

## Ensaio de Proveniências de *Pinus pinaster* Ait. (Resultados Preliminares)

\*Alexandre Aguiar, \*Margarida d'Alpuim e \*\*Maria Isabel Roldão

\*Investigador Auxiliar

\*\*Técnico Superior de 1ª Classe

Estação Florestal Nacional. Tapada das Necessidades, 1350 Lisboa

**Sumário.** Um ensaio de proveniências de *Pinus pinaster* Ait. constituído por 22 proveniências portuguesas e 8 estrangeiras, foi estabelecido em seis locais. Na fase de viveiro foram observadas e analisadas estatisticamente algumas características juvenis. Os resultados permitem concluir que existem diferenças muito significativas entre as proveniências, para a altura à plantação, o que parece indicar uma variabilidade genética apreciável. Nos três locais onde se fizeram observações, não se verificaram diferenças significativas entre as proveniências, no que se refere à % de sobrevivências um ano após a plantação.

**Palavras-chave:** *Pinus pinaster* Ait.; proveniências; variabilidade genética; sobrevivências

**Abstract.** A *Pinus pinaster* Ait. provenance trial involving 22 Portuguese and 8 foreign provenances was established in six locations. Several juvenile features were observed and subject to statistical analysis at the nursery stage. The results show that there are several very significant differences between the provenances at the time of planting which appears to suggest a considerable degree of genetic diversity. On the three locations in which observations were made there were no significant differences between the provenances with regard to the percentage rate of survival one year after planting.

**Key words:** *Pinus pinaster* Ait.; provenance; genetic variability; survival rates

**Résumé.** Un essai de provenances de *Pinus pinaster* Ait. comprenant 22 provenances portugaises et 8 étrangères a été monté sur six sites.

Certaines caractéristiques juveniles observées en pépinière ainsi que le taux de survie un an après la plantation ont été soumis à des analyses statistiques. De grandes différences significatives ont été observées parmi les provenances en ce qui concerne la hauteur avant plantation, ce qui parait indiquer une variabilité génétique importante. Toutefois sur les trois sites où les observations ont été réalisées, aucune différence significative n'est apparue pour le taux de survie des provenances.

**Mots clés:** *Pinus pinaster* Ait.; provenances; variabilité génétique; survies

### Introdução

Em 1985, no âmbito do Projecto PAPE/Programa de Investigação Agrária, Sub-Programa. 1 - Melhoramento das Espécies Florestais de cooperação luso-dinamarquesa, foram seleccionados 54 povoamentos produtores de sementes, em 3 zonas distintas na área de distribuição natural do Pinheiro bravo. Estas zonas foram delimitadas em função da altitude por ter sido considerado que no nosso país, para

uma dada região este factor tem grande influência na pluviosidade e na temperatura (ROULAND *et al.*, 1988).

Durante a vigência de vários projectos nacionais (JNICT e PIDDAC) e de um comunitário (FOREST) foi possível levar a cabo várias acções no âmbito do melhoramento da espécie, nomeadamente, a instalação de um ensaio de proveniências em seis locais, onde se incluem proveniências nacionais, de França, Austrália e de Espanha.

Como se sabe um ensaio de proveniências é uma acção de base de qualquer programa de melhoramento (BURLEY e WOOD, 1976), porque é o único que permite analisar, em espécies de longas revoluções, o grau de diferenciação genética entre populações bem como as estratégias adaptativas das mesmas, face às diferentes condições do meio.

O objectivo final do estudo agora iniciado será permitir a avaliação da interacção genótipoxambiente, seleccionar as origens da semente de Pinheiro bravo melhor adaptadas a cada zona e definir zonas de proveniência. Neste trabalho apresentam-se os resultados da fase de viveiro, e da % de sobrevivências em três locais, um ano após a plantação. Apresenta-se ainda, uma breve caracterização geográfica e climática das estações onde se encontram localizados os ensaios.

### Material e métodos

Neste estudo, foram utilizadas 30 proveniências, as quais incluem 22 nacionais, três francesas, duas espanholas e três australianas. Das proveniências nacionais, uma, representa o Pomar Clonal de Sementes de meios irmãos do Escaroupim, os outros 21 lotes foram seleccionados tendo por base os povoamentos acima referidos, tomando em consideração especialmente a latitude e altitude. Os lotes de sementes australianos são oriundos de parques clonais de semente sendo um dos quais de semente controlada. Uma das proveniências de França provém de um pomar de 2ª geração. As referências e a localização das 30 proveniências encontram-se no Quadro 1.

No início de Abril de 1992, semearam-se os vários lotes de sementes no viveiro do Escaroupim, em sacos de plástico, segundo um delineamento experimental de quatro blocos completos. Foram feitas observações e contagens, sobre o estado fitossanitário, capacidade germinativa e número de cotilédones. O peso de mil sementes foi avaliado para todas as proveniências, segundo regras estabelecidas internacionalmente (ISTA, 1985). A avaliação da altura à plantação foi realizada medindo 25 plantas por proveniência em todos os blocos.

As 30 proveniências foram plantadas segundo um delineamento estatístico de blocos casualizados completos, com seis a oito repetições conforme as condições locais, sendo a unidade experimental constituída por 30 plantas/proveniência (5 linhas com 6 plantas), utilizando um compasso de 3X2m. A experiência está representada em seis locais seleccionados, não só em função da área de distribuição da espécie, mas também de parâmetros geográficos e climáticos. As seis estações seleccionadas vêm indicadas a seguir referindo-se a altitude e os solos<sup>1</sup>, respectivamente:

---

<sup>1</sup>- Fonte: Carta de Solos-Atlas do Ambiente (folha III.1), Comissão Nacional do Ambiente 1978.

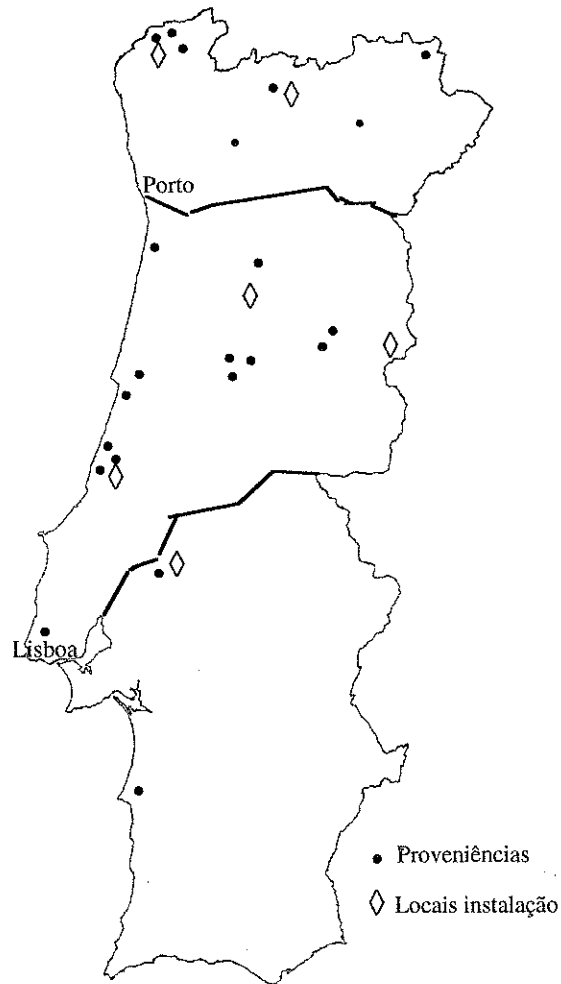
Monção (Paredes de Coura) - 350 m - Cambissolos húmicos de granitos  
 Montalegre (Salto) - 1000 m - Cambissolos húmicos de xistos  
 Viseu (Campo de Aviação) - 600 m - Cambissolos dístricos  
 Serra da Malcata (Qt<sup>a</sup> da Nogueira) - 800 m - Cambissolos húmicos de xistos  
 Marinha Grande - MN de Leiria - 30 m - Podzois  
 MN do Escaroupim - 10 m - Regossolos êutricos

**Quadro 1** - Proveniências de *Pinus pinaster* representadas no ensaio

Referência	Proveniências	Alt. (m)	Latitude
PB42	Albagueiras/Bragança	800	41° 52'N
PMA29	Verdelhos/Manteigas	750	40° 26'N
PSP02	Covelinho/S. Pedro do Sul	700	40° 37'N
PMT40	C. Pondres/Montalegre	690	41° 49'N
PMC43	Chacim/M. de Cavaleiros	680	41° 28'N
PMA30	More/Manteigas	625	40° 24'N
PM36	Anta T23/Monção	550	42° 04'N
PMB39	Arjuiz/Mondim de Basto	480	41° 25'N
PL20	Carvalho/Lousã	430	40° 07'N
PL26	S. Pedro Dias/Lousã	410	40° 07'N
PM34	Anta T45/Monção	370	42° 04'N
PM33	Anta T14/Monção	310	42° 04'N
PL24	Braçal/Lousã	250	40° 09'N
PS45	Monserate/Sintra	250	38° 46'N
PMG52	T164/M. N. Leiria	55	39° 46'N
PFF06	P. Urso T145/Figueira da Foz	30	40° 13'N
PFF03	P. Foja T11c)/Figueira da Foz	30	40° 18'N
PA18	Maceda T13/Aveiro	30	40° 39'N
PAS54	M. da Moita/Alcacer do Sal	20	37° 52'N
PMG12	T54a)/M. N. Leiria	50	39° 46'N
PMG46	T199/M. N. Leiria	50	39° 46'N
PCSE0102	M. N. Escaroupim (sem. seleccionada)	10	39° 04'N
D1097	Austrália- Mullaloo (sem. controlada)	-	-
SN7901	Austrália-Mullaloo (sem. seleccionada)	-	-
SN5063	Austrália-Joondalup (sem. seleccionada)	-	-
Corsega	Porto Vecchio/Corsega	-	41° 36'N
Landes PS62	CEMAGREF/Landes (sem. controlada)	300	44° 37'N
Landes	Lavercaitière/Landes	-	-
GA/82	Galiza	-	-
Cuenca	Boniches/Cuenca	100	40° 05'N

Na Figura 1 indica-se a localização das diferentes proveniências nacionais seleccionadas, bem como os locais de instalação definitiva do ensaio.

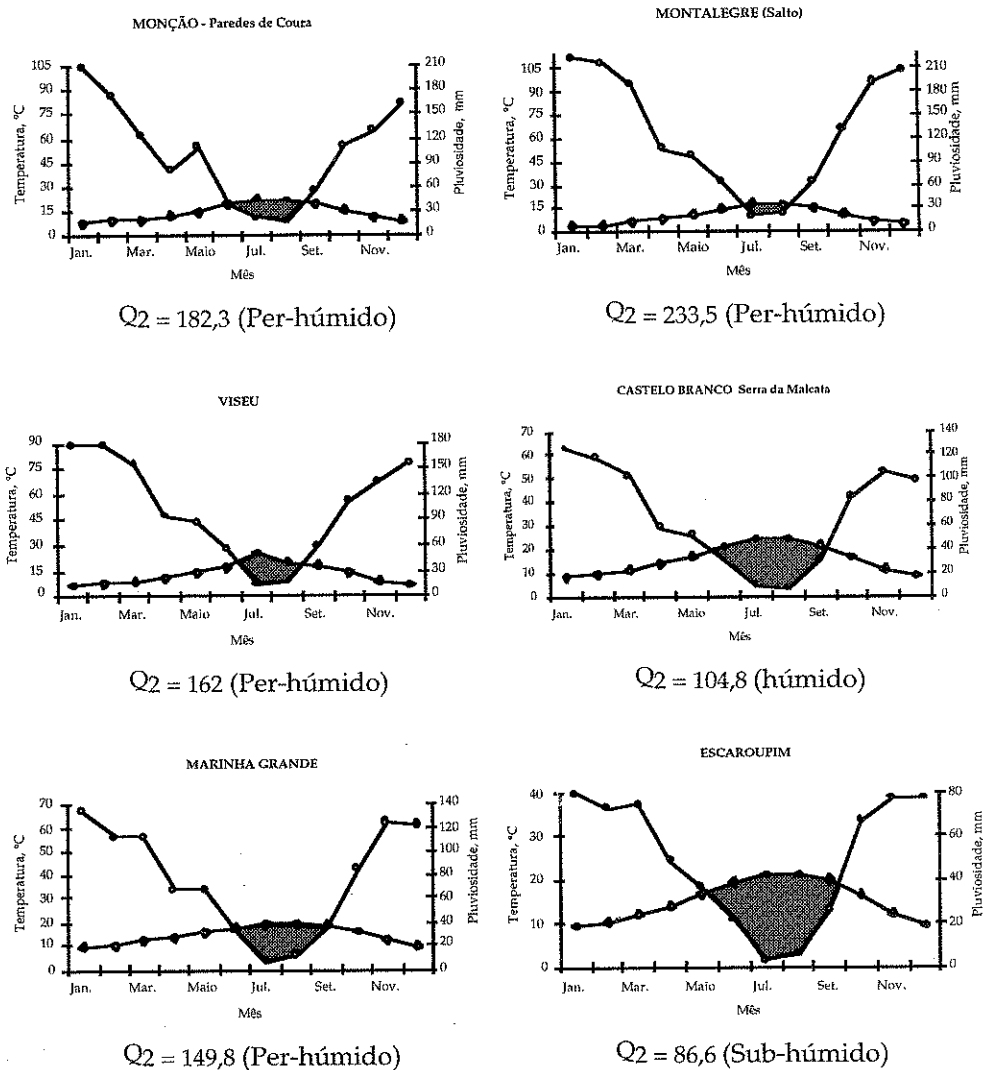
A caracterização climática dos locais de plantação foi realizada através do Coeficiente de Emberger modificado e dos respectivos Diagramas Ombrotérmicos (Figura 2).



**Figura 1** -Distribuição das diferentes proveniências nacionais seleccionadas, e locais de instalação definitiva do ensaio

Um ano após a plantação, na Primavera de 1994, a percentagem de sobrevivências por unidade experimental, foi avaliada em 3 locais: Monção-Paredes de Coura, Mata Nacional de Leiria e Mata Nacional do Escaroupim.

Utilizaram-se os modelos clássicos de análise de variância a dois factores com e sem repetições, respectivamente na avaliação dos resultados de viveiro e de sobrevivências ao fim do primeiro ano de campo (SOKAL e ROHLF, 1981; WALPOLE e MYERS, 1978).



**Figura 2** - Caracterização climática dos locais de plantação: Diagramas Ombrotérmicos e Coeficiente de Emberger modificado (Q<sub>2</sub>)

Para os casos de rejeição da hipótese nula, a comparação das médias das proveniências foi realizada aplicando o teste de Fisher's LSD (ABACUS CONCEPTS, 1989).

## Resultados e discussão

### Viveiro

No Quadro 2 pode-se observar os resultados das características estudadas durante o período de viveiro. Verificou-se grande variabilidade entre as proveniências estudadas para o peso de mil sementes, capacidade de germinação em viveiro, número de cotilédones e altura à plantação. Por exemplo, o peso de mil sementes variou entre 45 a 73,5 g. O valor mais elevado corresponde à semente recolhida no Pomar Clonal de Sementes do Escaroupim, aos Perímetros de Monção e ao Pomar das Landes. Estes povoamentos apresentam compassos mais adequados à produção de semente. De alguma forma confirma-se que os povoamentos conduzidos com espaçamentos apropriados para a produção de sementes, têm tendência a produzir sementes de maiores dimensões e menor quantidade de sementes vazias (AGUIAR, 1989).

**Quadro 2** - Resultados de algumas características das sementes e plantas das proveniências em estudo

Proveniências	Peso de mil sementes (g)	Germinação em viveiro (%)	Altura à plantação (cm)	Número de cotilédones
PB42	61,90	55,52	10,28	7,32
PMA29	61,52	80,87	13,57	7,09
PSP02	58,18	88,33	12,47	7,24
PMT40	64,18	48,55	10,96	7,21
PMC43	56,40	69,66	10,66	7,04
PMA30	67,84	90,46	13,64	7,71
PM36	71,03	50,60	11,39	7,53
PMB39	48,33	82,54	10,02	6,90
PL20	53,08	82,00	10,22	7,11
PL26	59,89	85,50	11,12	7,05
PM34	64,03	58,00	10,39	7,67
PM33	73,23	74,18	12,55	7,18
PL24	55,34	76,53	8,84	7,04
PS45	44,87	85,00	11,10	6,82
PMG52	53,48	81,20	8,68	7,03
PFF06	62,19	86,17	9,72	6,95
PFF03	57,42	85,46	11,40	7,23
PA18	65,71	91,48	10,29	7,61
PAS54	69,27	64,80	10,84	7,13
PMG12	49,50	87,90	11,31	6,72
PMG46	45,50	88,57	8,06	7,05
PCSE0102	73,48	89,68	10,08	7,39
D1097	66,34	79,58	11,46	7,08
SN7901	63,52	80,66	11,43	6,86
SN5063	55,96	64,34	9,32	7,33
Córsega	73,05	92,60	11,10	7,77
Landes PS62	70,27	61,75	10,14	7,45
Landes	56,97	89,95	11,71	7,14
GA/82	61,20	85,60	12,52	7,11
Cuenca	48,13	52,75	7,72	7,83

A análise de variância para a característica número de cotilédones, mostrou que existem diferenças muito significativas ( $p < 0,0001$ ) entre as proveniências indicando a presença de considerável variabilidade genética (Quadro 3). Tal como se esperava, não se verificaram diferenças significativas entre os blocos e na interacção proveniências x blocos, um vez que sendo o número de cotilédones determinado durante a formação da semente é, portanto, independente da variabilidade ambiental subsequente.

**Quadro 3** - Análise de variância a dois factores para as características número de cotilédones e altura à plantação

Fonte de variação	gl	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Valor F	Valor p
<b>Número de cotilédones</b>					
Proveniências	30	242,187	8,073	11,413	0,0001
Blocos	3	2,884	0,961	1,359	0,2535
Interacção	90	79,446	0,883	1,248	0,5910
Residual	2976	2105,120	0,707		
<b>Altura à plantação</b>					
Proveniências	30	6425,030	214,168	46,929	0,0001
Blocos	3	7532,770	2510,923	5,5E2	0,0001
Interacção	90	13013,450	144,594	31,684	0,0001
Residual	2976	13581,460	4,564		

Verifica-se, para a variável altura à plantação, diferenças altamente significativas em todas as fontes de variação, ou sejam: proveniências, repetições e interacção proveniência x repetição. Também para esta variável se conclui que existe variabilidade entre as diferentes proveniências assim como se verifica influência dos blocos nas alturas correspondentes à plantação.

O teste de Fisher's LSD, permite-nos agrupar as proveniências em vários grupos principais para a variável altura à plantação, contrariamente ao que se observa para a característica número de cotilédones (Quadro 4). O primeiro grupo é constituído pelas proveniências cuja a altura à plantação é mais baixa, do qual fazem parte os lotes de semente provenientes de Cuenca, PMG 46, PMG 52, PL 24, SN5063 e PFF06. Existem duas classes intermédias, relativamente homogéneas, com valores ligeiramente superiores e inferiores relativamente ao valor médio (10,77 cm). Finalmente, um último conjunto de proveniências que apresentam as médias mais elevadas para a característica em estudo, demonstrando melhor comportamento para a altura à plantação, e que podem ser agrupadas em duas classes distintas: a primeira, constituída por PSP02, GA/82, e PM33, zonas de elevada pluviosidade e a segunda pelas proveniências do Perímetro Florestal de Manteigas, PMA29 e PMA30, colhidas no interior e em altitude, respectivamente a 750 e 625 m.

**Quadro 4** - Teste de Fisher's LSD para comparação das médias das proveniências relativamente às características número de cotilédones e altura à plantação

Proveniências	Altura à plantação	Proveniências	Número de Cotilédones
Cuenca	a	PMG12	a
PMG46	ab	PS45	ab
PMG52	bc	SN7901	abc
PL24	cd	PMB39	abcd
SN5063	de	PFF06	abcde
PFF06	ef	PMG52	bcdef
PMB39	fg	PL24	bcdef
PCSE0102	fgh	PMC43	bcdef
Landes PS/62	fgh	PMG46	bcdef
PL20	fgh	PL26	bcdef
PB42	fghi	D1097	cdef
PA18	fghi	PMA29	cdefg
PM34	ghij	PL20	defgh
PMC43	hijk	GA/82	defgh
PAS54	ijkl	PAS54	defgh
PMT40	klm	LANDES	efgh
PS45	klm	PM33	efghi
CORSEGA	klm	PMT40	fghi
PL26	klm	PFF03	fghij
PMG12	lmn	PSP02	fghij
PM36	lmn	PB42	ghijk
PFF03	lmn	SN5063	hijk
SN7901	lmn	PCSE0102	ijkl
D1097	mn	LANDES PS/62	jklm
LANDES	n	PM36	klm
PSP02	o	PA18	lmn
GA/82	o	PM34	mn
PM33	o	PMA30	mn
PMA29	p	CORSEGA	n
PMA30	p	CUENCA	n

**Nota:** A mesma letra representa proveniências não significativamente diferentes para um nível de significância  $P < 0,05$ .

No Quadro 5 pode-se observar os valores das correlações calculadas para as variáveis em estudo na fase de viveiro. O peso de mil sementes está positivamente correlacionado com o número de cotilédones, e especialmente com a altura à plantação, o que parece indicar um efeito inicial favorável, produzido pelo endosperma nos primeiros meses de vida da planta.

**Quadro 5** - Coeficiente de correlação (r) para as características em estudo

	Peso mil sementes	Germinação %	Número Cotilédones	Altura à plantação
Peso mil sementes	1			
Germinação %	0,13	1		
Número Cotilédones	0,43*	-0,24	1	
Altura à plantação	0,49**	0,38*	-0,05	1

*Locais de plantação*

As sobrevivências ao fim de um ano de plantação variaram desde 72,2% na MN do Escaroupim a 97,4% em Monção-Paredes de Coura, com um valor intermédio de 80,3% observado na MN de Leiria.

No Quadro 6, vem representada a ANOVA a dois factores, sem repetições, (SOKAL e ROHLF, 1981) para a taxa de sobrevivências, nos três locais acima referidos. Neste caso, não foram obtidas diferenças significativas entre as proveniências, no entanto, as diferenças entre os blocos foram significativas em Monção-Paredes de Coura, e altamente significantes em Leiria e no Escaroupim.

**Quadro 6** - Análise da variância para a % de sobrevivências de *Pinus pinaster* Ait, um ano após a plantação, em três locais

Fonte de variação	gl	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Valor F	Valor P
<b>Monção</b>					
Proveniências	29	1629,195	56,179	1,111	0,3323
Blocos	5	694,580	138,916	2,748	0,0211
Residual	145	7330,676	50,556		
<b>M, de Leiria</b>					
Proveniências	29	2138,962	73,757	0,700	0,8709
Blocos	6	6974,897	1162,483	11,0.1	0,0001
Residual	174	18320,906	105,293		
<b>M, do Escaroupim</b>					
Proveniências	29	4684,909	161,549	1,028	0,4334
Blocos	7	6628,161	946,880	6,024	0,0001
Residual	201	31594,556	157,187		

Em cada um dos locais, surgem variações justificadas pela falta de uniformidade na qualidade dos solos, exposição etc., dada a dimensão de cada um dos ensaios (5-6 ha).

Contudo, este aspecto, não afectou o comportamento das proveniências no que

diz respeito à percentagem de sobrevivências um ano após a plantação. O efeito acima referido pode ser claramente observado no Quadro 7, onde se aplica o teste de Fisher's LSD ao efeito dos blocos.

**Quadro 7** - Fisher's LSD (nível de significância: 0,05) para o efeito dos blocos na % de sobrevivências um ano após a plantação

Monção		Leiria		Escaroupim	
II	a	IV	a	VIII	a
IV	ab	III	ab	I	a
III	abc	V	bc	IV	a
VI	bc	VII	cd	V	a
I	bc	I	de	II	a
V	c	II	de	VII	a
		VI	e	III	b
				VI	b

### Considerações finais

Embora necessariamente longos, os ensaios de proveniências são estudos insubstituíveis para a avaliação da estrutura genética das espécies. Os estudos de marcadores genéticos, também importantes, deverão constituir uma via complementar aos ensaios de proveniência. Contudo, nenhuma técnica molecular pode alguma vez substituir por si só, a avaliação ecológica da variabilidade genética (VARELA e ERIKSSON, 1995), no mesmo sentido ERIKSSON (1994) refere ainda que estudos de marcadores genéticos e estudos de caracteres adaptativos poderão apresentar diferentes padrões de variabilidade genética. Destas breves considerações compreende-se a importância do ensaio de proveniências agora iniciado.

Nos estudos de viveiro apresentados, as variáveis utilizadas para caracterizar as populações, peso de mil sementes, % germinação, número de cotilédones e altura à plantação revelaram a existência de grande variabilidade entre as proveniências o que abre excelentes perspectivas para o melhoramento e conservação genética da espécie. A inclusão neste ensaio, de semente de pomares de segunda geração de França (DUREL, 1990) e da Austrália constituiu um importante enriquecimento ao permitir comparar sistemas reprodutivos diferentes. Por outro lado, a delimitação definitiva das regiões de proveniência para o pinheiro bravo poderá ainda beneficiar da informação sobre a biologia e genética dos terpenos aplicada à espécie (BARADAT e MARPEAU, 1988). Neste contexto, é indispensável a continuação destes estudos permitindo assim seleccionar as proveniências mais adequadas às regiões a arborizar, aumentando naturalmente a produção e a qualidade.

### Agradecimentos

Aos Drs. Ph. Baradat e C.E. Durel do Laboratório de Genética e Melhoramento (INRA, Bordeaux-Pierroton) e ao Prof. Pardos (ETSIM, Madrid) pela oportunidade de podermos incluir proveniências de França e Espanha neste estudo.

Ao Instituto Florestal e, em particular, aos Delegados Florestais e Chefes de Zona dos locais onde decorreram os trabalhos pela indispensável colaboração prestada.

Aos Engenheiros Técnicos Agrários João Pessoa e Rui Nogueira Reis pelo excelente trabalho desenvolvido na instalação dos ensaios.

### Bibliografia

- ABACUS CONCEPTS, 1989, *Super Anova*. Abacus concepts, Inc, Berkeley, CA., 322 pp.
- AGUIAR, A., 1989. *Estudo da variabilidade genética de algumas características juvenis em descendências maternas de pinheiro bravo (Pinus pinaster AIT.)*. INIA/EFN, Lisboa.
- BARADAT, PH., MARPEAU-BEZARD, A., 1988. *Le Pin maritime, Pinus pinaster AIT. Biologie et génétique des terpenes pour la connaissance et l'amélioration de l'espèce..* Thèse Collective, Université de Bordeaux I, 445 pp.
- BURLEY, J., WOOD, P., 1976. *A manual on species and provenance research with particular reference to the tropics*. Department of Forestry. Commonwealth Forestry Institute. University of Oxford, 226 pp.
- DUREL, C.E., 1990. *"Parametres genetiques et selection en deuxieme generation d'amélioration du Pin maritime Pinus pinaster AIT."* Thèse. Institut National Agronomique Paris-Grignon, 204 pp.
- ERIKSSON, G., 1994. Which traits should be used to guide sampling for gene resources. *Proceedings of the International Symposium on Population Genetics and Gene Conservation in Forest trees*. Carcans Maubison, pp. 24-28.
- ISTA, 1985. International rules for seed testing. International Seed Testing Association. *Seed Science and Technology*. Vol 13 (2).
- ROULUND, H., ALPUIM, M., VARELA, M., AGUIAR, A., 1988. *A tree improvement plan for Pinus pinaster in Portugal*. EFN, Lisboa.
- SOKAL, R., ROHLF, F., 1981. *Biometry*. H.W. Freeman and Company, San Francisco, 859 pp.
- VARELA, M., ERIKSSON, G., 1995. Multipurpose gene conservation in *Quercus suber* - a portuguese example. *Silvae Genetica*. (in press).
- WALPOLE, R., MYERS, R., 1978. *Probability and statistics for engineers and scientists*. Macmillan Publishing Co, New York.

(Recebido em Abril de 1995)