

Evidencia de **tolerancia genética a la pudrición** del tronco en clones de *Gmelina arborea* Roxb. en Costa Rica

Alexis Salas-Rodríguez¹
Olman Murillo-Gamboa²
Rafael Murillo-Cruz³
Carlos Ávila-Arias³

Resumen

La evaluación se realizó en siete ensayos clonales de *G. arborea*, establecidos en el Pacífico Sur de Costa Rica, donde se valoraron genotipos seleccionados como árboles plus, procedentes de las zonas norte y sur del país. Los ensayos siguieron el diseño genético de GENFORES, el cual consiste en seis bloques completos al azar, cada clon representado por tres parejas de rametos ubicadas aleatoriamente dentro de cada bloque. Se evaluó todos los individuos con la escala de severidad para la pudrición del tronco de la melina en cinco categorías: uno: el árbol está sano, y cinco el árbol está muerto. Se evaluó también el diámetro, altura total y posición sociológica. Se utilizó el software SELEGEN (EMBRAPA, Brasil) para generar los parámetros

Abstract

Evidence of genetic tolerance to stem-rot in *Gmelina arborea* Roxb. clones in Costa Rica

Based on seven *G. arborea* clonal trials, established in south Pacific of Costa Rica, it was determined the genetic control of tolerance in stem-rot, based on a collection of genotypes selected as plus trees in northern and southern regions in the country. The trials were established following GENFORES genetic design, which consisted in a complete randomized block design with six blocks and, each parcel conformed by three pairs of ramets, randomly assigned within blocks. Trials were evaluated based on severity methodology for stem-rot disease, which is based on five categories, where the

1. Universidad Nacional de Costa Rica, Escuela de Ciencias Ambientales; Heredia, Costa Rica; alsalas_18@hotmail.com

2. Tecnológico de Costa Rica, Escuela de Ingeniería Forestal; Cartago, Costa Rica; olmuga@yahoo.es

3. Universidad Nacional de Costa Rica, Instituto de Investigación y Servicios Forestales (INISEFOR); Heredia, Costa Rica; murillorafael5454@yahoo.com; carlosenriquea79@gmail.com

Recibido: 15/10/2015
Aceptado: 03/03/2016

genéticos y valores de mejoramiento de cada carácter. Se estableció un orden genético de clones para cada sitio con base en su valor de severidad o tolerancia a la enfermedad, donde se agruparon en tres categorías, baja, media y alta tolerancia. El valor de heredabilidad promedio del clon (h^2mc) osciló entre 0,45 y 0,63, mientras que el coeficiente de variación genética osciló desde un 7 hasta un 18% para el grado de severidad y, desde un 25 hasta un 50% para la incidencia. Las correlaciones genéticas fueron altamente significativas e inversamente proporcionales ($r < -0,55$) entre la altura total del árbol y su mayor posición sociológica con relación a la severidad e incidencia de la enfermedad. Lo que sugiere que a mejor posición sociológica y mayor altura total menor presencia del patógeno. El dap mostró una relación no significativa e independiente con la presencia de la enfermedad. Los clones 4, 24 y 25 procedentes de la zona sur, y los clones 4, 5 y 11, procedentes de la zona norte, son los de mayor tolerancia a la enfermedad y de mayor seguridad para ser utilizados en reforestación en la zona sur del país. Los resultados son consistentes y revelan un fuerte control genético de la tolerancia a la pudrición del tronco de la melina.

Palabras clave: *Gmelina arborea*, patología, mejoramiento genético, silvicultura clonal, manejo integrado de enfermedades

Introducción

Gracias a su extraordinario crecimiento y múltiples bondades de la madera, la melina ha formado parte de diversos programas de mejoramiento genético en distintos países como Brasil, Colombia y Malasia (Woessner, 1980; König & Venegas, 1981; Afzal & Muhammad 1987; Espitia, Murillo y Castillo, 2016), entre otros. El común denominador ha sido su rápido crecimiento, floración temprana, variación fenotípica con presencia de buenos genotipos y alta heredabilidad de rasgos de importancia económica, así también los beneficios de su fácil propagación vegetativa (Lauridsen & Kjaer 2002).

A inicios de los años 90, algunas empresas reforestadoras de Costa Rica y Guatemala desarrollaron programas de mejoramiento genético a escala comercial con melina, estableciendo los primeros huertos semilleros en la región (Murillo, 1992; Zeaser, 1998). El éxito en cuanto a la reproducción clonal a escala comercial de esta especie, permitió un rápido avance hacia una silvicultura clonal basada en genotipos superiores, con un impacto significativo en la reforestación comercial con esta especie en la región (Badilla & Murillo, 2005; Espitia, Murillo y Castillo, 2016). En el 2012 en Costa Rica, más del 60% de las plantaciones de melina se establecieron con material clonal (Murillo y Guevara, 2013). Un estudio de rendimiento en crecimiento y variabilidad de clones de melina en India,

first is assigned to completely healthy trees and, the fifth to those trees completely dead and rot. Other traits were also evaluated, like DBH, total height and sociological position. SELEGEN software (EMBRAPA, Brazil) was utilized to obtain all genetic parameters. In each clonal test was established a ranking for genetic tolerance to disease. Clones were assigned to three group categories: low, medium and high genetic tolerance. Mean clonal heritabilities (h^2mc) ranged from 0.45 to 0.63, meanwhile genetic variation coefficients varied from 7 to 18% in severity degree analysis and, from 25 to 50% in incidence analysis. Genetic correlations were highly significant and inversely proportional ($r < -0.55$) between sociological position and total height with severity and incidence of disease. It suggests that the taller the tree the less affected by the disease. Meanwhile, DBH was not correlated and independent to the presence of this disease. Clones 4, 24 and 25 from south provenance, and clones 4, 5 and 11 from northern provenance, were identified as the most tolerant to rot-stem disease and more secure to be utilized in commercial reforestation in the southern region of the country. Results were consistent and reveal a strong genetic control of tolerance to rot-stem disease.

Key words: *Gmelina arborea*, pathology, breeding, clonal forestry, integrated disease management

reporta ganancias genéticas de 18,1% en altura y 30,1% en diámetro a la altura del pecho (Kumar, 2007). En el caso de Costa Rica, en los últimos años se retomaron los programas de mejoramiento genético de melina, basado en una estrategia clonal (Murillo, Obando, Badilla y Azofeifa, 2003; Badilla, Murillo, Azofeifa y Obando, 2003; Chacón & Murillo, 2005; Salas, 2012), lo que incidió en ser la especie de mayor producción en los viveros forestales de Costa Rica en el 2012 (más de tres millones de plantas) y posiblemente la de mayor tasa de plantación nacional con fines comerciales (Murillo & Guevara, 2013).

El mejoramiento genético está orientado a optimizar las características de importancia económica. Lo que resulta en un aumento de la tasa de crecimiento de los árboles, de la calidad de los productos elaborados, la resistencia a plagas y enfermedades y el aumento de la sobrevivencia (Pavlotzky, 2012). Sin embargo, el éxito de un programa de mejoramiento genético depende también del rigor en su evaluación y precisión en su selección genética (Espitia, Murillo, Castillo, Aramendiz, y Paternina, 2010).

La selección de material genético tolerante o resistente a plagas y enfermedades debe continuar con una fase, conocida como heredabilidad, de verificación de su control genético, mediante análisis apropiados que permitan separar los efectos del ambiente de los efectos genéticos en cada uno de los caracteres de interés. Esto se realiza

mediante ensayos genéticos en campo cuya información es luego evaluada con herramientas como el software SELEGEN (Resende, 2006). Este programa se basa en el procedimiento REML/BLUP (Máxima Verosimilitud Restringida/Mejor Predictor Lineal no Sesgado) que permite optimizar la evaluación y selección genética de los materiales en los ensayos de campo (Pastrana, Espitia y Murillo, 2012). Finalmente, este procedimiento de SELEGEN permite la selección de los mejores genotipos y establece una jerarquía para cada carácter de importancia económica. En la presente investigación se evaluó la tolerancia a la enfermedad de la pudrición del tronco de la melina.

El objetivo de este estudio fue determinar las relaciones entre la presencia de la enfermedad de la pudrición de los troncos con los genotipos de melina presentes en una serie de siete ensayos genéticos establecidos en el Pacífico Sur del país, con el fin de identificar los genotipos con alta heredabilidad como tolerantes a la enfermedad.

Material y métodos

Se trabajó con una colección de siete ensayos clonales establecidos entre el 2008 y el 2010 en los cantones de Osa y Golfito, Pacífico Sur de Costa Rica (Figura 1.). Los mismos fueron identificados como Finca Puntarenas Norte y Sur (FPN y FPS) en la localidad de Finca Puntarenas de Palmar Norte; La Amapola Norte y Sur (APN y APS) en la localidad de La Palma de Golfito (península de Osa); Yadira Norte y Sur (YN y YS) también en la localidad de La Palma de Golfito; Susana Sur (SS) en la localidad de Cañaza de Puerto Jiménez (península de Osa). Los acrónimos asignados se utilizan para el resto del documento. El material utilizado para la instalación de los ensayos fue producido por la cooperativa COOPEAGRI R.L en su programa de mejoramiento genético en Pérez Zeledón.

Todos estos sitios (Figura 1.) se localizan entre las coordenadas latitud norte entre 8° 56' a 8° 60' y longitud oeste -83° 31' a -83° 44' (Salas, 2015). Los sitios corresponden con la Zona de Vida Bosque Muy Húmedo Premontano transición a Basal, con precipitaciones que varían desde los 3000 a 6000 (mm*año⁻¹), temperaturas promedio anuales de 22 a 28 C°, una luminosidad entre 5 y 7 horas diarias, y sobre suelos inceptisoles y entisoles (Rojas, 2011).

La textura del suelo en FPN y FPS corresponde a Franco y a Franco Arcilloso; para los restantes ensayos, la textura es una combinación de Franco y de Franco Arenoso y Franco Arcilloso (Murillo 2013, citado por Salas, 2015). En la preparación del terreno de APN, APS, YN y YS se empleó la rastra dos veces y se crearon camellones; además, se hicieron drenajes con retroexcavadora. En finca Puntarenas se chapeó y se plantó; la finca tiene drenajes artificiales. Se fertilizó al inicio con 60 gramos por planta del producto 14-4-19 (Murillo, 2013, citado por Salas, 2015).

Cuadro 1. Descripción de los ensayos clonales de melina (*Gmelina arborea*) utilizados en la investigación, Pacífico Sur de Costa Rica.

Table 1. Description of melina (*Gmelina arborea*) clonal trials used in the research, South Pacific, Costa Rica.

Características	APN	APS	FPN	FPS	YN*	YS*	SS*
Edad (años)	4,7	4,7	4,6	4,6	2,7	2,7	2,7
N árboles	292	255	211	206	621	1095	942
Cantidad de clones	11	12	12	11	19	29	27
Rametos/clon	27	21	18	19	30	35	32

APN: Amapola procedencia norte, APS: Amapola procedencia Sur; FPN: Finca Puntarenas procedencia norte, FPS: Finca Puntarenas procedencia Sur; YN: Yadira procedencia norte, YS: Yadira procedencia Sur; SS: Susana procedencia Sur. **Fuente:** Elaboración propia con datos de ensayos. *Ensayos con testigos (T1 y T2).



Figura 1. Ubicación geográfica de los ensayos clonales de *Gmelina arborea* en el pacífico Sur de Costa Rica.

Figure 1. Geographical location of *Gmelina arborea* clonal trials in south pacific, Costa Rica.

Para la instalación de todos los ensayos se aplicó el diseño experimental desarrollado por GENFORES (Murillo & Badilla, 2004) que consiste en seis bloques completos al azar; cada clon representado por tres parejas de rametos ubicados aleatoriamente en cada parcela de los seis bloques. El distanciamiento de siembra fue de 4m x 4m. En los ensayos YN, YS y SS se incluyeron dos testigos, procedentes de semilla de los huertos semilleros del CACH (Centro Agrícola Cantonal de Hojancha) y del CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). El modelo estadístico fue entonces:

$$Y_{ij} = B_i + T_j + B \times T + e$$

Donde:

B_i = el efecto fijo del i -ésimo Bloque

T_j = el efecto aleatorio del j -ésimo Clon

$B \times T$ = el efecto de la interacción del i -ésimo Bloque con el j -ésimo Clon

e = error experimental

La evaluación de los ensayos genéticos se realizó en función de las categorías de severidad propuestas por Salas et al., (en prensa), donde se calificó el grado de severidad de la pudrición del tronco de cada individuo en cinco categorías (donde 1 es sano o sin síntomas, y 5 es árbol podrido); así también se evaluó el diámetro a la altura del pecho (dap), calidad de las primeras cuatro trozas en cuatro categorías (donde 1 es máxima calidad para aserrío, y 4 es troza sin valor comercial o leña) (Murillo & Badilla, 2004) y su posición sociológica en cuatro categorías (dominante, codominante, intermedio y suprimido).

La severidad de cada clon se obtuvo mediante el índice de severidad propuesto por Salas et al., (en prensa), basado en el conjunto de sus rametos presentes en el ensayo:

$$\text{Índice de severidad del clon "i"} = \frac{N_1 \times 1 + N_2 \times 2 + N_3 \times 3 + N_4 \times 4 + N_5 \times 5}{N_1 + N_2 + N_3 + N_4 + N_5}$$

Donde, N_1 = número de rametos del clon "i" calificados con grado de severidad 1 +...+ N_5 = número de rametos del clon "i" calificados con grado de severidad

La incidencia de la enfermedad por cada clon, se obtuvo del promedio aritmético de los datos presencia/ausencia de síntomas, con base en el conjunto de sus rametos presentes en el ensayo.

$$\text{Incidencia} = \sum y_i / n$$

Y_{ij} = Presencia de la enfermedad en el rameto "i" del clon "j"

Mediante el software SELEGEN (Resende, 2008, versión 2012), se procedió a procesar los datos de cada ensayo para determinar la jerarquía genética con base en el grado de severidad de la enfermedad. El programa utiliza los procedimientos de Máxima Verosimilitud Restringida Lineal (REML) y Mejor Predicción Lineal No Sesgada (BLUP), con base en el modelo estadístico:

$Y = Xr + Zg + Wp + e$, donde "Y" es el vector de datos, "r" es el vector de los efectos de la repetición sumados a la media general, "g" es el vector de los efectos genéticos,

"p" es el vector de los efectos de la parcela, "e" es el vector de errores residuales. Las letras mayúsculas representan las matrices de incidencia para los efectos referidos anteriormente. Este procedimiento siguió las recomendaciones establecidas en el manual de procedimientos establecido por Resende (2006).

Resultados

En el cuadro 2 se pueden observar los parámetros genéticos de severidad analizados donde se determinó una heredabilidad del árbol individual (rameto) baja ($h^2g < 0,07$), pero una heredabilidad promedio del clon (h^2mc) alta en los sitios FPN, YS y SS ($h^2mc > 0,57$), con excepción del sitio YN que registró una heredabilidad inconsistente $h^2mc = 0,036$, así como valores muy bajos de exactitud y del coeficiente de variación genética (CVgi%). Los restantes tres sitios registraron valores muy consistentes en todos los parámetros genéticos, respaldados por el indicador de exactitud con valores superiores al 76%. El coeficiente de variación genotípica reflejó valores altos en los ensayos FPN, YS y SS. Estos valores superaron ampliamente el 10%, lo que es un reflejo de la alta variación genética en la tolerancia a la severidad entre los clones evaluados.

En relación con los parámetros genéticos de la incidencia de la pudrición del tronco, se puede observar que la heredabilidad individual (o del rameto) fue baja en todos los sitios, mientras que la heredabilidad promedio del clon ($h^2mc > 0,45$) fue alta en los ensayos FPN, YS, y con valores muy altos en el sitio SS (Cuadro 3). Nuevamente el sitio YN (Yadira Norte) registró valores inconsistentes con los demás sitios. La heredabilidad fue respaldada por la exactitud de los valores calculados, que fue alta en estos mismos tres sitios ($> 0,67$) y dio garantía de una buena estimación de todos los parámetros genéticos (Cuadro 3). Con respecto al coeficiente de variación genotípica, este parámetro reflejó valores sumamente altos para los ensayos FPN, YN, YS y SS.

En el cuadro 4 se presenta la correlación genética entre la severidad e incidencia del ataque contra los caracteres dap, altura total y posición sociológica en todos los ensayos. Los resultados muestran una correlación negativa entre la severidad y la posición sociológica estadísticamente significativa en todos los ensayos. A menor posición sociológica (árboles suprimidos), mayor severidad del patógeno. De igual manera la altura total registró una correlación negativa significativa con la severidad en todos los ensayos. Lo que sugiere que a mayor altura del árbol (vigor) menor severidad de la enfermedad, con un valor promedio de significancia alta ($r < -0,55$). Finalmente, el dap no registró una correlación significativa con la severidad de la enfermedad, con excepción del sitio YS que reporta valores inconsistentes en relación con todos los demás sitios. Sin considerar el

Cuadro 2. Parámetros genéticos de severidad en la pudrición del tronco en ensayos clonales independientes de *Gmelina arborea* en el Pacífico Sur de Costa Rica.

Table 2. Genetic parameters from rot-stem severity in *Gmelina arborea* clonal independent trials, South Pacific, Costa Rica.

Parámetro	FPN	YS	SS
Vg	0,035	0,093	0,121
Vparc	0,076	0,117	0,158
Ve	0,371	1,744	1,865
Vf	0,483	1,954	2,144
h ² g	0,073	0,047	0,057
c ² parc	0,157	0,060	0,073
h ² mc	0,605	0,577	0,632
Exactitud	0,778	0,761	0,795
CVgi%	15,10	16,72	18,33
CVe%	29,87	35,07	34,26
CVr	0,505	0,477	0,535
PEV	0,014	0,039	0,045
SEP	0,118	0,198	0,211
Promedio	1,243	1,821	1,901

Vg: Varianza genotípica; **Vparc:** Varianza ambiental entre parcelas; **Ve:** Varianza residual; **Vf:** Varianza fenotípica individual; **h²g:** Heredabilidad individual; **c²parc:** Coeficiente de determinación de los efectos de la parcela; **h²mc:** Heredabilidad del genotipo promedio; **Exactitud:** Precisión de la selección de los genotipos; **CVgi%:** Coeficiente de variación genotípica; **CVe%:** Coeficiente de variación residual; **CVr:** Coeficiente de variación relativa; **PEV:** Varianza del error de predicción de los valores genotípicos; **SEP:** Desviación estándar del valor genotípico; **Promedio:** Promedio general del experimento.

sitio YS, los valores sugieren una relación negativa entre ambos, a mayor dap menor severidad de la enfermedad.

La correlación entre los tres caracteres y la incidencia (Cuadro 4.) reflejó, al igual que con la severidad, una asociación negativa y significativa con la posición sociológica en todos los sitios (valor promedio de $r = -0,56$). De los cuales, el sitio SS registró una correlación negativa de $-0,82$ con la posición sociológica, muy similar a la correlación negativa entre severidad y posición sociológica. Como era de esperar, la correlación entre incidencia y altura total en los ensayos FPN y SS fue alta, y superior a la reportada en la correlación con severidad. La altura total fue también claramente consistente en una correlación alta y negativa con la incidencia del patógeno. Es decir, a mayor altura del árbol y grado de dominancia en el dosel, menor es la incidencia de la enfermedad. En cuanto al dap, nuevamente el sitio YS registra valores de correlación muy altos y positivos, que aparentemente son inconsistentes con el resto de los sitios, que registran valores prácticamente no significativos. Si se asume que el sitio YS (Yadira Sur) registra valores de alguna manera inconsistentes, se puede interpretar que no hay una correlación significativa entre el dap y la incidencia de la enfermedad.

Cuadro 3. Parámetros genéticos de incidencia en la pudrición del tronco en ensayos clonales independientes de *Gmelina arborea* en el Pacífico Sur de Costa Rica.

Table 3. Genetic parameters of rot-stem incidence, in *Gmelina arborea* clonal independent trials in South Pacific, Costa Rica.

Parámetro	FPN	YS	SS
Vg	0,005	0,006	0,011
Vparc	0,014	0,011	0,01
Ve	0,094	0,187	0,193
Vf	0,113	0,204	0,213
h ² g	0,048	0,029	0,05
c ² parc	0,123	0,055	0,046
h ² mc	0,523	0,453	0,632
Exactitud	0,723	0,673	0,795
CVgi%	57,24	25,25	32,54
CVe%	134,1	67,96	60,88
CVr	0,427	0,371	0,535
PEV	0,003	0,003	0,004
SEP	0,051	0,056	0,063
Promedio	0,128	0,302	0,317

Vg: Varianza genotípica; **Vparc:** Varianza ambiental entre parcelas; **Ve:** Varianza residual; **Vf:** Varianza fenotípica individual; **h²g:** Heredabilidad individual; **c²parc:** Coeficiente de determinación de los efectos de la parcela; **h²mc:** Heredabilidad del genotipo promedio; **Exactitud:** Precisión de la selección de los genotipos; **CVgi%:** Coeficiente de variación genotípica; **CVe%:** Coeficiente de variación residual; **CVr:** Coeficiente de variación relativa; **PEV:** Varianza del error de predicción de los valores genotípicos; **SEP:** Desviación estándar del valor genotípico; **Promedio:** Promedio general del experimento.

El ordenamiento de los clones con base en grado de severidad del ataque (de menor a mayor valor), permitió su agrupación en tres grandes categorías: alta, media y baja o nula tolerancia a la enfermedad. De esta manera fue posible identificar los genotipos altamente tolerantes y aquellos con evidencia de alta susceptibilidad a la enfermedad.

En la población de clones procedentes de la zona sur se observó una mayoría de ellos ubicados en la categoría intermedia (media susceptibilidad), con fluctuaciones en su posición en el orden genético a través de los ensayos clonales investigados. Para identificar los clones seguros se tomó como criterio su aparición irrestricta dentro del grupo de los de menor severidad e incidencia. Con base en estos criterios se logró identificar a los clones 4, 25, 24 como de comportamiento muy estable y baja o casi nula susceptibilidad en dos o tres sitios independientes (Cuadro 5). El clon 19 registra resultados muy buenos en 3 sitios, pero lamentablemente muy susceptible en sitio Amapola Sur (APS). En el otro extremo tenemos los clones 23, 12, 21, que exhibieron una alta susceptibilidad en 4 de 4 sitios evaluados independientes, seguidos de los clones 11, 7, 16, 13 que registraron alta susceptibilidad en 3 de 4 sitios evaluados.

Cuadro 4. Correlaciones genéticas entre la severidad (izquierda) e incidencia (derecha) de la pudrición del tronco vs diámetro, altura total y posición sociológica, en ensayos clonales independientes de *Gmelina arborea*, Pacífico Sur de Costa Rica.

Table 4. Genetic correlations among rot-stem severity (left) and incidence (right) vrs diameter, total height and social position, in *Gmelina arborea* independent clonal trials, South Pacific, Costa Rica.

Parámetro	Severidad				Incidencia			
	FPN	YS	SS	\bar{x}	FPN	YS	SS	\bar{x}
dap	-0,20	0,61	0,00	0,14	0,24	0,59	-0,06	0,26
h _t	-0,80	-0,30	-0,70	-0,60	-0,86	-0,14	-0,70	-0,57
PosSoc	-0,70	-0,60	-0,80	-0,70	-0,64	-0,36	-0,82	-0,61

dap: Diámetro a la altura del pecho; ht: Altura total; PosSoc: Posición sociológica (Dominante, Codominante, Intermedio y Suprimido).

Cuadro 5. Ordenación de clones de *Gmelina arborea* procedentes de la zona sur del país, con respecto a su grado de tolerancia genética a la pudrición del tronco, en cuatro ensayos genéticos independientes en el Pacífico Sur de Costa Rica.

Table 5. Genetic ranking of *Gmelina arborea* clones from south origin, in relation to its rot-stem tolerance, in four independent genetic trials, South Pacific, Costa Rica.

Orden	Sitio YS		Sitio SS		Sitio APS		Sitio FPS	
	Sev	Inc	Sev	Inc	Sev	Inc	Sev	Inc
1	25	25	19	19	24	24	20	20
2	19	19	24	22	16	7	11	11
3	4	4	4	24	7	20	19	19
4	26	26	22	25	19	22	16	16
5	8	5	10	T1	20	16	24	24
6	29	29	T1	8	22	19	17	7
7	28	T2	20	10	12	21	7	17
8	T2	T1	25	4	21	23	23	23
9	22	24	3	20	13	13	12	12
10	24	23	8	26	17	11	13	21
11	12	2	13	3	23	12	21	13
12	5	22	T2	13	11	17		
13	23	8	6	12				
14	T1	20	26	7				
15	20	14	11	6				
16	10	1	12	14				
17	14	17	7	5				
18	27	12	14	2				
19	2	28	23	11				
20	1	27	2	23				
21	21	10	21	21				
22	3	3	5	9				
23	17	21	16	16				
24	13	13	9	15				
25	18	16	15	T2				
26	7	11	18	18				
27	16	9	1	1				
28	11	7	17	17				
29	9	15						
30	15	18						
31	6	6						

Sev: Severidad; Inc: Incidencia; Tercio superior, alta tolerancia ■; Tercio intermedio, tolerancia media ■; Tercio inferior, alta susceptibilidad ■

Cuadro 6. Ordenación de clones de *Gmelina arborea* procedentes de la zona norte del país, con respecto a su grado de tolerancia genética a la pudrición del tronco, en tres ensayos genéticos independientes en el Pacífico Sur de Costa Rica.

Table 6. Genetic ranking of *Gmelina arborea* clones from north origin, in relation to rot-stem tolerance, in three independent genetic trials, South Pacific, Costa Rica.

Orden	Sitio YN		Sitio FPN		Sitio APN	
	Sev	Inc	Sev	Inc	Sev	Inc
1	4	4	7	7	10	10
2	1	1	4	15	5	5
3	2	2	14	14	7	11
4	12	12	10	4	15	7
5	11	11	15	10	4	4
6	15	15	5	5	1	1
7	13	13	23	23	11	9
8	5	5	1	11	14	15
9	18	18	11	9	9	14
10	17	6	16	16	2	2
11	16	17	9	1	16	16
12	10	16	2	2		
13	9	8				
14	T2	10				
15	3	9				
16	6	3				
17	7	T2				
18	8	7				
19	14	19				
20	T1	14				
21	19	T1				

Sev: Severidad; Inc: Incidencia; Tercio superior, alta tolerancia ■; Tercio intermedio, tolerancia media ■; Tercio inferior, alta susceptibilidad ■

En el cuadro 6 se presenta el resultado del posicionamiento de los clones de la zona norte, evaluados con respecto a su valor genético de tolerancia a la enfermedad. Puede observarse que la posición de los clones exhibió un patrón similar a los resultados de la población de clones de la zona sur. Sin embargo, el subgrupo de clones de baja susceptibilidad fue más amplio en la población de la zona norte, lo que sugiere una menor tolerancia en esta procedencia. El orden de los clones permitió una selección segura de los genotipos de menor susceptibilidad dentro de esta población. Los genotipos 4, 5 y 11 registraron alta tolerancia en 3 de 3 sitios evaluados. El clon 15 registró buen desempeño en 2 de los sitios evaluados, pero con una incidencia intermedia en el tercer sitio, lo que lo ubica como un genotipo no seguro. Mientras que del grupo de clones altamente susceptibles se registra al 9 y al 16 en los tres sitios evaluados, seguido de los clones 1, 2 y 14 en dos de los tres sitios.

En el cuadro 7 se resume la lista de clones encontrados como seguros o altamente tolerantes a la enfermedad, así como también los clones con suficiente evidencia para ubicarlos como altamente susceptibles o intolerantes a la enfermedad que causa la pudrición del tronco en la melina.

Cuadro 7. Agrupación de clones de *Gmelina arborea* en tolerantes y susceptibles genéticamente a la pudrición del tronco, evaluados en ensayos genéticos independientes en el Pacífico Sur de Costa Rica.

Table 7. Grouping of *Gmelina arborea* clones in relation to its genetic rot-stem tolerance and susceptibility, assessed in independent trials at south Pacific, Costa Rica.

Grado de tolerancia genética	Procedencia Sur	Procedencia Norte
Muy alta	4	4
	24	5
	25	11
Nula	7	1
	11	2
	12	9
	13	14
	16	16
	21	
	23	

Discusión

Los ensayos APN, APS, YN y FPS fueron omitidos de los análisis, ya que no aportaron datos estadísticamente significativos. Situación causada por la pérdida de información al aplicarse un raleo silvicultural previo a las evaluaciones de esta investigación. La valoración obtenida del análisis genético de estos ensayos resultó con valores muy bajos en cuanto a control genético y precisión de los parámetros estimados, por lo cual se consideró que pueden generar confusión para el análisis e interpretación de la información.

Los ensayos genéticos revelaron la existencia de un alto control genético en cuanto a la severidad e incidencia de la enfermedad en las colecciones de clones de melina evaluados. Los valores de heredabilidad media del clon (h^2_{mc}) son sumamente altos, con registros que oscilaron entre 0,45 a 0,63 para las dos colecciones de clones. Los valores del coeficiente de variación genético también fueron muy altos y superan los registros comúnmente obtenidos en otras especies (Murillo, Espitia y Castillo, 2012, capítulo 4; Pavlotzky & Murillo, 2013).

Registros altos de heredabilidad media clonal ($h^2_{mc} > 0,45$) y del coeficiente de variación genética ($CV_{gi}\% > 15\%$), son evidencia de un gran potencial de mejoramiento genético en favor de individuos con mayor tolerancia y quizá en el tiempo, una aproximación a la resistencia genética vía selección y cruzamiento controlado. Se espera entonces que la utilización en campo de clones genéticamente tolerantes a la enfermedad, contribuya de manera real y efectiva en la reducción del problema fitosanitario que actualmente afecta a la melina en Costa Rica. Con valores altos de heredabilidad se obtiene una mayor certeza y eficiencia de selección y, se podrá obtener mayores ganancias genéticas en la búsqueda de materiales tolerantes a esta grave enfermedad (Pastrana et al., 2012). Con su utilización se lograría reducir la incidencia y severidad de la enfermedad. Aún cuando la enfermedad se presente en una plantación con estos materiales, su mayor grado de tolerancia permitiría contar con más tiempo para realizar medidas silviculturales de contención, como la aplicación de raleos oportunos y eliminación rápida de los árboles con los primeros síntomas de la enfermedad.

Del cuadro 4 con las correlaciones genéticas se puede deducir que los raleos oportunos por lo bajo (eliminación de los árboles suprimidos e intermedios y de menor diámetro), permitirían también una rápida y eficaz contención del avance de la enfermedad. Mientras que la eliminación por su clase diamétrica no pareciera que sea muy eficaz, ya que la enfermedad se presenta sin discriminar por el mayor o peor diámetro.

El parámetro incidencia mostró mayor certeza y consistencia que el de severidad, como puede observarse en valores más altos en el coeficiente de variación genética ($CV_{gi}\%$). Los valores de severidad variaron de

15 a poco más de 18%, mientras que los de incidencia fluctuaron de 25 a 57%. El método de calificación de los árboles según su grado de severidad a esta enfermedad, se fundamentó en criterios cualitativos con valores de 1 a 5 (Salas et al, en prensa). Esto ocasionó que la valoración de presencia de la enfermedad se distribuyera en cuatro posibles valores desde 2 a 5. Mientras que la incidencia se calificó de manera binomial, presente o ausente, con un solo valor. Este efecto numérico explica por tanto, que el carácter severidad refleje una disminución significativa en su variabilidad en relación con el carácter incidencia.

El ordenamiento de los clones con base en su grado de tolerancia a la enfermedad (Cuadros 5 y 6), fue sumamente eficiente y visible. El agrupamiento de los clones en tres grandes subgrupos de tolerancia (alta, media y baja), permitió poder visualizar el comportamiento y patrones de repetición de cada clon evaluado en distintas localidades. Este método parece ser más oportuno para el tratamiento e interpretación de variables categóricas como en este caso. Los patrones de repetición no ocurren siguiendo valores numéricos precisos. Datos de presencia/ausencia de fenómenos como el de manifestación de una enfermedad, no guardan relaciones numéricas continuas. Al subdividir la población en tres categorías, permite claramente separar los individuos que manifiestan alta tolerancia de aquellos con total evidencia de alta susceptibilidad. El grupo intermedio permite crear un espacio para ubicar genotipos que no manifiestan una clara identidad en cuanto a este fenómeno fitosanitario. Puede ser que este grupo de clones sea análogo en comportamiento con el fenómeno muy conocido en seres humanos, donde hay individuos en la población que están infectados pero no manifiestan síntomas visibles. Sobre este grupo de genotipos no es posible deducir ninguna conclusión válida, salvo que por seguridad, todos ellos deben sumarse al subgrupo de los clones identificados como claramente susceptibles. De esta manera, el método analítico no paramétrico seguido, permitió claramente distinguir aquellos genotipos que sin duda manifiestan la enfermedad (susceptibles), de aquellos genotipos que la toleran, patrón repetido en varios sitios independientes.

La decisión más importante en esta investigación fue la de decidir con claridad cuáles clones se declararon como tolerantes a la enfermedad. Para esto se siguió un criterio de alto rigor, basado en la completa certeza de que estos clones manifestaron la presencia de la enfermedad en un nivel nulo o muy bajo (menor al 10%), registros repetidos en varios ambientes independientes. De esta manera solamente 6 clones fueron identificados como tales (Cuadro 7). Los clones 4 y 24 de la procedencia del Pacífico sur, registraron un 100% de certeza en dos sitios, mientras que el clon 25 registró 100% de certeza en 3 sitios y una tolerancia intermedia en un cuarto sitio. Mientras que en la procedencia de la zona norte, los clones 4, 5, y 11 registraron un 100% de certeza en los 3 sitios evaluados.

Conclusiones

Los valores de heredabilidad y de variación genética fueron muy altos y permitieron una selección eficiente de los mejores genotipos, en relación con su tolerancia a la pudrición del tronco de melina.

Las correlaciones genéticas registraron una alta relación entre los árboles de mayor posición sociológica y de mayor altura total vs ausencia de la enfermedad. Mientras que el dap no mostró ninguna relación con la incidencia de la enfermedad, tanto árboles delgados como gruesos pueden ser afectados. Por tanto, los raleos oportunos por lo bajo podrían contribuir al manejo de la enfermedad en plantaciones de melina.

Los clones 4, 24 y 25 procedentes de la zona sur, y los clones 4, 5 y 11, procedentes de la zona norte, son los de mayor tolerancia a la enfermedad y de mayor seguridad para ser utilizados en reforestación en la zona sur del país.

La incidencia de la enfermedad registró un mayor control genético y mayor facilidad de análisis e interpretación como variable, que la información obtenida con la variable grado de severidad.

El método de agrupamiento de los clones en tres subgrupos según su grado de tolerancia a la enfermedad, facilitó e identificó con claridad los patrones de repetición de los clones en cuanto a la tolerancia a la enfermedad en sitios independientes. Este método no paramétrico resultó apropiado para el manejo de la información categórica.

Mediante el mejoramiento genético de la melina hay un gran potencial de progreso en la obtención de genotipos altamente tolerantes o quizá resistentes a la pudrición del tronco.

Agradecimientos

Este trabajo tuvo el apoyo del proyecto “Uso de biocontroladores y materiales tolerantes en la prevención y manejo del síndrome de la muerte descendente de la teca (*Tectona grandis*) y melina (*Gmelina arborea*)”, financiado por la Vicerrectoría de Investigación y Extensión del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR) y del proyecto “MEPROME: Mejoramiento de la productividad de plantaciones clonales de Melina en fincas agroforestales” del Instituto de Investigación y Servicios Forestales (INISEFOR) de la Universidad Nacional (UNA).

Referencias

Afzal, ATA M. & Muhammad, M. (1987). Coppice production and tree improvement potential of *Gmelina arborea* Roxb. in Peninsular Malaysia. *Malaysian Forester*, 50(1/2), 72-78.

Badilla, Y. y Murillo, O. (2005). Establecimiento de jardines clonales. *Kurú: Revista Forestal*, 2(6), 1-4.

Badilla, Y., Murillo, O., Azofeifa, M. y Obando, G. (2003). Avances en Reforestación Clonal en Costa Rica. En: V Congreso Forestal Nacional. San José, Costa Rica.

Chacón, P. y Murillo, O. (2005). Análisis comparativo de la producción de minijardines clonales hidropónicos y jardines clonales en tierra de melina (*Gmelina arborea* Roxb.). *Kurú: Revista Forestal*, 2(6), 7.

Espitia, M., Murillo, O., Castillo, C., Aramendiz, H. y Paternina, N. (2010). Ganancia genética esperada en la selección de acacia (*Acacia mangium* Willd) en Córdoba (Colombia). *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 13(2), 99-107.

Espitia, M.; Murillo, O.; Castillo, C. 2016. Ganancia genética esperada en melina (*Gmelina arborea* Roxb.) en Córdoba, (Colombia). *Árvore* 40(1): Enero-Febrero.

Konig, A. & Venegas, L. (1981). Forestry investigation and industrial development project. Colombia. Genetic improvement of forest trees. FAO Report.

Kumar, A. (2007). Growth Performance and Variability in Different Clones of *Gmelina arborea* (Roxb.). *Silvae Genetica*, 56(1), 32-36.

Lauridsen, E. & Kjaer, E. (2002). Provenance research in *Gmelina arborea* Linn, Roxb. A summary of results from three decades of research and a discussion of how to use them. *International Forestry Review*, 4(1), 15. Recuperado de <http://sl.dfsc.dk/pdf/gmelina/GmelinaAPFinal.pdf>.

Murillo, O. (1992). Diseño de un huerto semillero de *Gmelina arborea* (Roxb) para la producción de semilla certificada en la zona norte de Costa Rica. *Tecnología en Marcha*, 11(3), 51-58.

Murillo, O., Obando, G., Badilla, Y. y Azofeifa, M. (2003). Creación de GENFORES, una cooperativa de mejoramiento genético forestal en Costa Rica. En: V Congreso Forestal Nacional. San José, Costa Rica.

Murillo, O. y Badilla, Y. (2004). Evaluación de la calidad y estimación del valor en pie de la plantación forestal. Murillo Gamboa, Badilla Valverde. 1ª ed. Cartago, Costa Rica: Taller de Publicaciones del ITCR. 51p.

Murillo, O.; Espitia, M. y Castillo, C. 2012. Fuentes Semilleras para la Producción Forestal. 1ª ed. Editorial Domar S.A.S. Bogotá, Colombia. 184 p.

Murillo, O. y Guevara, V. (2013). Estado de los recursos genéticos forestales de Costa Rica. MINAET/FAO/CONAGEBIO, San José, Costa Rica. 159 p.

Pastrana, I., Espitia, M. y Murillo, O. (2012). Evaluación del potencial de mejoramiento genético en el crecimiento en altura de *Acacia mangium* Willd. *Acta Agronómica*, 61(2), 143-150.

Pavlotzky, B. y Murillo, O. (2013). Ganancia genética esperada en *Acacia mangium* en San Carlos, Costa Rica. *Revista Forestal Mesoamericana*, 10(24), 14-25.

Pavlotzky, B. (2012). Ganancia Genética Esperada en *Acacia mangium* Willd, en los Chiles y San Carlos, Costa Rica. (Tesis Licenciatura). UNA, Heredia, Costa Rica.

Resende, MDV. (2006). O Software Selegen-REML/BLUP. Campo Grande, BR, EMBRAPA. 305 p.

Resende, MDV. (2008). SELEGEN-REML/BLUP: Sistema estatístico e seleção genética computadorizada. Brasília, BR, EMBRAPA.

- Rojas, N. (2011). Cuenca: ríos Península de Osa. Puntarenas, Costa Rica. Instituto Meteorológico Nacional (IMN). Recuperado de http://cglobal.imn.ac.cr/sites/default/files/documentos/cuenca_rios_peninsula_de_osa_1.pdf
- Salas, A., Murillo, O., Murillo, R., Avila, C., Mata, X. y Fernández, M. (en prensa). Evaluación de la severidad de la pudrición del tronco de *Gmelina arborea* Roxb. (Revista Forestal Mesoamericana Kurú, Boletín especial, 2016).
- Salas, R. (2015). Determinación de la incidencia y severidad de la pudrición del tronco de genotipos de melina (*Gmelina arborea* Roxb.) en el Pacífico Sur de Costa Rica. (Tesis Licenciatura). Universidad Nacional, Escuela de Ciencias Ambientales, Heredia, Costa Rica. 58 p.
- Woessner, R. A. (1980). *Gmelina arborea* Roxb. Genetic Improvement Program at Jari. Jari Florestal, Belem, Para, Brazil. In Proceedings of IUFRO Symposium and Workshop on genetic improvement and productivity of fast growing tree species, Sao Paulo, BR.
- Zeaser, D. (1998). Programa de mejoramiento genético de la Ston Forestal en la zona sur de Costa Rica. En: Seminario. Aumento de la rentabilidad de las plantaciones forestales: un reto ligado al uso de semilla de alta calidad. San José, Costa Rica.