

**UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA
FACULTAD DE AGRONOMIA**

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE
CÁPSULAS EN CRUZAMIENTOS INTRAESPECÍFICOS DE
*Eucalyptus grandis***

Por

Carola Elizabeth ODDONE BARRIOS

**TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo
(Orientación Forestal)**

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2005**

Tesis aprobada por:

Director:

Nombre completo y firma

Nombre completo y firma

Nombre completo y firma

Fecha:

Autor:

Nombre completo y firma

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento a todo el equipo de Mejoramiento Genético del Vivero San Francisco (COFOSA, Paysandú), por su hospitalidad y por todos los conocimientos transmitidos durante mi estadía. En especial a Ing. Agr. Carmelo Centurión y Sr. Alejandro Vidal que me transmitieron su confianza en mí en cada fase de este trabajo.

Al Ing. Agr. García de León, Ing. Agr. Bentarcurt, Ing. Agr. Escudero y el Ing. Agr. Gallo por su orientación y asesoramiento en las distintas etapas del trabajo.

La mayor de gratitud es para mi familia y para mis seres queridos más cercanos que fueron el pilar de toda mi carrera, apoyándome en todos los momentos y confiando en mis decisiones.

Dedicado a mis padres.

TABLA DE CONTENIDO

PAGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE ILUSTRACIONES.....	VI
LISTA DE CUADROS Y TABLAS.....	VII
1. INTRODUCCIÓN	I
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	IX
2.1 ANTECEDENTES DE LA ESPECIE EN EL PAÍS	IX
2.2 CARACTERÍSTICAS DE LA ESPECIE	IX
2.3 CONDICIONES CLIMÁTICAS DE URUGUAY.....	X
2.3.1 Daño producido por heladas.....	XI
2.4 ESTRUCTURAS REPRODUCTIVAS Y FORMACIÓN DE FRUTOS DE E. GRANDIS.....	XI
2.4.1 Estructuras florales.....	XI
2.4.2 Floración y Polinización	XII
2.4.3 Morfología del fruto y dehiscencia del fruto.....	XIII
2.4.4 Estructuras de la semilla	XIV
2.4.5 Morfología de las semillas	XV
2.5 MEJORAMIENTO GENÉTICO	XV
2.5.1 Huerto semillero.....	XVI
2.5.2 Cruzamientos controlados.....	XVI
2.5.2.1 Técnicas de Polinización controlada	XVII
2.5.2.2 Cosecha de cápsulas y obtención de semillas	XVII
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	XIX
3.1 UBICACIÓN DEL ESTUDIO.....	XIX
3.2 MATERIAL GENÉTICO UTILIZADO.....	XX
3.3 CRITERIOS UTILIZADOS PARA LA ELECCIÓN DE LOS INDIVIDUOS	XXI
3.4 TRABAJO DE CAMPO	XXII
3.5 TRABAJO DE LABORATORIO	XXIV
3.5.1 Obtención y muestreo de semillas.....	XXIV
3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	XXVI
4. RESULTADOS.....	XXVII
4.1 RESULTADOS GENERALES PARA CADA CRUZAMIENTO	XXVII
4.2 DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LA POSICIÓN DENTRO ÁRBOL	XXIX

4.3	DETERMINACIÓN DE LA RETENCIÓN DE CÁPSULAS SEGÚN EL EFECTO MADRE, PADRE E INDIVIDUO.....	XX
4.3.1	Efecto de la madre.....	XX
4.3.2	Efecto del padre según la madre.....	XXI
4.3.3	Efecto del individuo según la madre y padre utilizado.....	XXIII
4.4	DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE SEMILLAS VIABLES POR INDIVIDUO	XXXIV
5.	CONSIDERACIONES FINALES	XXVI
6.	CONCLUSIONES.....	XXVII
7.	RESUMEN.....	XXVIII
8.	SUMMARY	XXXIX
9.	BIBLIOGRAFÍA.....	XL
10.	ANEXO	XLII

LISTA DE ILUSTRACIONES

	Página
FIGURA 1. MAPA DE DISTRIBUCIÓN NATURAL DE <i>EUCALYPTUS GRANDIS</i> .	X
FIGURA 2. ESQUEMA GENERAL DE LA MORFOLOGÍA DE FLORES Y FRUTOS	XII
FIGURA 3. FOTOGRAFÍA DE LAS ESTRUCTURAS OVULARES	XIV
FIGURA 4. PLANO DE UBICACIÓN DE CLONES DENTRO DEL HUERTO SEMILLERO	XIX
FIGURA 5. CÁPSULAS DEL ÁRBOL MADRE 1043 A- TESTIGO, B- POLINIZACIÓN CONTROLADA.	XXIII
FIGURA 6. A- CLASIFICACIÓN DE CÁPSULAS SEGÚN CRUZAMIENTO, B- EXTRACCIÓN DEL CONTENIDO DE LAS CÁPSULAS, C- PRUEBA DE GERMINACIÓN DEL CONTENIDO CAPSULAR, D- PRUEBAS DE GERMINACIÓN DE UNA SERIE DE CRUZAMIENTOS, E- PLÁNTULAS LUEGO DE 10 DÍAS DE GERMINADAS.	XXV
FIGURA 7. GRÁFICO DEL PORCENTAJE DE RETENCIÓN REAL DE CADA ÁRBOL MADRE.	XXVII
FIGURA 8. ÁRBOLES MADRE 1043, IZQUIERDA INDIVIDUO 1, DERECHA INDIVIDUO 2	XXXII
FIGURA 9. GRÁFICO DE PRODUCCIÓN DE SEMILLA DE LOS CRUZAMIENTOS EN ESTUDIO Y SUS RESPECTIVOS TESTIGOS.	XXXV

LISTA DE CUADROS Y TABLAS

	Página
CUADRO 1. PLAN DE CRUZAMIENTOS EVALUADO EN EL ESTUDIO.	XX
CUADRO 2. NÚMERO DE HELADAS MENSUALES ACUMULADAS EN EL PERIODO EN ESTUDIO.	XXIX
TABLA 1. NÚMERO TOTAL DE FLORES POLINIZADAS SEGÚN CRUZAMIENTO.....	XXI
TABLA 2. INDIVIDUOS SELECCIONADOS Y EL NÚMERO DE FLORES POLINIZADAS QUE SE TOMARON DE CADA CRUZAMIENTO.	XXII
TABLA 3. NÚMERO DE CÁPSULAS COSECHADAS Y PORCENTAJE DE RETENCIÓN POR ÁRBOL MADRE.....	XXVII
TABLA 4. NÚMERO DE CÁPSULAS COSECHADAS Y PORCENTAJE DE RETENCIÓN SEGÚN CRUZAMIENTO.	XXVIII
TABLA 5. NÚMERO DE CÁPSULAS COSECHADAS Y PORCENTAJE DE RETENCIÓN PARA CADA INDIVIDUO	XXIX
TABLA 6. PROBABILIDADES DE RETENCIÓN ESTIMADAS Y VALORES DE SIGNIFICANCIA ESTIMADOS PARA CADA CONTEO Y SEGÚN POSICIÓN.	XXX
TABLA 7. PORCENTAJE DE RETENCIÓN ESTIMADO Y CLASIFICACIÓN TUKEY SEGÚN EL ÁRBOL MADRE EN MOMENTO DE LA COSECHA.	XXXI
TABLA 8. RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN DE MEDIAS ESTIMADAS PARA DETERMINAR EL EFECTO DEL PADRE UTILIZADO.	XXXII
TABLA 9. RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN DE PROBABILIDADES DE RETENCIÓN PARA DETERMINAR EL EFECTO DEL INDIVIDUO.....	XXXIII
TABLA 10. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE GERMINACIÓN.....	XXXIV

1. INTRODUCCIÓN

El país ha tenido un gran desarrollo en el sector forestal en los últimos años, dado que surgieron proyectos industriales muy importantes, como fábricas de pulpa de celulosa. Estos llevan a que haya necesidad de un abastecimiento continuo de madera, lo cual es posible realizando una planificación a largo plazo en las áreas productivas. Los programas de mejoramiento genético son muy importantes para incrementar la calidad y eficiencia productiva, logrando elevar la calidad del material genético utilizado.

El *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden es una especie con gran importancia en el Uruguay, con una superficie forestada de 152.132 hás., en un total de 615.613 hectáreas, según el boletín estadístico de la Dirección General Forestal, del año 2002. El destino principal de esta madera en Uruguay es la producción de rolos para pulpa de celulosa, por lo que se ha dirigido el mejoramiento genético de los últimos años a la producción clonal a partir de árboles élite, con mayor incremento anual de volumen y peso específico elevado. La producción de dichos clones permite reproducir a gran escala un material genéticamente mejorado y de comportamiento conocido. Por otra parte se realizan cruzamientos de polinización controlada utilizando árboles élite como progenitores, de esa forma se obtienen semillas con variabilidad genética pero de padres conocidos y superiores genotípicamente.

El uso de semillas mejorada es muy importante en la cadena de la madera, asegurando mayor productividad, uniformidad y sanidad, condicionando el éxito de una plantación forestal en términos de su adaptación y productividad en un sitio dado (Bennadji, 2004).

Este trabajo se basa en el estudio de cruzamientos intraespecíficos de *E. grandis* por medio de polinización controlada en un huerto semillero clonal de árboles élite, que son fuente de semilla de alta calidad para el uso de la empresa.

Los objetivo son:

- 1- Estudiar la variación del comportamiento diferencial en la retención de cápsulas según la ubicación dentro del árbol.
- 2- Determinar los porcentajes de retención de cápsulas de cada clon, considerando el progenitor masculino y el femenino.
- 3- Determinar el rendimiento de semillas por cápsulas por cruzamiento y por individuo.
- 4- Determinar la retención y/o pérdidas de cápsulas a través del proceso de maduración.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 ANTECEDENTES DE LA ESPECIE EN EL PAÍS

Las primeras plántulas de *Eucalyptus* obtenidas por siembras en almacigo, se realizaron en el año 1853, de semilla traída a Uruguay por Hodgskin desde el cabo de Buena Esperanza, Sudáfrica. (Brussa, 1994)

El *E. grandis* se difunde en la década de 1960 luego de que se introdujera en 1963 desde huertos semilleros de Sudáfrica, aunque ya existían algunas plantaciones en los departamentos de San José (Tuset, *com. pers.*) y Rivera (Krall, *com. pers.*), citados por Brussa, (1994). Actualmente el 70% de las plantaciones de *E. grandis* se encuentran en los departamentos de Paysandú, Río Negro y Rivera. (Dirección General Forestal, 2002)

El empleo de *E. grandis*, se ha extendido en gran medida por el buen comportamiento que ha demostrado esta especie en nuestras condiciones climáticas, edáficas y por las características que posee ya sea por su elevado crecimiento anual o por sus cualidades madereras (Harrand, *et al.* 2002).

2.2 CARACTERÍSTICAS DE LA ESPECIE

E. grandis pertenece a la familia Myrtaceae, es originario de la costa este de Australia entre la latitud 26° y 33° S, en los estados de Queensland y New South Wales (Figura 1) en donde alcanza alturas de 43 a 55 m y un diámetro de 122 a 183 cm. El clima en que se desarrolla en su lugar de origen, es subtropical húmedo, con una temperatura mínima promedio durante los meses más fríos entre 2 y 10°C y una temperatura máxima promedio de 29°C durante los meses más calientes. Las precipitaciones promedian entre 1020 y 1780 mm anuales, concentradas en verano y luego se presenta una temporada seca con un promedio de 20 mm mensuales. (Meskimen, *et al.* 1990)

Su forma es excelente, con fustes claros, rectos y largos hasta dos tercios de su altura total. La corteza es delgada y caduca, desprendiéndose en fajas. En ocasiones persiste un forro cortical gris claro, en forma de planchas o con fisuras, sobre los primeros dos metros de la base del tronco. (Meskimen *et al.* 1990).

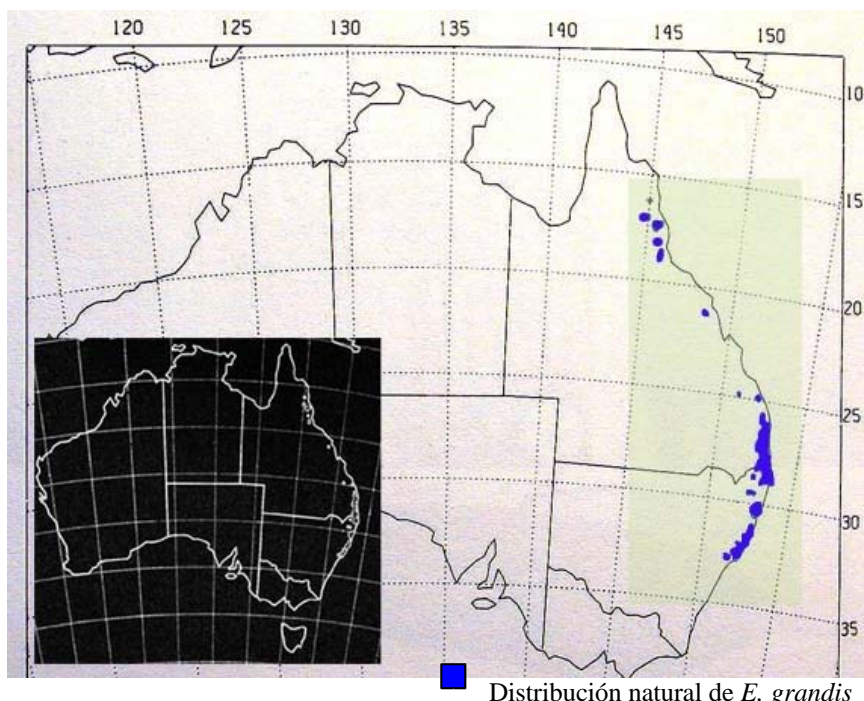


FIGURA 1. MAPA DE DISTRIBUCIÓN NATURAL DE *E. GRANDIS*
(FUENTE: BRUSSA 1994).

2.3 CONDICIONES CLIMÁTICAS DE URUGUAY

De acuerdo con la clasificación de Köppen, el clima del Uruguay es moderado, lluvioso y con temperatura del día más cálido superior a 22° C. La insolación media efectiva anual es de 2500 horas en la cuenca de la Laguna Merín y de 2700 horas en el valle del Río Uruguay y costas del Río de la Plata. Los vientos predominantes provienen del Este y Noreste. Sus velocidades medias anuales son del orden de 10 km/hora en el área central del país, incrementándose en la zona costera a 25 km/hora. El valle del Río Uruguay presenta velocidades entre 10 y 15 km/hora. (Uruguay, 1992)

Las precipitaciones medias anuales varían entre 1000 mm en el sur y 1300 mm en el norte, pero esto puede variar un 20 a 30 % de los promedios normales. El número medio de heladas anuales varía entre 15, (en la zona costera menos afectada por el efecto atenuante del océano) y 30 en el centro del país. La fecha media de la primera helada varía entre 1/6 y el 1/7 para las zonas centro y suroeste respectivamente. La fecha media de la última helada varía entre el 1/8 y el 1/9 para la zona norte y centro respectivamente (Durán, 1991).

Según un estudio realizado por Cruz, *et al.* en el año 2000, en el que caracterizó agroclimáticamente la región en la que se desarrollo este ensayo, determinaron que la temperatura media para la zona litoral centro oeste en el mes de enero es de 22,5° C y en junio y julio de 10,5° C. Las temperaturas mínimas medias en enero corresponden a 19° C y en junio 5° C. En el caso de las precipitaciones, por más que presenta un régimen isohigro, se verificó que hay un aumento de las precipitaciones en verano para la región hacia el NW. La zona de Paysandú en donde se encuentra el huerto semillero presenta una precipitación media en el mes de enero de 110 mm.

2.3.1 Daño producido por heladas.

El daño ocasionado por las heladas a las plantas, está relacionado al congelamiento del agua que contienen los tejidos vegetales. Esto altera los elementos anatómicos y los procesos fisiológicos de las plantas. El congelamiento provoca la salida del agua de la célula hacia afuera (espacio extracelular), en este caso el daño es indirecto debido a la deshidratación de las células pudiendo llegar a la muerte cuando el protoplasma no reabsorbe agua una vez que ocurre el descongelado. Cuando la temperatura es tan baja que además se congela el agua dentro de la célula, el aumento del volumen provoca la destrucción de los componentes celulares, siendo este caso letal. Cuando el congelamiento es rápido se forman cristales grandes que son más destructivos que los pequeños. También puede ser mayor el daño después de un congelamiento prolongado que después de cortos periodos de congelamiento a la misma temperatura (Corsi *et al.*, 1992).

La resistencia genética es la característica que permite disminuir la susceptibilidad a las heladas. Cada especie vegetal tiene una temperatura debajo de la cual la helada produce daño; lo que se llama umbral de resistencia (Lacráis, 1974; citado por Balmelli, (1993)).

2.4 ESTRUCTURAS REPRODUCTIVAS Y FORMACIÓN DE FRUTOS DE *E. grandis*

2.4.1 Estructuras florales

Las flores son hermafroditas, el receptáculo o hipantio presenta formas variables y su extremo superior se encuentra cubierto por un opérculo simple o doble formado por la fusión de sépalos y/o pétalos (Boland, *et al.* 1980), cuya función es proteger los órganos masculinos y femeninos durante la etapa de maduración. Las flores están agrupadas en inflorescencias simples de 7 a 11 botones florales, axilares, sobre pedúnculos achatados. Los botones florales son ovoides o globosos (0.5-0.8 x 0.5-0.6 cm), generalmente glaucos, pedicelos angulosos, opérculo cónico o rostrado, menor que el hipantio (Brussa,

1994). En la Figura 2 se muestra un esquema general de la morfología de flores y frutos del género *Eucalyptus*.

Cada botón floral consiste de un estilo central rodeado de estambres, con una altura de aproximadamente 8 mm y formando una inflorescencia de 20 mm de diámetro. Son de color blanco cremoso. (Meskimen, *et al.* 1990). Dentro del ovario, los óvulos se encuentran alineados en filas; esta especie presenta ocho a diez filas. (Boland, *et al.* 1980)

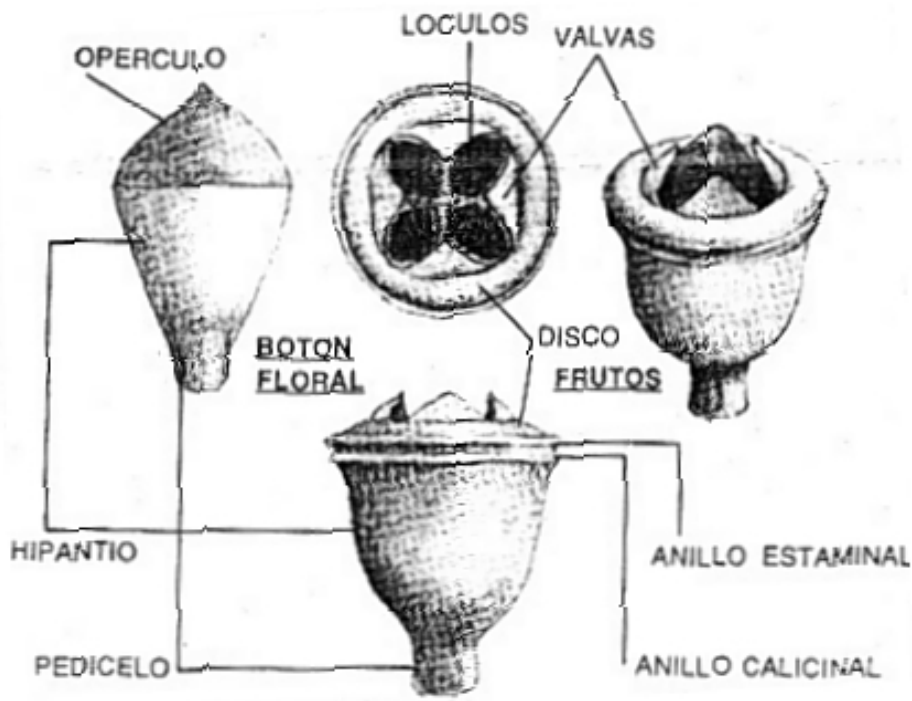


FIGURA 2. ESQUEMA GENERAL DE LA MORFOLOGÍA DE FLORES Y FRUTOS
(FUENTE: BRUSSA, 1994).

2.4.2 Floración y Polinización

La temporada de floración en Uruguay comienza a fines de febrero hasta mediados de mayo, luego puede haber una segunda floración en primavera pero más corta, que dura desde principios de setiembre a fines de octubre (Brussa, 1994).

Al momento en que cae el opérculo, las anteras tienen el polen maduro pero el estigma usualmente no está receptivo hasta unos días después. Esta secuencia impide la autopolinización en la flor individual, Hodgson (1976), citado por Boland, *et al.* 1980.

Entre 2 y 3 semanas después de la floración, los estambres y estilo se marchitan y desprenden, dejando una cápsula de semillas. (Meskimen, *et al* 1990.).

Según Boland, 1980, Las flores de *Eucalyptus* mayormente son polinizadas por insectos, pero aves y algunos mamíferos pequeños actúan como posibles agentes polinizadores. No hay evidencia que el viento juegue en algo pero tiene un mínimo rol en algunas especies.

Pacheco, en 1985, citó a las abejas como uno de los principales vectores de polen en especies de *Eucalyptus* en la localidad de Horto Areira Branca- SP. La polinización es predominantemente alógama y entomófila, mostrando la importancia de los insectos en la producción de semillas de adecuada calidad.

Hodgson (1976), citado por Pacheco (1985), observó que la *Apis mellifera* L. no visitaba frecuentemente flores emasculadas de *E. grandis* y que 84% de las visitas de las abejas a las flores eran realizadas durante los 2 primeros días luego del inicio de la antesis. Fue observado además, que las flores no emasculadas y que probablemente fueron polinizadas por abejas, produjeron 8 semillas por cápsulas; mientras que la producción de flores emasculadas, que resultó principalmente de la polinización por otros agentes, fue de 4 semillas por cápsulas.

En un estudio realizado por Russell, *et al.* en 2004 se encontró que la autopolinización en ésta especie ocurre aproximadamente en 5% en Uruguay y que la distribución de la dispersión media del polen es sobre cortas distancias que puede llegar a 300 m o más dentro del huerto semillero. Esta polinización se realiza principalmente por insectos y dentro de ellos se destacan las abejas.

2.4.3 Morfología del fruto y dehiscencia del fruto

Después de la polinización el ovario maduro sin hipantium forma una cápsula de madera, la cual se seca y caen las semillas ni bien se abre la cápsula (Boland, *et al.* 1980). Las cápsulas tienen forma de urna y son leñosas, cerradas por 4 o 6 valvas cobertoras. Son de 0.5-1.1 cm. de largo por 0.4-0.9 cm. de diámetro (Brussa, 1994). La mayoría de las umbelas completan el desarrollo de cinco a siete cápsulas hasta la madurez. Luego de 6 a 7 meses después de la floración están prontas para la cosecha. Las valvas se secan, se abren y liberan las semillas (Meskimen, *et al.* 1990).

Después de la fertilización, el tiempo que lleva el desarrollo de los óvulos en las semillas varía según la especie, pero es completado al momento que los frutos comienzan a estar secos y leñosos (Boland, *et al.* 1980).

2.4.4 Estructuras de la semilla

Krug y Alves (1949a) citado por Boland, *et al.* (1980) dibujaron con particular atención tres tipos de estructuras en las semillas de especies *Symphyomyrtus*. Ellos reconocieron que las semillas fértiles fueron producidas cerca de la base de la placenta y también observaron 2 tipos de restos (Figura 3). El primer tipo incluye partículas elongadas, derivadas de la parte alta de la placenta donde están encorvadas y soportes elongados, más o menos erectas, ovuloides. El segundo tipo de residuo consiste en partículas más cúbicas derivadas de la parte más baja de la placenta y probablemente desde las 2 filas interiores de las estructuras ovulares.



FIGURA 3. FOTOGRAFÍA DE LAS ESTRUCTURAS OVULARES
(FUENTE: BOLAND, *ET AL.* 1980).

La placenta produce estructuras ovulares de diferentes tipos. Carr and Carr (1962) observaron que cerca de la base de la placenta están las últimas en iniciarse y las más favorables a ser semillas viables. Las estructuras ovulares cerca de la placenta son las primeras en iniciarse. Comprimen las estructuras estériles y óvulos, los cuales tienen muy baja probabilidad de ser fertilizados. Los óvulos no fertilizados y los ovuloides se desarrollan como restos florales. Por lo tanto las semillas viables se desarrollarán en lo profundo del ovario. (Citado por Boland, *et al.* 1980)

Los árboles individuales presentan entre 3 y 25 semillas sanas por cápsula, con un promedio de cerca de 8 y una cantidad mucho mayor de óvulos infértiles que se conoce

como “restos florales”. Las semillas fértiles son de un tamaño minúsculo de tan solo 1 mm de diámetro o menos. Las partículas de los restos florales son de color más claro y más livianas que las semillas. (Meskimen, *et al.* 1990).

2.4.5 Morfología de las semillas

Las semillas viables representan la fase de dormancia entre generaciones, hasta que se reúnan las condiciones que estimulan la germinación como humedad, temperatura y combinación de sustrato. Las semillas de *Eucalyptus* pertenecen a un grupo que no tienen endosperma y la nueva plántula emergente es sostenida por cotiledones fotosintéticos. (Boland, *et al.* 1980)

El embrión está contenido dentro de las cubiertas derivadas del tegumento del óvulo, el cual experimenta cambios de estructura, dureza y color durante la maduración. Una característica adicional comienza a ser evidente seguida de la dehiscencia; cuando la semilla se separa de la placenta deja una cicatriz en el tegumento como un punto de unión (hilium). (Boland, *et al.*)

2.5 MEJORAMIENTO GENÉTICO

Según Zobel *et al.* (1992) en términos generales el mejoramiento genético forestal es una herramienta adicional de la silvicultura, que estudia el tipo y constitución genética de los árboles utilizados en las operaciones forestales.

El proceso de mejoramiento genético forestal implica el desarrollo de poblaciones genéticamente superiores en una o varias características como crecimiento, forma, etc., respecto de las corrientemente utilizadas en lo comercial, y su utilización operativa a través de la producción de semillas o clones de individuos mejorados. Los objetivos principales son el aumento de la productividad y la mejora de aquellos factores que condicionan la calidad de lo producido (SAGPyA Forestal, 2001).

Los individuos seleccionados contribuyen de diversas maneras al programa de mejora genética. Sirven para integrar nuevas poblaciones de producción (Huertos Semilleros), sustentan un programa de propagación vegetativa de clones, participan en el desarrollo de un plan de cruzamientos controlados para la producción de híbridos intra e interespecíficos y forman parte de una nueva población base para la siguiente ronda de selección (SAGPyA Forestal, 2001).

Para *E. grandis* los resultados de los programas de mejoramiento genético del INIA habilitan saltos apreciables de calidad en el establecimiento de plantaciones forestales en el país. Las fuentes de semillas de huertos semilleros de primera y segunda generación

de *E. grandis* aseguran un aumento en la productividad del orden del 30% comparado a los rendimientos obtenidos a nivel comercial (Bennadji, 2004).

2.5.1 Huerto semillero

El método más común para obtener semillas genéticamente mejoradas en cantidades comerciales, es utilizar el procedimiento del huerto semillero (Andersson, 1960). Una razón por la cual los huertos semilleros son mejores que áreas de producción de semillas es por la alta intensidad de selección de los árboles usados para establecer el huerto. (Boland, *et al.*,1992)

Feilberg y Soegaard (1975) propusieron la siguiente definición; “el huerto semillero es una plantación de clones o de progenies seleccionados que se maneja para producir frecuentes cosechas de semillas, abundantes y fácilmente obtenibles” (citado por Zobel *et al.* 1992).

La mayoría de los huertos semilleros se instalaron utilizando ramets de clones reproducidos agámicamente, la técnica comúnmente desarrollada es la de injerto. Debido a la incompatibilidad existente entre el pie y el injerto se produce la decadencia y muerte del clon en lapsos mas o menos prolongados (FAO, 1980).

En un estudio realizado en 1985, Pacheco encontró que la utilización de amplios espaciamientos en huertos semilleros de *E.*, con la finalidad de aumentar la producción de semillas por árbol, ha provocado, frecuentemente, una caída en la cantidad de semillas por frutos, sugiriendo la ineficiencia de la polinización cruzada y/o el aumento de ocurrencia de autofecundaciones.

2.5.2 Cruzamientos controlados

Según Frampton (1997), la polinización controlada es una técnica usada en árboles mejorados para producir progenies que reciban genes de padres conocidos. Consiste en transferir polen desde un árbol a los órganos reproductivos femeninos receptivos de otro (Citado por Cassim, *et al.*).

Fue descrita por Prior (1976) como uno de “los cruzamientos preferenciales, los cuales están reforzados por mecanismos de incompatibilidad controlada genéticamente que impiden o previenen auto polinizaciones”(Citado por Boland, *et al.* 1992).

Esta técnica es útil para:

- 1- establecer y mantener el pedigree de las poblaciones de cría
- 2- controlar la endocría en poblaciones de cría
- 3- hibridar y cruzar especies.

Según Williams, *et al.* (1999), en especies bisexuales en las que el estilo esta rodeado por las anteras, y la polinización se da naturalmente por insectos; se hace necesario una serie de pasos para realizar una segura polinización controlada, es decir que las flores fueran polinizadas por el polen aplicado.

2.5.2.1 Técnicas de Polinización controlada

Este procedimiento consume tiempo y es costoso, se necesitan equipos especiales para trabajar en altura, mano de obra especializada y debe ser rápido; por eso se han desarrollado diferentes técnicas.

a- Método Convencional: Este método consiste en emascular y aislar las flores, retornando una semana después cuando el estigma está receptivo para polinizar y es aislado nuevamente. Luego de tres semanas finalmente se remueve la bolsa de aislamiento una vez que el estigma pierde receptividad con la caída del estilo. (Cassim, *et al.*)

b- Método Protogyny: Esta técnica fue desarrollada en Brasil (de Assis 2002), induce la receptividad del estigma antes que el polen madure. Durante esta técnica el estigma es forzado a que madure antes que el polen. Esto es forzado por un corte de un cuarto de la cima del botón floral antes de la polinización. No necesita emasculación ni aislación. (Cassim, *et al.*)

c- Método One-Stop Pollination (OSP): El método consiste en inducir la receptividad del estigma realizándole un corte diagonal a través del estigma después de emasculada la flor. Luego se realizan los mismos pasos como en los métodos convencionales. En el método original no se utilizan bolsas de aislamiento. En lugar de esto se utiliza un fino tubo de plástico sobre la flor polinizada el cual cae cuando cae el estilo. (Harbard, 1999).

d- Otros: OSP modificado por saturación de polen y OSP modificado utilizando insecticida.

2.5.2.2 Cosecha de cápsulas y obtención de semillas

La forma de determinar el momento de cosecha de las cápsulas tratadas, es tomar cápsulas de polinización abiertas y retirar las semillas. Se observa el color de la testa, cuando está completamente negra, en ese momento son colectadas y almacenadas individualmente. Cuando las valvas están completamente abiertas, las semillas son extraídas y separadas en viables, inviables y dañadas por insectos (Hardner, *et al.*, 1995)

Burrows (1995) basándose en la producción de semillas /cápsula y por 10g de contenido de las cápsulas, dice que esa comparación no refleja del todo la producción de semillas, donde factores iniciales y el subsecuente nivel de abortos son importantes.

Para analizar los efectos de las técnicas empleadas se utiliza el número de cápsulas formadas con el número de flores tratadas y el número de semillas por cápsulas.

En un estudio que realizó Harbard en 1999, en un huerto semillero de *Eucalyptus globulus* Labill en Chile, encontró que las flores polinizadas al momento de la antesis con el estigma sano, sólo el 5% formaron una cápsula, comparado con 69% con OSP. La cosecha de semilla con OSP promedió 26 semillas por cápsulas comparado con 12 de polinización abierta, de muestras de los mismos árboles.

Hodgson (1974), citado por Pacheco (1985) mostró en numeroso test con *E. grandis*, que los resultados obtenidos para semillas provenientes de autopolinización fueron inferiores en cuanto a su capacidad de germinación y de vigor, cuando comparadas con aquellas formadas de cruzamientos.

Williams, *et al.* compararon varias técnicas de polinización en *E. globulus*, de las cuales OSP es igual o más eficiente que el método tradicional de tres visitas. Hubo un aumento en el número de semillas viables por flores y por cápsulas con esta técnica, comparada con el método tradicional pero no fue estadísticamente significativa. Se observó que la técnica OSP tuvo 40 semillas /cápsula en comparación con 10,5 en polinización abierta y 27,7 en el método tradicional. También se observó que existía una correlación negativa entre la cantidad de semillas por cápsula y el peso de semillas viables. Según este estudio se encontró que no hay un efecto significativo ($p > 0.05$) de la influencia del árbol madre en el número de semillas por cápsulas o por flores. Esto es contrario a lo encontrado por Hardner and Potts (1995) quienes reportaron que el árbol madre tiene diferencias significativas ($p < 0.05$) en esta cualidad. Por lo tanto este efecto es genético o condición ambiental a ser determinados.

Hodgson 1974 mostró en numeroso test con *E. grandis*, que los resultados obtenidos para semillas provenientes de autopolinización fueron inferiores en cuanto a su capacidad de germinación y de vigor, cuando comparadas con aquellas formadas de cruzamientos. (Pacheco, 1985)

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN DEL ESTUDIO

El estudio se realizó en el predio del Vivero San Francisco perteneciente a Compañía Forestal Oriental S.A., ubicado a 8 kilómetros al Norte de la ciudad de Paysandú. Dentro de éste se encuentra un Huerto Semillero Clonal de *E. grandis*, que presenta una población de 25 clones diferentes, a su vez existen varios individuos de cada uno de ellos. La disposición de estos se muestra la Figura 4.

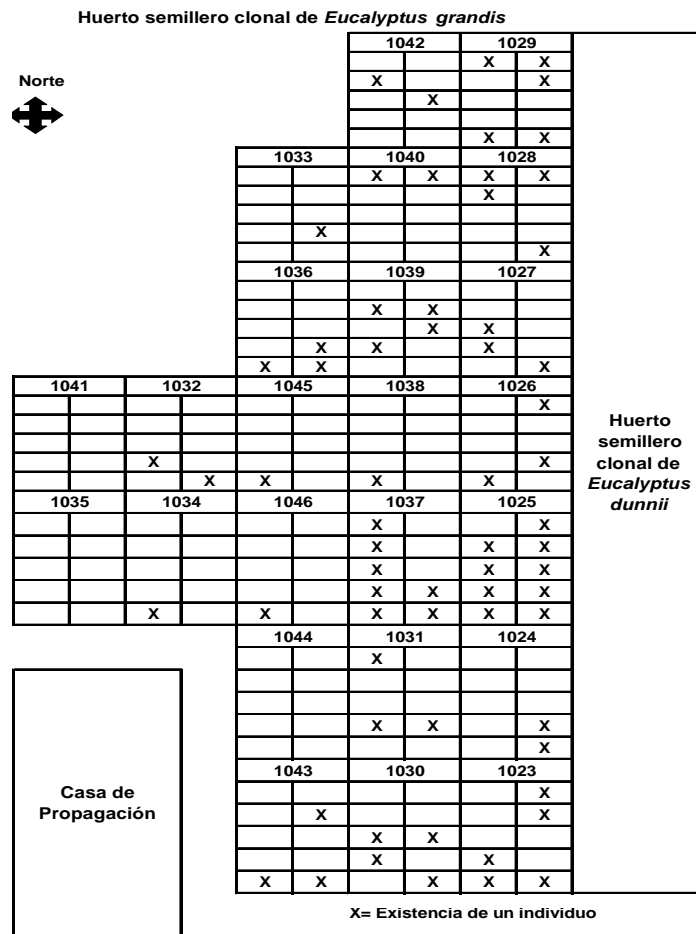


FIGURA 4. PLANO DE UBICACIÓN DE CLONES DENTRO DEL HUERTO SEMILLERO
Fuente: Elaboración propia.

3.2 MATERIAL GENÉTICO UTILIZADO

Se utilizaron 9 clones como árboles madres, de los cuales se implantaron 10 individuos injertados de cada uno, pero debido a problemas de incompatibilidad pie-púa dos clones tienen sólo un individuo cada uno. La fuente de polen utilizada fue de 5 árboles, de los cuales algunos fueron árboles madres también. A cada clon se lo identificó con un número de 4 cifras. En el Cuadro 1 se presenta el plan de cruzamientos.

Cuadro 1. Plan de cruzamientos evaluado en el estudio.

Madre	Árboles Padres				
	1023	1025	1036	1037	1039
1023					X
1025	X			X	
1027		X			X
1030					X
1034					X
1037		X			
1038			X		
1039		X	X		
1043				X	X

Fuente: Elaboración propia.

Para cada cruzamiento se eligieron los individuos madres por medio de una observación de la zona del injerto, de esa forma se descartaron aquellos que presentaban síntomas de incompatibilidad, que restringiera las condiciones de fructificación del árbol. También se tomó en cuenta la altura de los individuos, para tener una muestra homogénea. Algunos cruzamientos estaban presentes en un individuo, por lo que no hubo posibilidades de selección.

De febrero a abril de 2004 se realizó el plan de polinización controlada utilizando como fuente de polen, los mismos árboles élite del huerto semillero, con el fin de obtener semilla mejorada de padres conocidos en cantidades comerciales.

La polinización realizada fue por el método “One Stop Pollination” (OSP). Se retiraron todos aquellos botones florales que se encontraban abiertos al momento de la polinización de cada rama, luego se retiró el opérculo de los botones florales casi maduros por medio de tijeras o con una pinza, se realizó la emasculación de las flores y luego un corte en el estilo retirando parte del estigma. Inmediatamente después se colocó el polen seleccionado en el corte. No se realizó aislamiento alguno de la flor.

Durante la polinización se identificó cada cruzamiento por medio de una etiqueta colocada en la base de la rama polinizada, llevando un número identificador único de cuatro cifras, correlacionado con una tabla donde se registró a qué clon pertenecía y cual fue el polen utilizado, además la fecha de polinización y el número de flores polinizadas. En la Tabla 1 se presenta el número de flores polinizadas en cada cruzamiento.

Tabla 1. Número total de flores polinizadas según cruzamiento

Madre	Padre					Subtotal
	1023	1025	1036	1037	1039	
1023	---	---	---	---	9794	9794
1025	30522	---	---	9398	---	39920
1027	---	30323	---	---	16580	46903
1030	---	---	---	---	18421	18421
1034	---	---	---	---	3731	3731
1037	---	6234	---	---	---	6234
1038	---	---	5389	---	---	5389
1039	---	3956	10852	---	---	14808
1043	---	---	---	17292	19151	36443
Subtotal	30522	40513	16241	26690	67677	181643

Fuente: Elaboración propia.

3.3 CRITERIOS UTILIZADOS PARA LA ELECCIÓN DE LOS INDIVIDUOS

Para realizar este estudio se determinaron algunos criterios que se debían cumplir para la elección de los individuos. Se tomó como mínimo contabilizar 1600 cápsulas por cruzamiento, en los casos que el mismo cruzamiento se encontraba en más de un individuo se seleccionaron dos, tomando como mínimo 800 cápsulas en cada uno.

Se dividió en dos la altura del árbol, hasta los 2 metros se considera la parte baja del árbol y la parte alta por encima de los 2 metros. Esto se realizó para observar si existía comportamiento diferencial según la posición de las cápsulas en el árbol, tomando como mínimo 400 cápsulas en cada posición, ya que la incidencia de heladas en la parte baja podía marcar un descenso importante en la retención de cápsulas.

En la Tabla 2 se observan los individuos seleccionados dentro de cada cruzamiento y el número de flores polinizadas que fueron registradas. En cada árbol se eligió una rama en cada posición, conteniendo cápsulas de polinización abierta, para tener un testigo con el cual se compararon los resultados obtenidos.

Tabla 2. Individuos seleccionados y el número de flores polinizadas que se tomaron de cada cruzamiento.

Madre	Padre	Individuo	Flores
1023	1039	1	1940
1023	1039	3	744
1025	1037	3	1376
1025	1037	4	1276
1025	1023	3	1782
1025	1023	4	1152
1027	1025	2	1783
1027	1025	3	1172
1027	1039	1	1954
1027	1039	3	1051
1030	1039	1	1443
1030	1039	2	1079
1034	1039	1	3221
1037	1025	1	2279
1038	1036	1	2437
1039	1036	1	2376
1039	1025	2	2142
1043	1039	2	1968
1043	1037	1	3033
1043	1037	3	1668
Total			35876

Fuente: Elaboración propia.

3.4 TRABAJO DE CAMPO

El conteo de cápsulas se comenzó el 10 de junio del 2004, luego se realizó un mensual, con un total de 5 antes de la cosecha, siendo ésta en el mes de octubre. Al momento de la cosecha se volvieron a contabilizar, para monitorear cuál fue la evolución de retención de cápsulas en el árbol. En la figura 5 se muestra cuál fue el estado de las cápsulas en el mes de julio para uno de los clones, a modo de comparación con el estado del testigo.

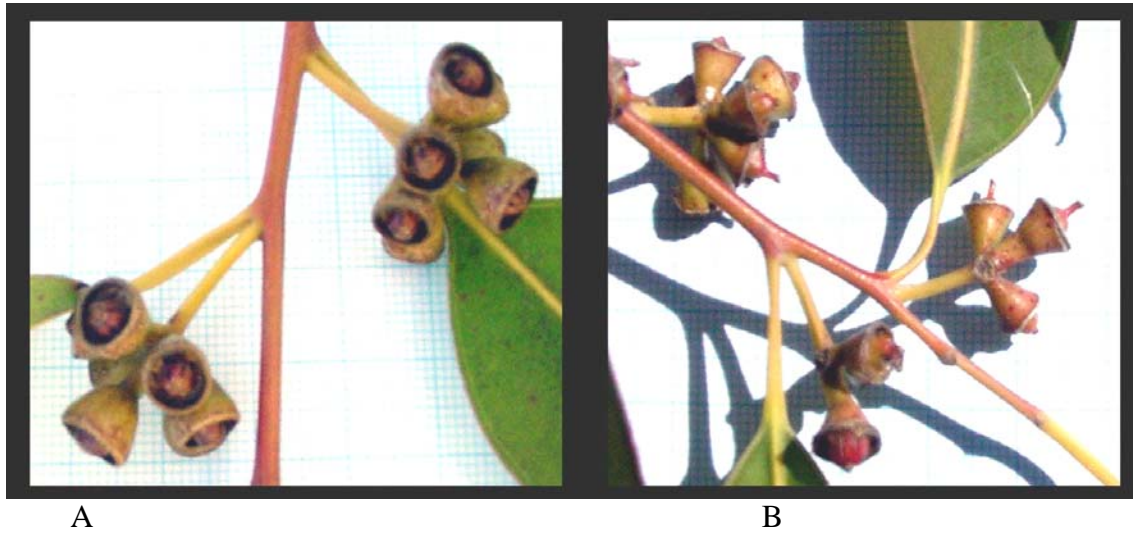


FIGURA 5. CÁPSULAS DEL ÁRBOL MADRE 1043 A- TESTIGO, B- POLINIZACIÓN CONTROLADA. FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Para cada conteo en la parte baja se utilizaron escaleras plegables, y para la parte alta se utilizaron torres móviles y un elevador hidráulico ya que algunas etiquetas a contabilizar se encontraban a 7 metros de altura. Para cada instancia se contó con planillas previamente elaboradas con toda la información de cada etiqueta.

A partir del mes de agosto se realizaron cosechas de frutos de polinización abierta a cada clon, para observar el estado de maduración de las semillas, se colocó todo el contenido de las cápsulas en cajas con papel secante humedecido. Las cajas se taparon con una bolsa negra para lograr un ambiente oscuro. Se regaron periódicamente evitando que se secase el papel. Luego de 10 días aproximadamente se contaron las plántulas que germinaron y con el número inicial de cápsulas cosechadas se estimó el número de semillas viables por cápsula.

La cosecha final se realizó a partir del 11 de noviembre, para la cual se realizó la colecta de las cápsulas por medio manual con tijeras y acondicionándolas en bolsas de cierre hermético para evitar las pérdidas de cualquier cápsula. Se recolectó cada rama en forma individual, manteniendo la identificación de la etiqueta en cada una. También se realizó la cosecha de las ramas testigos de cada individuo.

3.5 TRABAJO DE LABORATORIO

3.5.1 Obtención y muestreo de semillas

Luego de colectadas, las cápsulas fueron llevadas al laboratorio y se contabilizaron las cápsulas de cada rama, finalmente fueron colocadas en el mismo recipiente con las demás que correspondían al mismo cruzamiento y al mismo individuo (Figura 6.a). Estos recipientes eran abiertos para que perdieran humedad y de esa forma se abrieron las valvas (Figura 6.b)

Para retirar el contenido de las cápsulas se esperó cerca de 20 días. Se utilizaron diferentes tamices para removerlas y en algunos casos la apertura de las valvas fue manual, por medio del uso de pinzas y tijeras. Luego que las semillas y los restos florales fueron retiradas de las cápsulas se pesaron, para saber cuánto se produjo en cada cruzamiento, y de esa forma se realizó un muestreo o en algunos casos se realizaron censos de semillas viables.

El muestreo se realizó con el fin de obtener un número de semillas viables por gramo cosechado. Para ello se realizó una mezcla dentro de frascos herméticos por medio de agitado y sin golpearlo para evitar algún tipo de estratificación por peso. Se retiró la muestra con una cucharita de té. Se pesó un gramo de cada cruzamiento separado por individuo.

Para determinar cuántas semillas viables se encontraban en ese gramo se utilizó el mismo procedimiento que en las pruebas de germinación, se colocó en cajas con papel secante humedecido haciendo 3 repeticiones con aproximadamente las mismas cantidades de semillas y restos florales (Figura 6.c). Las cajas fueron agrupadas y tapadas de forma de darles oscuridad para la germinación (Figura 6.d) y luego de 10 días se contabilizaron las plántulas germinadas por cruzamiento y por individuo; así como también las plántulas de los testigos (Figura 6.e).

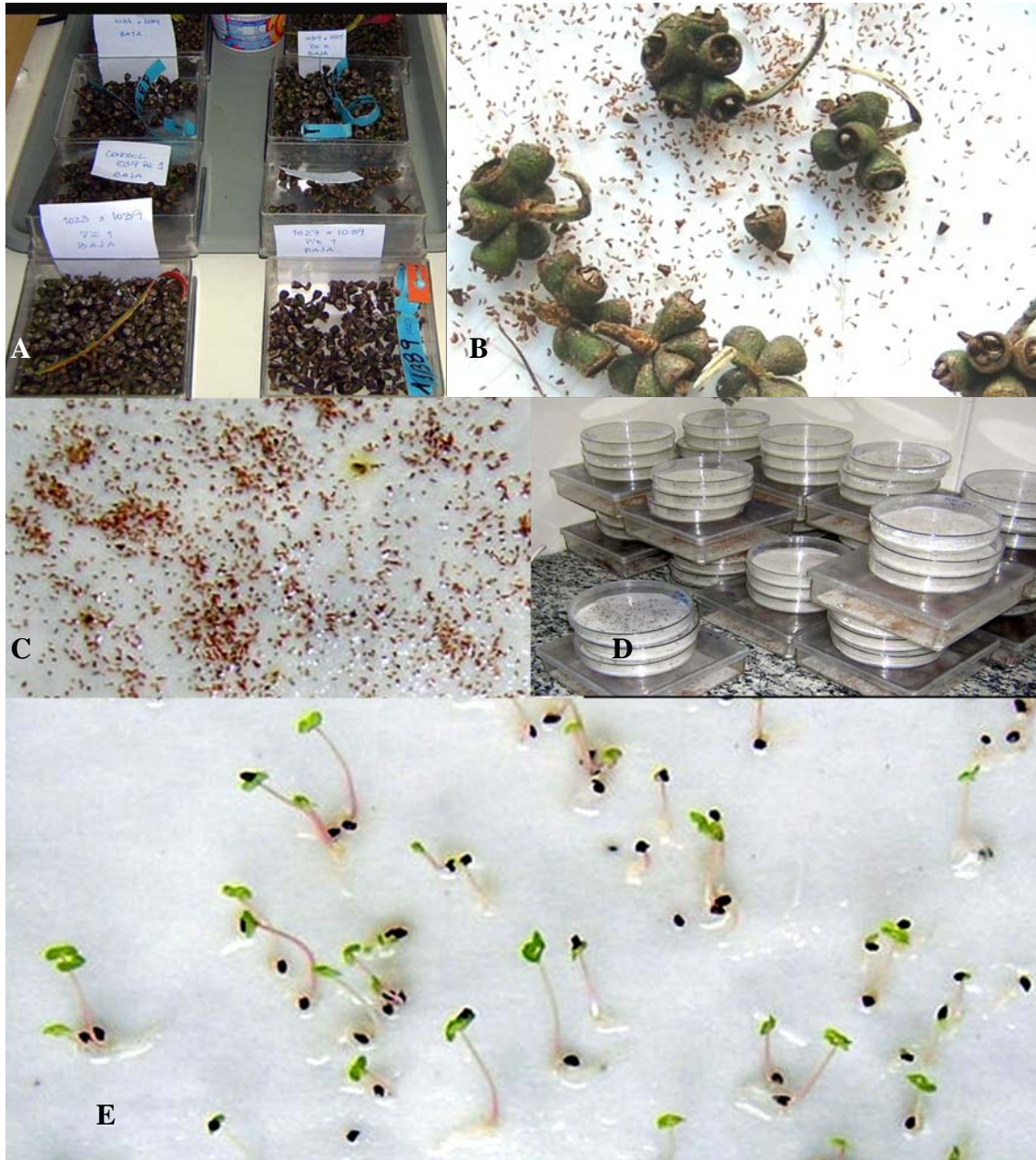


FIGURA 6. A- CLASIFICACIÓN DE CÁPSULAS SEGÚN CRUZAMIENTO, B- EXTRACCIÓN DEL CONTENIDO DE LAS CÁPSULAS, C- PRUEBA DE GERMINACIÓN DEL CONTENIDO CAPSULAR, D- PRUEBAS DE GERMINACIÓN DE UNA SERIE DE CRUZAMIENTOS, E- PLÁNTULAS LUEGO DE 10 DÍAS DE GERMINADAS.

Fuente: Elaboración propia.

3.6 ANALISIS ESTADÍSTICO

Con el objetivo de cuantificar la probabilidad de retención de cápsulas de cada cruzamiento, se ajustaron modelos lineales generalizados, asumiendo que en un momento dado, el número de cápsulas retenidas, en relación con el número de flores polinizadas, tuvo distribución binomial.

Modelo 1:

Para evaluar el efecto de la posición dentro del árbol, sobre la probabilidad de retención en cada momento de medición, el modelo ajustado, tuvo la siguiente forma general:

$$\text{Ln}(p / (1-p)) = \mu + \tau_i + \varphi_j$$

donde

$\text{Ln}(p/(1-p))$ es la función nexa logit que vincula el modelo aditivo con la probabilidad de retención (p)

μ es la media general

τ_i es el efecto del i -ésimo cruzamiento

φ_j es el efecto de la j -ésima posición

Luego de ajustar los modelos, para estimar la probabilidad de retención, se usó la función logit inversa ($p = 1 / (1 + \exp(-\text{valor estimado}))$)

Modelo 2:

Para evaluar el efecto del padre, la madre y el individuo, sobre la probabilidad de retención, el modelo ajustado, tuvo la siguiente forma general:

$$\text{Ln}(p / (1-p)) = \mu + \eta_i + \lambda_j(\eta_i) + \varphi_k((\lambda\eta)_{ij})$$

donde

$\text{Ln}(p/(1-p))$ es la función nexa logit que vincula el modelo aditivo con la probabilidad de retención (p)

μ es la media general

η_i es el efecto la i -ésima madre

$\lambda_j(\eta_i)$ es el efecto del j -ésimo padre dentro de la i -ésima madre

$\varphi_k((\lambda\eta)_{ij})$ es el efecto del k -ésimo individuo dentro de cada combinación padre-madre

La probabilidad de retención se estimó en forma similar que en el modelo 1. Se usó el macro GLIMMIX del paquete estadístico SAS versión 8.2. Las probabilidades de retención estimadas, fueron comparadas usando el test de Tukey.

4. RESULTADOS

4.1 RESULTADOS GENERALES PARA CADA CRUZAMIENTO

En este punto se muestran los valores obtenidos en todo el transcurso del trabajo en forma resumida, ya que todos los valores de los conteos y la cosecha se registraron en un cuadro general que se presenta en Anexo 1. En la Tabla 3 se muestran los valores de cápsulas al momento de la cosecha y su respectivo porcentaje de retención.

Tabla 3. Número de cápsulas cosechadas y porcentaje de retención por árbol madre.

Madre	Flores	Cápsulas	% Retención
1023	3006	2037	67,8
1025	5586	3866	69,2
1027	5960	2318	38,9
1030	2522	1855	73,6
1034	3221	1243	38,6
1037	2279	843	37,0
1038	2437	1943	79,7
1039	4518	2233	49,4
1043	6669	2254	33,8
Total	36198	18592	

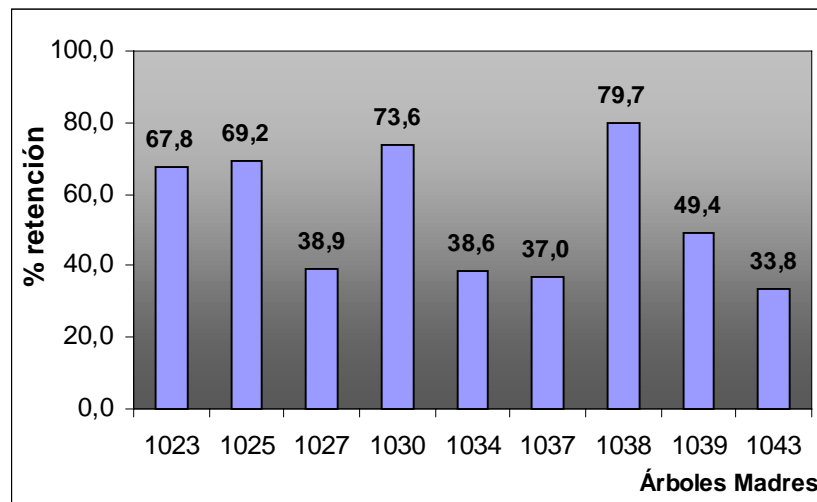


FIGURA 7. GRÁFICO DEL PORCENTAJE DE RETENCIÓN DE CADA ÁRBOL MADRE.

Al momento de la cosecha los porcentajes de retención se presentaron como indica la Figura 7. Como se observa el árbol madre 1038 fue el mejor, reteniendo el 79,7 % de

sus cápsulas polinizadas, por otro lado 5 madres se encuentran por debajo de 50% de retención de sus cápsulas y dentro ellas la peor madre fue la 1043 con solamente el 33,8% de retención.

En la Tabla 4 se muestran los resultados del número de cápsulas cosechadas y el porcentaje de retención para cada cruzamiento, lo que permite observar el comportamiento de un mismo árbol madre con dos fuentes de polen diferentes.

Tabla 4. Número de cápsulas cosechadas y porcentaje de retención según cruzamiento.

Madre*Padre	Flores polinizadas	Cápsulas cosechadas	% Retención
1023*1039	3006	2037	67,8
1025*1023	2934	1835	62,5
1025*1037	2652	2031	76,6
1027*1025	2955	1127	38,1
1027*1039	3005	1191	39,6
1030*1039	2522	1855	73,6
1034*1039	3221	1243	38,6
1037*1025	2279	843	37,0
1038*1036	2437	1943	79,7
1039*1025	2142	1467	68,5
1039*1036	2376	766	32,2
1043*1037	4701	1844	39,2
1043*1039	1968	410	20,8
Total	36198	18592	

Los valores de cápsulas cosechadas y el porcentaje de retención para cada individuo en particular se presentan en la Tabla 5; en el Anexo 2 se presenta la evolución de los mismos en todo el estudio. La evolución de la retención de cápsulas en el transcurso del estudio para cada cruzamiento se presenta en el Anexo 5 en forma de tabla y sus respectivas gráficas para mejor visualización.

Tabla 5. Número de cápsulas cosechadas y porcentaje de retención para cada individuo

Madre	Padre	Individuo	Flores	Cosecha	% Retención
--------------	--------------	------------------	---------------	----------------	--------------------

1023	1039	1	1940	1140	58,8
1023	1039	3	1066	897	84,1
1025	1023	3	1782	1255	70,4
1025	1023	4	1152	580	50,3
1025	1037	3	1376	1034	75,1
1025	1037	4	1276	997	78,1
1027	1025	2	1783	505	28,3
1027	1025	3	1172	622	53,1
1027	1039	1	1954	653	33,4
1027	1039	3	1051	538	51,2
1030	1039	1	1443	1029	71,3
1030	1039	2	1079	826	76,6
1034	1039	1	3221	1243	38,6
1037	1025	1	2279	843	37,0
1038	1036	1	2437	1943	79,7
1039	1025	2	2142	1467	68,5
1039	1036	1	2376	766	32,2
1043	1037	1	3033	1163	38,3
1043	1037	3	1668	681	40,8
1043	1039	2	1968	410	20,8
Total			36198	18592	

4.2 DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LA POSICIÓN DENTRO ÁRBOL

En el caso del efecto de la posición de las ramas dentro del árbol se tuvieron en cuenta las temperaturas mínimas y máximas diarias registradas en el vivero, de esa forma se contabilizaron las temperaturas por debajo de 0° C. En el Anexo 3 se presentan las gráficas mensuales de las temperaturas mínimas y máximas diarias registradas. En el Cuadro 2 se presenta el número de heladas mensuales acumuladas.

Cuadro 2. Número de heladas mensuales acumuladas en el periodo en estudio.

Conteos	Fecha	N° heladas
Primer	12 de junio	0
Segundo	15 de julio	2
Tercero	11 de agosto	6
Cuarto	14 de setiembre	8
Quinto	15 de octubre	8

Para determinar si existieron diferencias significativas entre los resultados obtenidos en la parte baja y alta del árbol se realizó un análisis de varianza para cada conteo con una probabilidad de 0.05 de cometer error Tipo I.

Se consideró cada rama polinizada como un tratamiento, y se tuvo en cuenta la posición de ésta. En casos de inconsistencia del conteo se hizo necesario depurar los datos de campo para evitar errores.

Dados los resultados obtenidos se puede decir que para las condiciones de este estudio, no hay diferencias significativas entre la parte baja y alta, ya que en todos los conteos y en la cosecha se obtuvo una probabilidad de cometer error Tipo I más alta que del valor crítico asignado. (Tabla 6)

Tabla 6. Probabilidades de retención estimadas y valores de significancia estimados para cada conteo y según posición.

	Posición en el árbol		Tratamiento	Posición
	Alta	Baja		
	Probabilidad Retención	Probabilidad Retención		
CONTEO 1	0,766	0,754	<.0001	0,6922
CONTEO 2	0,750	0,719	<.0001	0,2747
CONTEO 3	0,659	0,640	<.0001	0,5777
CONTEO 4	0,614	0,583	<.0001	0,3472
CONTEO 5	0,590	0,547	<.0001	0,2558
COSECHA	0,564	0,520	<.0001	0,2294

4.3 DETERMINACIÓN DE LA RETENCIÓN DE CÁPSULAS SEGÚN EL EFECTO MADRE, PADRE E INDIVIDUO

Los efectos estudiados fueron: 1- la madre, 2- padre, 3- el efecto del individuo según el padre y la madre. Para ello se usaron modelos lineales generalizados y se compararon las probabilidades de retención con el test de Tukey con probabilidad de cometer error Tipo I de 0.05. La comparación se realizó para cada conteo obteniéndose diversos resultados. Debido al desbalance de datos, los efectos 2 y 3 se analizaron como anidados: padre dentro de madre, e individuo dentro de la combinación padre-madre.

4.3.1 Efecto de la madre

Según la comparación de probabilidades, se encontraron diferencias significativas entre las madres utilizadas tanto en la cosecha como en los conteos previos. En el primer conteo se identificaron dos grupos de los cuales las madres 1034 y 1037 fueron las de menor probabilidad de retención clasificadas dentro del grupo B (Anexo 3). Al momento de la cosecha las madres quedaron agrupadas en 4 grupos, pero no se mantuvo el nivel jerárquico de éstas, como el caso de la madre 1043 que en los primeros conteos obtuvo alta probabilidad de retención y luego de los sucesivos conteos disminuyó hasta quedar en el último lugar (Tabla 7), quedando en primer lugar las madres 1025, 1030 y 1038.

Tabla 7. Porcentaje de retención estimado y clasificación Tukey según el árbol madre en momento de la cosecha.

MADRE	Probabilidad retención	
1025	0,6881	A
1030	0,7402	A
1038	0,7854	A
1023	0,6772	AB
1039	0,5042	BC
1027	0,4105	CD
1034	0,3859	CD
1037	0,3699	CD
1043	0,2934	D

Nota: probabilidades de retención con igual letra no difieren significativamente entre madres.

4.3.2 Efecto del padre según la madre

El efecto del padre según la madre se utilizó para comparar aquellos árboles madres que fueron polinizados con dos padres distintos para evitar el efecto del árbol madre. Según la comparación de medias estimadas presentó diferencias significativas para todos los conteos. Esto significa que al menos 2 padres distintos utilizados en un mismo árbol madre fueron diferentes entre sí. Se observó que los padres 1025 y 1036 utilizados en el árbol madre 1039 presentaron diferencias significativas a partir del 3° conteo ya que están en grupos diferentes siendo el cruzamiento con el padre 1036 de menor probabilidad de retención de 0.3224 (ver Anexo 4). En el caso de la madre 1043 donde se compararon los padres 1039 y 1037 también se encontraron diferencias significativas en el 1° y 2° conteo pero luego del 3° conteo estas diferencias desaparecieron. (Tabla 8)

Tabla 8. Resultados de la comparación de medias estimadas para determinar el efecto del padre utilizado.

	Junio	Julio	Agosto	Setiembre	Octubre	Noviembre
--	-------	-------	--------	-----------	---------	-----------

MADRE PADRE		Probabilidad de retención		Probabilidad de retención		Probabilidad de retención		Probabilidad de retención		Probabilidad de Retención		Probabilidad de retención	
1025	1037	0,850	A	0,826	A	0,810	A	0,801	A	0,771	A	0,767	A
1025	1023	0,750	A	0,745	A	0,698	A	0,656	A	0,638	A	0,597	A
1027	1039	0,720	A	0,688	A	0,531	B	0,505	B	0,436	A	0,420	A
1027	1025	0,702	A	0,683	A	0,529	B	0,446	B	0,421	A	0,401	A
1039	1025	0,894	A	0,830	B	0,788	A	0,768	A	0,735	A	0,685	A
1039	1036	0,693	A	0,650	B	0,426	B	0,364	B	0,346	B	0,322	B
1043	1039	0,913	A	0,904	A	0,614	B	0,436	A	0,409	A	0,396	A
1043	1037	0,523	B	0,513	B	0,464	B	0,336	A	0,246	A	0,208	A

Nota: probabilidades de retención con igual letra no difieren significativamente entre padres (dentro de una misma madre).

Es importante destacar que en el caso del cruzamiento 1043x1039 realizado en el individuo 2, los resultados pudieron ser afectados por el estado del árbol. En la Figura 8 se aprecia cuál era su estado, comparado con su clon de la izquierda correspondiente al individuo 1.



FIGURA 8. ÁRBOLES MADRE 1043, IZQUIERDA INDIVIDUO 1, DERECHA INDIVIDUO 2.
Fuente: Elaboración propia.

4.3.3 Efecto del individuo según la madre y padre utilizado

En la determinación de las diferencias entre individuos dentro de un cruzamiento se realizó por medio de la comparación de medias estimadas de individuos diferentes con igual madre y padre. Los valores de significancia $Pr > F$ fueron los siguientes:

Individuo (MADRE*PADRE)	Junio	Julio	Agosto	Setiembre	Octubre	Noviembre
	0,055	0,0403	0,0166	0,02	0,0136	0,0413

Esto refleja que el primer conteo fue el único que no tuvo diferencias entre individuos evaluados, pero en el resto de los conteos al menos un cruzamiento tuvo diferencias significativas entre ellos. Se observa en la Tabla 9 con letras rojas aquellos cruzamientos en que los individuos pertenecientes a una misma madre tuvieron comportamiento diferencial.

Tabla 9. Resultados de la comparación de probabilidades de retención para determinar el efecto del individuo.

Madr e	Padr e	Indi- viduo	Junio	Julio	Agosto	Setiembre	Octubre	Noviembre
			Probabi- lidad Retención	Probabi- lidad Retención	Probabi- lidad Retención	Probabi- lidad Retención	Probabi- lidad Retención	Probabi- lidad Retención
1023	1039	1	0,793 A	0,771 A	0,722 A	0,656 A	0,635 A	0,588 A
1023	1039	3	0,918 A	0,873 A	0,878 A	0,843 A	0,823 A	0,755 A
1025	1023	3	0,821 A	0,826 A	0,783 A	0,747 A	0,730 A	0,684 A
1025	1023	4	0,662 A	0,643 A	0,595 B	0,551 B	0,534 B	0,503 A
1025	1037	3	0,806 A	0,781 A	0,749 A	0,760 A	0,751 A	0,751 A
1025	1037	4	0,885 A	0,864 A	0,859 A	0,836 A	0,789 A	0,781 A
1027	1025	2	0,588 A	0,580 B	0,400 B	0,417 A	0,292 B	0,283 B
1027	1025	3	0,795 A	0,778 A	0,658 A	0,592 A	0,562 A	0,531 A
1027	1039	1	0,655 A	0,604 A	0,445 A	0,364 A	0,353 A	0,334 A
1027	1039	3	0,777 A	0,754 A	0,612 A	0,531 A	0,523 A	0,512 A
1030	1039	1	0,805 A	0,783 A	0,724 A	0,677 A	0,694 A	0,713 A
1030	1039	2	0,885 A	0,880 A	0,818 A	0,790 A	0,764 A	0,766 A
1043	1037	1	0,562 A	0,552 A	0,486 A	0,451 A	0,420 A	0,383 A
1043	1037	3	0,483 A	0,473 A	0,442 A	0,422 A	0,399 A	0,408 A

Nota: probabilidades de retención con igual letra no difieren significativamente entre individuos dentro de igual madre y padre.

En el Anexo 5 se observan los gráficos correspondientes al porcentaje de retención obtenido en cada conteo para los 13 cruzamientos, pero en el caso del árbol madre 1027 cruzado con polen 1025 se realiza un gráfico para el individuo 2 y 3, debido a las diferencias encontradas.

4.4 DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE SEMILLAS VIABLES POR INDIVIDUO

Una vez obtenido el número de semillas viables por gramo del contenido de las cápsulas, se procedió a realizar el cálculo de cuántas semillas por cápsula promedialmente se obtuvieron de cada individuo. Como se observa en el Tabla 10, se encontró una amplia gama de valores, desde individuos con 20 semillas por cápsula hasta algunos que no llegaron en promedio a 1 semilla. Cada resultado pudo ser comparado con su respectivo testigo de polinización abierta (figura 9), donde se encontraron diferentes respuestas. En caso de los árboles madres 1030 individuo 1 y 2, 1037 y 1039 individuo 1, se obtuvo menor número de semillas por cápsula que en el testigo de dichos árboles, pero en términos generales se obtuvo un aumento del número de semillas por cápsulas.

Tabla 10. Resultados de las pruebas de germinación.

Cruza miento	Madre	Padre	Individuo	Gramos cosechados	Semillas Germinadas / gramo	Semillas / Cápsulas	Semillas/ cápsulas testigo
1	1023	1039	1	10	378	3,3	2,8
2	1023	1039	3	14,6	611	9,9	9,2
3	1025	1023	3	11,6	1270	11,7	1,9
4	1025	1023	4	5,2	926	8,3	2,4
5	1025	1037	3	11	1258	13,4	1,9
6	1025	1037	4	9,4	1062	10,0	2,4
7	1027	1025	2	5,6	190	2,1	0,26
8	1027	1025	3	4,6	542	4,0	0,08
9	1027	1039	1	4,4	37	0,2	0,14
10	1027	1039	3	3,6	87	0,6	0,08
11	1030	1039	1	10,4	648	6,5	6,8
12	1030	1039	2	7,8	557	5,3	9,2
13	1034	1039	1	9,2	405,0	3,0	2,7
14	1037	1025	1	8,4	463	4,6	5,9
15	1038	1036	1	30	1309	20,2	6,4
16	1039	1025	2	15,8	913	9,8	4,5
17	1039	1036	1	11,8	642	9,9	12,6
18	1043	1037	1	21,8	404	7,6	5,2
19	1043	1037	3	13,2	160	3,1	2,5
20	1043	1039	2	2	60	0,3	0

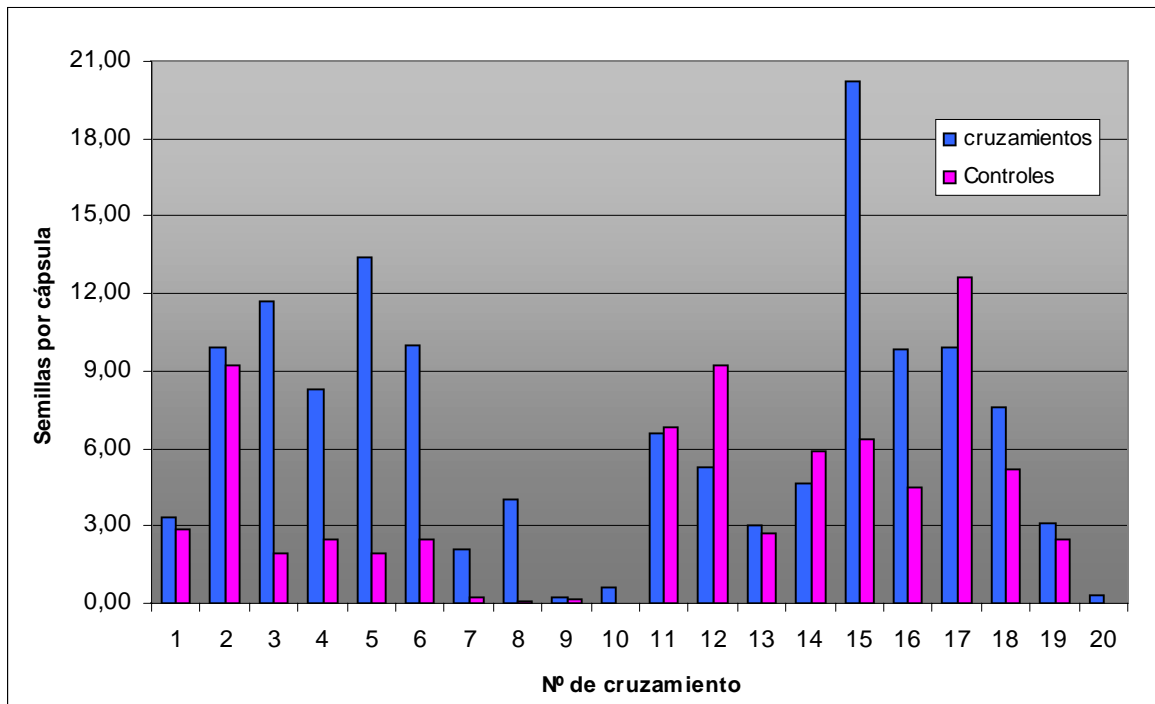


FIGURA 9. GRAFICO DE "NUMERO DE SEMILLAS POR CAPSULA" DE LOS CRUZAMIENTOS EN ESTUDIO Y SUS RESPECTIVOS TESTIGOS. FUENTE: ELABORACION PROPIA.

En términos generales se obtuvo un total de 18592 cápsulas, que representa un 51,36 % de retención de cápsulas por parte de los árboles madres, y una producción de semillas de 210 gramos conteniendo aproximadamente 151.000 semillas. (Anexo 6)

5. CONSIDERACIONES FINALES

En este estudio se observó que en el transcurso del periodo de crecimiento de las cápsulas hubo momentos importantes de pérdida de las mismas. Estas se evidenciaron en los diferentes conteos realizados. Como se observa en los gráficos de porcentaje de retención de cápsulas de cada cruzamiento, presentados en el Anexo 5, hubo diferentes respuestas iniciales, desde árboles madres con un porcentaje inicial de cápsulas de 91.3% a otro de 40.1%, esto permite observar que existe una gran variación.

Las pérdidas registradas en el primer conteo respecto al número de flores polinizadas, se podría especular que se debieron al efecto de la técnica utilizada y a otros factores externos. La técnica OSP genera una serie de cambios en el desarrollo del botón floral, como ser la apertura previa a la caída del opérculo, la extracción de los estambres y el corte del estigma. Esta intervención sobre el botón floral podría ser una posible causa de aborto de cápsulas. En el caso de la técnica utilizada es muy importante la experiencia previa del operario que realiza ésta actividad, dado que actúa directamente sobre la manipulación del botón floral. El efecto del árbol madre podría estar enmascarado por todos los factores mencionados y además por el estado del botón floral al momento de la polinización o la viabilidad del polen utilizado.

Los conteos subsiguientes se realizaron en los meses más rigurosos del invierno con la presencia de heladas, por lo que podría haber influido en las pérdidas registradas. De todas maneras en este estudio no se pudo determinar su efecto dado que no fue un objetivo del mismo.

En lo que refiere al efecto del padre utilizado, las diferencias podrían estar dadas por la viabilidad del polen o por el estado de maduración de los botones florales al momento de la polinización.

Es importante mencionar que las diferencias entre individuos de un mismo clon podrían deberse al lugar donde se encuentra ubicado ese individuo, dado que el huerto semillero tiene un espaciamiento reducido y algunos árboles están favorecidos por la ausencia de otros. Se debería tener en cuenta para futuros estudios la igualdad de condiciones de los diferentes individuos de un mismo clon para poder determinar si realmente existen diferencias en la retención de cápsulas entre ellos.

6. CONCLUSIONES

En el caso del efecto de la posición de las cápsulas dentro del árbol, no se obtuvieron valores significativos, que aseguren la existencia de un comportamiento diferencial, entre la parte alta y baja del árbol. Este resultado pudo estar afectado por el efecto año, dado que el número de heladas en el transcurso del estudio fue menor que el número medio para esa región.

Este estudio presentó para el efecto del árbol madre, diferencias significativas, siendo los mejores árboles madres los clones 1025, 1030 y 1038. pero no significa que sea un patrón de comportamiento, dado que no hubo un control de las variables que influyen en el árbol madre.

Lo mismo sucedió para el efecto padre y el efecto individuo, ya que se encontraron diferencias entre ellos pero son inconsistentes en general. Este estudio no permitió concluir algún patrón de comportamiento ó asegurar cuál de ellos es el mejor reteniendo sus cápsulas hasta el momento de la cosecha.

De un total de 36.198 flores polinizadas se cosecharon 18.592 cápsulas, es decir el 51,36 %, de las cuales se obtuvo un valor aproximado de 151.000 semillas. En 16 individuos el rendimiento de semillas por cápsula superó al control y los 4 restantes fueron inferiores al rendimiento del control. Los árboles madres que produjeron mayor número de semillas por cápsula fueron 1038, 1025 y 1039. Los árboles padres que produjeron mayor número de semillas por cápsula fueron 1036, 1023 y 1037.

En el caso del rendimiento de semillas por cápsula los valores encontrados fueron muy variables según el cruzamiento. Algunos tuvieron alta respuesta a la polinización controlada aumentando el número de semillas por cápsula muchas veces más; comparado con el rendimiento de cápsulas de polinización abierta. Pero en ciertos casos no se obtuvo un aumento consistente o en otros casos no hubo diferencia.

Este estudio se planteó con el fin de observar los resultados de la polinización controlada en diferentes clones, no fue planteado para determinar cuáles son los factores que provocan la caída de cápsulas en el periodo de desarrollo. Sólo se pueden realizar supuestos para en un futuro continuar este estudio más a fondo, determinando cuanto contribuyen en la caída de cápsulas: las heladas, el estado del injerto del árbol madre, la viabilidad del polen, el estado de los botones florales al momento de la polinización, la especialización del operario, el espaciamiento entre árboles, etc.

7. RESUMEN

El uso de semillas de calidad es muy importante en la cadena de la madera, asegurando mayor productividad, uniformidad y sanidad. Este trabajo se basa en el estudio de cruzamientos intraespecíficos de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden, por medio de polinización controlada en un huerto semillero clonal de árboles élite, que son fuente de semilla de alta calidad. La polinización se realizó a través de la técnica OSP (One Stop Polination). Este trabajo se realizó con el objetivo de estudiar la evolución de las cápsulas desde su polinización hasta su cosecha. Se utilizaron 9 clones como árboles madres y 5 árboles padres como fuente de polen, de los cuales algunos fueron árboles madres también, con un total de 13 cruzamientos. Para la selección de los individuos a ser estudiados se realizó una observación del estado fisiológico del árbol descartando aquellos con síntoma de incompatibilidad en la zona del injerto. Se tomó como un mínimo contabilizar 1600 cápsulas por cruzamiento, tratando de tomar dos individuos en cada uno y dentro de estos hacer una división en la altura, hasta los 2 metros se considera la parte baja del árbol y la parte alta por encima de los 2 metros. El seguimiento se realizó por conteos mensuales de las cápsulas presentes en el árbol madre, desde el mes de junio hasta octubre. Luego de la cosecha en noviembre se determinó el rendimiento de semillas viables por cápsula y por gramo de cada cruzamiento en cada individuo. Se evaluó el efecto en la retención de cápsulas en la posición dentro del árbol, el árbol del padre utilizado y del individuo en que se realizó el cruzamiento. Los resultados encontrados fueron que la posición de las cápsulas en el árbol no tiene efecto significativo en la retención de cápsulas, pero si hubo diferencias entre distintos padres (polen) y los individuos utilizados, en algunos casos. En el caso de la producción de semillas se observó un importante aumento de semillas viables por cápsula y por gramo con respecto a los testigos, en algunos cruzamientos, pero en 4 individuos la producción de semillas por cápsula no superó a la de los testigos.

Palabras claves: *Eucalyptus grandis*, cruzamientos controlados, retención de cápsulas.

8. SUMMARY

The use of quality seeds is very important in the chain of the wood, assuring greater productivity, uniformity and health. This work is based on the study of intraspecific crossovers of *Eucalyptus grandis* Hill ex- Maiden, by means of control pollination in an orchard clone seed plot of trees elite, that they are source of seed of high quality. The pollination was made through technique OSP (One Stop Pollination). This work was made with the objective to study the evolution of the capsules from its pollination to its harvest. Were used 9 clones as trees mothers and 5 trees parents as source of pollen, of which some were trees mothers also, with a total of 13 crossovers. For the selection of the individuals to be studied an observation of the physiological state of the tree was made discarding those with mutual incompatibility symptom in the zone of the graft. It was taken like a minimum to enter 1600 capsules by crossover, trying to take two individuals in each one and within these to make a division in the height, until the 2 meters one considers the low part of the tree and the high part over the 2 meters. The pursuit was made by monthly counts of the present capsules in the tree mother, from the month of June to October. After the harvest in November the yield of viable seeds by capsule and gram of each crossover in each individual was determined. The effect in the retention of capsules in the position within the tree was evaluated, the tree of the used father and the individual in which the crossover was made. The found results were that the position of the capsules in the tree does not have significant effect in the retention of capsules, but if there were differences between different parents (pollen) and the used individuals, in some cases. In the case of the production of seeds an important increase of viable seeds by capsule and gram with respect to the witnesses was observed, in some crossovers, but in 4 individuals the production of seeds by capsule did not surpass to the one of the witnesses.

Key words: *Eucalyptus grandis*, controlled crossovers, retention of capsules.

BIBLIOGRAFÍA

- ALADABALDE, R.; BUXEDAS, M.L.; LANFRANCO, M.1997. Propagación vegetativa de genotipos seleccionados de *Eucalyptus grandis*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 94 p.
- BALMELLI, G.; 1993. Daño de heladas en *Eucalyptus*; Evaluación de daño en especies y orígenes en el primer invierno. INIA Tacuarembó. Serie técnica N° 40. 32p.
- BENNADJI, Z; 2004. Elección y uso de semillas forestales de calidad: un proceso factible en Uruguay. Revista INIA Uruguay. N° 1. 23-25p.
- BOLAND, D.J; BROKER, M.I.H. Y TURNBULL, J.W. 1980. *Eucalyptus seed*. Canberra, Australia. CSIRO. 191p.
- BOLETIN ESTADISTICO Año 4 N° 3 / Octubre 2003 Dirección General Forestal. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Consultado 10 enero 2004. <http://www.mgap.gub.uy/Forestal/Boletinestadistico2004.zip>
- BONINE, C.A.V.; MARTINS, L.; SCARPINATI, E.A.; DÍAS, D.C.; VALLE, C.F.; MARINO, C.L. 2004. Evaluation of different controlled pollination methods in *Eucalyptus*, using SSR In International IUFRO Conference of the WP2.08.03 on Silviculture and Improvement of Eucalypts. Aveiro, Portugal 11-15 October 2004. Tomado de IUFRO Conference/ Aveiro. 1 disco compacto.
- BRUSSA, C.A.. 1994. *Eucalyptus*. Especies de cultivo más frecuentes en Uruguay y regiones de clima templado. 1° Edición. Montevideo, Uruguay, Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur S.R.L. 328p.
- BURROWS, G.E. 1995. Seed production in white box (*Eucalyptus albens*) in South West Slopes region of New South Wales. Australian Forestry. Vol 58(3). 107-109p.
- CASSIM, T.; STANGER, T.; JOHNSON, S. 2004. Comparison of three controlled pollination techniques in *Eucalyptus (symphyomyrtus)* In International IUFRO Conference of the WP2.08.03 on Silviculture and Improvement of Eucalypts. Aveiro, Portugal 11-15 Octubre 2004. Tomado de IUFRO Conference/ Aveiro. 1 disco compacto.
- CORSI, W.; GENTA, H. 1992. Heladas en el área hortofrutícola de Salto. INIA Salto Grande, Serie Técnica N° 22. 29p.
- CRUZ, G.; MUNKA, G.; PEDOCCHI, R. 2000. Caracterización agroclimática de la región litoral centro oeste de la República Oriental del Uruguay. Agrociencia. Vol.(4): 87-92 p.
- DENISON, N.; KIETZKA, J. 1993. The development and utilization of vegetative propagation in *Mondi* for comercial afforestation programmes. South African Forestry Journal. 166: 53-60. Tomado de: CAB Abstracts 1990 en línea.
- DURAN, A. 1991. Los suelos del Uruguay. 1° Edición. Montevideo, Uruguay. Ed. Agropecuaria Hemisferio Sur S.R.L. 398p.
- DUTER, E.; HUIDOBRO, S.; PIACENZA, M. 1998. Calidad de semilla de *Eucalyptus grandis*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 85p.
- FAO, 1980. Mejora genética de árboles forestales. Roma, 341p (Estudio FAO: Montes, N° 20).
- HARBARD, J. L.; GRIFFIN, A. R.; ESPEJO, J.1999. Más controlled pollination of *Eucalyptus globulus*: a practical reality. Canadian Journal of Forest Research 29 (10). 1457-1463p. Tomado de: CAB Abstracts 1990 en línea.
- HARRAND, L; SCHENONE, R. Obtención de individuos híbridos de *Eucalyptus* a través de la realización de Cruzamientos Controlados. In Jornadas Forestales de

- Entre Ríos. (17º, 2002, Concordia) INTA Estación Experimental Agropecuaria Concordia.
- MARCO, M.A.; HARRAND, L. Junio 2001.El mejoramiento Genético Forestal y su aporte al desarrollo del Sector Forestal. SAGPyA Forestal N° 19. 16-19p.
- MESKIMEN, G.; FRANCIS, J. K. 1990. *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. Rose gum eucalyptus. In Burns, Russell M.; Honkala, Barbara H.eds. Silvics of North America: 2. Hardwoods. Agric. Handb. 654. Washintong, DC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service: 305-312 pp.
- PACHECO, I.A.; KAGEYAMA, P.Y.; BERTI FILHO, E.; WIENDL, F.M.. 1985. Efeito de colmeias de *Apis mellifera* L. em pomar de sementes de *Eucalyptus saligna* Smith. In IPEF N° 29, 11-17p.
- URUGUAY, OFICINA DE PLANEAMIENTO Y PRESUPUESTO (OPP). OEA. BID. REPUBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY. SECRETARIA EJECUTIVA PARA ASUNTOS ECONOMICOS Y SOCIALES DEPARTAMENTO DE DESARROLLO REGIONAL Y MEDIO AMBIENTE. Uruguay. Estudio Ambiental Nacional (En línea) Washington D.C., 1992. Consultado en 3 agosto 2005.Disponible en <http://www.oas.org/usde/publications/Unit/oea10s/begin.htm#Contents>.
- WILLIAMS, D.R.; POTTS, B.M.; BLACK, P.G.. 1999. Testing single visit pollination procedures for *Eucalyptus globulus* and *E. nitens*. Australian Forestry. Vol 62(4). 346-352p.
- ZOBEL, B.; TALBERT, J. 1992 Técnicas de mejoramiento genético de árboles forestales. México; Limusa, 545 p
- RUSSELL, J.; MARSHALL, D.; GRIFFIN, R.; HARBARD, J.; POWELL, W.. Gene flow in South American *Eucalyptus grandis* y *Eucalyptus globulus* seed orchards. Poster. Comunicación interna de FOSA.

1. ANEXO

Anexo 1

Tabla general de los resultados obtenidos en cada cruzamiento por individuo.

Cruzamiento	Madre	Padre	Individuo	Etiqueta	Posición	Flores	CONTEOS					COSECHA noviembre
							Junio	Julio	Agosto	Setiembre	Octubre	
1	1023	1039	1	1114	Alta	235	200	200	186	145	133	125
1	1023	1039	1	1226	Alta	367	283	278	246	248	237	237
1	1023	1039	1	1210	Baja	301	252	249	228	213	208	201
1	1023	1039	1	1228	Baja	496	334	334	316	292	289	229
1	1023	1039	1	1233	Baja	541	470	435	424	376	365	348
1	1023	1039	3	1068	Alta	349	329	309	302	285	277	271
1	1023	1039	3	1069	Alta	78	68	66	66	66	65	49
1	1023	1039	3	1070	Alta	85	71	71	71	66	66	63
1	1023	1039	3	1071	Alta	41	37	37	37	36	36	35
1	1023	1039	3	1080	Alta	191	178	171	177	174	168	144
1	1023	1039	3	1081	Alta	322	482	477	467	462	461	335
2	1025	1023	3	1264	Alta	367	263	263	256	245	240	240
2	1025	1023	3	1287	Alta	527	407	378	398	383	351	313
2	1025	1023	3	1196	Baja	209	204	199	184	180	182	177
2	1025	1023	3	1212	Baja	131	138	131	149	144	133	126
2	1025	1023	3	1284	Baja	204	194	187	186	176	171	170
2	1025	1023	3	1297	Baja	344	287	279	283	273	261	229
2	1025	1023	4	1309	Alta	64	21	21	22	22	22	21
2	1025	1023	4	1313	Alta	180	124	115	106	75	62	50
2	1025	1023	4	1320	Alta	168	53	53	36	33	30	28
2	1025	1023	4	1310	Alta	221	126	119	109	102	100	87
2	1025	1023	4	1197	Baja	301	259	254	241	131	229	225
2	1025	1023	4	1202	Baja	218	179	178	172	172	172	169
3	1025	1037	3	1231	Alta	405	327	327	312	319	307	307
3	1025	1037	3	1242	Alta	971	782	747	727	727	727	727
3	1025	1037	4	1192	Alta	492	506	405	405	388	358	355
3	1025	1037	4	1186	Baja	260	218	213	207	203	196	191
3	1025	1037	4	1190	Baja	524	505	485	484	476	453	451
4	1027	1025	2	1312	Alta	449	336	333	199	160	153	148
4	1027	1025	2	1316	Alta	182	169	163	142	117	117	117
4	1027	1025	2	1247	Baja	182	159	153	139	115	115	115
4	1027	1025	2	1255	Baja	261	122	122	94	56	50	50
4	1027	1025	2	1311	Baja	709	263	263	139	83	86	75
4	1027	1025	3	1422	Alta	129	121	120	116	112	111	110
4	1027	1025	3	1425	Alta	473	358	351	316	322	288	254
4	1027	1025	3	1372	Baja	163	62	57	32	25	25	23
4	1027	1025	3	1406	Baja	407	391	384	312	235	235	235

5	1027	1039	1	1379	Alta	534	322	333	296	291	290	288
5	1027	1039	1	1440	Alta	141	98	87	64	52	50	50
5	1027	1039	1	1442	Alta	206	145	132	109	96	92	69
5	1027	1039	1	1463	Alta	290	186	168	112	76	72	71
5	1027	1039	1	1383	Baja	69	28	27	17	11	11	5
5	1027	1039	1	1389	Baja	164	124	124	87	68	66	66
5	1027	1039	1	1458	Baja	122	41	35	30	26	19	18
5	1027	1039	1	1459	Baja	88	35	35	26	13	13	13
5	1027	1039	1	1476	Baja	188	159	140	96	65	66	63
5	1027	1039	1	1483	Baja	152	142	109	33	10	10	10
5	1027	1039	3	1349	Alta	126	77	77	56	53	53	48
5	1027	1039	3	1351	Alta	306	265	242	202	172	169	167
5	1027	1039	3	1352	Alta	62	55	54	51	45	45	45
5	1027	1039	3	1342	Baja	162	115	115	95	70	68	66
5	1027	1039	3	1388	Baja	116	68	68	40	33	33	32
5	1027	1039	3	1390	Baja	112	93	92	81	73	72	72
5	1027	1039	3	1395	Baja	167	144	144	118	112	110	108
6	1030	1039	1	1038	Alta	132	93	87	87	86	86	85
6	1030	1039	1	1067	Alta	266	133	130	146	146	146	145
6	1030	1039	1	1073	Alta	180	109	109	108	105	104	103
6	1030	1039	1	1084	Alta	126	98	92	90	90	89	89
6	1030	1039	1	1006	Baja	344	313	313	294	299	296	296
6	1030	1039	1	1007	Baja	144	131	121	120	119	119	118
6	1030	1039	1	1035	Baja	251	203	199	199	198	197	193
6	1030	1039	2	1024	Alta	486	486	483	421	417	394	394
6	1030	1039	2	1008	Baja	250	197	196	194	192	188	188
6	1030	1039	2	1014	Baja	112	59	59	59	59	59	59
6	1030	1039	2	1052	Baja	231	213	211	211	187	186	185
7	1034	1039	1	1356	Alta	400	245	227	226	222	218	214
7	1034	1039	1	1359	Alta	280	145	131	129	128	126	121
7	1034	1039	1	1364	Alta	138	75	73	71	70	70	70
7	1034	1039	1	1368	Alta	112	59	59	59	59	59	59
7	1034	1039	1	1370	Alta	446	164	164	164	164	164	164
7	1034	1039	1	1374	Alta	308	129	128	123	112	100	95
7	1034	1039	1	1376	Alta	185	56	56	48	47	35	29
7	1034	1039	1	1377	Alta	125	68	68	68	67	67	65
7	1034	1039	1	1385	Alta	154	108	99	85	83	83	83
7	1034	1039	1	1387	Alta	92	47	47	42	42	41	40
7	1034	1039	1	1392	Alta	111	57	57	54	53	53	52
7	1034	1039	1	1398	Alta	557	211	164	192	173	154	127
7	1034	1039	1	1393	Baja	146	83	81	75	71	71	71
7	1034	1039	1	1394	Baja	167	83	78	60	59	53	53
8	1037	1025	1	1108	Alta	162	12	12	12	9	8	6
8	1037	1025	1	1111	Alta	175	52	52	52	52	52	52
8	1037	1025	1	1143	Alta	709	229	226	226	226	225	225
8	1037	1025	1	1150	Alta	447	168	168	160	159	152	152

8	1037	1025	1	1138	Baja	260	157	157	144	142	125	125
8	1037	1025	1	1142	Baja	183	96	96	94	91	90	89
8	1037	1025	1	1158	Baja	343	219	216	211	200	194	194
9	1038	1036	1	1147	Alta	263	241	241	240	238	233	233
9	1038	1036	1	1148	Alta	327	284	284	256	260	273	287
9	1038	1036	1	1152	Alta	181	174	171	174	174	174	174
9	1038	1036	1	1153	Alta	68	61	61	61	61	61	61
9	1038	1036	1	1155	Alta	117	119	119	119	119	119	119
9	1038	1036	1	1156	Alta	166	145	145	144	143	143	142
9	1038	1036	1	1145	Baja	525	405	379	379	379	341	329
9	1038	1036	1	1151	Baja	114	113	119	119	118	118	117
9	1038	1036	1	1168	Baja	44	34	28	28	28	28	22
9	1038	1036	1	1173	Baja	109	79	79	75	73	80	80
9	1038	1036	1	1175	Baja	199	185	185	185	184	184	183
9	1038	1036	1	1179	Baja	324	196	196	196	196	196	196
10	1039	1025	2	1331	Baja	445	369	369	369	365	358	346
10	1039	1025	2	1335	Baja	386	331	322	304	286	283	274
10	1039	1025	2	1341	Baja	640	600	576	547	542	511	465
10	1039	1025	2	1365	Baja	224	216	199	210	197	194	194
10	1039	1025	2	1382	Baja	447	293	311	291	256	229	188
11	1039	1036	1	1160	Alta	518	370	365	246	199	174	150
11	1039	1036	1	1182	Alta	65	50	50	38	31	30	30
11	1039	1036	1	1183	Alta	121	93	91	69	46	46	46
11	1039	1036	1	1208	Alta	181	164	157	145	137	135	135
11	1039	1036	1	1213	Alta	273	222	159	112	92	87	80
11	1039	1036	1	1214	Alta	183	152	144	81	73	73	71
11	1039	1036	1	1215	Alta	103	94	94	69	60	60	58
11	1039	1036	1	1216	Alta	316	222	206	73	53	46	32
11	1039	1036	1	1221	Alta	274	203	203	106	106	106	104
11	1039	1036	1	1157	Baja	342	76	76	72	67	64	60
12	1043	1037	1	1124	Alta	336	211	211	192	209	206	203
12	1043	1037	1	1095	Alta	869	536	548	514	481	481	481
12	1043	1037	1	1094	Baja	226	143	118	92	63	51	48
12	1043	1037	1	1104	Baja	203	131	115	104	96	90	93
12	1043	1037	1	1115	Baja	448	171	168	134	102	74	73
12	1043	1037	1	1117	Baja	162	101	99	76	47	26	22
12	1043	1037	1	1118	Baja	174	86	84	84	76	73	76
12	1043	1037	1	1119	Baja	232	122	109	105	105	105	105
12	1043	1037	1	1129	Baja	264	163	145	132	122	112	11
12	1043	1037	1	1130	Baja	119	89	78	71	67	56	51
12	1043	1037	3	1123	Alta	291	172	168	150	143	142	141
12	1043	1037	3	1125	Alta	210	114	111	112	107	106	103
12	1043	1037	3	1127	Alta	241	90	90	87	74	74	74
12	1043	1037	3	1140	Alta	86	33	33	33	32	32	28
12	1043	1037	3	1089	Baja	198	78	76	70	68	61	61
12	1043	1037	3	1092	Baja	387	246	242	230	230	230	230

12	1043	1037	3	1098	Baja	255	72	68	56	50	44	44
13	1043	1039	2	1416	Baja	263	221	221	155	76	45	31
13	1043	1039	2	1419	Baja	426	421	421	347	215	169	146
13	1043	1039	2	1427	Baja	258	235	233	181	98	76	68
13	1043	1039	2	1433	Baja	256	253	253	216	128	101	87
13	1043	1039	2	1436	Baja	122	88	86	39	13	11	10
13	1043	1039	2	1439	Baja	201	142	142	35	2	1	1
13	1043	1039	2	1450	Baja	142	137	137	94	43	39	38
13	1043	1039	2	1452	Baja	78	78	78	55	15	11	9
13	1043	1039	2	1460	Baja	65	65	52	30	18	14	6
13	1043	1039	2	1461	Baja	157	156	156	56	16	17	14
					Total	36198	25718	24839	22179	20206	19515	18592
					% retención	100	71,05	68,62	61,27	55,82	53,91	51,36

Anexo 2

Evolución del número de cápsulas retenidas en el árbol madre y su porcentaje de retención para cada individuo.

Madre	Padre	Individuo	Flores	Junio		Julio		Agosto		Setiembre		Octubre		Cosecha noviembre	
				Cáp.	% reten.	Cáp.	% reten.	Cáp.	% reten.	Cáp.	% reten.	Cáp.	% reten.	Cáp.	% reten.
1023	1039	1	1940	1539	79,3	1496	77,1	1400	72,2	1274	65,7	1232	63,5	1140	58,8
1023	1039	3	1066	1165	109,3	1131	106,1	1120	105,1	1089	102,2	1073	100,7	897	84,1
1025	1023	3	1782	1493	83,8	1437	80,6	1456	81,7	1401	78,6	1338	75,1	1255	70,4
1025	1023	4	1152	762	66,1	740	64,2	686	59,5	535	46,4	615	53,4	580	50,3
1025	1037	3	1376	1109	80,6	1074	78,1	1039	75,5	1046	76,0	1034	75,1	1034	75,1
1025	1037	4	1276	1229	96,3	1103	86,4	1096	85,9	1067	83,6	1007	78,9	997	78,1
1027	1025	2	1783	1049	58,8	1034	58,0	713	40,0	531	29,8	521	29,2	505	28,3
1027	1025	3	1172	932	79,5	912	77,8	776	66,2	694	59,2	659	56,2	622	53,1
1027	1039	1	1954	1280	65,5	1190	60,9	870	44,5	708	36,2	689	35,3	653	33,4
1027	1039	3	1051	817	77,7	792	75,4	643	61,2	558	53,1	550	52,3	538	51,2
1030	1039	1	1443	1080	74,8	1051	72,8	1044	72,3	1043	72,3	1037	71,9	1029	71,3
1030	1039	2	1079	955	88,5	949	88,0	885	82,0	855	79,2	827	76,6	826	76,6
1034	1039	1	3221	1530	47,5	1432	44,5	1396	43,3	1350	41,9	1294	40,2	1243	38,6
1037	1025	1	2279	933	40,9	927	40,7	899	39,4	879	38,6	846	37,1	843	37,0
1038	1036	1	2437	2036	83,5	2007	82,4	1976	81,1	1973	81,0	1950	80,0	1943	79,7
1039	1025	2	2142	1809	84,5	1777	83,0	1721	80,3	1646	76,8	1575	73,5	1467	68,5
1039	1036	1	2376	1646	69,3	1545	65,0	1011	42,6	864	36,4	821	34,6	766	32,2
1043	1037	1	3033	1753	57,8	1675	55,2	1504	49,6	1368	45,1	1274	42,0	1163	38,3
1043	1037	3	1668	805	48,3	788	47,2	738	44,2	704	42,2	689	41,3	681	40,8
1043	1039	2	1968	1796	91,3	1779	90,4	1208	61,4	624	31,7	484	24,6	410	20,8

Cáp.: Número de cápsulas contabilizadas.

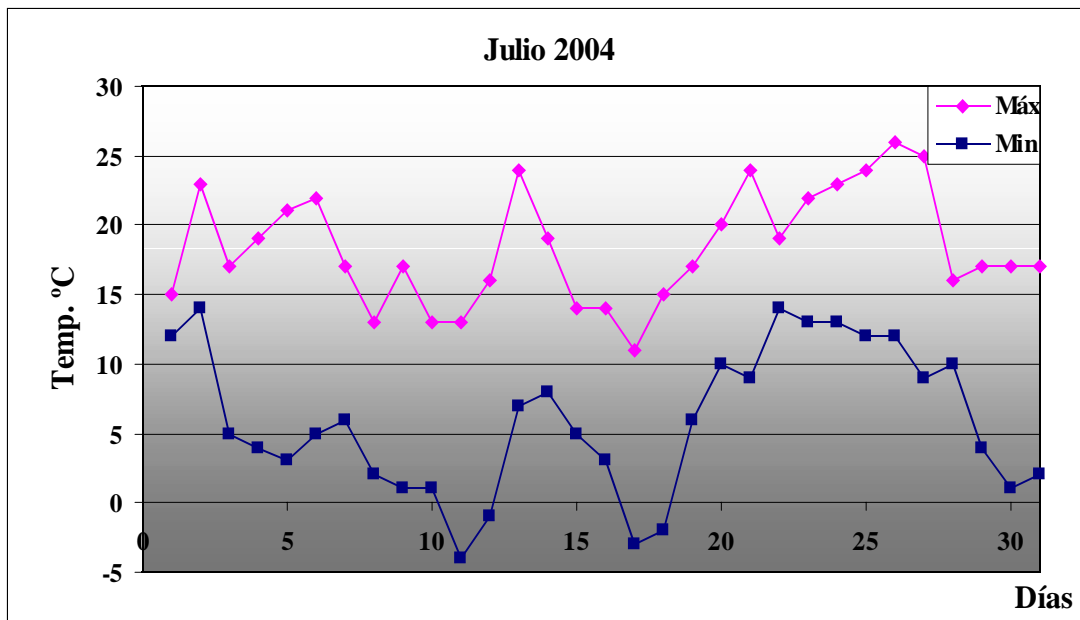
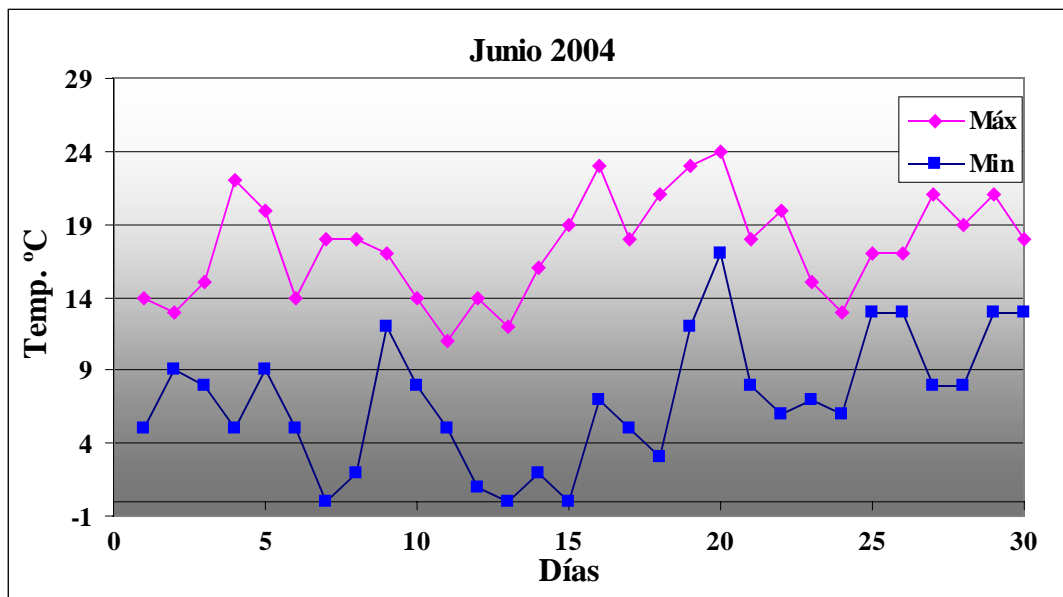
% reten.: Porcentaje de retención de cápsulas.

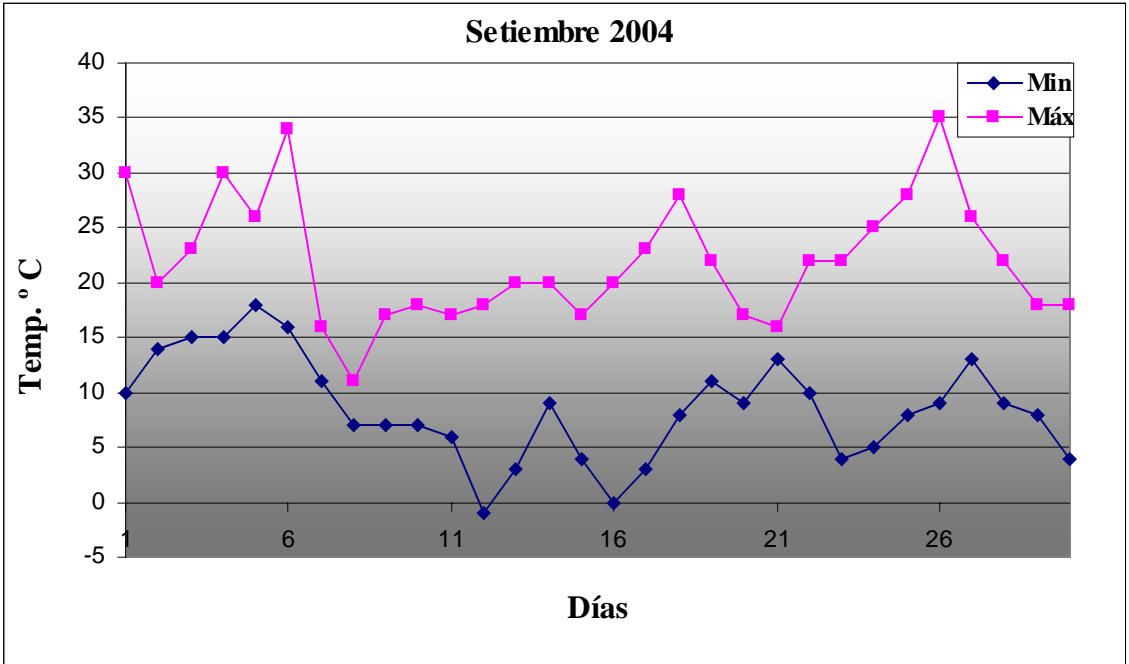
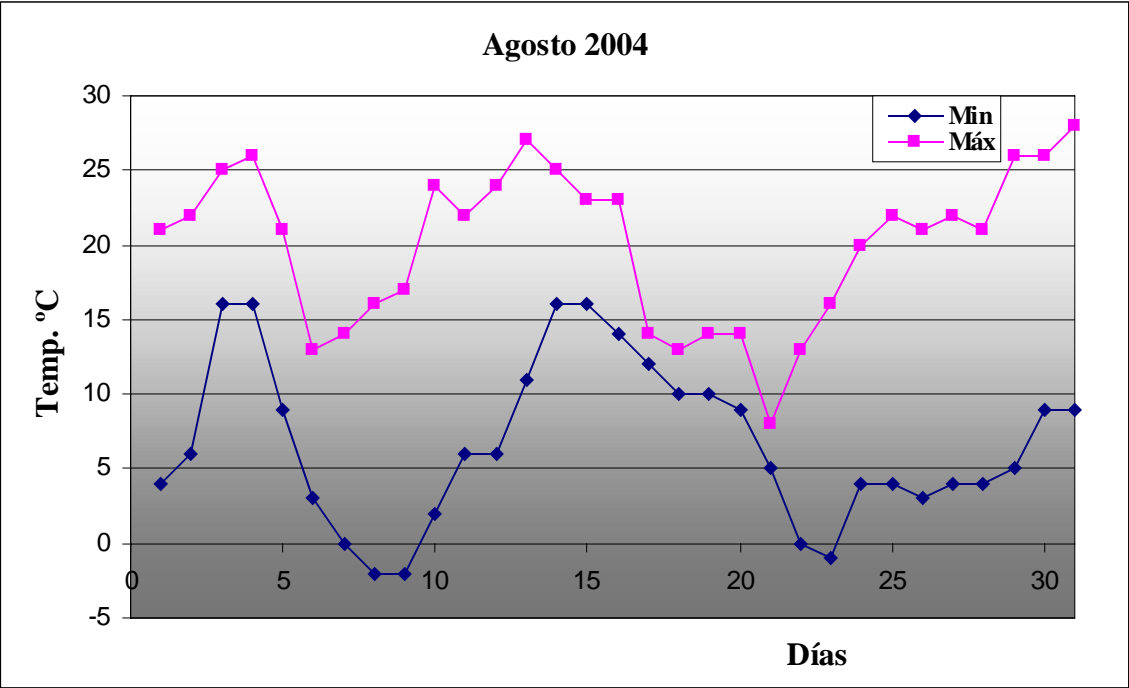
Anexo 3

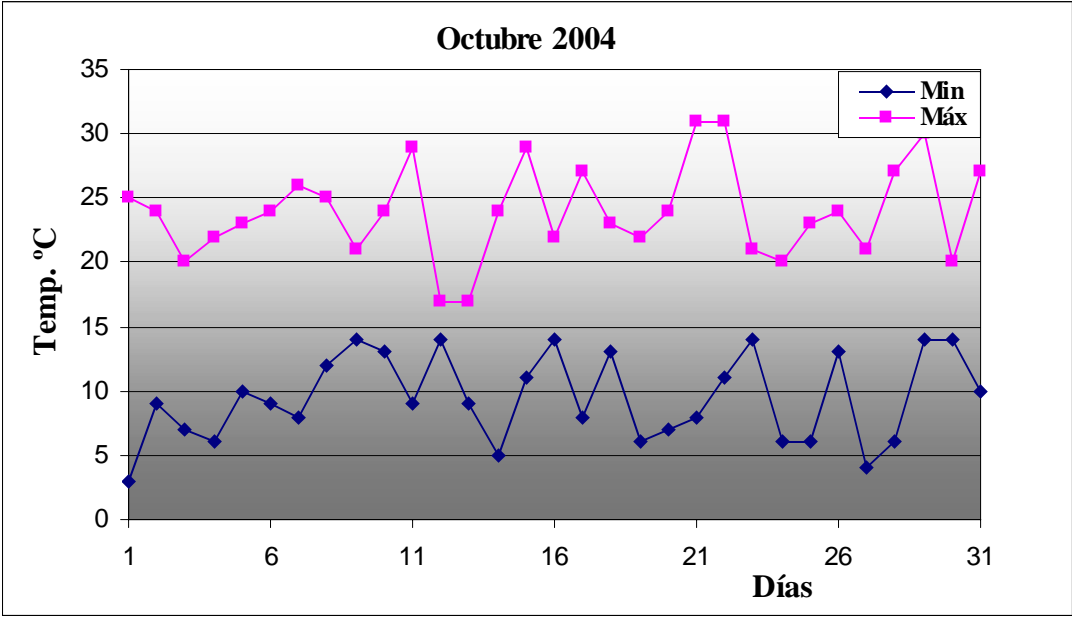
Tabla de temperaturas (°C) mínimas y máximas diarias durante los meses de estudio.

Días	Junio		Julio		Agosto		Setiembre		Octubre	
	Min.	Máx.	Min.	Máx.	Min.	Máx.	Min.	Máx.	Min.	Máx.
1	5	14	12	15	4	21	10	30	3	25
2	9	13	14	23	6	22	14	20	9	24
3	8	15	5	17	16	25	15	23	7	20
4	5	22	4	19	16	26	15	30	6	22
5	9	20	3	21	9	21	18	26	10	23
6	5	14	5	22	3	13	16	34	9	24
7	0	18	6	17	0	14	11	16	8	26
8	2	18	2	13	-2	16	7	11	12	25
9	12	17	1	17	-2	17	7	17	14	21
10	8	14	1	13	2	24	7	18	13	24
11	5	11	-4	13	6	22	6	17	9	29
12	1	14	-1	16	6	24	-1	18	14	17
13	0	12	7	24	11	27	3	20	9	17
14	2	16	8	19	16	25	9	20	5	24
15	0	19	5	14	16	23	4	17	11	29
16	7	23	3	14	14	23	0	20	14	22
17	5	18	-3	11	12	14	3	23	8	27
18	3	21	-2	15	10	13	8	28	13	23
19	12	23	6	17	10	14	11	22	6	22
20	17	24	10	20	9	14	9	17	7	24
21	8	18	9	24	5	8	13	16	8	31
22	6	20	14	19	0	13	10	22	11	31
23	7	15	13	22	-1	16	4	22	14	21
24	6	13	13	23	4	20	5	25	6	20
25	13	17	12	24	4	22	8	28	6	23
26	13	17	12	26	3	21	9	35	13	24
27	8	21	9	25	4	22	13	26	4	21
28	8	19	10	16	4	21	9	22	6	27
29	13	21	4	17	5	26	8	18	14	30
30	13	18	1	17	9	26	4	18	14	20
31			2	17	9	28			10	27

Gráficos de temperaturas mínimas y máximas diarias para los meses de junio, julio, agosto, setiembre y octubre.







Anexo 3

Valores de significancia para el efecto del árbol madre en cada conteo.

CONTEO	1°	2°	3°	4°	5°	COSECHA
	Pr > F	Pr > F	Pr > F	Pr > F	Pr > F	Pr > F
MADRE	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

Resultados de comparación de probabilidades de retención según el efecto del árbol madre.

	Junio		Julio		Agosto		Setiembre		Octubre		Cosecha Noviembre	
Madre	Prob. ret		Prob. ret		Prob. ret		Prob. ret		Prob. ret		Prob. ret	
1023	0,868	A	0,828	A	0,812	A	0,762	AB	0,74	AB	0,677	AB
1025	0,804	A	0,789	A	0,758	A	0,735	AB	0,709	AB	0,688	A
1027	0,711	A	0,685	A	0,53	BC	0,475	CD	0,429	CD	0,411	CD
1030	0,849	A	0,837	A	0,774	A	0,737	AB	0,73	AB	0,74	A
1034	0,475	B	0,476	B	0,433	BC	0,419	CD	0,396	ABCD	0,386	CD
1037	0,409	B	0,407	B	0,394	C	0,386	CD	0,371	CD	0,37	CD
1038	0,828	A	0,814	A	0,804	A	0,802	A	0,788	A	0,785	A
1039	0,814	A	0,751	A	0,624	AB	0,579	BC	0,548	BC	0,504	BC
1043	0,772	A	0,759	A	0,54	BC	0,385	D	0,322	D	0,293	D

Anexo 4

Valores de significancia para el efecto del padre en cada conteo.

CONTEO	1°	2°	3°	4°	5°	COSECHA
	Pr > F	Pr > F	Pr > F	Pr > F	Pr > F	Pr > F
PADRE(MADRE)	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

Tabla correspondiente a la comparación de medias estimadas para el efecto del padre sobre el árbol madre.

Madre	Padre	Junio		Julio		Agosto		Setiembre		Octubre		Cosecha Noviembre	
		prob ret.	Categoría	prob ret.	Categoría	prob ret.	Categoría	prob ret.	Categoría	prob ret.	Categoría	prob ret.	Categoría
1023	1039	0,8676	A	0,8282	AB	0,8118	A	0,7616	A	0,7396	A	0,6772	AB
1025	1023	0,7498	A	0,745	AB	0,6977	ABC	0,6556	ABC	0,6376	AB	0,5969	ABC
1025	1037	0,8496	A	0,8264	AB	0,8099	A	0,8009	A	0,7709	A	0,7667	A
1027	1025	0,702	ABC	0,6876	ABC	0,5311	BCD	0,5048	BCD	0,4214	BC	0,4007	CD
1027	1039	0,7203	AB	0,6833	ABC	0,5293	CD	0,446	CD	0,4361	BC	0,4205	BCD
1030	1039	0,8492	A	0,8367	AB	0,7744	AB	0,7372	AB	0,7304	A	0,7402	A
1034	1039	0,475	CD	0,476	CD	0,4334	D	0,4191	D	0,3962	ABC	0,3859	CD
1037	1025	0,4094	D	0,4068	D	0,3945	D	0,3857	D	0,3712	C	0,3699	CD
1038	1036	0,8275	A	0,8138	AB	0,8038	A	0,8018	A	0,788	A	0,7854	A
1039	1025	0,8944	A	0,8296	AB	0,7878	AB	0,7684	A	0,7353	A	0,6849	AB
1039	1036	0,6928	ABC	0,6502	BCD	0,4255	D	0,3636	D	0,3455	C	0,3224	D
1043	1037	0,5226	BCD	0,5127	CD	0,4644	D	0,4365	D	0,4094	BC	0,3958	CD
1043	1039	0,9126	A	0,904	A	0,6138	ABCD	0,3357	D	0,2459	C	0,2083	D

Prob. Ret.: Probabilidad de retención de cápsulas en el árbol madre.

Anexo 5

Evolución del porcentaje de retención de cápsulas para cada cruzamiento.

Cruzamiento	Madre-Polen	Flores Polinizadas	CONTEO1		CONTEO2		CONTEO3		CONTEO4		CONTEO5		COSECHA	
			Cáp.	% reten.	Cáp.	% reten.	Cáp.	% reten.	Cáp.	% reten.	Cáp.	% reten.	Cáp.	% reten.
1-ind 2	1027*1025	1783	1049	58,8	1034	58,0	713	40,0	531	29,8	521	29,2	505	28,3
1-ind.3	1027*1025	1172	932	79,5	912	77,8	776	66,2	694	59,2	659	56,2	622	53,1
2	1027*1039	3005	2097	69,8	1982	66,0	1513	50,3	1266	42,1	1239	41,2	1191	39,6
3	1037*1025	2279	933	40,9	927	40,7	899	39,4	879	38,6	846	37,1	843	37,0
4	1038*1036	2437	2036	83,5	2007	82,4	1976	81,1	1973	81,0	1950	80,0	1943	79,7
5	1039*1036	2376	1646	69,3	1545	65,0	1011	42,6	864	36,4	821	34,6	766	32,2
6	1039*1025	2142	1809	84,5	1777	83,0	1721	80,3	1646	76,8	1575	73,5	1467	68,5
7	1030*1039	2522	2035	80,7	2000	79,3	1929	76,5	1898	75,3	1864	73,9	1855	73,6
8	1023*1039	3006	2704	90,0	2627	87,4	2520	83,8	2363	78,6	2305	76,7	2037	67,8
9	1034*1039	3221	1530	47,5	1432	44,5	1396	43,3	1350	41,9	124	3,8	1243	38,6
10	1025*1037	2652	2338	88,2	2177	82,1	2135	80,5	2113	79,7	2041	77,0	2031	76,6
11	1025*1039	2934	2255	76,9	2177	74,2	2142	73,0	1936	66,0	1953	66,6	1835	62,5
12	1043*1039	1968	1796	91,3	1779	90,4	1208	61,4	624	31,7	484	24,6	410	20,8
13	1043*1037	4701	2558	54,4	2463	52,4	2242	47,7	2072	44,1	1963	41,8	1844	39,2

Cáp.: Número de cápsulas contabilizadas.

% reten.: Porcentaje de retención de cápsulas.

Gráficos de porcentaje de retención de cápsulas para cada cruzamiento.

