabla 3 que no existe diferencias significativas entre los resultados que indican la energía germinativa y posterior velocidad de emergencia, el que al igual que los otros indicadores no

presentan diferencias debido al efecto materno que controla las germinaciones en coníferas (Giannini y Bellari, 1995), y la no manifestación del efecto endogámico bajo condiciones controladas, en semillas viables (Wang et al., 1996).

4.1.2.7.4 Emergencia acumulada en el día del tiempo medio de emergencia. Combina tasa con velocidad de emergencia y sus valores medios se muestran en la tabla 3. Los resultados transformados no presentaron diferencias significativas entre los lotes de semillas, debido a que en semillas viables con condiciones óptimas, el efecto endogámico no se expresa, o no se manifiesta en la emergencia (Wang et al., 1996), y al efecto materno que controla la germinación (Giannini y Bellari, 1995).

4.1.2.7.5 Valor de germinación de Czabator (VGC). La tabla 4 muestra los valores medios del Valor máximo de Czabator (VMC), y la Germinación media diaria (GMD).

TABLA 4 : VALORES MEDIOS DE LA GERMINACION MEDIA DIARIA Y EL VALOR MAXIMO DE CZABATOR.

Lotes de Semilla	Valor máximo Czabator (%/día)	Germinación media diaria (%/día)
A	6.40 a	3.02 a
L	6.94 a	3.43 b
C2	7.36 a	3.33 b
C11	7.28 a	3.38 b

Dentro de cada columna, valores con letras iguales no presentan diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

El valor máximo de Czabator (VMC) expresa la velocidad de germinación de un lote de semillas, y no presentó diferencias

significativas entre los lotes. Por su parte la germinación media diaria (GMD) indica la calidad final en la germinación de un lote de semillas, en la cual las semillas de autocruzamiento presentaron diferencias significativas con el resto de los lotes de semillas, al obtener el valor más bajo con 3.02 semillas germinadas por día. El lote de mejor resultado fue el de polinización libre (L), y presentó un valor de 3.43 semillas germinadas por día.

Con los valores ya determinados del valor máximo de Czabator y la Germinación media diaria, se presentan en la tabla 3 los valores medios del Valor de Germinación de Czabator (VGC), los cuales no presentaron diferencias significativas. La explicación de la no existencia de diferencias entre los lotes, respecto a la velocidad de emergencia, es debido principalmente al control materno que se ejerce sobre la germinación y posterior emergencia (Giannini y Bellari, 1995), y al menor efecto depresivo endogámico bajo ambiente controlado (Wang et al., 1996).

Como se aprecia en la figura 8, la endogamia no afecta bajo condiciones controladas la velocidad de emergencia en semillas viables de autocruzamiento, pero si produce diferencias en la capacidad de emergencia, y además existe un fuerte efecto materno en la germinación y emergencia tanto en semillas autógamas como alógamas.

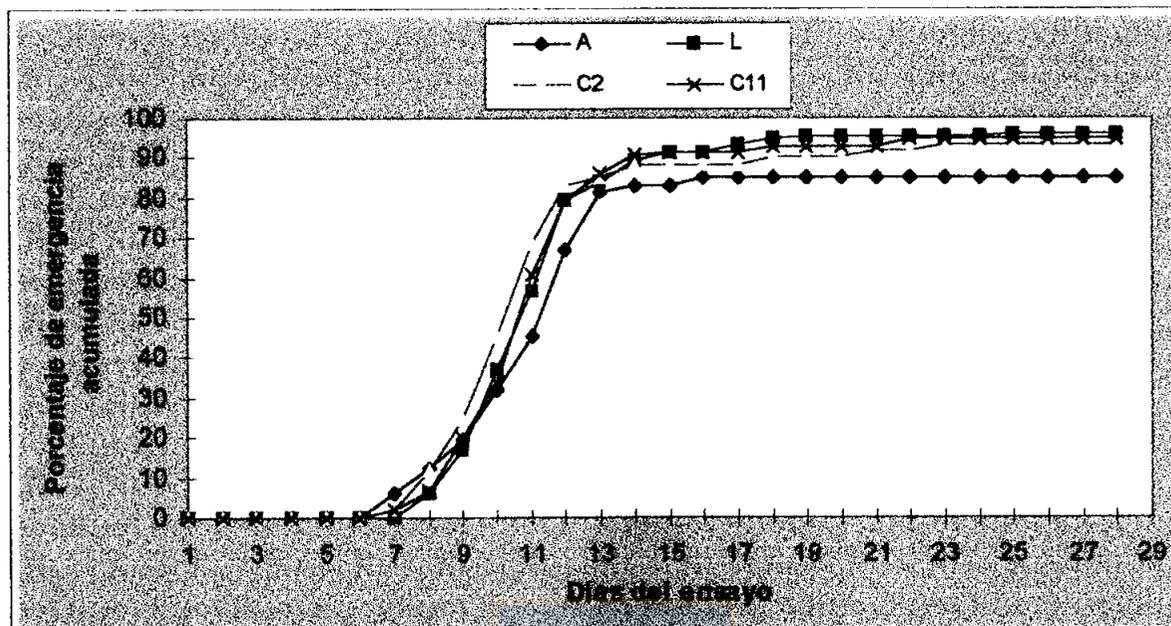


Figura 8 : Desarrollo de la germinación y emergencia de cada lote de semillas, durante los 28 días.

4.2 Variables morfológicas de las plantas

En la tabla 5 se presentan los valores medios para las distintas variables morfológicas evaluadas a las plantas a los seis meses y los resultados de la prueba de Tukey.

TABLA 5 : VALORES MEDIOS DE LAS VARIABLES MORFOLOGICAS DE LAS PLANTAS.

Tipos de plantas	Altura cm	Diámetro de cuello mm	Peso Seco			Relación Tallo-Raíz g/g
			raíz g	aéreo g	total g	
A	19.49 a	2.64 a	0.45 a	1.30 a	1.75 a	2.89 a
L	21.51 b	2.77 b	0.63 b	1.58 b	2.20 b	2.52 a
C2	21.64 b	2.82 b	0.65 b	1.68 b	2.30 b	2.58 a
C11	21.58 b	2.79 b	0.60 b	1.58 b	2.18 b	2.62 a

Dentro de cada columna, valores con letras iguales no presentan diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

4.2.1 Altura. La altura o largo de tallo de las plantas representa tanto la capacidad fotosintética de una planta como su área de transpiración (Bassaber, 1993; Escobar, 1994). En la tabla 19-A se aprecian los resultados de las alturas alcanzada por las plantas de cada grupo de semillas analizadas y el desarrollo durante los seis meses se aprecian en la figura 9.

Las plantas que presentaron una menor tasa de crecimiento en altura (tabla 5), fueron las plantas de autocruzamiento (A), con un valor medio de 19.49 cm en el largo del tallo; presentando diferencias significativas con las plantas C2, C11 y L. Estas últimas plantas no presentaron diferencias, y es así como las de cruzamiento libre (L), lograron una altura promedio de 21.51 cm, las plantas de cruzamientos controlados C11, una altura de 21.58 cm y las de mayores altura son las provenientes de los cruzamientos controlados C2, con un largo de tallo promedio de 21.64 centímetros.

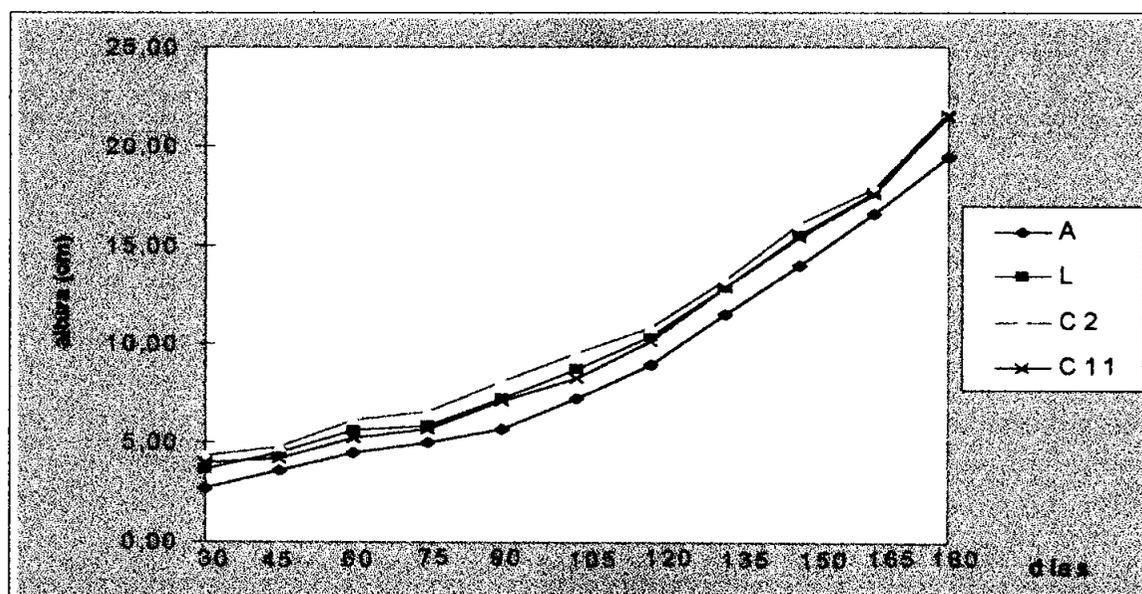


Figura 9 : Desarrollo de la altura, durante los seis meses de crecimiento de las plantas.

Basado en que los factores ambientales del vivero que afectan la altura de la planta en orden de importancia son: la edad o época de siembra, la disponibilidad de agua, la disponibilidad de nutrientes y la densidad de cultivo (Bassaber, 1993; Escobar, 1994), se determinó que las diferencias entre las medias se debían solamente a factores fisiológicos y genéticos; esto se debe a que los cuatro grupos de plantas fueron producidos bajo un manejo similar, y sembradas en el mismo tipo de speedling, por lo cual a una misma densidad.

Las plantas de autocruzamiento (A), presentaron diferencias significativas debido al efecto de la depresión endogámica, producto del aumento de la homocigotia en este grupo de plantas, lo que afecta en la tasa de crecimiento (Zobel y Talbert, 1984), esto concuerda con lo realizado por Claire y Outi (1996), quienes determinaron en plantas de autocruzamiento de *Pinus radiata* que la depresión endogámica de la altura en vivero era de un 18.2%, esto también fue planteado por Kurinobu et al. (1991), quienes trabajando en *Cryptomeria japonica*, con semillas de cruzamiento controlado y autocruzamiento, presentaron estas últimas una reducción de un 7% en la altura, esto permite determinar que bajo las condiciones de campo las diferencias en las tasas de crecimiento son mucho más pronunciadas (Hadders y Koski, 1975).

4.2.2 Diámetro de Cuello. La tabla 5 muestra los valores medios de las mediciones de cada uno de los grupos de plantas, al ser esta variable la que presenta la mayor capacidad predictiva del comportamiento en terreno de una

planta (Escobar, 1994). El desarrollo de esta variable durante los seis meses se aprecia en la figura 10 y los resultados en la tabla 20-A.

Con los resultados de la tabla 5 se determinó que no existían diferencias significativas entre las plantas de cruzamientos controlados C2 , C11 y las plantas de cruzamientos libres L. El único grupo de plantas que arrojó diferencias significativas con las otras plantas fueron las provenientes de semillas de autocruzamiento, presentando como valor medio un diámetro de cuello de 2.64 mm, en cambio las plantas con el mayor valor fueron las de cruzamiento controlado 21 x 2 (C2), con un diámetro promedio de 2.82 mm, grupo de plantas que también logró el mayor desarrollo en altura. Las plantas del grupo de cruzamiento controlado 21 x 11 (C11), logró un valor promedio en el diámetro de cuello de 2.79 mm y el grupo de plantas que provienen de semillas de polinización libre (L), un valor de 2.77 mm.

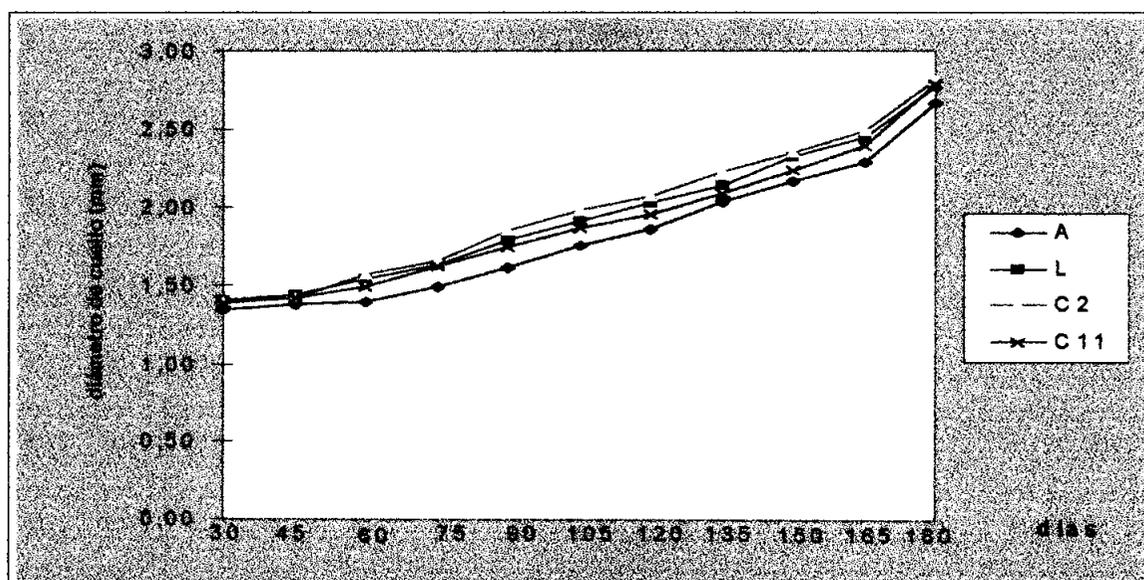


Figura 10 : Desarrollo del diámetro de cuello durante los seis meses de desarrollo de las plantas.

El diámetro de cuello es afectado principalmente en orden decreciente por: la densidad del cultivo, la disponibilidad de agua, la disponibilidad de nutrientes y la edad de las plantas (Bassaber,1993; Escobar, 1994). Basándose en lo anterior y al igual que con la altura las diferencias entre los diámetros de las plantas se deben a la calidad fisiológica de semillas y plantas, como también a la composición genética de ellas misma, descartándose variables externas por el hecho de haber recibido similar manejo en el vivero. Se puede apreciar entonces que a temprana edad las progenies de autocruzamiento presentan una fuerte acción de la depresión endogámica, lo que las afecta en las tasas de crecimiento, cuyas diferencias son mucho más pronunciadas bajo la acción de las condiciones de campo (Hadders y Koski, 1975; Claire y Outi, 1996).

4.2.3 Peso seco (aéreo y radicular). El Peso seco es la variable que refleja la capacidad de la planta de transformar los nutrientes absorbidos por medio de la fotosíntesis en una determinada cantidad de biomasa. La tabla 5 muestra los valores medios del peso seco aéreo y radicular, y la tabla 21-A los resultados de estas variables que presentaron comportamientos similares al peso seco total, es decir el único grupo que presentó diferencias significativas con el resto, fueron las plantas de autocruzamiento.

Para el caso del peso seco aéreo el resultado más bajo pertenecen a las plantas de autocruzamiento con un valor medio de 1.30 g, en cambio las plantas de cruzamiento controlado C2 obtuvieron el valor medio más alto con 1.68

gramos. Las plantas C11 y L presentaron valores medios similares para esta variable con un peso de 1.58 gramos.

Ahora, para el peso seco radicular el mejor valor medio lo obtuvo nuevamente las plantas de cruzamiento controlado C2 con un peso de 0.65 g , en cambio las plantas de cruzamiento libre (L), mostraron un mejor desarrollo radicular con un valor medio de 0.63 g , en comparación con el peso de las plantas C11 que presentaron un valor de 0.60 g, ya que ambas presentaron un mismo valor medio en el peso seco aéreo (tabla 5). Las plantas de autocruzamiento presentaron nuevamente el valor medio más bajo con 0.45 g de peso seco radicular.

Tales diferencias se explican por el efecto depresivo de los genes recesivos letales, producto del aumento de los homocigotos que provoca un retraso notable en el crecimiento de las plantas de autocruzamiento, lo que deduce que a temprana edad presentan un menor vigor en el crecimiento, respecto a plantas de polinización cruzada (Claire y Outi 1996). Además el peso depende fuertemente de la altura y del diámetro de cuello, variables en las cuales se notó el efecto depresivo, por lo cual en ambas variables las plantas de autocruzamiento (A), obtuvieron los índices más bajos, lo que repercutió en su menor cantidad de biomasa, ya que el desarrollo en los primeros días depende exclusivamente de las reservas contenidas en las semillas y de la eficiencia de conversión de éstas (Perry, 1981).

4.2.4 Relación tallo-raíz. Parámetro muy importante, por cuanto refleja la cantidad de material leñoso que es capaz de producir la planta, tanto en la parte aérea como radicular y,

por lo tanto, la relación entre superficie de transpiración y absorción; mientras más estrecha sea esa relación, mejor calidad se le supone a la planta (González, 1994). La tabla 5 muestra los valores medios de la relación tallo-raíz de los grupos de plantas en análisis.

Las plantas no presentaron diferencias significativas entre las medias de la relación tallo-raíz, presentando el índice más alto en esta relación las plantas endogámica con un valor de 2.86, en comparación al valor menor de 2.52 de las plantas de cruzamiento libre; a su vez las plantas de cruzamientos controlados C2 y C11 presentaron en ésta relación valores de 2.58 y 2.62 respectivamente.

Cuando las plantas se clasifican dentro de clases de altura, las con mayor relación tallo-raíz dentro de una clase tienen la menor supervivencia (Bassaber, 1993). Lo ideal de ésta relación en plantas de coníferas es 2:1, es decir la parte aérea debe pesar el doble que la radicular, en cambio en plantas a raíz cubierta la relación está afectada por el tipo de contenedor (Liegel y Venator; González, 1994), en este caso los resultados de las plantas (tabla 22-A) presentaron una relación mayor al ideal, lo que demuestra un exceso de crecimiento del tallo, pero esto permitió lograr diferencias en las tasas de crecimientos de las plantas analizadas.

4.3 Análisis Fisiológico de las Plantas. La tabla 6 muestra los valores medios de la tasa y velocidad de emergencia y calidad fisiológica a través del daño de las membranas a nivel celular de los diferentes lotes de plantas a los seis

meses de desarrollo. Los resultados de estas variables se aprecian en el apéndice en las tablas 23-A, a la 25-A.

TABLA 6: ANALISIS FISIOLOGICOS DE LAS PLANTAS.

Plantas	Conductividad electrolítica (%)	Porcentaje emergencia (%)	Velocidad emergencia (días)
A	15.24 a	79.7 a	23.25 a
L	8.84 b	93.7 b	20.00 b
C2	7.61 b	90.3 b	18.75 b
C11	9.74 b	95.8 b	19.00 b

Dentro de cada columna, valores con letras iguales no presentan diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

4.3.1 Conductividad electrolítica. Los valores medios en porcentajes relativos de esta prueba se aprecian en la tabla 6, en la cual se observa la existencia de diferencias significativas entre las plantas de autocruzamiento con el resto, diferencia que no se determinó entre las plantas alógamas.

Las plantas alógamas presentaron los mejores niveles de desarrollo fisiológico, obteniendo las de cruzamiento controlado C2, una conductividad relativa de 7.61%, seguidas de las plantas L y C11 que presentaron niveles de 8.84% y 9.74%, respectivamente, en cambio las plantas de autocruzamiento al presentar diferencias obtuvieron el valor medio más alto con 15.24%. La interpretación de resultados asume que plantas sin problemas celulares, presentan porcentajes bajo el 10%, en cambio sobre el 20% delatan daños a nivel celular (Glerum, 1985).

De esta manera las plantas alógamas no delataron presencia de

daños a nivel de membranas celulares, por lo cual las plantas se asumen como vigorosas, en cambio las plantas endogámicas, mostraron un valor de 15.24 % en la conductividad relativa, lo que delata un nivel leve de daño que equivale a las plantas de menor calidad y vigor entre los grupos analizados, esto puede deberse, a la acción del aumento de la homocigotía lo cual se manifiesta en que estas plantas presenten un menor desarrollo y vigor respecto al resto de plantas en estudio (Zobel y Talbert, 1984).

4.3.2 Porcentaje de emergencia. La tabla 6 muestra que los valores medios de las plantas alógamas no presentaron diferencias significativas entre ellas, obteniendo las plantas de cruzamiento controlado C11, un valor medio en el porcentaje de emergencias de un 95.8 %, en cambio las plantas L y C2 lograron valores medios de 93.7% y 90.3%, respectivamente, en cambio las plantas de autocruzamiento presentaron diferencias significativas con las plantas alógamas obteniendo el porcentaje más bajo de emergencia con un valor medio de 79.7 %, disminución atribuible al efecto endogámico el cual afecta en mayor grado bajo condiciones de campo que no son las óptimas para las semillas, como lo señalan Hadders y Koski (1975). Estos resultados concuerdan con los estudios de Devadas et al. (1992), los cuales determinaron que el porcentaje de emergencia de campo y el vigor de los árboles es significativamente más alto en semillas obtenidas por polinización cruzada que por autocruzamiento.

4.3.3 Velocidad de emergencia. Las semillas que presentaron un mayor tiempo medio para emerger son las de

autocruzamiento, con un valor medio de 23.25 días, presentando diferencias significativas con las plantas alógamas, las cuales no presentaron tales diferencias entre ellas (tabla 6), es así como las semillas que emergieron más rápidamente fueron las de cruzamientos controlados tanto C2, con un tiempo medio de 18.75 días, y C11 que presentó un tiempo medio de 19 días, seguidas por las de cruzamiento libre con 20 días como tiempo medio de emergencia. El hecho que las semillas de autocruzamiento presenten una menor velocidad de emergencia y que presenten una menor capacidad para emerger con respecto a semillas de carácter heterocigoto como lo son las de cruzamientos cruzados, se debe al efecto depresivo endogámico, el cual produce una germinación más lenta y un menor porcentaje, lo que se derivará en plantas con baja supervivencia, menor floración y fructificación (Hauser y Loeschcke, 1995).

4.3 Plantas de autocruzamiento

En general en todas las pruebas de vigor realizadas en laboratorio, las semillas de autocruzamiento siempre reflejaron un menor vigor, y en forma similar los resultados de las plantas de autocruzamiento reflejaron el efecto endogámico, a través de un menor desarrollo en comparación con plantas que provenían de semillas con un origen natural en la cual dos individuos no emparentados permiten un mayor número de intercambios a nivel genético (heterocigotía), lo que se traduce en una mayor variabilidad en la especie.

Las semillas y plantas endogámicas analizadas en el estudio presentaron resultados similares a los obtenidos por Zobel y

Talbert (1984), estudio en el cual se determinó que: a) no se forman semillas llenas, b) las semillas se forman pero no germinan, c) las semillas germinan, pero las plántulas son anormales y con frecuencia sobreviven poco tiempo, d) las plantas sobreviven, pero son pequeñas, débiles y de crecimiento más lento, e) las plantas crecen más lentamente que las normales, pero su apariencia es normal y f) las plantas crecen igual que las plantas normales. Estos últimos resultados son bastante comunes y muy riesgosos, ya que árboles autopolinizados producen menos madera que la obtenible de árboles de cruzamientos libres.

Es así como a los seis meses el 68.5% de las plantas de autocruzamiento presentaba un aspecto normal, pero con un menor desarrollo con respecto a las plantas normales, y sólo un 0.9% presentaba un crecimiento similar al de plantas alógamas.

Al analizar el desarrollo de la mortalidad natural en las plantas (tabla 7), las de autocruzamiento presentaron una mortalidad de un 3.3% a los seis meses de desarrollo, en comparación con las plantas normales que a esta fecha no presentaban mortalidad en forma natural, al igual que el porcentaje de plantas anormales el cual alcanzó a un valor de 10.3%, de lo que se desprende que estas plantas exhiben una temprana acción de la depresión endogámica y se incrementa con la edad; es así como a temprana edad las progenies de autocruzamiento presentan fuerte depresión en crecimiento, al igual que una alta mortalidad a través de los diferentes estados de desarrollo, en relación a las plantas de cruzamiento libre (Claire y Outi, 1996).

TABLA 7: PORCENTAJE DE MORTALIDAD NATURAL DE LAS PLANTAS A LOS SEIS MESES DE DESARROLLO.

Grupo de plantas	Porcentaje de Mortalidad
A	3.3 %
L	0 %
C2	0 %
C11	0 %

Las plantas alógamas presentaron a los seis meses un 100% de supervivencia, en cambio las plantas de autocruzamiento presentaron diferencias significativas con el resto, al obtener un porcentaje de supervivencia de 96.7%. Se aprecia que la explicación es por la acción de la depresión endogámica que afecta a temprana edad las progenies de autocruzamiento, presentando fuerte depresión en crecimiento y una alta mortalidad a través de los diferentes estados de desarrollo en relación a las plantas de polinización cruzada (Claire y Outi, 1996).

4.5 Correlaciones entre pruebas de vigor y variables medidas a las plantas

La tabla 8, muestra los coeficientes de correlación entre los test de vigor de semillas y las variables medidas a las plantas, luego de seis meses en vivero, para determinar los resultados significativos que permitan apreciar los test de vigor que mejor se correlacionan con el desarrollo de las plantas.

TABLA 8: COEFICIENTE DE CORRELACION (r), ENTRE LOS TEST DE VIGOR DE SEMILLA Y VARIABLES MEDIDAS A LAS PLANTAS.

Pruebas de vigor	Porcent. emergenc.	Altura	Diámetro de cuello	Peso seco total	Conduct. relativa	Velocidad emergenc.
Peso mil semillas	0,91	0,96*	0,89	0,93	-0,87	-0,88
Prueba Tetrazolio	0,90	0,99*	0,98*	0,99*	-0,96*	-0,98*
Germinación en frío	0,90	0,99*	0,98*	0,99*	-0,95*	-0,97*
Prueba Frío previo	0,73	0,45	0,38	0,31	-0,24	-0,49
Prueba Agotamiento	0,72	0,93	0,98*	0,96*	-0,99*	-0,97*
Prueba Hiltner	0,85	0,89	0,79	0,85	-0,77	-0,77
Peso seco plántulas	0,92	0,91	0,80	0,85	-0,76	-0,80
Prueba Emergencia	0,95*	0,95*	0,86	0,90	-0,82	-0,87
Tamaño semillas	-0,87	-0,99*	-0,99*	-0,98*	0,97*	0,99*

* Resultados significativos, valor crítico: 0.95

Al analizar los resultados de la tabla 8, se puede deducir la existencia de pruebas de vigor que no presentaron correlaciones significancia con las variables de las plantas, lo que permite concluir que estas pruebas no permiten determinar en forma confiable el vigor de las semillas analizadas. Las pruebas que se encuentran en esta situación son: las de frío previo, Hiltner y peso seco de las plántulas a los 28 días. En cambio las pruebas que mostraron fuertes correlaciones significancias con la mayoría de las variables analizadas a las plantas, fueron las de tetrazolio, germinación en frío y la de agotamiento; esta última prueba no se correlacionó con la altura, y al igual que las otras dos no fue significativa la correlación con la variable porcentaje de emergencia.

El tamaño de las semillas presentó alta significancia con la mayoría de las variables de las plantas, pero los resultados

no son confiables debido al hecho que las pruebas de vigor y la siembra en invernadero fueron con semillas calibras y este parámetro se calculó del lote original de semillas, motivo por el cual no se analizó como un buen indicador del vigor, pero si permitió analizar y determinar las características de composición por calibre de los lotes de semillas según el tipo de polinización que las origine y relacionar esta variable con la viabilidad y cantidad de semillas por kilogramo (tabla 5-A).

Las pruebas que presentaron algunas correlaciones significativas, fueron la de emergencia y el peso de mil semillas, pruebas que se correlacionaron fuertemente con la variable altura, pero además la primera prueba logró una correlación significativa con el porcentaje de emergencia de las plantas. El número de semillas por kilogramo determinada a través del peso de mil semillas es usado comúnmente en todos los laboratorios de análisis de semillas y sus resultados deben tomarse en consideración por ser una prueba rápida, simple y presentó buena correlación con una variable importante de las plantas como lo es la altura.

La prueba de agotamiento como ya se expuso, presentó fuerte significancia con las plantas analizadas, pero se recomienda trabajar esta prueba con un tiempo de 28 días para que se logren diferencias más significativas entre las tasas de crecimientos.

Se puede deducir que los indicadores del vigor de semillas que mostraron los mejores resultados fueron las pruebas de tetrazolio, germinación en frío y agotamiento. Los

resultados de la prueba de tetrazolio coinciden con estudios de Bonner (1986) quien trabajando con los *Pinus taeda* y *caribaea*, demostró que era el mejor indicador del vigor de sus semillas.

De los indicadores de la velocidad de emergencia analizados en laboratorio, lograron correlaciones significativas con la velocidad de emergencia de las plantas en invernadero, el conteo a los 14 días y el valor de germinación de Czabator (tabla 26-A), este último indicador muy usado para pinos sureños en Norteamérica (Bonner, 1986), y además el conteo a los 14 días presentó buena correlación con el porcentaje de emergencia en invernadero, lo que le da un carácter de buen indicador de la tasa de emergencia de las plantas en terreno.



V CONCLUSIONES

Los efectos depresivos de la endogamia producen una menor viabilidad y vigor, en individuos autocruzados de *Pinus radiata* D. Don.

Bajo condiciones adversas la endogamia afecta en una menor germinación y crecimiento de las plántulas de *Pinus radiata* D. Don.

El efecto endogámico bajo condiciones controladas en semillas autocruzadas viables de *Pinus radiata* D. Don. es menor o no se manifiesta.

Bajo condiciones controladas existe un fuerte control genético maternal sobre la germinación y velocidad de emergencia en semillas de *Pinus radiata* D. Don.

En condiciones de terreno la depresión endogámica afecta significativamente variables morfológicas de las plantas de *Pinus radiata* D. Don, tales como: Altura, Diámetro de cuello y Peso seco.

En condiciones de terreno la depresión endogámica afecta atributos fisiológicos de las plantas de *Pinus radiata* D. Don, tales como: Daño a nivel celular, Porcentaje y Velocidad de emergencia.

Las plantas de autocruzamiento de *Pinus radiata* D. Don presentan tempranamente menor desarrollo y mayor mortalidad.

Los indicadores del vigor de semilla de *Pinus radiata* D. Don, que se correlacionaron mejor con la forma de las plantas son las prueba de Tetrazolio, Germinación en frío y Agotamiento.

Los indicadores de la velocidad de emergencia en laboratorio que mejor correlacionaron con la emergencia en invernadero son: el conteo a los 14 días y el valor de germinación de Czabator.



VI RESUMEN

Se determinó el efecto depresivo de la endogamia sobre semillas y plantas, y se evaluaron test de vigor de semillas para *Pinus radiata* D. Don, utilizando un lote de semillas de autocruzamiento, uno de polinización libre y dos de cruzamientos controlados; todos usando el clon 21 como madre.

Los resultados muestran que la endogamia afecta las semillas produciendo menor vigor y viabilidad, y temprana reducción en las tasas de germinación, emergencia y crecimiento de las plántulas. Bajo condiciones controladas la depresión endogámica fue menor o no se presenta, observándose un control genético maternal en la variación de la germinación.

En condiciones de terreno la endogamia produjo plantas con menor tasa de crecimiento, afectando aspectos morfológicos y fisiológicos de ellas, y presentaron tempranamente mayor mortalidad, respecto de plantas de polinización cruzada.

Esto es consecuencia del aumento de la homocigotia, y la mayor proporción de alelos recesivos letales, los cuales disminuyen la calidad de semillas y plantas autocruzadas.

De los test de vigor usados presentaron las mejores correlaciones con el desarrollo de las plantas luego de seis meses de edad, las pruebas de Tetrázolío, Germinación en frío y Agotamiento.

Palabras claves: Endogamia, test de vigor de semillas, alelos recesivos letales, *Pinus radiata*, semillas autocruzadas.

SUMMARY

The Inbreeding depressive effect on seeds and seedlings was determined and seeds vigor test were carried out for *Pinus radiata* D. Don, using a lot of selfing seeds, another of free pollination and two of controlled pollination; in all cases clon 21 was used as mother.

The results show that the inbreeding affects seeds producing less vigor and viability, and early reduction in the rate of germination, emergency and seedlings growth. Under controlled conditions inbreeding depression wasn't important or it wasn't present and a sort of genetic maternal control was detected in the variation of germination.

Under field conditions inbreeding provoked minor rate of seedlings growth, affecting morphologic and physiologic aspects on them and they showed early bigger mortality than outcrossing seedlings.

This is consequence of the increase in homozigosity, and of the proportion recessives deleterius alleles, which diminish seeds and selfing seedlings quality.

Among the vigour tests used Tetrazolium test, Cool germination and Exhaustion exhibited the best correlation to seedlings development after six months growing.

Keys words: Inbreeding, Seed vigor test, recessives deleterius alleles, *Pinus radiata*, selfing seeds.

VII BIBLIOGRAFÍA

1. Al'tshuler, V; Borisenko, E; Polyakov, U. 1992. Homozigosity and heterozygosity as factors of viability and yield (genetic principles of breeding). In *Izvestiya-Timiryazevskoi-Sel'skokhozyaistvennoi-Akademii*. n°6, 180-196.
2. Barret, W.H. 1980. Elementos y principios de la genética. En "Mejora Genética De Árboles Forestales". Estudio FAO: Montes N° 20, 18-26. Roma.
3. Bassaber, C. 1993. Efecto de la exposición, posición en la pendiente y calidad en la supervivencia y crecimiento inicial de las especies *Eucalyptus globulus* Labill., *Pseudotsuga menziessi* Mirb. Franco. y *Pinus radiata* D. Don. Tesis de grado Universidad de Concepción. Facultad de Ciencias Forestales. Departamento de Silvicultura. Chillán, Chile.
4. Bonner, F.T. 1986. Measurement of seed vigor for Loblolly and Slash Pines. In *Forest Science*. Volumen 32, No. 1, 170-178.
5. Bonner, F.T.; Vozzo, J.A; Elam, W.W.; Land jr. S.B. 1994. Tree seed technology training course. Instructor's manual. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, General Technical Report SO-106, New Orleans.

6. Claire, G and Outi, S. 1996. Inbreeding depression in conifers: Implications for breeding strategy. In Forest Science 42 n°1, 102-115. USA
7. Couvet, D; Ronfort, J. 1996. Relationship between inbreeding depression and selfing: the case of intrafamily selection. In Heredity 76:6, 561-568; 12.
8. Czabator, F. 1962. Germination value: an index combining speed and completeness of pine seed germination. In Forest Science 8: 386-396.
9. Daniel, T.W; Helms, J.A; Backer, F.S. 1982. Mejoramiento de los árboles. En Principios de Silvicultura pp 339-362. McGraw-Hill. México.
10. David, J. L; Savy, Y; Brabant, P. 1993. Outcrossing and selfing evolution in populations under directional selection. In "Herencia" 71:6, 642-651; 28.
11. Devadas, D.S; Seemanthini-Ramadas; Ramadas, S. 1992. Seed yield and quality as influenced by the method of pollination in bittergourd (*Momordica charantia* L.). In South Indian Horticulture 40:5, 277-279; 6.
12. Durel, C; Bertin, P; Kremer, A. 1996. Relationship between inbreeding depression and coefficient in maritime pine (*Pinus pinaster*). In Theoretical and Applied Genetics 92: 3-4, 347-356; 58.

13. Eaton, L. 1993. Curso de actualización de cruzamientos controlados con énfasis en Eucalipto. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Forestales. Serie Técnica. Valdivia, Chile.
14. Edwards, D. and El-Kassaby, Y. 1995. Douglas - fir genotypic response to seed stratification. In *Seed Science and Technology*, 23, 771-778.
15. Ellis, M. F.; Sedgley, M. 1992. Floral morphology and breeding system of three species of *Eucalyptus*, section *bisectaria* (Myrtaceae). In "Australian Journal of Botany" 40:3, 249-262; 42.
16. Escobar, R. 1994. La planta ideal: variables que predicen su comportamiento y factores que lo afectan. En *Silvotecnia IV: Producción de Plantas*, 24-25 de Noviembre 1994, Concepcion, Chile.
17. Escobar, R Y Sanchez, M. 1992. Producción de plantas forestales : algunos aspectos. Boletín extensión n° 51. Chillán, Chile. Depto Ciencias Forestales, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales. Universidad de Concepción.
18. Ferguson, J. M. 1993. AOSA. Perspective of seed vigour testing. In *Journal of Seed Technology*, Vol. 17, n° 2, 101-104. Published by the Association Official Seed Analysts.

19. Fisher, R. 1949. Inbreeding. In The theory of inbreeding. Edinburgh, Scotland.
20. Giannini, R and Bellari, C. 1995. Heritability estimate of seed germination parameters in *Pinus leucodermis* Antoine. In Seed Science and Technology, 23, 385-392.
21. Glerum, A. 1985. Frost hardiness of coniferous seedlings principles and applications. In Duryea, M.L.(Ed.). Evaluating seedling quality: principles, procedures, and predictive abilities of major test. Forest Research Laboratory Oregon State University, Corvallis, Oregon, USA.
22. Gonzalez, M, 1994. Efecto del tipo de contenedor en distintos atributos morfológicos en plantas de *Eucalyptus globulus* Labill. Tesis de grado de Ingeniería Forestal, Departamento de Silvicultura, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
23. Hadders, G. and Koski, V. 1975. Probability of inbreeding in seed orchards. In "Seed Orchards" pp 108-116. Ed. by R. Faulkner. Forestry Commission Bulletin 54. London; Her Majesty's Stationery Office.
24. Hampton, J.G. and Tekrony, D.M. 1995. Handbook of vigour test methods. Published by The International Seed Testing Association, Po Box 412, 8046 Zurich, Switzerland

25. Hauser, T and Loeschcke, V. 1995. Inbreeding depression in *Lychnis flos-cuculi*: effects of different levels of inbreeding. In Journal of Evolutionary Biology 8: 5, 589-600; 23.
26. Karkkainen, K; Savolainen, O. 1993. The degree of early inbreeding depression determines the selfing rate at the seed stage model and results from *Pinus sylvestris* (Scots pine). Published in "Herencia" 71: 2, 160-166;44.
27. Kurinobu, S.; Ohya, K.; Kawasaki, H. 1991. Inbreeding depression in two year old f2 seedling heights of sugi (*Cryptomeria japonica*) resulting from full-sib and half-sib matings. In Journal Of The Japanese Forestry Society. 73:5, 388-392;16.
28. Liegel, L and Venator, C. ----. A technical guide for forest nursery management in the caribbean and latin america. Forest Service United States, Department of Agriculture. General Technical Report SO-67, New Orleans, Louisiana.
29. Matheson, A. C. 1982. Inbreeding Depression. meeting of IUFRO working party on breeding radiata pine. Session 4. Rotorua; N. Zealand.
30. McDonald, M. 1993. The history of seed vigor testing. In Journal of Seed Technology, Vol. 17, n° 2, 93-100. Published by the Association Official Seed Analysts.

31. Morgante, M; Vendramin. G; Rossi, P; Olivieri, E. 1993. Selection against inbreds in early life-cycle phases in *Pinus leucodermis* Ant. In "Herencia" 70: 5, 622-627; 21.
32. National Research Council. 1991. Structure of genetic variation. In "Managing Global Genetic Resources" pp 76-80, Forest Trees. National Academy Press, Washington D.C.
33. Perry, D. A. 1981. Handbook of vigour test methods. Published of International Seed Testing Association. P.O. Box 412, 8046 Zürich, Switzerland.
34. Poulsen, K. 1993. Seed quality. Lecture Note C-14. DANIDA Forest Seed Centre. Krogerupvej 3 A DK-3050 Humlebaek Denmark.
35. Steel, R ;Torrie, J. 1988. Bioestadística, principios y procedimientos. Editorial Mc Graw-Hill, México.
36. Torregrosa, F 1994. Comparación entre la prueba de absorbancia del exudado y otros test de vigor, en semillas de maiz (*zea mays*). Tesis de grado de Agronomía Universidad de Chile. Santiago, Chile.
37. Wang, T; Hagquist, R; Tigerstedt, P. 1996. Growth performance of hybrid families by crossing selfed lines of *Betula Pendula* Roth. In Theoretical and Applied Genetics 92: 3-4, 471-476; 26.

38. Wellendorf, H and Ditlevsen, B 1992. Introduction to forest genetics. Lecture Note D-2. DANIDA Forest Seed Centre. Krogerupvej 3A DK-3050 Humlebaeck. Denmark.
39. Wright, J.W. 1964. Mejoramiento genético de los árboles forestales. FAO: Estudio de silvicultura y productos forestales, n° 16, Roma.
40. Zobel, B and Talbert, J. 1984. Técnicas de mejoramiento genético de árboles forestales. Editorial Limusa. México.



VIII APENDICE

TABLA 1-A: CONDICIONES AMBIENTALES DURANTE LOS SEIS MESES DE DESARROLLO DE LAS PLANTAS.

VARIABLES ambientales	JULIO	AGOSTO	SEPTIEM.	OCTUBR.	NOVIEMB.	DICIEMB.
T° máxima	25,18	21,89	26,8	27,6	29,2	30,6
T° mínima	8,6	7,5	6,3	7,8	11,06	12
T° sustrato	20,8	19,8	23,1	23,5	24,38	24
H.R. (%)	72,3	66,82	58,3	52,4	46,9	44,7
T° cama	24,8	23,8	28,6			

Obs: La cama caliente sólo se utilizó 75 días.

TABLA 2-A: RESULTADO DEL PESO DE MIL SEMILLAS.

Repetición	Peso de mil semillas medido en gramos			
	lotes de semilla			
	A	L	C2	C11
1	20.8	43.2	38.0	39.6
2	21.6	43.6	39.2	38.8
3	20.4	44.4	38.8	39.2
4	20.8	43.6	38.8	39.6
Media	20.9	43.7	38.7	39.3
Semillas por kilo	47.847	22.883	25.840	25.445

TABLA 3-A: RESULTADOS DE LA COMPOSICIÓN Y DIÁMETROS MEDIOS PONDERADOS DE CADA LOTE DE SEMILLAS.

Rangos de Calibres (mm.)	Peso de los lotes de semilla, en gramos			
	A	L	C2	C11
Sobre 5	12,3	1,3	1,5	2,5
Entre 5 - 4,5	61,9	26,2	16,0	26,8
Entre 4,5 - 4	8,6	40,7	35,3	60,3
Bajo 4	0,6	3,7	10,3	11,3
Diámetro medio (mm)	4.765	4.425	4.319	4.352

TABLA 4-A: RESULTADOS DE LA PRUEBA DEL TETRAZOLIO.

Lotes de semilla	Viabilidad (%)				Viabilidad media (%)
	1	2	3	4	
A.	10.00	12.00	10.00	9.00	10,25
L	94.00	94.00	90.00	88.00	91,50
C 2	96.00	98.00	92.00	98.00	96,00
C11	92.00	98.00	96.00	90.00	94,00

TABLA 5-A: CORRELACION ENTRE VIABILIDAD, TAMAÑO Y PESO DE MIL SEMILLAS.

Características	Viabilidad	Peso mil semillas
Tamaño de las semillas	-0.99*	-0.91
Peso de mil semillas	0.96*	

* Resultados significativos, Valor de la significancia: 0.95

TABLA 6-A: RESULTADOS DE LA PRUEBA DE GERMINACION EN FRIO.

Repetición	Largo del hipocotilo y radícula, en centímetros			
	Lotes de semilla			
	A	L	C2	C11
1	3.38	7.84	8.48	8.60
2	3.69	8.35	9.12	7.85
3	3.60	8.92	9.30	9.18
4	3.60	8.60	7.78	8.14
5	5.00	9.60	9.68	8.88
6	3.50	8.21	8.58	8.65
MEDIA	3.78	8.59	8.82	8.55

TABLA 7-A: RESULTADOS DE LA PRUEBA DE FRIO PREVIO

Repetición	Porcentaje de germinación			
	Lotes de semilla			
	A	L	C2	C11
1	96.0	92.0	92.0	100
2	96.0	96.0	96.0	100
3	100	100	96.0	100
4	92.0	88.0	96.0	96.0
5	92.0	100	100	100
6	92.0	100	92.0	100
MEDIA	94.8	96.0	95.2	99.2

TABLA 8-A: RESULTADOS DE LA PRUEBA DE AGOTAMIENTO.

Repetición	Peso seco, en gramos			
	Lotes de semilla			
	A	L	C2	C11
1	0.80	0.80	1.50	1.30
2	1.10	1.50	1.50	1.30
3	0.80	0.90	1.10	1.10
4	0.70	1.20	1.20	0.90
5	0.80	1.50	1.60	1.30
6	0.80	0.80	1.20	1.30
MEDIA	0.86	1.12	1.32	1.20

TABLA 9-A: RESULTADOS DE LA PRUEBA DE HILTNER.

Repetición	Porcentajes de emergencias			
	Lotes de semilla			
	A	L	C2	C11
1	80.0	80.0	100	88.0
2	84.0	96.0	96.0	88.0
3	84.0	100	80.0	100
4	80.0	100	88.0	84.0
5	80.0	96.0	92.0	92.0
6	80.0	92.0	84.0	88.0
MEDIA	81.3	94.0	90.0	90.0

TABLA 10-A : RESULTADO DEL PESO SECO TOTAL Y SECCIONADO EN AEREO (Ae) Y RADICULAR (Ra) DE LAS PLANTULAS.

Repetición.	Peso seco de cada lote de semilla, medido en gramos							
	A		L		C2		C11	
	Ae	Ra	Ae	Ra	Ae	Ra	Ae	Ra
1	0,50	0,50	0,90	0,70	0,70	0,60	0,70	0,60
2	0,60	0,50	0,80	0,80	0,70	0,60	0,70	0,60
3	0,50	0,40	0,90	0,70	0,60	0,60	0,80	0,70
4	0,60	0,60	0,80	0,60	0,70	0,70	0,70	0,70
5	0,60	0,50	0,80	0,80	0,90	0,80	0,90	0,80
6	0,60	0,60	0,80	0,70	0,70	0,60	0,80	0,60
Media	0,57	0,52	0,83	0,72	0,72	0,65	0,77	0,67
Peso seco total	1,09		1,55		1,37		1,44	

TABLA 11-A : RESULTADOS DE LA PRUEBA DE EMERGENCIA.

Repetición	Porcentajes de emergencia			
	Lotes de semilla			
	A	L	C2	C11
1	84.0	100	92.0	88.0
2	84.0	100	96.0	100
3	80.0	100	88.0	96.0
4	88.0	88.0	96.0	92.0
5	84.0	100	100	100
6	88.0	88.0	88.0	92.0
MEDIA	84.7	96.0	93.3	94.7

TABLA 12-A: RESULTADOS DEL CONTEO DE LA EMERGENCIA A LOS 14 DÍAS.

Repetición	Porcentaje de la emergencia acumulada al día 14			
	Lotes de semilla			
	A	L	C2	C11
1	80.0	96.0	88.0	88.0
2	80.0	92.0	92.0	88.0
3	80.0	92.0	76.0	88.0
4	88.0	80.0	92.0	88.0
5	84.0	92.0	100	100
6	88.0	84.0	80.0	92.0
MEDIA	82.8	89.2	88.0	90.8

TABLA 13-A: RESULTADOS DEL TIEMPO MEDIO EMERGENCIA.

Repetición	Tiempo medio de emergencia (días)			
	Lotes de semilla			
	A	L	C2	C11
1	10	11	11	11
2	11	12	11	12
3	11	11	10	12
4	10	11	11	12
5	11	11	9	10
6	10	11	10	9
MEDIA	10.5	11.2	10.3	11.0

TABLA 14-A: RESULTADOS DE LA EMERGENCIA ACUMULADA HASTA EL DÍA DE MÁXIMO INCREMENTO

Repetición	Porcentaje de emergencia acumulada, al día de máximo incremento			
	Lotes de semilla			
	A	L	C2	C11
1	72.0	80.0	80.0	64.0
2	64.0	84.0	92.0	80.0
3	80.0	60.0	56.0	72.0
4	76.0	80.0	76.0	72.0
5	72.0	92.0	92.0	88.0
6	72.0	72.0	76.0	80.0
MEDIA	72.81	78.85	79.95	76.45

TABLA 15-A: RESULTADOS DE LA EMERGENCIA ACUMULADA HASTA EL DÍA DEL TIEMPO MEDIO DE EMERGENCIA

Repetición	Porcentaje de emergencia hasta el TME			
	Lotes de semilla			
	A	L	C2	C11
1	72.0	80.0	80.0	64.0
2	76.0	84.0	92.0	80.0
3	80.0	76.0	56.0	72.0
4	76.0	80.0	76.0	72.0
5	48.0	64.0	88.0	88.0
6	72.0	72.0	76.0	56.0
MEDIA	70.67	76.00	78.00	72.00

TABLA 16-A: RESULTADO DEL VALOR MÁXIMO CZABATOR (VMC).

Repetición	Valor máximo de Czabator			
	Lotes de semilla			
	A	L	C2	C11
1	6.15	7.08	7.27	7.33
2	5.85	7.00	7.67	6.67
3	6.15	6.57	5.43	6.29
4	6.48	6.67	7.67	6.29
5	6.48	7.67	9.20	8.73
6	7.27	6.67	6.91	8.36
MEDIA	6.40	6.94	7.36	7.28

TABLA 17-A: RESULTADO DE LA GERMINACIÓN MEDIA DIARIA (GMD).

Repetición	Germinación media diaria			
	Lotes de semilla			
	A	L	C2	C11
1	3.00	3.57	3.14	3.14
2	3.00	3.57	3.29	3.14
3	2.86	3.57	3.00	3.43
4	3.14	3.14	3.29	3.14
5	3.00	3.57	3.57	3.57
6	3.14	3.14	3.00	3.14
MEDIA	3.02	3.43	3.22	3.26

TABLA 18-A: RESULTADO DE LA VALOR GERMINACIÓN DE CZABATOR (VGC)

Repetición	Valor de germinación de Czabator			
	Lotes de semilla			
	A	L	C2	C11
1	18.45	25.28	22.83	23.02
2	17.55	24.99	25.23	20.94
3	17.59	23.46	16.29	21.57
4	20.35	20.94	25.23	19.75
5	19.38	27.38	32.84	31.17
6	22.83	20.94	20.73	26.25
MEDIA	19.36	23.83	23.86	23.78

TABLA 19-A: RESULTADO DE LA ALTURA.

Repetición	Altura en centímetros, luego de seis meses			
	Plantas			
	A	L	C2	C11
1	19.4	22.0	21.1	21.6
2	18.7	21.1	22.1	21.6
3	20.0	21.3	21.7	21.8
4	19.9	22.7	22.8	21.3
MEDIA	19.49	21.51	21.64	21.58

TABLA 20-A: RESULTADO DEL DIAMETRO DE CUELLO.

Repetición	Diámetro de cuello, medido en milímetros			
	Plantas			
	A	L	C2	C11
1	2.65	2.84	2.90	2.76
2	2.60	2.74	2.84	2.86
3	2.64	2.71	2.73	2.74
4	2.67	2.77	2.82	2.79
MEDIA	2.64	2.77	2.82	2.79

TABLA 21-A: RESULTADOS DEL PESO SECO TOTAL, AEREO (Ae) Y RADICULAR (Ra).

Repetición	Peso seco de las plantas, medido en gramos, luego de seis meses de desarrollo							
	A		L		C2		C11	
	Ae	Ra	Ae	Ra	Ae	Ra	Ae	Ra
1	1,2	0,4	1,5	0,6	1,7	0,6	1,6	0,6
2	1,3	0,5	1,6	0,6	1,7	0,7	1,6	0,5
3	1,3	0,5	1,5	0,7	1,6	0,7	1,5	0,6
4	1,4	0,4	1,7	0,6	1,7	0,6	1,6	0,7
Media	1,30	0,45	1,58	0,63	1,68	0,65	1,58	0,60
Peso seco total	1.75		2.20		2.30		2.18	

TABLA 22-A: RESULTADOS DE LA RELACION TALLO-RAIZ

Repetición	Relación Tallo-Raíz			
	Plantas			
	A	L	C2	C11
1	3.00	2.50	2.83	2.67
2	2.60	2.67	2.43	3.20
3	2.60	2.14	2.29	2.50
4	3.50	2.83	2.83	2.29
MEDIA	2.89	2.52	2.58	2.63

TABLA 23-A: RESULTADO DEL PORCENTAJE DE EMERGENCIA.

Repetición	Porcentaje de emergencia			
	Plantas			
	A	L	C2	C11
1	75.0	88.9	88.9	97.2
2	66.7	100	94.4	97.2
3	80.6	100	88.9	94.4
4	86.1	86.1	88.9	94.4
MEDIA	77.1	93.7	90.3	95.8

TABLA 24-A: RESULTADOS DE LA VELOCIDAD DE EMERGENCIA.

Repetición	Velocidad de emergencia, medida en tiempo medio			
	Plantas			
	A	L	C2	C11
1	24	20	17	20
2	23	20	19	18
3	23	21	20	20
4	23	19	19	18
MEDIA	23.25	20.00	18.75	19.00

TABLA 25-A: RESULTADOS RELATIVOS DE LA CONDUCTIVIDAD ELECTROLITICA.

Repetición	Conductividad electrolítica relativa (%)			
	Plantas			
	A	L	C2	C11
1	14.09	8.97	7.28	8.57
2	15.11	8.27	6.67	10.18
3	17.79	9.84	7.54	11.08
4	13.96	8.30	8.94	9.13
Media	15.24	8.84	7.61	9.74

TABLA 26-A: CORRELACION ENTRE LOS INDICADORES DE VELOCIDAD DE EMERGENCIA EN LABORATORIO, CON EL PORCENTAJE Y VELOCIDAD DE EMERGENCIA DE LAS PLANTAS EN INVERNADERO.

indicadores de velocidad de emergencia	Porcentaje emergencia	velocidad emergencia
conteo día 14	0.98 *	-0,96 *
tiempo medio emergencia	0.68	-0,22
emergencia acum. día máximo incremento	0.63	-0,85
emergencia acum. en el día del TME	0.34	0,66
valor de germinación de Czabator	0.90	-0,99 *

* Resultados significativos, valor de significancia: 0.95

