



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN CIENCIAS FORESTALES

EVALUACIÓN FENOLÓGICA Y ANÁLISIS DE LA PRODUCCIÓN DE CONOS
DE *Pinus patula* EN UN HUERTO SEMILLERO ASEXUAL

OMAR HERNÁNDEZ ZARAGOZA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

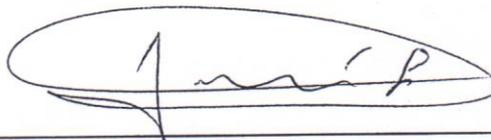
2014

La presente tesis titulada: **EVALUACIÓN FENOLÓGICA Y ANÁLISIS DE LA PRODUCCIÓN DE CONOS DE *Pinus patula* EN UN HUERTO SEMILLERO ASEXUAL**, realizada por el alumno: **OMAR HERNÁNDEZ ZARAGOZA**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
EN CIENCIAS FORESTALES

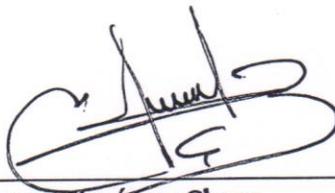
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



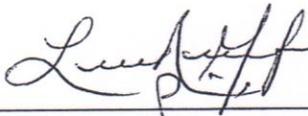
Dr. Javier López Upton

ASESOR



Dr. Marcos Jiménez Casas

ASESOR



Dra. Lucero del Mar Ruiz Posadas

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Julio de 2014

EVALUACIÓN FENOLÓGICA Y ANÁLISIS DE LA PRODUCCIÓN DE CONOS DE *Pinus patula* EN UN HUERTO SEMILLERO ASEXUAL

Omar Hernández Zaragoza, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2014.

RESUMEN GENERAL

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. es una especie nativa de México de primordial importancia, de la que se ha iniciado su mejora genética, con el establecimiento de un huerto semillero clonal integrado por 83 clones ubicado a una elevación de 2800 m. Se evalúa la sincronía floral en una muestra de 157 rametos de 20 clones, a la edad de 8 y 9 años (2012 y 2013). Se determinó la fecha de inicio, fin y duración del periodo de receptividad y emisión de polen, y se cuantificó el grado de sincronización reproductiva para todas las posibles parejas de clones. El índice de sincronización fenológica indica un grado de cruzamiento aceptable en el proceso reproductivo de los clones evaluados. La receptividad de los estróbilos femeninos y la emisión de polen de estróbilos masculinos presentaron buena sincronización, con valores del índice de sincronización que variaron de 0.33 a 0.54 para la floración femenina y de 0.22 a 0.55 para la floración masculina de los diferentes clones. El grupo de clones con calidad genética superior tuvo un índice de sincronización fenológica (polen-óvulos) ligeramente mayor que los clones de menor calidad genética (0.48 vs. 0.40). La contribución de polen de los clones inferiores a los superiores fue moderada (PO = 0.46). El comportamiento de los clones fue muy estable en los dos años de evaluación en cuanto a la sincronización, inicio y duración de los eventos reproductivos, particularmente en la floración masculina. La producción de estróbilos femeninos fue muy sensible a las bajas temperaturas ocurridas en el 2013. De los 83 clones establecidos 93 % tuvieron estróbilos femeninos y 58.8 % de los rametos produjeron este tipo de estróbilos. La producción promedio por rameto fue de 12 estróbilos femeninos y 7.7 conillos al fin del año. Del total de rametos que produjeron estróbilos 83 % lograron conservarlos hasta el fin de año, casi 37 % de los estróbilos abortaron, probablemente por la falta de polen y daños ambientales. El desbalance en la contribución de conillos entre y dentro de los clones es notable, 70 % de los estróbilos femeninos (5,548 de 7,927 totales) y 72.7 % de los conillos (3,645 de 5,023 totales) fueron de los clones 21 con mayor producción de conillos a fines del año. La producción de estróbilos a nivel de rametos se asoció moderadamente con el diámetro del fuste ($r= 0.20$) y con la altura total del árbol ($r= 0.27$). A nivel de medias de clones, la producción de estróbilos y conillos no se asoció con el diámetro del fuste, pero sí con la altura de los clones ($r=0.35$ y $r=0.29$, respectivamente), no así la supervivencia de los estróbilos. Además, se realizó un estudio sobre la diferenciación y desarrollo de primordios florales. A finales del mes de julio y septiembre se recolectaron yemas vegetativas de árboles seleccionados con base en la producción de conos. Las muestras se fijaron en Alcohol, Ácido acético y Formaldehído, se deshidrataron e incrustaron en parafina, se obtuvieron cortes longitudinales de 15 μm de grosor, se tiñeron y colocaron en un porta objeto y para su preservación se cubrieron con resina sintética. Las observaciones se realizaron con un microscopio invertido utilizando un objetivo de 40 x se identificaron de dos a tres crecimientos y una secuencia organogénica completa del meristemo apical, los brotes presentaron de 5 a 10 estróbilos femeninos indicando una múltiple floración.

PHENOLOGICAL EVALUATION AND ANALYSIS OF CONE PRODUCTION *Pinus patula* IN ASEXUAL SEED ORCHARD

GENERAL ABSTRACT

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. is a native tree species of Mexico of huge importance. A breeding program was started with the establishment of clonal seed orchard composed of 83 clones located at 2800 m asl. Floral synchrony is evaluated on a sample of 157 ramets from 20 clones, at the age of 8 and 9 years (2012 and 2013). Start date, end and duration of receptivity period and pollen emission were determined, and the degree of reproductive synchronization for all possible pairs of clones was quantified. The phenological synchronization index indicates a acceptable degree of mating of the clones evaluated. The receptivity of the female strobili and pollen emission male strobili showed good synchronization; the synchronization index for female strobili production exhibited values ranging from 0.33 to 0.54 and for the male flowering from 0.22 to 0.55. The group of genetically superior clones exhibited an index of phenological synchronization (PO) of 0.48, meanwhile among the lower genetic quality clones was of 0.40, thus less synchronization. The contribution of pollen from lower genetic quality-clones to superior clones was moderate (PO=0.46). Overall a repeatability of clones between years in the timing, onset and duration of reproductive events was detected particularly on male strobili. Female strobili production was very sensitive to low temperatures during 2013. 93 % of the clones produced female strobili and 58.8% of ramets formed this type of strobili, almost 37% of strobili aborted, probably for lack of pollen and environmental damages. The average production per ramet was 12 female strobili and 83 % of the total ramets that produced strobili keep them alive until the end of the year. The imbalance among and inside clones in strobili and conelets production is prominent, 21 clones with the highest conelets production formed the 70 % of female strobili (5,548 of 7,927 total) and 72.7 % of conelets (3,645 of 5,023 total) at the end of 2012. Strobili production at the level of ramets was moderately associated with stem diameter ($r = 0.20$) and tree height ($r = 0.27$). At the level of clones, strobili and conelets production were not associated with the diameter of the stem, but with the height ($r = 0.35$ and $r = 0.29$, respectively), but not with the survival of conelets. Moreover, a study looking for the differentiation and development of floral primordial were performed. In late July and September vegetative buds were collected from selected trees based on cone production. The samples were fixed with (FAA), then dehydrated and embedded in paraffin. Longitudinally sections of 15 μm were obtained; these were stained and placed on a glass slide and covered with a synthetic resin for preservation. The observations were made with an inverted microscope using a objective of 40x. Two or three growths were identified and a complete organogenic sequence of the apical meristem; buds showed 5 to 10 female strobiles, indicating multiple flowering.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y tecnología (CONACYT), por brindarme la oportunidad de concluir esta etapa en mi vida, a través de la beca brindada durante el periodo de maestría.

A la Línea Prioritaria de Investigación 1 (Manejo Sustentable de Recursos Naturales) del Colegio de Postgraduados. Al fondo CONAFOR-CONACYT, 2003-C03-10714 por el apoyo dentro del proyecto “Establecimiento de huertos semilleros con material genéticamente superior de *Pinus patula* y *P. greggii*” por aportar el recurso económico para el desarrollo de esta investigación.

Al Dr. Javier López Upton, por formar parte en mi formación profesional, por brindarme su apoyo para realizar este trabajo a través de su asesoría, revisión, confianza y oportuna toma de decisiones.

A los Drs. J. Jesús Vargas Hernández, Marcos Jiménez Casa y a la Dra. Lucero del Mar Ruiz posadas, por sus valiosas aportaciones, en el desarrollo y culminación del presente trabajo.

A todos y cada uno de los profesores investigadores del Posgrado en Ciencias Forestales, así como también al personal secretarial, quienes fueron participes y contribuyeron durante mi preparación profesional.

A los compañeros y amigos logrados durante mi estancia en esta institución, con quienes compartimos buenos momentos, pero sobre todo por la fraternidad profesional lograda.

DEDICATORIA

Agradezco a mi esposa Ivitalia Guzmán Mestiza por su amor, comprensión y apoyo. A mi hijo Alex Omar Hernández Guzmán por ser quien me motiva a salir en busca de nuevos retos y no desistir hasta conquistarlos.

A mi madre: Alicia Hernández Zaragoza, por enseñarme que la perseverancia es una virtud, pero sobre todo por la gran calidez humana.

A mi padre: Pedro Hernández de la Cruz, por ser un gran ejemplo, porque gracias a él aprendí, que la vida hay que afrontarla siempre de frente y con gallardía. Gracias.

A ti Pedro por ser una gran persona, un gran amigo y compañero en el andar de la vida gracias hermano.

A mis hermanos: Alicia Eneida Hernández Zaragoza y Daniel Hernández Zaragoza, por el cariño y amor fraternal.

Al Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, que a través del Posgrado en Ciencias Forestales me permitió ser parte de esta gran fraternidad dedica a la creación de estrategias a favor del Desarrollo Forestal.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN GENERAL	I
GENERAL ABSTRACT	III
AGRADECIMIENTOS	IV
DEDICATORIA	V
ÍNDICE DE CUADROS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
LITERATURA CITADA	5
CAPITULO II. VARIACIÓN CLONAL DE LA FENOLOGÍA REPRODUCTIVA EN UN HUERTO SEMILLERO ASEJUAL DE <i>Pinus patula</i>	8
RESUMEN	8
SUMMARY	9
INTRODUCCIÓN	10
MATERIALES Y MÉTODOS	12
Análisis de los datos	14
RESULTADOS	16
Variación fenológica de la floración	16
Sincronía fenológica.....	17
Sincronización clonal	18
Sincronía fenológica entre clones de calidad genética superior e inferior	19
Índice de sincronización fenológica a nivel de grupos.....	20
Índice de sincronización fenológica general	23
DISCUSIÓN	26
CONCLUSIONES	29
LITERATURA CITADA	30
CAPITULO III. PRODUCCIÓN Y SUPERVIVENCIA DE ESTRÓBILOS Y CONILLOS EN UN HUERTO SEMILLERO DE <i>Pinus patula</i>	33
RESUMEN	33
SUMMARY	34

INTRODUCCIÓN	35
MATERIALES Y MÉTODOS	37
Producción de estróbilos femeninos en la cosecha 2012	38
RESULTADOS	39
Producción y supervivencia de estróbilos femeninos evaluados en 2012.....	39
DISCUSIÓN	47
CONCLUSIONES	49
LITERATURA CITADA	50
CAPITULO IV. DESARROLLO Y DIFERENCIACIÓN DE ESTRUCTURAS	
REPRODUCTIVAS EN <i>Pinus patula</i>	52
RESUMEN	52
SUMMARY	53
INTRODUCCIÓN	54
MATERIALES Y MÉTODOS	56
RESULTADOS	58
DISCUSIÓN	63
CONCLUSIONES	65
LITERATURA CITADA	66

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
2.1. Etapas fenológicas reproductivas registradas en porcentaje para determinar sincronía de 20 clones evaluados en el huerto semillero clonal de <i>Pinus patula</i> Schiede ex Schltdl. et Cham.	15
2.2. Inicio y fin en días julianos y duración del periodo de receptividad de los estróbilos femeninos y emisión de polen de los estróbilos masculinos a nivel de rameto durante los ciclos 2012 y 2013.....	16
2.3. Índice de sincronización fenológica (PO) para cada pareja de clones en cuatro combinaciones de los grupos de clones superiores e inferiores de <i>Pinus patula</i> Schiede ex Schltdl. et Cham. en el huerto semillero evaluado en 2012, los valores varían de 0 (sin participación) a 1 (máxima). En la parte inferior y derecha de cada combinación se indica los valores promedio del índice de sincronía fenológica de los clones participando como masculino (PO♂) o como femenino (PO♀)	22
3.1. Estadísticas descriptivas de la producción de estróbilos y conillos de un huerto semillero clonal de <i>Pinus patula</i> Schiede ex Schltdl. et Cham. a 9-10 años de edad a nivel de rametos totales y por clones	40
3.2. Análisis de los componentes de varianza (clones y rametos) para las variables relacionadas con la producción de conos en un huerto semillero clonal de <i>Pinus patula</i> Schiede ex Schltdl. et Cham.	41
3.3. Rametos por clon, número de rametos con producción de estróbilos por clon, valores mínimos y máximos y totales de estróbilos a fines de la primavera del 2012 y conillos (estróbilos maduros) totales para fines del 2012.....	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
2.1. Etapas fenológicas femenina (arriba) y masculina (abajo) identificadas y usadas para determinar la sincronización en el huerto semillero clonal de <i>Pinus patula</i> Schiede ex Schltdl. et Cham.....	14
2.2. Sincronización fenológica (porcentaje de estróbilos femeninos receptivos y de estróbilos masculinos en fase de emisión de polen) a lo largo del periodo de evaluación a) 2012 y b) 2013 para el grupo de clones de <i>Pinus patula</i> Schiede ex Schltdl. et Cham. muestreados en el huerto semillero clonal.....	18
2.3. Sincronía fenológica (porcentaje de clones receptivos, ♀, y de clones con emisión de polen, ♂) en el ciclo 2012 en una muestra de 20 clones de <i>Pinus patula</i> Schiede ex Schltdl. et Cham. del huerto semillero clonal	19
2.4. Sincronización fenológica (porcentaje de estróbilos femeninos receptivos y porcentaje de estróbilos masculinos en fase de emisión de polen) a lo largo del periodo de evaluación para los grupos de clones: a) clones superiores y b) clones inferiores de <i>Pinus patula</i> Schiede ex Schltdl. et Cham. muestreados en el huerto semillero clonal	20
2.5. Fenogramas de estróbilos femeninos y masculinos de 20 clones de <i>Pinus patula</i> Schiede ex Schltdl. et Cham. en el huerto semillero clonal evaluados en 2012. El ancho de las líneas horizontales en una fecha determinada representa el porcentaje total de receptividad o emisión de polen	24
3.1. Porcentaje de rametos que produjeron estróbilos femeninos en un huerto semillero asexual de <i>Pinus patula</i> Schiede ex Schltdl. et Cham. a los nueve años de edad (durante la primavera del 2012)	39
3.2. Producción acumulada de conillos producidos por rametos en un huerto semillero asexual de <i>Pinus patula</i> Schiede ex Schltdl. et Cham. a nueve años de edad. La línea recta representa una contribución equitativa entre rametos; con 325 rametos se alcanza 100 %.....	44

3.3.	Porcentaje de clones que mantuvieron conillos al final del año después de la polinización del 2012 en un huerto semillero asexual de <i>Pinus patula</i> Schiede ex Schltdl. et Cham. a nueve años de edad	45
3.4.	Producción acumulada de conillos generados por 83 clones en un huerto semillero asexual de <i>Pinus patula</i> Schiede ex Schltdl. et Cham. a nueve años de edad. La línea recta representa una contribución equitativa entre clones; con 78 clones se alcanza 100 %	45
4.1.	Elongación de la yema apical y producción de estróbilos. Figura 1. (YV) Yema vegetativa apical desarrollando de forma normal y (YF) yemas florales. Figura 2. (YV) Yema vegetativa apical y (YVL) yemas vegetativas laterales. Figura 3. (YV) Yema vegetativa alargándose, base del tallo y acículas. Figura 4. (EF) Estróbilos femeninos después de la polinización que muestra la yema vegetativa apical de nueva formación, el eje del brote alargado y el alargamiento de las hojas (acículas). Figura 5. (YV) Yema apical con cuatro (EF) estróbilos femeninos en desarrollo.....	59
4.2.	Secuencia organogénica Fig. 6. Sección longitudinal de una yema vegetativa terminal en inicio de la secuencia organogénica, se muestra el meristemo apical (MA) cubierto por una serie de catáfilos estériles esclerificados (CS), Figura 7. Aumento de la Figura 6 que muestra el meristemo apical (AM) y la iniciación de los catáfilos estériles. Figura 8. Sección longitudinal media de la yema vegetativa durante la formación de catáfilos fértiles (CF) y el ápice axilar (AA) iniciando en el meristemo apical. Figura 9. Aumento de la sección media de ápices axilares ilustrando su inicio (AA) y desarrollo de los catafilos axilares fértiles Figura10. Sección media del desarrollo del ápice axilar (AA), región en la cual se inició la formación de dos prófilos (puntas de flecha han iniciado). Figura 11. Sección longitudinal de una yema axilar durante la iniciación de catáfilos estériles en el ápice (AP).....	61

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. se considera la especie más importante del género *Pinus* para México donde es nativa (Farjon, 2001). Esta especie es conocida como pino chino u ocote colorado, pertenece al grupo de conos cerrados de la división Oocarpae, Ssensu Little & Critchfield. Tiene una distribución natural que va de 16° a 24° N y de 85° a 100° O, sobre la sierra Madre Oriental y parte del Eje Neovolcánico Transversal, en los estados de Hidalgo, México, Puebla, Querétaro, Oaxaca, Tamaulipas y Veracruz (Martínez, 1948; Perry, 1991; Farjon, 1996).

Este pino tiene una amplia variabilidad fenotípica y genética, en características de interés económico y un alto potencial productivo (Farjon, 2001); posee altas tasas de crecimiento a corto plazo, excelente calidad de la madera para fines comerciales y es de un manejo silvícola relativamente fácil (Dvorak *et al.*, 2000; Velázquez *et al.*, 2004). Se caracteriza por su capacidad de adaptarse a diferentes condiciones ambientales; se emplea para la producción de madera de aserrío y material celulósico, utilizado en la elaboración de cajas de empaque y para el acabado de interiores y exteriores; la longitud de sus fibras la hace una especie muy apreciada en la fabricación de papel (Dvorak *et al.*, 2000).

Por su buena forma, crecimiento acelerado y gran tamaño, es uno de los árboles forestales más cultivados en el país y en el extranjero. Es una especie que ha tenido mucho éxito en el establecimiento de plantaciones comerciales con material genéticamente mejorado, en particular en Sudáfrica y Zimbabwe (Sáenz *et al.*, 1994; Wright *et al.*, 1995; Dvorak *et al.*, 2000; Valencia y Vargas, 2001).

Para establecer plantaciones forestales comerciales y de restauración es necesario contar con un suministro suficiente de germoplasma que genere plantas de crecimiento superior al de los bosques naturales (Zobel y Talbert, 1988). La creciente demanda de semilla, las dificultades inherentes a la recolección de germoplasma de masas forestales degradadas y la predilección de emplear material genéticamente mejorado, dio lugar en los años treinta al establecimiento de los huertos semillero en Gran Bretaña y Estados Unidos (Pardos y Gil, 1986). Desde entonces y debido a las ventajas de este tipo de unidades productoras de germoplasma, gran parte de los programas de mejora genética se han centrado en la creación de dichos huertos (Hopkins y Hutcher, 1994).

Un huerto semillero es una plantación de árboles genéticamente superiores, lo suficientemente aislados para reducir la polinización con polen externo y operarlos de forma intensiva para producir cosechas frecuentes, abundantes y de fácil recolección. Los huertos semilleros pueden ser establecidos a través de clones por injerto o por enraizamiento de estaquillas y se llaman huertos semilleros clonales o asexuales. Además pueden establecerse con progenies de árboles previamente seleccionado a los que se les llama huertos semilleros de plántulas o sexuales (Zobel y Talbert, 1988).

Con base en la importancia económica de *Pinus patula* en años recientes se ha generado un amplio interés por la implementación de programas de mejoramiento genético de esta especie, para la producción abundante y continua de germoplasma de alta calidad genética. Dentro de estos programas es fundamental el establecimiento y manejo de huertos semilleros con material seleccionado y probado genéticamente.

El objetivo principal de un huerto semillero es proporcionar semilla de calidad genética alta para la reforestación, la que depende mayormente del valor genético de los progenitores (Kang *et al.*, 2001). La valía de la semilla está determinada desde el establecimiento del huerto semillero, cuando se seleccionan los clones. Sin embargo, los procesos reproductivos incluyendo la producción y la sincronización de los estróbilos femeninos y masculinos entre clones, así como las cantidades de auto-fertilización y la presencia de polen externo de menor calidad generan que no se obtenga el potencial del huerto (Ericksson *et al.*, 1973). La floración es de suma importancia en el manejo de un huerto semillero, debido a que afecta el intercambio de genes entre los clones y por consiguiente la composición genética de la semilla producida (El-Kassaby *et al.*, 1988; Erickson y Adams, 1989; Burczyk y Chalupka, 1997). La fenología de la floración es probablemente el factor más importante que afecta los patrones de cruzamiento (Weir y Zobel, 1975; Burczyk y Prat, 1997).

La diversidad genética de las semillas alcanza su máximo cuando todos los clones aportan a la siguiente generación la misma producción de genes, a este proceso se le llama panmixia (Gömöry *et al.*, 2000); sin embargo, ésta es una situación difícil de lograr debido a las diferencias en la producción de estróbilos, fecundidad, la distancia entre clones y la sincronización de la floración (Xie *et al.*, 1994; Gömöry *et al.*, 2003). Las diferencias en la fenología floral entre clones generan un desbalance en la contribución genética de los mismos, lo que puede excluir algunas cruzas e incluso eliminar la contribución de algunos genotipos en la cosecha de semillas. Entre menor sea la sincronización fenológica, menor es el tamaño efectivo de la población y la diversidad genética del lote de semillas del huerto, aumentando además la probabilidad de autopolinización (Burczyk y Chalupka, 1997). Por

otra parte, la determinación de la sincronía es fundamental para tomar decisiones sobre la aplicación de actividades complementarias como es el raleo o el uso de polinización controlada para subsanar la falta de participación de clones que no produzcan polen o no estén sincronizados (El-Kassaby y Ritland, 1986; Blush *et al.*, 1993).

El presente trabajo se desarrolló con los siguientes objetivos 1) determinar la fenología reproductiva, 2) evaluar la producción de conos y 3) describir el proceso de diferenciación floral del meristemo vegetativo en el huerto semillero de *Pinus patula* establecido en el estado de Puebla.

En el primer capítulo de este documento, se analiza la variación fenológica femenina y masculina, la sincronía entre la emisión de polen y la receptividad de estróbilos femeninos, y se describen los tiempos de emisión de polen y la receptividad en dos ciclos reproductivos sucesivos en 20 clones de *Pinus patula* a la edad de 9 y 10 años. El segundo capítulo analiza el comportamiento de la producción y supervivencia de estróbilos femeninos en 83 clones que integran al huerto semillero a la edad de 9 años y, se evalúa la producción de conos durante el ciclo de producción 2012. En el tercer capítulo se detalla el proceso de diferenciación del meristemo vegetativo que dará origen a los primordios florales, en clones selectos con alta producción de conos en el huerto semillero clonal.

LITERATURA CITADA

- Blush, T. D., D.L. Bramlett and Y.A. El-Kassaby. 1993. Reproductive phenology of seed orchards. USDA Agriculture Handbook 698. Washington DC, USA. pp: 15-23.
- Burczyk, J. and D. Prat. 1997. Male reproductive success in *Pseudotsuga menziesii* (Mirb). Franco: the effect of spatial structure and flowering characteristics. *Heredity* 79: 638-647.
- Burczyk, J. and W. Chalupka. 1997. Flowering and cone production variability and its effects on parental balance in a Scots pine clonal seed orchard. *Annals of Forest Science* 54: 129-144.
- Dvorak, W.S., G.R. Hodge, J.E. Kietzka, F. Malán, L.F. Osorio and T.K. Stanger. 2000. *Pinus patula*. In: Conservation & Testing of Tropical & Subtropical Forest Tree Species by the CAMCORE Cooperative. CAMCORE Cooperative (Ed.). College of Natural Resources. NCSU. Raleigh, N.C. pp: 149-173.
- El-Kassaby, Y.A. and K. Ritland. 1986. The relationship of outcrossing rate to reproductive phenology and supplemental mass pollination in a Douglas fir seed orchard. *Silvae Genetica* 35: 240-244.
- El-Kassaby, Y.A, K. Ritland., A.M.K. Fashler and D. Devitt. 1988. The role of reproductive phenology upon mating system of a Douglas fir seed orchard. *Silvae Genetica* 37: 76-82.
- Erickson, V.J. and W.T. Adams. 1989. Mating success in a costal Douglas fir seed orchard as affected by distance and floral phenology. *Canadian Journal of Forest Research* 19: 1248-1255.

- Ericksson, G., A. Jonsson and D. Lindren. 1973. Flowering in a clonal trial of *Picea abies* Karst. *Studia Forestalia Suecica* 110: 5-45.
- Farjon, A. 1996. Biodiversity of *Pinus* (Pinaceae) in Mexico: speciation and palaeoendemism. *Botanical Journal of the Linnean Society* 121:365-380.
- Farjon, A. 2001. *World Checklist and Bibliography of Conifers*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. 309 p.
- Gömöry, D., R. Bruchánik and R. Longuare. 2003. Fertility variation and flowering asynchrony in *Pinus sylvestris* consequences of the genetic structure of progeny in seed orchards. *Forest Ecology and Management* 174: 117-126.
- Gömöry, D., R. Bruchánik and L. Paule. 2000. Effective population number estimation of three Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seed orchards based on an integrated assessment of flowering phenology, and seed orchard design. *Forest Genetics* 7: 65-75.
- Hopkins, E.R. and T.B. Hutcher. 1994. Improvement of *Pinus pinaster* Ait. in Western Australia. *CALMScience* 1: 159-242.
- Kang, K.S., D. Lindgren and T.J. Mullin. 2001. Prediction of genetic gain and gene diversity in seed orchards crops under alternative management strategies. *Theoretical and Applied Genetics* 103:1099-1107.
- Martínez, M. 1948. *Los Pinos Mexicanos*. 2^a ed. México. Ed. Botas. 368 p.
- Perry, J.P. Jr. 1991. *The Pines of Mexico and Central America*. Timber Press, Inc. Portland, Oregon. USA. 231 p.

- Pardos, J.A. y L. Gil. 1986. Los huertos semillero: Estudios básicos para su establecimiento en España ICONA. Monografías 44. 128 p.
- Sáenz R., C., H. Nienstaedt and J.J. Vargas H. 1994. Performance of *Pinus patula* genotypes selected in South Africa and growing in their native Mexican environment. *Silvae Genetica* 43:73-81.
- Velázquez M., A., G. Ángeles Pérez, T. Llanderal O., A.R. Román J. y J.V. Reyes H. 2004. Monografía de *Pinus patula*. SEMARNAT/CONAFOR. Colegio de Postgraduados. Zapopan, Jal. 425 p.
- Valencia M., S. y J.J. Vargas H. 2001. Correlaciones genéticas y selección simultánea del crecimiento y densidad de la madera de *Pinus patula*. *Agrociencia* 35: 109-119.
- Wright, J.A, L.F. Osorio and W.S. Dvorak. 1995. Recent developments in a tree improvement program with *Pinus patula* in Colombia. *Forest Ecology and Management* 72: 229-234.
- Weir, R. and B.J. Zobel 1975. Advanced generation seed orchards. *In: Seed Orchards*. R. Faulkner (Ed.). Forestry Commission Bulletin N° 54. London. pp: 118-127.
- Xie, C.Y., J. Woods and M. Stoehr. 1994. Effects of seed orchard inputs on estimating effective population size of seedlots; A computer simulation. *Silvae Genetica* 43: 145-154.
- Zobel, B.J. y J. Talbert. 1988. Técnicas de Mejoramiento Genético de Árboles Forestales. Limusa, México, DF. 545 p.

CAPITULO II

VARIACIÓN CLONAL DE LA FENOLOGÍA REPRODUCTIVA EN UN HUERTO SEMILLERO ASEXUAL DE *Pinus patula*

RESUMEN

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. es una especie nativa de México de primordial importancia, de la que se ha iniciado su mejora genética, con el establecimiento de un huerto semillero clonal integrado por 83 clones ubicado a una elevación de 2800 m. Se evalúa la sincronía floral en una muestra de 157 rametos de 20 clones, a la edad de 8 y 9 años (2012 y 2013). Se determinó la fecha de inicio, fin y duración del periodo de receptividad y emisión de polen, y se cuantificó el grado de sincronización reproductiva para todas las posibles parejas de clones. El índice de sincronización fenológica indica un grado de cruzamiento aceptable en el proceso reproductivo de los clones evaluados. La receptividad de los estróbilos femeninos y la emisión de polen de estróbilos masculinos presentaron buena sincronización, con valores del índice de sincronización que variaron de 0.33 a 0.54 para la floración femenina y de 0.22 a 0.55 para la floración masculina de los diferentes clones. El grupo de clones con calidad genética superior tuvo un índice de sincronización fenológica (polen-óvulos) ligeramente mayor que los clones de menor calidad genética (0.48 vs. 0.40). La contribución de polen de los clones inferiores a los superiores fue moderada (PO = 0.46). El comportamiento de los clones fue muy estable en los dos años de evaluación en cuanto a la sincronización, inicio y duración de los eventos reproductivos, particularmente en la floración masculina. La producción de estróbilos femeninos fue muy sensible a las bajas temperaturas ocurridas en el 2013.

Palabras clave: Clones, huerto semillero, polinización, sincronización fenológica, receptividad.

**CLONAL VARIATION OF REPRODUCTIVE PHENOLOGY IN AN ASEXUAL
SEED ORCHARD OF *Pinus patula***

SUMMARY

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. is a native tree species of Mexico of huge importance. A breeding program was started with the establishment of clonal seed orchard composed of 83 clones located at 2800 m asl. Floral synchrony is evaluated on a sample of 157 ramets from 20 clones, at the age of 8 and 9 years (2012 and 2013). Start date, end and duration of receptivity period and pollen emission were determined, and the degree of reproductive synchronization for all possible pairs of clones was quantified. The phenological synchronization index indicates a acceptable degree of mating of the clones evaluated. The receptivity of the female strobili and pollen emission male strobili showed good synchronization; the synchronization index for female strobili production exhibited values ranging from 0.33 to 0.54 and for the male flowering from 0.22 to 0.55. The group of genetically superior clones exhibited an index of phenological synchronization (PO) of 0.48, meanwhile among the lower genetic quality clones was of 0.40, thus less synchronization. The contribution of pollen from lower genetic quality-clones to superior clones was moderate (PO=0.46). Overall a repeatability of clones between years in the timing, onset and duration of reproductive events was detected particularly on male strobili. Female strobili production was very sensitive to low temperatures during 2013.

Key words: Clones, phenological synchronization, pollination, receptivity, seed orchard.

INTRODUCCIÓN

Para establecer plantaciones forestales es necesario contar con un suministro suficiente de germoplasma que genere plantas de crecimiento superior al de los bosques naturales (Zobel y Talbert, 1988). La creciente demanda de semilla, las dificultades inherentes a la recolección de germoplasma de masas forestales naturales degradadas y la necesidad de emplear material genéticamente mejorado, dio lugar al establecimiento de huertos semilleros en Gran Bretaña y Estados Unidos (Pardos y Gil, 1986). Desde entonces, debido a las ventajas de este tipo de unidades productoras de germoplasma, la mayoría de los programas de mejora genética en especies forestales se han centrado en la creación de huertos establecidos con clones de árboles seleccionados (Hopkins y Hutcher, 1994).

El objetivo principal de un huerto semillero es proporcionar semilla de calidad genética superior para la reforestación, la que depende del valor genético de los progenitores (Kang *et al.*, 2001). La valía genética de la semilla está determinada desde el momento en que se seleccionan los progenitores; sin embargo, la inadecuada producción y sincronización de los estróbilos femeninos y masculinos, así como la auto-fecundación y la presencia de polen externo de menor calidad pueden evitar que se alcance el potencial del huerto (Ericksson *et al.*, 1973). Las diferencias en la fenología floral entre individuos generan un desbalance en la contribución genética de los mismos, lo que puede reducir o eliminar la contribución de algunos genotipos en la cosecha de semillas. Entre menor sea la sincronización fenológica, menor es el tamaño efectivo de la población y la diversidad

genética de la semillas del huerto, aumentando la probabilidad de autopolinización (Burczyk y Chalupka, 1997). Por otra parte, determinar la sincronización floral es fundamental para tomar decisiones sobre el manejo del huerto como son los aclareos o el uso de polinización controlada para subsanar la falta de participación de clones que no estén sincronizados (El-Kassaby y Ritland, 1986; Blush *et al.*, 1993).

En el 2001 se inició un programa de mejoramiento genético para *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. en la región de Aquixtla, Puebla, en el cual se incluyó el establecimiento en el 2003 de un huerto semillero clonal a partir de la selección fenotípica de árboles en los rodales naturales de la zona. Este huerto pretende satisfacer las necesidades de semilla mejorada para el establecimiento de plantaciones forestales en la región con un material de calidad genética elevada. El presente trabajo se realizó con los objetivos de 1) determinar la variación fenológica en el desarrollo de estróbilos femeninos y masculinos entre clones; 2) comparar el tiempo de la emisión de polen y receptividad femenina en los clones durante dos ciclos reproductivos sucesivos; y 3) evaluar la sincronía entre la emisión de polen y la receptividad de estróbilos femeninos entre clones de calidad genética superior e inferior.

MATERIALES Y MÉTODOS

En septiembre del año 2003 se estableció un huerto semillero clonal de *Pinus patula* var. *patula* en el “Conjunto Predial Forestal”, municipio de Aquixtla, Puebla, inicialmente con una población de 1230 individuos de 95 clones, seleccionados fenotípicamente considerando la rectitud, altura y volumen del fuste, la presencia de buena poda natural y sanidad. Al momento de iniciar el estudio de fenología reproductiva, el huerto contaba con un total de 663 rametos de 83 clones distintos.

El huerto se ubica en las coordenadas 19° 34' 13" LN y 97° 59' 20" LO, a una elevación de 2800 m, sobre un tipo de suelo primario Andosol húmico y asociado a éste Litosol como secundario (INEGI, 2000), en un bosque de *P. patula-Abies religiosa* (Kunth) Schltdl. et Cham. La plantación en el huerto semillero se realizó a un espaciamiento de 3 x 3 m, bajo un diseño completamente al azar, con diferente número de rametos por clon, con la restricción de no dejar rametos del mismo clon cerca uno de otro.

En la primavera del 2012 y 2013 se evaluó el desarrollo de las estructuras femeninas y masculinas en 157 rametos de 20 clones, 24 % del total de la población del huerto semillero. Con base en los resultados de dos ensayos de progenie de ocho años de edad establecidos en la zona, se identificaron los 10 clones de crecimiento mayor y menor, respectivamente, con el propósito de comparar la fenología entre estos dos grupos de clones con calidad genética distinta. Debido a diferencias en la supervivencia y compatibilidad de los injertos a esta edad, el número de rametos en este grupo de 20 clones varió entre 5 y 8; las observaciones fueron realizadas en los mismos individuos durante los dos años.

La fenología reproductiva fue evaluada en cada rameto entre fines de enero y principios de abril de ambos años; para los estróbilos masculinos se muestrearon nueve ramas marcadas en la parte baja de la copa y para los femeninos en nueve ramas en la parte media y alta del árbol. Se realizaron observaciones cada cinco días durante 10 semanas hasta que el polen fue liberado completamente y las escamas de los estróbilos femeninos se cerraron, indicando el fin del periodo de receptividad (Codesido *et al.*, 2005). En los árboles de mayor tamaño la observación de los estróbilos femeninos se hizo con el apoyo de binoculares de 15 aumentos x 50 mm de diámetro en los lentes frontales.

Se identificaron cuatro etapas fenológicas de las estructuras femeninas (Matziris, 1994); 1: la yema vegetativa se vuelve cilíndrica y aumenta de tamaño; en la base aparecen las yemas reproductivas cubiertas aún por catáfilos; 2: la parte apical de la yema comienza a abrirse, el estróbilo emerge, los óvulos no están receptivos pero los granos de polen pueden quedarse entre las escamas y, si sobreviven hasta la siguiente etapa, pueden fertilizar; 3: las escamas se separan gradualmente hasta formar un ángulo recto con el eje del estróbilo, los granos de polen pueden penetrar con facilidad entre las escamas y alcanzar los óvulos, siendo el estado de máxima receptividad; 4: las escamas aumentan de tamaño y grosor de manera que el polen ya no puede atravesar, cesando la receptividad (Figura 2.1, arriba).

Las estructuras masculinas se separaron en cuatro etapas fenológicas (Codesido y Merlo, 2001); 1: los estróbilos masculinos en la base de la yema vegetativa con los sacos polínicos cubiertos por catáfilos; 2: ocurre el alargamiento de los estróbilos que emergen y quedan al descubierto de los catáfilos; 3: los estróbilos siguen elongándose hasta adquirir un color amarillo, y ocurre la liberación de polen; 4: termina por completo la emisión de polen, los sacos polínicos se marchitan y los estróbilos caen (Figura 2.1, abajo).



Figura 2.1. Etapas fenológicas femenina (arriba) y masculina (abajo) identificadas y usadas para determinar la sincronización en el huerto semillero clonal de *Pinus patula* Schiede ex Schtdl. et Cham.

Análisis de los datos

Los datos fenológicos se presentan como fenogramas representados por bandas en una línea de tiempo, en la cual una proporción de estróbilos se encuentra en una determinada etapa fenológica. De manera empírica la superposición de la emisión de polen y receptividad de estróbilos femeninos es difícil de cuantificar y distinguir, razón por la que se calculó el índice de sincronización fenológica, PO_{ij} (Askew y Blush, 1990), el cual permite cuantificar la similitud de los fenogramas masculinos y femeninos. Para cuantificar el grado de sincronización entre todos los pares de apareamiento de los clones evaluados en el huerto semillero de *Pinus patula* se empleó el programa SYNCHRO con el paquete estadístico SAS (SAS Institute, 2002), el cual facilitó el procesamiento de los datos fenológicos y permitió el cálculo de varios índices de sincronización fenológica; con estos datos se construyeron

fenogramas femeninos y masculinos, que son representaciones en forma de bandas que indican el grado de receptividad femenina o la dispersión de polen en una fecha determinada (Matziris, 1994; Zas *et al.*, 2003). Las gráficas de sincronía se realizaron para toda la muestra del huerto y para cada uno de los dos grupos de clones (calidad genética superior vs. inferior).

En cada rameto se determinó el porcentaje de receptividad femenina y el porcentaje de dispersión de polen correspondiente a cada etapa para cada fecha de observación (Cuadro 2.1), datos que se procesaron con el programa. Se estimó el inicio, el fin y la duración del periodo de receptividad femenina y de emisión de polen para cada rameto y clon. Además se calculó el índice de sincronización fenológica (Askew y Blush, 1990) para estimar la capacidad de cruzamiento entre todas las parejas posibles de la muestra de clones, y entre los de cada grupo de clones con diferente calidad genética.

Cuadro 2.1. Etapas fenológicas reproductivas registradas en porcentaje para determinar sincronía de 20 clones evaluados en el huerto semillero clonal de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. *et* Cham.

Etapas fenológicas masculinas			Etapas fenológicas femeninas		
Etapas	Descripción	Emisión de polen (%)	Etapas	Descripción	Receptividad (%)
1	Yema en desarrollo cubierta por catáfilos	0	1	Yema en desarrollo, cubierta por catafilos	0
2	Alargamiento de estróbilos masculinos	0	2	Escamas ovulíferas visibles	20*
3	Emisión de polen	100	3	Escamas ovulíferas forman ángulo con el eje	100
4	Fin de emisión de polen	0	4	Escamas ovulíferas engrosan y cierran	0

*Los óvulos no están receptivos, pero los granos de polen pueden quedarse entre las escamas de la yema, y si sobreviven pueden penetrar a través de la escama y fertilizar (Matziris, 1994).

RESULTADOS

Variación fenológica de la floración

El periodo de receptividad de los óvulos en los clones evaluados en el huerto semillero tuvo una duración promedio de 25 días en el año 2012, mientras que el de dispersión de polen fue de 20 días (Cuadro 2.2). El primer estróbilo femenino receptivo se registró el 10 de febrero y el último el 1 de abril; el periodo de máxima receptividad individual duró de 3 a 10 días. En el año 2013 el proceso de desarrollo de los estróbilos femeninos fue afectado por las heladas de los días 2 y 3 de marzo, con temperaturas mínimas de -6.6 y -7.1°C, respectivamente, lo que ocasionó el cese del desarrollo de estos estróbilos (Cuadro 2.2). En el 2013, el periodo de receptividad de los estróbilos femeninos fue de 18 días, antes de ocurrir las heladas, teniendo su inicio el 8 de febrero con el primer estróbilo receptivo. La emisión de polen duró 27 días en promedio (Cuadro 2.2).

Cuadro 2.2. Inicio y fin en días julianos y duración del periodo de receptividad de los estróbilos femeninos y emisión de polen de los estróbilos masculinos a nivel de rameto durante los ciclos 2012 y 2013.

Estróbilo	Etapa	2012			2013		
		Media	Mínimo	Máximo	Media	Mínimo	Máximo
Femenino	Inicio	56	51	62	43	41	45
	Fin	81	77	86	61*	61*	62*
	Duración (días)	25	21	30	-	-	-
Masculino	Inicio	61	54	68	52	50	55
	Fin	81	77	86	80	74	84
	Duración (días)	20	12	29	27	14	30

*En estas fechas se presentaron heladas que dañaron a los estróbilos femeninos.

Sincronía fenológica

La receptividad de los estróbilos femeninos y la emisión de polen usando los datos de todos los rametos evaluados en el huerto semillero de *Pinus patula* en el año 2012 presentan una sincronización adecuada, con excepción de las primeras dos semanas en que no hay liberación de polen (Figura 2.2). La receptividad inició el día 10 de febrero, extendiéndose hasta el día 1 de abril, la máxima receptividad, 57 %, se alcanzó el 18 de marzo. La emisión de polen inició el 24 de febrero, 14 días después de iniciada la receptividad, extendiéndose hasta el día 3 de abril. La máxima emisión de polen, 56 %, se obtuvo el 18 de marzo. Lo que indica que en promedio en el huerto semillero clonal la emisión de polen y la receptividad de los estróbilos femeninos presentaron una adecuada sincronización. La amplitud del periodo de emisión de polen fue menor que el de receptividad, lo que puede propiciar contaminación de polen externo durante este periodo, o un aumento en la producción de óvulos abortivos. En el año 2013 el proceso fue afectado por la helada que interrumpió el desarrollo de los estróbilos femeninos que se encontraban en el periodo de receptividad. Las bajas temperaturas tuvieron menor efecto en los estróbilos masculinos. La emisión de polen inicio el 17 de febrero, 9 días después de iniciada la receptividad de los estróbilos femeninos que ocurrió el 8 de febrero, y tuvo una duración promedio de 18 días hasta el 2 y 3 de marzo, cuando se presentaron las heladas. Aunque en el 2013 se apreció un retraso en el desarrollo de las estructuras masculinas, el periodo de receptividad y emisión de polen tuvo un comportamiento similar al del 2012.

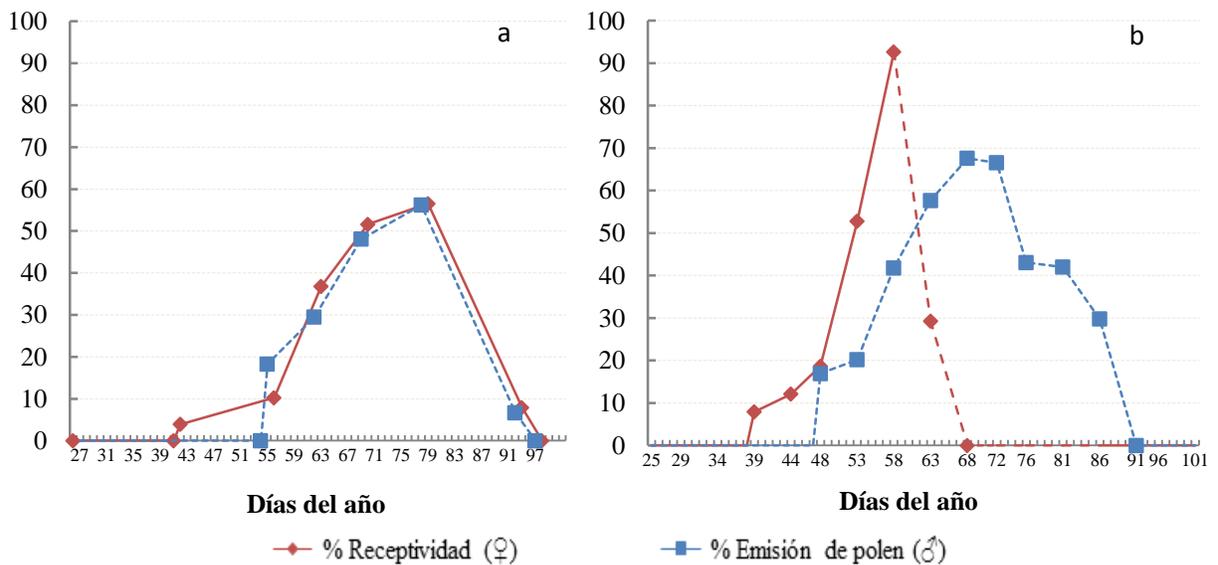


Figura 2.2. Sincronización fenológica (porcentaje de estróbilos femeninos receptivos y de estróbilos masculinos en fase de emisión de polen) a lo largo del periodo de evaluación a) 2012 y b) 2013 para el grupo de clones de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. muestreados en el huerto semillero clonal.

Sincronización clonal

Durante el 2012 solo el 75 % de los clones muestreados formaron estróbilos femeninos y el 100 % de los clones generaron polen. Los clones del huerto semillero exhibieron una sincronía fenológica alta, excepto en las primeras semanas en donde hubo algunos clones que iniciaron temprano su periodo de receptividad sin haber dispersión de polen aún; en ese periodo inicial el porcentaje de clones con óvulos receptivos fue mayor que el de clones que liberan polen, pero a partir de la cuarta semana los valores son similares, en especial el 9 de marzo, cuando prácticamente todos los clones participaron (Figura 2.3).

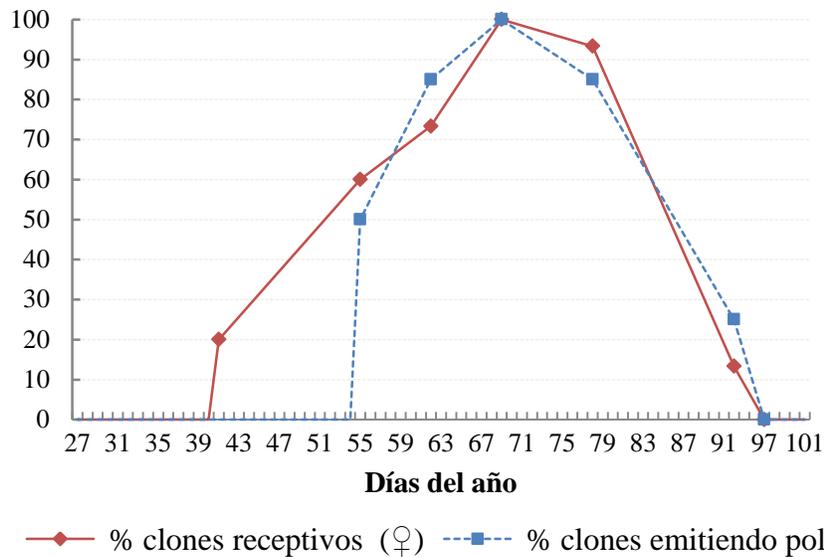


Figura 2.3. Sincronía fenológica (porcentaje de clones receptivos, ♀, y de clones con emisión de polen, ♂) en el ciclo 2012 en una muestra de 20 clones de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. del huerto semillero clonal.

Sincronía fenológica entre clones de calidad genética superior e inferior

En 2012, el 100 % de los clones de calidad genética superior participó produciendo polen; en este grupo sobresale el clon 54 por terminar pronto el proceso, aunque presentó un índice de sincronización fenológica promedio de 32 %. El 90 % de los clones de este grupo contribuyó con estróbilos femeninos receptivos, excepto el clon 34. El 100 % de clones de calidad genética inferior produjeron polen, sobresaliendo el clon 21 por terminar pronto con la emisión de polen; de este grupo solo el 60 % de los clones presentaron estróbilos femeninos receptivos, ya que los clones 29, 44, 46 y 85 no produjeron.

La receptividad de estróbilos femeninos para el grupo de genotipos superiores inició el 10 de febrero, extendiéndose hasta el 1 de abril; con una máxima receptividad de 52 % alcanzada del 9 al 18 de marzo. Para los de calidad genética inferior, el proceso inició en la misma fecha que el de los genotipos superiores, y alcanzó su máximo (61 %) el 18 de

marzo. Con respecto a la liberación de polen, los de calidad genética superior e inferior, iniciaron el 24 de febrero extendiéndose hasta el 1 de abril (36 días), con el máximo de emisión de polen el 18 de marzo para ambos grupos, 63% en los de calidad genética superior y 48% en los de inferior (Figura 2.4).

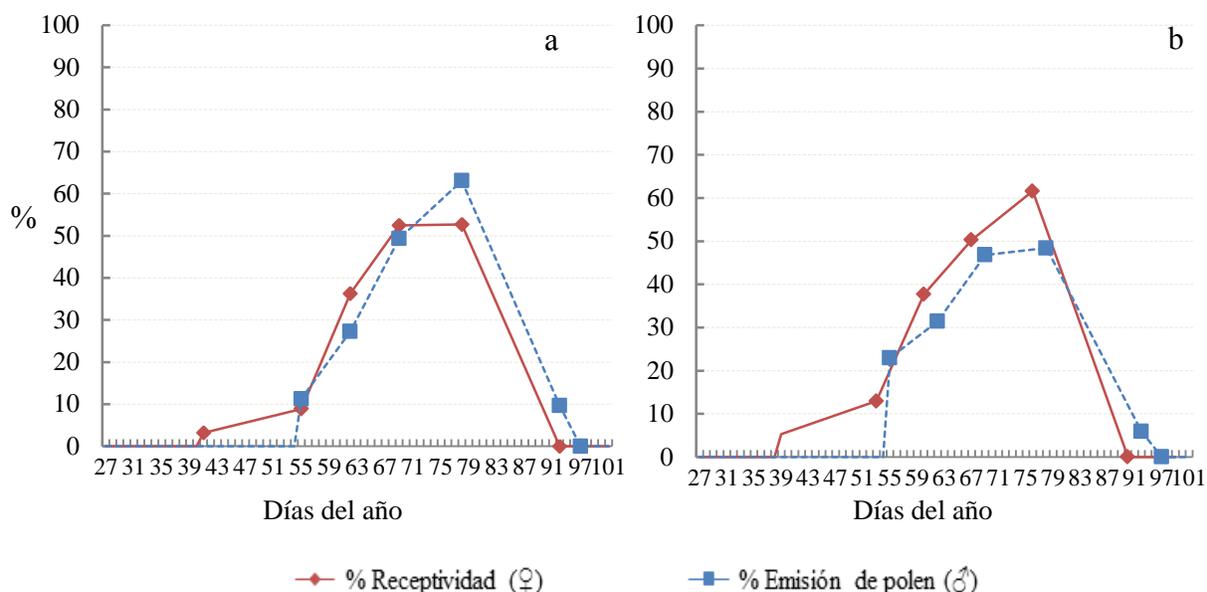


Figura 2.4. Sincronización fenológica (porcentaje de estróbilos femeninos receptivos y porcentaje de estróbilos masculinos en fase de emisión de polen) a lo largo del periodo de evaluación para los grupos de clones: a) clones superiores y b) clones inferiores de *Pinus patula* Schiede ex Schlttdl. et Cham. muestreados en el huerto semillero clonal.

Índice de sincronización fenológica a nivel de grupos

El índice de sincronización fenológica (PO_{ij}) para el grupo de clones de calidad genética superior estimado para el año 2012 resultó de 0.48, lo que indica una posibilidad alta de que el polen de este grupo fertilice los óvulos de los clones del mismo grupo. El índice promedio calculado para cada clon con floración femenina osciló de 0.38 a 0.57, y para floración masculina de 0.31 a 0.62. Estos valores favorecen la capacidad de

cruzamiento entre todas las posibles parejas del grupo de clones superiores. De este grupo el clon 36 tiene una alta sincronización masculina con la receptividad de óvulos del clon 60 ($PO_{ij}=0.95$). El grupo de calidad genética inferior presentó un índice de 0.40 en promedio y el índice para cada clon con floración femenina osciló de 0.32 a 0.48 y para la floración masculina varió de 0.24 a 0.51; dentro de este grupo, el clon 44 presentó una sincronización masculina alta con la receptividad de los clones 18 y 33. En general, el menor índice de sincronización fenológica fue de 0.07, entre la producción de polen del clon 21 con la receptividad de óvulos de los clones 36 y 60 (del grupo superior) y los clones 18 y 33 (del grupo inferior).

El índice de sincronización fenológica promedio entre los pares de clones resultó de 0.46 en ambas direcciones, ya sea polinizando estróbilos de clones inferiores con polen de calidad genética superior o lo contrario, polen de calidad genética inferior en estróbilos de clones superiores; lo último es más importante ya que indica que la contribución de polen de clones inferiores tiene probabilidad de reducir la calidad genética de la semilla en los clones superiores, aun considerando solo la recolecta de conos de estos para mejorar la calidad de la planta producida para la reforestación (Cuadro 2.3).

Cuadro 2.3. Índice de sincronización fenológica (PO) para cada pareja de clones en cuatro combinaciones de los grupos de clones superiores e inferiores de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. en el huerto semillero evaluado en 2012, los valores varían de 0 (sin participación) a 1 (máxima). En la parte inferior y derecha de cada combinación se indica los valores promedio del índice de sincronía fenológica de los clones participando como masculino ($PO♂$) o como femenino ($PO♀$).

Participación con estróbilos masculinos																								
Clones	Clon superior ♀ x clon superior ♂											$PO♀$	Clon superior ♀ x clon inferior ♂											$PO♀$
	12	34	36	54	58	60	76	110	116	117	18		21	29	33	40	44	46	63	85	112			
12		0.38	0.29	0.21	0.83	0.60	0.65	0.52	0.49	0.42	0.49	0.40	0.14	0.76	0.36	0.64	0.30	0.49	0.29	0.57	0.55	0.45		
34	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
36	0.44	0.89		0.09	0.33	0.21	0.44	0.20	0.70	0.62	0.44	0.68	0.07	0.29	0.08	0.27	0.97	0.27	0.14	0.58	0.21	0.36		
54	0.42	0.27	0.18		0.54	0.75	0.55	0.82	0.37	0.29	0.47	0.28	0.43	0.58	0.59	0.65	0.19	0.73	0.67	0.42	0.62	0.52		
58	0.44	0.36	0.26	0.47		0.69	0.58	0.72	0.46	0.40	0.49	0.38	0.34	0.62	0.48	0.69	0.27	0.91	0.58	0.44	0.57	0.53		
60	0.44	0.89	0.95	0.09	0.33		0.44	0.20	0.70	0.62	0.52	0.68	0.07	0.29	0.08	0.27	0.97	0.27	0.14	0.58	0.21	0.36		
76	0.61	0.31	0.22	0.34	0.73	0.77		0.70	0.43	0.35	0.50	0.33	0.24	0.78	0.53	0.84	0.23	0.65	0.44	0.52	0.85	0.54		
110	0.31	0.25	0.15	0.65	0.41	0.61	0.42		0.31	0.28	0.38	0.26	0.48	0.45	0.52	0.51	0.17	0.67	0.76	0.30	0.50	0.46		
116	0.73	0.50	0.40	0.28	0.68	0.58	0.86	0.54		0.56	0.57	0.53	0.20	0.63	0.44	0.64	0.42	0.52	0.37	0.73	0.67	0.52		
117	0.44	0.15	0.06	0.45	0.58	0.73	0.42	0.71	0.24		0.42	0.16	0.33	0.63	0.68	0.61	0.08	0.55	0.46	0.31	0.57	0.44		
$PO♂$	0.48	0.50	0.31	0.32	0.55	0.62	0.55	0.55	0.46	0.44	0.48	0.41	0.26	0.56	0.42	0.57	0.40	0.56	0.43	0.49	0.53	0.46		
Participación con estróbilos femeninos																								
Clones	Clon inferior ♀ x clon superior ♂											$PO♀$	Clon inferior ♀ x clon inferior ♂											$PO♀$
	12	34	36	54	58	60	76	110	116	117	18		21	29	33	40	44	46	63	85	112			
18	0.44	0.89	0.95	0.09	0.33	0.21	0.44	0.20	0.70	0.62	0.49		0.07	0.29	0.08	0.27	0.97	0.27	0.14	0.58	0.21	0.32		
21	0.64	0.59	0.52	0.17	0.64	0.49	0.58	0.42	0.60	0.44	0.51	0.48		0.59	0.29	0.50	0.53	0.39	0.24	0.61	0.43	0.45		
29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
33	0.44	0.89	0.95	0.09	0.33	0.21	0.44	0.20	0.70	0.62	0.49	0.68	0.07	0.29		0.27	0.97	0.27	0.14	0.58	0.21	0.39		
40	0.48	0.34	0.23	0.32	0.59	0.55	0.60	0.66	0.48	0.41	0.47	0.39	0.21	0.63	0.39		0.25	0.74	0.46	0.48	0.69	0.47		
44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
63	0.20	0.18	0.12	0.71	0.28	0.46	0.30	0.45	0.20	0.26	0.32	0.25	0.57	0.30	0.52	0.35	0.13	0.48		0.19	0.36	0.35		
85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
112	0.56	0.26	0.18	0.37	0.71	0.85	0.54	0.76	0.36	0.29	0.49	0.28	0.27	0.75	0.54	0.73	0.19	0.68	0.45	0.43		0.48		
$PO♂$	0.46	0.53	0.49	0.29	0.48	0.46	0.48	0.45	0.51	0.44	0.46	0.42	0.24	0.48	0.36	0.42	0.51	0.47	0.29	0.48	0.38	0.40		

Índice de sincronización fenológica general

El índice de sincronización fenológica (PO_{ij}) de los 20 clones seleccionados solo se estimó para el año 2012 y resultó de 0.45 en promedio; el valor promedio calculado para cada clon con floración femenina varió de 0.33 a 0.54 y para la floración masculina varió de 0.25 a 0.55. Estos valores indican que existe un índice de sincronización moderado con la mayoría de los clones del huerto, tomando como referencia que el valor máximo de sincronización fenológica de 1 es difícil de obtener. El análisis de los datos indica que el polen de un clon participa en la polinización de óvulos de los otros clones en el huerto, así mismo los óvulos de un clon son polinizados por polen de varios clones. Lo que indica una aproximación moderada a la panmixia en el huerto.

Los valores de índice de sincronización fenológica indican una sincronía parcial con respecto al máximo teórico ($PO = 1$), debido principalmente a las fallas en floración femenina de los clones 29, 34, 44, 46 y 85. El 75 % restante de la muestra que produjeron óvulos tuvieron oportunidad de polinizarse; los clones con mayor posibilidad de serlo son el 116, 76 y 58, con valores de 0.54, 0.52 y 0.51, respectivamente. Por otro lado, el 100 % de los clones tuvieron la posibilidad de polinizar a los demás. Los clones que presentaron mayor participación como polinizadores con el resto fueron el 60, 29, 46, 40, 58 y 76, con valores de sincronía de 0.55, 0.53, 0.53, 0.52, 0.52 y 0.52, respectivamente. Los menos sincronizados como polinizadores fueron el 54 y el 21, con valores de 0.31 y 0.25, siendo clones que concluyeron la liberación de polen antes que los demás y solo 60% de sus rametos produjeron polen, pero la amplitud del periodo de liberación de polen fue reducida.

La variación entre clones con respecto al inicio, duración y fin de la emisión de polen y la receptividad de estróbilos femeninos es evidente en los fenogramas (Figura 2.5), que indican los periodos de receptividad de estróbilos femeninos y de liberación del polen en cada uno de ellos. En este proceso destacan dos clones de los de menor calidad genética (de los 83 clones representados en el huerto) por tener un periodo temprano de emisión de polen, el 54 y el 21, que termina mucho antes que el resto de los clones; el clon 21 se comportó igual de precoz en los dos años de evaluación. Ambos clones son los que tienen un menor índice de sincronización fenológica con el periodo de receptividad de los otros clones. Sin embargo, estos clones tienen una adecuada sincronización en la receptividad de sus óvulos con respecto a la liberación del polen de los otros clones. Por otro lado, la falta de producción de estróbilos femeninos de los clones 29, 34, 44, 46 y 85, y que por tanto no participaron como hembras al momento de la liberación de polen, reduce los pares de apareamiento para el conjunto de clones del huerto.

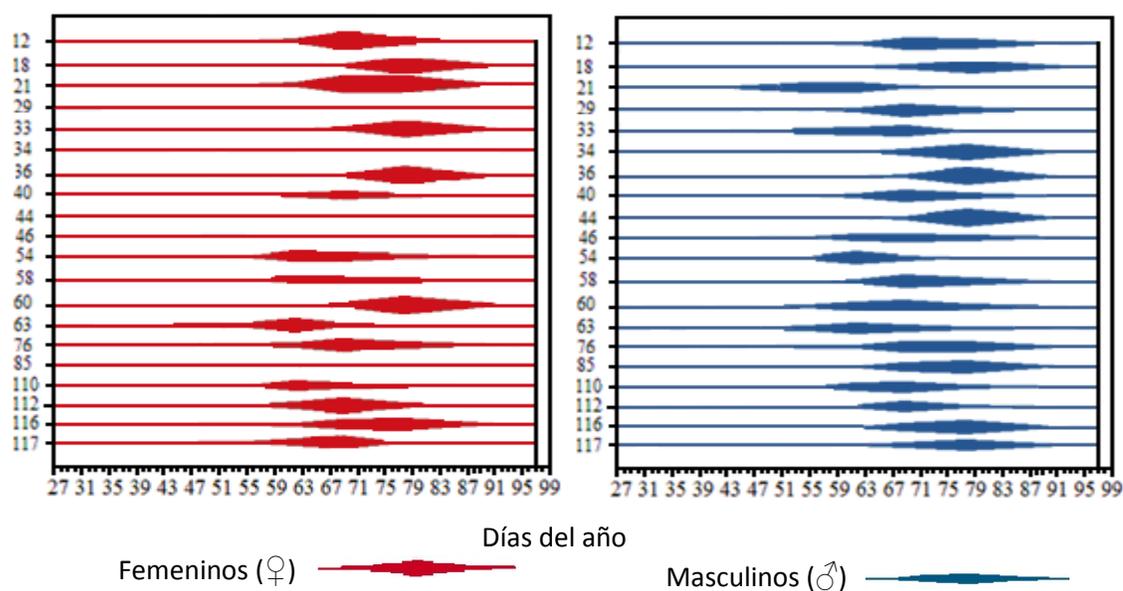


Figura 2.5. Fenogramas de estróbilos femeninos y masculinos de 20 clones de *Pinus patula* Schiede ex Schldl. et Cham. en el huerto semillero clonal evaluados en 2012. El ancho de las líneas horizontales en una fecha determinada representa el porcentaje total de receptividad o emisión de polen.

En general la secuencia de la aparición de los estróbilos masculinos entre los clones evaluados fue similar entre años ($r=0.69$, $P=0.001$); esto es, clones que inician primero a florecer en el primer año también lo fueron en el segundo. En el inicio de la floración femenina no se encontró una correlación significativa entre años. En la terminación de la floración masculina hay moderada repetitividad de los clones entre años ($r=0.43$, $p=0.06$), pero no así en la duración del periodo de floración masculina de los clones entre años. Los clones que iniciaron más temprano a producir estróbilos masculinos tendieron a durar más ya que terminaron más tarde, lo que indica una correlación negativa entre inicio y fin de la floración masculina ($r= -0.67$, $p=0.001$).

DISCUSIÓN

La fenología de la floración en el huerto semillero clonal dentro de cada año se caracterizó por un aumento gradual en el número de clones receptivos en el periodo de evaluación; al inicio del periodo de receptividad de los estróbilos femeninos existió una marcada ausencia de polen, lo que aumenta las posibilidades de una menor proporción de semillas llenas en esos estróbilos. La emisión de polen comenzó con un aumento gradual que se mantiene sensiblemente por debajo de los valores de receptividad femenina en las primeras semanas, pero ambos valores coincidieron a mediados del periodo, cuando se alcanzó la máxima receptividad de los óvulos.

Los resultados obtenidos coinciden con los encontrados en *Pinus radiata* D. Don (Griffin, 1984; Lario *et al.*, 2001) y *P. sylvestris* L. (Burczyk y Chalupka, 1997; Sarvas, 1962), en los cuales la floración femenina inicia antes que la masculina. La duración del periodo receptivo del grupo de clones evaluados en el huerto semillero clonal de *P. patula* para el año 2012 fue de 25 días, el cual es menor al reportado para *P. radiata* de 35 días (Codesido *et al.*, 2005; Matziris, 1994) y de *Picea sitchensis* (Bong.) Carr. el cual fue de 33 días (El-Kassaby y Reynolds, 1990); en *Pseudotsuga mensiezii* (Mirb.) Franco se reportaron 30 días (El-Kassaby *et al.*, 1984) y para *Pinus sylvestris* 31 días (Jonsson *et al.*, 1976). La menor duración de la floración en el huerto semillero de *P. patula* puede atribuirse a que los materiales provienen de una región reducida en comparación a los citados que provienen de una región más amplia. En otras palabras se esperaría más sincronización en este huerto por ser de la misma área geográfica de origen.

La floración individual a nivel de rametos de *P. patula* presentó una duración de 3 a 10 días, la mayor variación entre rametos del mismo clon permite que el periodo de floración del clon sea más amplio y que haya una mayor participación como madre o padre en el proceso de recombinación con otros clones del huerto, aunque pudiera reducirse la cantidad de polen emitido por día, si la cantidad de amentos no varía con la amplitud de esta liberación del polen. Este valor a nivel de rametos es similar al reportado para *P. nigra* Arn. de 9 días (Alizoti *et al.*, 2010), y coincide con el reportado por Matziris (1994) para la misma especie (2 a 10 días), pero es menor al mencionado por Lill y Sweet (1977) para *P. radiata* (2 a 13 días), y mayor al de 2 a 3 días para *P. nigra* (Vidacovic, 1974). Los valores obtenidos para cada grupo de clones favorecen una participación adecuada de éstos en la producción de semilla. Aunque el valor máximo de sincronización fenológica que se puede obtener es 1, este valor es difícil de obtener debido a la variación natural en la floración de los clones; en el año 2012, en la primera evaluación, el índice promedio de sincronización fenológica (estimado de acuerdo con el procedimiento de Askew y Blush, 1990) fue de 0.45 en el grupo de 20 clones muestreados, el cual es ligeramente mayor al valor de 0.41 reportado para *P. sylvestris* a los 17 años de edad (Burczyk y Chalupka, 1997). Este valor es consistente con el obtenido en *P. pinaster* Ait. a 9 años (Zas *et al.*, 2003) y menor al de 0.59 reportado por Alizoti *et al.* (2010) para *P. nigra*. Al inicio de la evaluación 2013 se observó mayor participación clonal en la producción de estróbilos femeninos y masculinos, aumento que fue afectado por las heladas presentadas en el mes de marzo, que propiciaron el cese de la receptividad con la muerte de un 84 % de la producción de estróbilos femeninos. Esto afectó de manera directa el proceso reproductivo en el huerto para ese año.

La evaluación del huerto semillero clonal de *Pinus patula* a 8-9 años de edad indica que pese a que algunos clones no produjeron estróbilos femeninos, los índices de sincronización fenológica femenina se mantuvieron por arriba de 33 %. La falta de polen al inicio del periodo receptivo es un factor importante que incrementa la posibilidad de contaminación de polen externo (en caso de existir fuentes de producción de polen) y reduce el intercambio de genes al azar entre clones; en consecuencia, se reduce el tamaño efectivo de la población del huerto y la base genética de la semilla producida en el huerto. Los clones 21 y 54 presentaron niveles bajos de sincronización con respecto a los otros clones del huerto debido a que terminaron temprano la emisión de polen; a pesar de que la producción de estróbilos masculinos en estos clones fue alta, su participación como padres se reduce por terminar pronto con la liberación de polen; sin embargo estos clones también tuvieron una participación adecuada como madres en la producción de semilla, con una buena sincronización con los otros clones del huerto. Si este problema fuera generalizado, se podría aplicar hormonas para estimular la producción de primordios florales, usar polinización masiva, o emplear cruza controladas para maximizar la participación de los clones en la producción de semilla y aumentar la base genética de la semilla producida en el huerto a estas edades.

CONCLUSIONES

La emisión de polen y la receptividad de estróbilos femeninos de los clones de *Pinus patula* a los 8-9 años de edad estuvieron en general sincronizados, favoreciendo el cruzamiento entre todos los clones representados en el huerto semillero.

La variación entre la maduración de estróbilos masculinos y femeninos dentro de los rametos de los clones, ocasiona una mayor amplitud en el periodo de emisión de polen y receptividad dentro del huerto, lo que favorece una mayor posibilidad de entrecruzamiento entre los clones.

Existe una sincronización fenológica aceptable dentro del grupo de clones de calidad genética superior, que fue ligeramente superior a la de los clones de calidad inferior dentro del huerto.

En general se encontró una adecuada repetitividad entre años en el inicio y fin de la floración masculina; los clones más precoces en el año tienden a durar más floreciendo. No hubo relación en la floración femenina entre los dos años evaluados, y fue afectada drásticamente por las bajas temperatura del segundo año de evaluación.

La amplia participación clonal dentro del huerto semillero, asegura una variabilidad genética suficiente en la semilla producida.

LITERATURA CITADA

- Alizoti, P.G., K. Kilimis and P. Gallios. 2010. Temporal and spatial variation of flowering among *Pinus nigra* Arn. clones under changing climatic conditions. *Forest Ecology and Management* 259: 786-797.
- Askew, G.R. and D. Blush. 1990. Short note: An index of phenological overlap in flowering for clonal conifers seed orchards. *Silvae Genetica* 39: 168-171.
- Blush, T. D., D.L. Bramlett and Y.A. El-Kassaby. 1993. Reproductive phenology of seed orchards. *USDA Agriculture Handbook* 698. Washington DC. pp: 15-23.
- Burczyk, J. and W. Chalupka. 1997. Flowering and cone production variability and its effects on parental balance in a Scots pine clonal seed orchard. *Annals of Forest Science* 54: 129-144.
- Codesido, V. y E. Merlo. 2001. Caracterización fenológica del huerto semillero de *Pinus radiata* de Sergude. III Congreso Forestal Español. Actas del Congreso. Tomo III: 69-74.
- Codesido, V., E. Merlo and J. Fernández L. 2005. Variation in reproductive phenology in a *Pinus radiata* D. Don seed orchard in northern Spain. *Silvae Genetica* 54: 246- 255.
- El-Kassaby, Y.A. and K. Ritland. 1986. The relationship of outcrossing rate to reproductive phenology and supplemental mass pollination in a Douglas-fir seed orchard. *Silvae Genetica* 35: 240-244.
- El-Kassaby, Y.A. and S. Reynolds. 1990. Reproductive phenology, parental balance, and supplemental mass pollination in Sitka spruce seed orchard. *Forest Ecology and Management* 31: 45-54.
- El-Kassaby, Y.A., A.M.K. Fashler and O. Sziklai. 1984. Reproductive phenology and its impact on genetically improved seed production in a Douglas-fir seed orchard. *Silvae Genetica* 33: 120-125.
- Ericksson, G., A. Jonsson and D. Lindren. 1973. Flowering in a clonal trial of *Picea abies* Karst. *Studia Forestalia Suecica* 110: 5-45.

- Griffin, A.R. 1984. Clonal variation in radiata pine seed orchards. 2. Flowering phenology. Australian Forest Research 14:271-281.
- Hopkins, E.R. and T.B. Hutcher. 1994. Improvement of *Pinus pinaster* Ait. in Western Australia. CALMScience 1: 159-242.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 2000. Síntesis geográfica del Estado de Puebla y anexos cartográficos. Aguascalientes, Ags. 124 p.
- Jonsson, A., I. Ekberg and G. Eriksson. 1976. Flowering in a seed orchard of *Pinus sylvestris* L. Studia Forestalia Suecica 135: 1-38.
- Kang, K.S., D. Lindgren and T.J. Mullin. 2001. Prediction of genetic gain and gene diversity in seed orchards crops under alternative management strategies. Theoretical and Applied Genetics 103:1099-1107.
- Lario, F.J., E. Merlo, J. Peñuelas y L. Gil. 2001. Variabilidad clonal de la fenología reproductiva y producción floral. Participación clonal en un huerto semillero de *Pinus nigra* Arnol *salzmanni* (Dunal) Franco. II Congreso Forestal Español. Tomo III: 539-545.
- Lill, B. and G. Sweet. 1977: Pollination in *Pinus radiata*. New Zealand Journal of Forestry Science 7: 21-34.
- Matziris, D.I. 1994. Genetic variation in the phenology of flowering in Black pine. Silvae Genetica 43: 321-328.
- Pardos, J.A. y L. Gil. 1986. Los huertos semillero: Estudios básicos para su establecimiento en España. ICONA, monografías 44. 128 p.
- SAS (Statistical Analysis System) Institute. 2002. SAS/STAT Computer Software. Release 9.00. SAS Institute Inc. Cary.
- Sarvas, R. 1962. Investigations on the flowering and seed crop in *Pinus sylvestris*. Communicationes Instituti Forestalis Fenniae 53:1-198.
- Vidacovic, M. 1974. Genetics of European black pine (*Pinus nigra* Arn.). Annales Forestales, Zagreb 6: 57-86.

- Zas, R., E. Merlo and J. Fernández L. 2003. Synchro: A SAS program for analysing the floral phenological synchronisation in seed orchards. *Silvae Genetica* 52: 212-215.
- Zobel, B.J. y J. Talbert. 1988. *Técnicas de Mejoramiento Genético de Árboles Forestales*. Limusa, México, DF. 545 p.

CAPITULO III

PRODUCCIÓN Y SUPERVIVENCIA DE ESTRÓBILOS Y CONILLOS

EN UN HUERTO SEMILLERO DE *Pinus patula*

RESUMEN

La cantidad, calidad y la diversidad genética de la semilla en los huertos semilleros depende de la magnitud y la variación en la producción de estróbilos y conillos de cada clon. Se evaluó la producción de estróbilos femeninos y conillos *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. en un huerto semillero en Aquixtla, Pue. integrado por 663 rametos de 83 clones durante el 2012. De los 83 clones establecidos 93 % tuvieron estróbilos femeninos y 58.8 % de los rametos produjeron este tipo de estróbilos. La producción promedio por rameto fue de 12 estróbilos femeninos y 7.7 conillos al fin del año. Del total de rametos que produjeron estróbilos 83 % lograron consérvalos hasta el fin de año, casi 37 % de los estróbilos abortaron, probablemente por la falta de polen y daños ambientales. El desbalance en la contribución de conillos entre y dentro de los clones es notable, 70 % de los estróbilos femeninos (5,548 de 7,927 totales) y 72.7 % de los conillos (3,645 de 5,023 totales) fueron de los clones 21 con mayor producción de conillos a fines del año La producción de estróbilos a nivel de rametos se asoció moderadamente con el diámetro del fuste ($r= 0.20$) y con la altura total del árbol ($r= 0.27$). A nivel de medias de clones, la producción de estróbilos y conillos no se asoció con el diámetro del fuste, pero si con la altura de los clones ($r=0.35$ y $r=0.29$, respectivamente), no así la supervivencia de los estróbilos.

Palabras Clave: Estróbilos femeninos, huertos semilleros, *Pinus patula*, producción de conos, variación clonal.

PRODUCTION AND SURVIVAL OF STROBILI AND CONELETS OF *Pinus patula* IN ASEXUAL SEED ORCHARD

SUMMARY

The amount, quality and the genetic diversity of genetically improved seed from a seed orchard rest on the magnitude and variation in the strobili and cone production from each clone. Strobili and conelets production from *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. was evaluated in 2012 in a seed orchard in Aquixtla, Pue. which was composed of 663 ramets of 83 clones. 93 % of the clones produced female strobili and 58.8% of ramets formed this type of strobili, almost 37% of strobili aborted, probably for lack of pollen and environmental damages. The average production per ramet was 12 female strobili and 83 % of the total ramets that produced strobili keep them alive until the end of the year. The imbalance among and inside clones in strobili and conelets production is prominent, 21 clones with the highest conelets production formed the 70 % of female strobili (5,548 of 7,927 total) and 72.7 % of conelets (3,645 of 5,023 total) at the end of 2012. Strobili production at the level of ramets was moderately associated with stem diameter ($r = 0.20$) and tree height ($r = 0.27$). At the level of clones, strobili and conelets production were not associated with the diameter of the stem, but with the height ($r = 0.35$ and $r = 0.29$, respectively), but not with the survival of conelets.

Key words: clonal variation, cone production, female strobili, *Pinus patula*, seed orchard.

INTRODUCCIÓN

Para establecer plantaciones forestales es necesario contar con un suministro suficiente de germoplasma que genere árboles de crecimiento superior al de los bosques naturales (Zobel y Talbert, 1988). La creciente demanda de semilla, las dificultades inherentes a la recolección de germoplasma de masas forestales degradadas y la predilección de emplear material genéticamente mejorado originó el establecimiento de huertos semilleros desde la década de los 1930's (Pardos y Gil, 1986). La producción suficiente de semillas genéticamente mejoradas es parte integral de los programas de mejoramiento genético, y los huertos semilleros son una fuente importante de semillas que constituyen el vínculo más trascendente entre el mejoramiento genético y las plantaciones forestales (Hopkins y Hutcher, 1994; White *et al.*, 2007).

El objetivo principal de un huerto semillero es proporcionar suficiente semilla de calidad genética superior para la reforestación, la que depende del valor genético de los progenitores y de que estos produzcan semilla viable (Ericksson *et al.*, 1973; Kang *et al.*, 2001). El conocer la magnitud y variación en la producción de conos en los huertos semilleros es importante para poder implementar actividades dirigidas a mejorar la producción de semilla (Ahmet y Ayan, 2008). La biología reproductiva del género *Pinus* en los huertos semilleros ha cobrado importancia en los últimos años (Kang, 2001; Bilir *et al.*, 2006), ya que se relaciona con la supervivencia y el desarrollo normal de un alto porcentaje

de conos, lo que es esencial considerando los costos que implica la pérdida de ellos y de las semillas que contienen (Ahmet, 2010).

Conocer la producción de estróbilos femeninos permite estimar la producción de conos y establecer acciones de manejo como es la fertilización y el control de plagas para tener una producción de semilla adecuada (Fogal, 1990). Además, es necesario cuantificar la producción individual de los árboles con la finalidad de identificar a los más productivos o bien determinar cuánto se aleja un huerto semillero de tener una producción balanceada, donde los clones y rametos de estos produzcan las mismas cantidades de estróbilos y conos (Simpson y Smith, 1998; Kang *et al.*, 2001), lo que genera mayor diversidad genética. Quizás más importante es identificar si los clones genéticamente superiores tiene deficiencia de producción de estróbilos y conos, o bien que la producción de estos se relaciona al tamaño físico del árbol, lo que puede manipularse con prácticas de cultivo (Bilir *et al.*, 2006).

En la región de Aquixtla, Puebla, se tiene en marcha un programa de mejoramiento genético para *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. var. *patula*, en el cual se incluyó el establecimiento de un huerto semillero clonal, con una población al año 2012 de 663 individuos de 83 clones obtenidos a partir de la selección fenotípica en la zona. Este huerto pretende satisfacer las necesidades de semilla mejorada para el establecimiento de plantaciones forestales en la región con material de calidad genética superior. Los objetivos del presente trabajo fueron: 1) evaluar en el ciclo 2012 la producción y supervivencia de estróbilos femeninos (conillos) en el huerto semillero asexual de *P. patula* a 10 años de establecido y 2) determinar el balance de la producción de estróbilos femeninos y conillos por clon y su relación con las dimensiones de estos y su rametos.

MATERIALES Y MÉTODOS

En septiembre del 2003 se estableció un huerto semillero asexual de *Pinus patula* en el “Conjunto Predial Forestal”, en el municipio de Aquixtla, Puebla. El huerto se ubica en las coordenadas 19° 34’ 13” LN y 97° 59’ 20” LO, a una elevación de 2,800 msnm en un bosque de *P. patula- Abies religiosa* (Kunth) Schltdl. & Cham. El tipo de suelo es Andosol húmico (INEGI, 2000). Inicialmente se seleccionaron fenotípicamente 95 árboles superiores considerando rectitud, altura y volumen del fuste, la presencia de buena poda natural y sanidad. Se realizaron injertos sobre planta de la especie producida de semilla recolectada en esta propiedad. Inicialmente el huerto contó con 1230 individuos (rametos) de los 95 individuos. La plantación en el huerto semillero se realizó a un espaciamiento de 3 x 3 m, bajo un diseño completamente al azar, con la restricción de no dejar rametos del mismo clon cerca uno de otro.

En el año 2012 después de cierta mortalidad por incompatibilidad, se realizó un primer aclareo genético con base en resultados de dos ensayos de progenie establecidos en la zona, quedando 663 rametos de 83 clones. Se realizaron deshierbes manualmente. A nueve y medio años de establecidos (diciembre del 2012) los injertos, los rametos presentan amplia variabilidad fenotípica en sus dimensiones, lo que dependió de éxito en la unión del injertado, los efectos genéticos del clon y del lugar en particular donde fue plantado (El-Kassaby y Cook, 1994). El diámetro del fuste a 1.3 m de altura promedio de los rametos fue de 13.1 cm y la altura total de 7.7 m.

Producción de estróbilos femeninos en la cosecha 2012

La cantidad y proporción de árboles productores de estróbilos femeninos se determinó a los nueve años de injertados y establecidos en campo, y se hizo con base en el número de árboles con estróbilos y el total de árboles del huerto. La evaluación se realizó en el mes de mayo del 2012 cuando los estróbilos en los rametos se encontraban en fase 4, es decir, con las escamas cerradas (Codesido *et al.*, 2005). Se cuantificó la producción de estróbilos de manera directa sobre cada árbol con el auxilio de un par de binoculares de 15 aumentos x 50 mm de diámetro en los lentes frontales. En diciembre del 2012, los estróbilos (conillos) fueron cuantificados una vez más para determinar la supervivencia de estróbilos generados durante la primavera en todos los árboles (rametos y clones) que comprenden el huerto semillero para conocer la variabilidad en la supervivencia y producción de los conillos entre clones y dentro de ellos. Con el fin de determinar alguna relación entre el tamaño del rameto y la producción de conillos se registró la altura y el diámetro para cada uno de los rametos y de los valores promedio de los clones a la edad de diez años y se correlacionó con la producción de conos.

Se realizó un análisis de varianza para determinar diferencias en la producción de estróbilos entre rametos y clones, y se hizo una comparación de los componentes de varianza para determinar donde se ubica la mayor fuente de variación de las dos fuentes para la producción de estróbilos, conillos y la supervivencia de estos últimos después de un ciclo de desarrollo.

RESULTADOS

Producción y supervivencia de estróbilos femeninos evaluados en 2012

En la primavera del 2012, a nueve años de establecido el huerto se registraron 390 de 663 rametos (58.8 %) con producción de estróbilos femeninos. Dos terceras partes de los rametos con producción se caracterizaron por tener 20 o menos estróbilos, 91 rametos produjeron de 21 a 50 estróbilos, 34 rametos produjeron de 51 a 100 estróbilos femeninos y solo cinco produjeron más de 100 estróbilos (Figura 3.1).

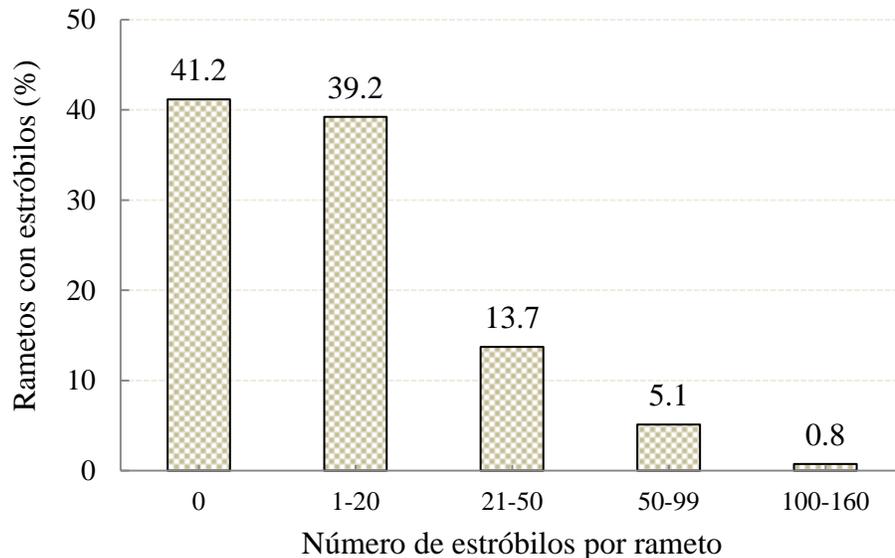


Figura 3.1. Porcentaje de rametos que produjeron estróbilos femeninos en un huerto semillero asexual de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. a los nueve años de edad (durante la primavera del 2012).

En promedio por rameto se produjeron 12 estróbilos femeninos con una amplia variabilidad (Cuadro 3.1), donde hubo un rameto con hasta 115 estróbilos. De los rametos que presentaron producción de estróbilos femeninos en abril del 2012, el 83 % de estos lograron conservarlos hasta fines de ese año (2012), esto es 16.7 % de los rametos que produjeron estróbilos no lograron mantenerlos durante el 2012, lo que da que 52.4 % de los

rametos tuvieron conillos vivos para fines del ese año. Se encontraron diferencias significativas entre clones con respecto a la producción de estróbilos femeninos y conillos (Cuadro 3.2). 9.53 a 19.0 cm y para altura de 5.8 y 9.9 m

Cuadro 3.1. Estadísticas descriptivas de la producción de estróbilos y conillos de un huerto semillero clonal de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. a 9 años de edad a nivel de rametos totales y por clones.

Variable	Media	Error estándar	Valores	
			Mínimo	Máximo
A nivel de rametos				
N rametos				
663 Diámetro (cm)	13.05	0.14	2.30	45.00
663 Altura (m)	7.70	0.06	1.85	12.5
663 Estróbilos	11.96	0.78	0	155
663 Conillos	7.58	0.58	0	118
390 Supervivencia de conillos (%)	54.92	4.1	0	100
A nivel de clones				
N clones				
83 Diámetro (cm)	13.04	0.19	9.5	19.0
83 Altura (cm)	7.72	0.10	5.8	9.9
83 Rametos por clon	7.99	0.57	1	25
83 Rametos con estróbilo por clon	4.70	0.59	0	17
83 Estróbilos por clon	95.5	14.06	0	625
83 Conillos	60.5	8.62	0	337
79* Supervivencia de conillos (%)	59.9	2.55	0	100

* Cuatro clones no tuvieron estróbilos.

Cuadro 3.2. Análisis de los componentes de varianza (clones y rametos) para las variables relacionadas con la producción de conos en un huerto semillero clonal de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham.

Fuente	Estróbilos			Conillos			Supervivencia de conillos		
	Varianza	Varianza (%)	Pr >F	Varianza	Varianza (%)	Pr >F	Varianza	Varianza (%)	Pr >F
Clon	154.52	36.2	0.0001	51.62	22.6	0.0001	47.07	4.1	0.304
Rameto	271.90	63.8		176.92	77.4		1087.43	95.9	
Total	426.42	100		228.54	100		1134.50	100	

Pr >F. Probabilidad de que el efecto de la fuente sea significativo.

Después de ocho meses, diciembre del 2012, casi 37 % de los estróbilos abortaron o murieron, quedando en promedio 7.6 conillos por rameto, aunque en realidad el desbalance entre clones fue notorio, ya que el número de conillos por rameto varió desde 0 y hasta 118 (Cuadro 3.1).

Por otro lado, los clones 29, 53, 65 y 77 no produjeron estróbilos femeninos, (Cuadro 3.3). Sobresale el clon 65 que a pesar de tener 15 rametos no tuvo un solo estróbilo femenino en esta fecha. Además el clon 3 no logró conservar conillos para fines del año. La supervivencia de estróbilos en el año 2012 resultó de un 63.4 %.

Cuadro 3.3. Rametos por clon, número de rametos con producción de estróbilos por clon, valores mínimos y máximos y totales de estróbilos a fines de la primavera del 2012 y conillos (estróbilos maduros) totales para fines del 2012.

Clon	Rametos por clon	Rametos con estróbilos	% de rametos con estróbilos	Estróbilos por rameto		Estróbilos totales	Conillos totales	% de conillos logrados
				Mínimo	Máximo			
3	1	1	100.0	-	16	16	0	0
4	3	2	66.7	0	29	42	36	86
6	1	1	100.0	-	6	6	5	83
7	3	2	66.7	0	16	21	10	48
8	3	1	33.3	-	11	11	6	55
9	3	2	66.7	0	14	16	10	63
12	6	5	83.3	0	40	80	34	43
13	3	1	33.3	-	6	6	3	50
14	14	9	64.3	0	18	79	27	34
15	2	2	100.0	0	29	46	37	80
18	12	5	41.7	0	33	48	35	73
19	14	13	92.9	0	121	625	337	54
20	15	12	80.0	0	68	397	284	72
21	6	4	66.7	0	23	40	27	68
22	18	17	94.4	0	74	462	289	63
24	8	1	12.5	-	14	14	9	64
26	1	1	100.0	-	47	47	41	87
28	17	9	52.9	0	30	74	30	41
29	1	0	0.0	-	-	0	0	-
32	24	8	33.3	0	39	83	23	28
33	22	10	45.5	0	14	72	30	42
34	25	5	20.0	0	9	26	8	31
35	12	6	50.0	0	36	100	57	57
36	10	3	30.0	0	9	20	12	60
37	6	5	83.3	0	12	30	8	27
38	8	3	37.5	0	16	25	14	56
39	5	2	40.0	0	15	29	22	76
40	13	11	84.6	0	46	168	129	77
41	4	3	75.0	0	11	16	12	75
42	13	6	46.2	0	56	151	119	79
43	10	5	50.0	0	8	24	9	38
44	6	2	33.3	0	4	5	3	60
45	10	10	100.0	0	76	382	263	69
46	13	7	53.8	0	5	17	7	41
48	2	2	100.0	0	98	165	141	85
49	9	5	55.6	0	32	97	77	79
50	7	6	85.7	0	70	241	187	78
51	9	9	100.0	0	52	273	179	66
52	8	4	50.0	0	28	51	40	78
53	1	0	0.0	-	-	0	0	-

54	9	4	44.4	0	63	135	109	81
56	5	1	20.0	-	28	28	22	79
57	12	9	75.0	0	23	95	58	61
58	8	5	62.5	0	23	38	20	53
59	6	4	66.7	0	26	46	38	83
60	7	5	71.4	0	16	31	19	61
61	7	4	57.1	0	9	21	18	86
62	8	8	100.0	0	77	324	277	85
63	11	7	63.6	0	57	191	89	47
64	7	6	85.7	0	110	232	139	60
65	15	0	0.0	-	-	0	0	-
66	5	2	40.0	0	3	4	1	25
71	7	4	57.1	0	51	77	52	68
73	5	4	80.0	0	14	31	24	77
74	8	5	62.5	0	13	31	20	65
75	13	10	76.9	0	9	58	28	48
76	8	5	62.5	0	36	76	52	68
77	1	0	0.0	-	-	0	0	-
78	9	5	55.6	0	22	63	41	65
79	4	2	50.0	0	6	10	5	50
80	2	2	100.0	0	16	19	12	63
82	3	3	100.0	0	7	17	8	47
83	4	3	75.0	0	32	44	29	64
84	1	1	100.0	-	1	1	1	100
85	6	1	16.7	-	16	16	16	100
86	5	1	20.0	-	32	32	30	91
87	11	7	63.6	0	40	100	68	68
88	1	1	100.0	-	11	11	8	73
91	7	4	57.1	0	8	20	11	55
105	6	1	16.7	-	3	3	2	67
106	10	5	50.0	0	49	121	108	89
107	7	5	71.4	0	70	178	141	79
110	5	4	80.0	0	14	39	23	59
111	12	6	50.0	0	63	177	147	83
112	7	5	71.4	0	38	93	75	81
113	13	3	23.1	0	5	8	4	50
114	8	8	100.0	0	47	217	123	57
115	5	5	100.0	0	25	73	50	68
116	13	13	100.0	0	155	616	226	37
117	10	2	20.0	0	66	74	63	85
118	14	11	78.6	0	90	303	215	71
119	1	1	100.0	-	119	119	21	18
120	9	8	88.9	0	52	150	70	47
Total	663	390				7927	5023	63

Si todos los rametos hubieran tenido igual cantidad de conos, que sería lo ideal en una unidad productora, entonces la línea de producción sería la de 45°. Entre más apartada esté la línea real de producción de aquella, hay mayor desbalance en la producción de conos en el huerto semillero (Figura 3.2). En este caso, el desbalance es alto, incluso existieron rametos sin conillos logrados, de 390 con estróbilos, solo 325 rametos tienen al menos un conillo para el fin de ese año.

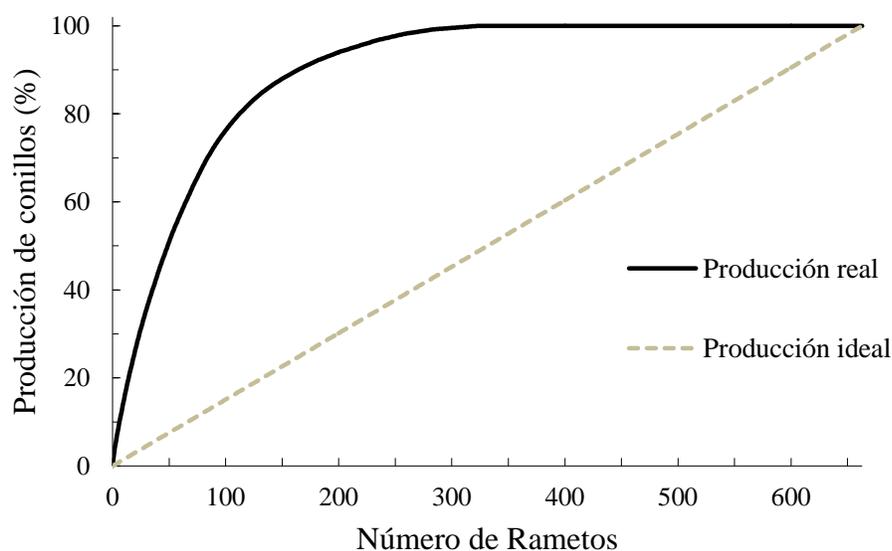


Figura 3.2. Producción acumulada de conillos producidos por rametos del huerto semillero asexual de *Pinus patula* a nueve años de edad. La línea recta representa una contribución equitativa entre rametos; con 325 rametos se alcanza 100 %.

A nivel de clones, el 71 % logro mantener entre 1 a 80 conillos, el 12 % entre 81 a 160 estróbilos, 4 clones (5 %) mantuvo de 161 a 250 estróbilos (118, 116, 51 y 50) y solo 5 clones (19, 22, 20, 62 y 45, esto es 6 %) logró conservar más de 251 conillos (de 263 a 337). Cinco clones no produjeron estróbilos o bien no mantuvieron los conillos para el fin del año, 4 de ellos tiene solo un rameto representado (Cuadro 3.3). Estos resultados indican un desbalance en la contribución de conillos dentro del huerto (Figura 3.3), y un muy probable desbalance en la producción de semillas dentro del mismo, lejano del ideal, que

sería una contribución homogénea entre los clones (Figura 3.4). El desbalance es alto, ya que el 25 % de los clones (21 con mayor producción de conillos a fines del año) produjeron 70 % de los estróbilos femeninos (5,548 de 7,927 totales) y 72.7 % de los conillos (3,645 de 5,023 totales).

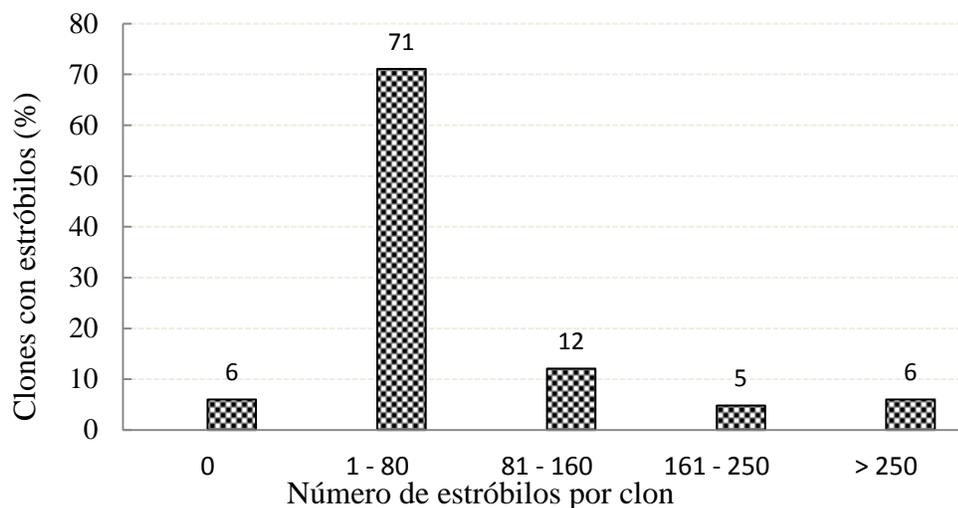


Figura 3.3. Porcentaje de clones que mantuvieron conillos al final del año después de la polinización del 2012 en un huerto semillero asexual de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. a nueve años de edad.

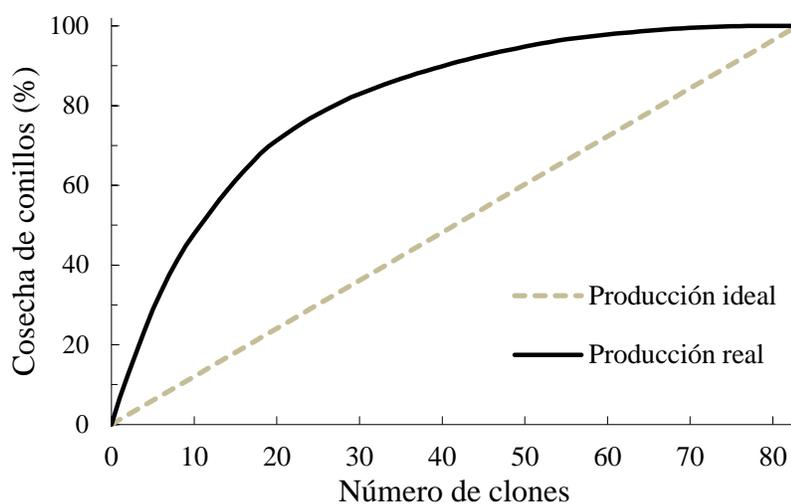


Figura 3.4. Producción acumulada de conillos generados por 83 clones en un huerto semillero asexual de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. a nueve años de edad. La línea recta representa una contribución equitativa entre clones; con 78 clones se alcanza 100 %.

La variación en tamaño de los árboles del huerto es notable, veinte veces entre el rameto más pequeño y el mayor en diámetro y casi siete veces en la altura (Cuadro 3.1). La producción de estróbilos a nivel de rametos se asocia moderadamente con el diámetro del fuste ($r=0.20$, $p=0.0001$) y la altura total del árbol ($r=0.27$, $p=0.0001$), así lo es la de conillos. La supervivencia de los conillos para fines de ese año se correlacionaron ligeramente con el diámetro de fuste ($r=0.14$, $p=0.0055$) y la altura total del árbol ($r=0.18$, $p=0.0004$).

A nivel de medias de los clones, la variación en los tamaños de los diámetros fue de 9.53 a 19.0 cm y para altura de 5.8 y 9.9 m (Cuadro 3.1). En este caso la producción de estróbilos no se asoció con el diámetro del fuste, pero sí con la altura de los clones ($r=0.35$, $p=0.0012$). La producción de conillos se determinó asociada a la altura de los árboles ($r=0.29$, $p=0.0078$), no así la supervivencia de los estróbilos al analizarla como porcentaje de logro. De cualquier manera, esa asociación entre las dimensiones de los rametos o clones indica lo importante que es mejorar el vigor de los árboles en los huertos a través de manejo, ya sea riegos, deshierbes o fertilizaciones. Por otro lado, parece importante establecer prácticas de aplicación de polen para aquellos clones que estén asincronizados con la liberación de polen de la mayoría de los árboles del huerto.

DISCUSIÓN

La variación en la producción de estróbilos femeninos entre clones y rametos es un factor que determina la cantidad y diversidad de la producción de semillas del huerto. La mayor parte de la variación se atribuye a los rametos tomando en cuenta el tamaño del rameto. La supervivencia de los conillos no presentó diferencias entre clones, por lo que no hay diferente capacidad de supervivencia de los conillos después de la polinización y varios meses de desarrollo. El alto porcentaje de mortandad de los conillos dentro el huerto semillero, podría ser atribuible a daños causados por factores ambientales en particular la densidad de siembra y la composición del suelo y mayormente a la falta de polinización durante el proceso reproductivo, provocando que los conillos sean abortados (Rodríguez, 2001). La variación en el número de conos también es influenciada por la interacción con los árboles vecinos. Un porcentaje de participación bajo en la producción de conos a nivel clonal en huertos semilleros, incide en la disminución de la variabilidad genética de las cosechas de semilla.

La correlación positiva observada entre el número de estróbilos femeninos y el vigor de los rametos (altura y diámetro), no fue significativa. Los resultados contrastan con los observados por Andersson y Hattemer (1975) en *Pinus sylvestris*, Nikkanen y Velline (1986) encontraron que la abundancia de la floración está correlacionada con el tamaño de los rametos, en este estudio la correlación es positiva pero baja.

La presencia de clones sin producción de estróbilos femeninos indica un desbalance en la contribución gamética del huerto, lo que afecta directamente la diversidad genética de la cosecha y que ésta no sea equitativa de acuerdo a lo citado por Mátyas (1991) en *Pinus*

sylvestris, de igual manera se observó en forma regular en otras especies de pinos, como *P. nigra* Arnol. (Matziris, 1993), *P. taeda* Lin. (Schmidting, 1983) y *P. halepensis* Miller. (Matziris, 1997).

El desbalance en la contribución de estróbilos en este huerto inicia desde el número de rametos que tiene cada clon, considerando que hay clones con un solo rameto y en su caso hasta con 15 copias. Parte del desbalance encontrado en la producción de estróbilos se puede atribuir al tamaño de los rametos. La mayor posible diversidad genética que se genere en los huertos es importante puesto que permite producir una cosecha de semillas más robustas y más adaptada a una gama amplia de entornos. La producción de estróbilos femeninos entre clones se determinó asociada con la variación en altura de los clones.

Los resultados de este estudio permiten identificar y considerar el implementar prácticas de manejo como podas, fertilización y control de plagas, que coadyuven a realizar un manejo adecuado del huerto para disminuir del grado de desbalance dentro del mismo. Parcialmente se puede aumentar la producción de estróbilos al mejorar el tamaño de los rametos de clones con baja producción o de clones con pocas copias. Por otro lado, debe haber cierto control genético en la fructificación, ya que cotidianamente clones de alta o de baja producción continuarán siendo de esa forma.

CONCLUSIONES

Se determinó en el huerto semillero a la edad de nueve años una participación clonal muy desbalanceada en la producción de estróbilos femeninos. De los 83 clones establecidos 93 % tuvieron estróbilos femeninos y 58.8 % de los rametos produjeron este tipo de estróbilos. El desbalance de la producción y supervivencia de estróbilos femeninos dentro del huerto semillero es amplio, 21 de los clones con mayor producción de conillos a fines del año produjeron 70 % de los estróbilos femeninos (5,548 de 7,927 totales) y 72.7 % de los conillos (3,645 de 5,023 totales).

A nivel de medias de clones, la producción de estróbilos no se asoció con el diámetro del fuste, pero sí con la altura de los clones ($r=0.35$, $p= 0.0012$). La producción de conillos se determinó asociada a la altura de los árboles ($r=0.29$, $p=0.0078$), no así la supervivencia de los estróbilos al analizarla como porcentaje de logro.

La supervivencia de los conillos para fines de ese año se correlacionaron ligeramente con el diámetro de fuste ($r=0.14$, $p=0.0055$) y la altura total del árbol ($r=0.18$, $p= 0.0004$).

Es probable que la falta de polinización en el huerto semillero y otros factores ambientales dañaran la cosecha de los estróbilos de la producción 2012.

LITERATURA CITADA

- Ahmet, S. 2010. Genetic variation in seed and cone characteristics in a clonal seed orchard of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) grown in Kastamonu-Turkey. Romanian Biotechnological Letters 15 (6): 5695-5701.
- Ahmet, S. and S. Ayan. 2008. Evaluation of seed production of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) clonal seed orchard with cone analysis method. African Journal of Biotechnology 7 (24): 4393-4399.
- Andersson, E. and H.H. Hattemer, 1975. Growth and flowering of primary and secondary grafts of Scotch pine. *Silvae Genetica* 24: 49-54.
- Bilir, N., F. Prescher, S. Ayan and D. Lindgren. 2006. Growth characters and number of strobili in clonal seed orchards of *Pinus sylvestris*. *Euphytica* 152: 293-301.
- Codesido, V., E. Merlo and J. Fernández L. 2005. Variation in reproductive phenology in a *Pinus radiata* D. Don seed orchard in northern Spain. *Silvae Genetica* 54: 246-255.
- El-Kassaby, Y.A. and C. Cook. 1994. Female reproductive energy and reproductive success in a Douglas-fir seed orchard and its impact on genetic diversity. *Silvae Genetica* 43: 243-246
- Ericksson, G., A. Jonsson and D. Lindgren. 1973. Flowering in a clonal trial of *Picea abies* Karst. *Studia Forestalia Suecica* 110: 5-45.
- Fogal, W.H. 1990. White spruce cone crops in relation a seed yields, cone insect damage, and seed moth population. *In: Proceedings of the cone and seed pest workshop.* West, R.J. (ed.) For. Can. North. For. Cent. Inf. Rep. N-X-274. pp: 76-88.
- Hopkins, E.R. and T.B. Hutcher. 1994. Improvement of *Pinus pinaster* Ait. in Western Australia. *CALMScience* 1: 159-242.

- Kang, K.S., D. Lindgren and T.J. Mullin. 2001. Prediction of genetic gain and gene diversity in seed orchards crops under alternative management strategies. *Theoretical and Applied Genetics* 103:1099-1107.
- Matziris, D. 1993. Variation in cone production in a clonal seed orchard of black pine. *Silvae Genetica* 42: 136-141.
- Matziris, D. 1997. Variation in growth, flowering and cone production in a clonal seed orchard of Aleppo pine grown in Greece. *Silvae Genetica* 46: 224-228.
- Mátyas, C. 1991. Seed orchards *In: Genetic of scots pine, Developments in Plant Genetics and Breeding* 3: 125-145.
- Nikkanen, T. and P. Velling, 1987. Correlations between flowering and some vegetative characteristics of grafts of *Pinus sylvestris*. *Forest Ecology and Management*. 19: 35-40.
- Pardos, J.A. y L. Gil. 1986. Los huertos semillero: Estudios básicos para su establecimiento en España ICONA. Monografías 44. 128 p.
- Rodríguez M., J.A. 2001. Variabilidad reproductiva y sus implicaciones en el incremento de la producción de semilla en un huerto semillero de *Pinus sylvestris*. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. 168 p.
- Simpson, J.D. and R.F. Smith. 1988. A manual for forest tree seed orchard management in the Maritimes Canadian Forestry Service Maritimes Region. Information Report M-X-167. 100 p.
- Schmidting, R.C. 1983b. Genetic variation in fruitfulness in loblolly pine (*Pinus taeda*) seed orchards. *Silvae Genetica*. 32: 76-80.
- White, T.L., T.W. Adams and D.B. Neale. 2007. *Forest Genetics*. CAB International, Oxford. 682 p.
- Zobel, B.J. y J. Talbert. 1988. Técnicas de Mejoramiento Genético de Árboles Forestales. Limusa, México, DF. 545 p.

CAPITULO IV

DESARROLLO Y DIFERENCIACIÓN DE ESTRUCTURAS REPRODUCTIVAS

EN *Pinus patula*

RESUMEN

Pinus patula Schilede ex Schltl. et Cham. es una especie endémica de México caracterizada por presentar un alto potencial de crecimiento, excelente calidad de madera para fines comerciales y de manejo relativamente fácil. *Pinus patula* se ha empleado en programas de mejoramiento genético en Sudáfrica, Zimbabwe y en países de Sudamérica; en México actualmente se están iniciando trabajos de mejoramiento para esta especie. En los pinos el potencial reproductivo está determinado por el número de conos por árbol y el número de semillas por cono que producen a determinada edad. Este proceso se inicia con el desarrollo del brote vegetativo, la diferenciación y desarrollo de primordios florales. A finales del mes de julio y septiembre se recolectaron yemas vegetativas de árboles seleccionados con base en la producción de conos. Las muestras se fijaron en, Alcohol, Ácido acético y Formaldehído, se deshidrataron e incrustaron en parafina, se obtuvieron cortes longitudinales de 15 µm de grosor, se tiñeron y colocaron en un porta objeto y para su preservación se cubrieron con resina sintética. Las observaciones se realizaron con un microscopio invertido utilizando un objetivo de 40 x se identificaron de dos a tres crecimientos y una secuencia organogénica completa del meristemo apical, los brotes presentaron de 5 a 10 estróbilos femeninos indicando una múltiple floración.

Palabras clave: Clones, huerto semillero, sincronización fenológica, Estróbilos femeninos.

DEVELOPMENT AND DIFFERENTIATION OF REPRODUCTIVE STRUCTURES IN *Pinus patula*

SUMMARY

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. is an endemic pine to Mexico characterized by a high growth potential, excellent quality wood for commercial and relatively easy handling purposes. *Pinus patula* has been used in breeding programs in South Africa, Zimbabwe and South American; in Mexico has started a improvement tree plant for this species. On pines reproductive potential is determined by the number of cones per tree and the number of seeds per cone producing at a certain age. This process begins with the development of vegetative bud, the differentiation and development of floral primordia. In late July and September vegetative buds were collected from selected trees based on cone production. The samples were fixed with (FAA), then dehydrated and embedded in paraffin. Longitudinally sections of 15 µm were obtained; these were stained and placed on a glass slide and covered with a synthetic resin for preservation. The observations were made with an inverted microscope using a objective of 40x. Two or three growths were identified and a complete organogenic sequence of the apical meristem; buds showed 5 to 10 female strobiles, indicating multiple flowering.

Key Words: Clones, seed orchad, phonological synchronization, female strobili.

INTRODUCCIÓN

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. es un pino endémico de México con un alto potencial de crecimiento a corto plazo, excelente calidad de madera para fines comerciales, y es de un manejo relativamente fácil (Dvorak *et al.*, 2000). *P. patula* tiene importancia regional y mundial en el establecimiento de plantaciones comerciales (Velázquez *et al.*, 2004). *P. patula* se ha empleado en programas de mejoramiento genético en Sudáfrica, Zimbabwe, y en varios países de Sudamérica como Colombia y Argentina (Dvorak *et al.*, 2000). En México actualmente se están iniciando trabajos de mejoramiento genético para esta especie. Con la finalidad de generar semilla de calidad superior, se establecen huertos semilleros, en los cuáles es importante comprender el desarrollo fenológico de los primordios florales.

Cada especie tiene un potencial reproductivo, el cual está determinado por el número de conos por árbol y semillas por cono que produce a una determinada edad, y que inician con la cantidad de primordios florales que se genera de 2.5 o hasta casi 4 años antes de la madurez del estróbilo. En el género *Pinus* los primordios florales masculinos y femeninos se localizan en el mismo árbol, generalmente los primordios femeninos se encuentran en las ramas de la parte media y superior de la copa, mientras que los masculinos se localizan en las ramas de la parte inferior de la copa del árbol (Mirov, 1967). El desarrollo de los primordios florales se presenta en posición lateral y estos se forman en las axilas de las hojas secundarias, en el interior de la yema vegetativa terminal. Antes de la antítesis emergen como yemas individuales conteniendo únicamente las partes florales (Jackson y Sweet, 1972).

Gran parte del desarrollo de los primordios florales se encuentran rodeados por las escamas de las yemas, las cuales los protegen de posibles daños. Las primeras etapas de desarrollo de los primordios florales, se caracterizan por no manifestar indicadores externos que permitan hacer una distinción entre las yemas florales y las yemas vegetativas. A medida que van desarrollándose se puede identificar las yemas florales, las cuales se van diferenciando por su ubicación; en general las yemas florales se distinguen de las yemas vegetativas por su posición, forma, tamaño y color (Bramlett y O'Gwynn, 1980). La iniciación y desarrollo de los primordios florales varía de acuerdo con la especie, la altura, latitud y las condiciones climáticas que se hayan presentado durante el año (Patiño, 1975).

Para poder establecer actividades de manejo eficiente en los huertos semilleros, es necesario conocer la biología reproductiva de la especie, razón por la cual es fundamental identificar el desarrollo de los brotes terminales que darán origen a las yemas vegetativas y primordios florales de la especie. El presente trabajo se realizó con los objetivos de 1) Identificar el proceso de desarrollo de los primordios florales; 2) Identificar y describir las estructuras reproductivas en *Pinus patula*.

MATERIALES Y MÉTODOS

En septiembre del año 2003 se estableció un huerto semillero clonal de *Pinus patula* var. *patula* en una propiedad forestal denominada “Conjunto Predial Forestal”, del municipio de Aquixtla, Puebla, inicialmente con una población de 1230 individuos pertenecientes a 95 clones. Los árboles superiores fueron seleccionados fenotípicamente en dicho predio considerando la rectitud, altura y volumen del fuste, la presencia de buena poda natural y sanidad, en una amplitud de elevación de 2660 a 3050 m. Al momento de iniciar el estudio de fenología reproductiva, el huerto contaba con un total de 663 rametos de 83 clones distintos.

El huerto se ubica en las coordenadas 19° 34' 13" LN y 97° 59' 20" LO, a una elevación promedio de 2800 m, sobre un tipo de suelo primario Andosol húmico y asociado a éste Litosol como secundario (INEGI, 2000), en un bosque de *P. patula- Abies religiosa* (Kunth) Schltld. et Cham. La plantación en el huerto semillero se realizó a un espaciamiento de 3 x 3 m, bajo un diseño completamente al azar, con diferente número de rametos por clon, con la restricción de no dejar rametos del mismo clon cerca uno de otro.

En el verano de 2012 se recolectaron yemas vegetativas de los árboles del huerto identificados y seleccionados con base en la producción de conos. La elongación de los brotes vegetativos se vigiló en cinco brotes terminales de las ramas superiores que dan soporte a las estructuras femeninas y cinco en la parte media del árbol. Se identificó el desarrollo de los brotes con exposición noreste y sureste; la recolecta de los brotes terminales se inició a finales del mes de julio y a partir de esta fecha se realizó cada quince días hasta el 28 de septiembre. Los ápices recolectados se fijaron en formol- ácido acético-

alcohol (FAA), en seguida se aplicó etildiamina al 5 % por 72 horas, se deshidrataron en una serie de alcoholes 50 %, 70 % y 80 % y se incluyeron en parafina. Se realizaron cortes longitudinales de 15 μm de grosor con un micrótomo marca Leica, y se tiñeron con safranina y verde fijo. Posteriormente, se colocaron en un porta objetos y antes de colocar el cubre objetos se cubrieron con una resina sintética para su preservación. Las observaciones se realizaron con un microscopio invertido usando el objetivo de 40 X marca Leica.

RESULTADOS

El ciclo de crecimiento para *Pinus patula* reporta que en promedio esta especie presenta cuatro ciclos de crecimiento del brote terminal de manera anual, lo que se ve reflejado en los crecimientos de las yemas vegetativas terminales y axilares las cuales una vez formadas se alargaron (Figura 1y 2). En este proceso se observaron de dos a tres elongaciones, reflejando una secuencia organogénica completa del meristemo apical (Figura 3).

En el proceso de producción de estróbilos femeninos se presentó una separación entre las regiones inferior y superior de la copa del árbol. Se observó la producción en las ramas terminales y en menor frecuencia en las ramas laterales, de igual manera los estróbilos masculinos fueron más comunes en la región inferior de la copa del árbol. En la yema apical se observaron estróbilos masculinos y femeninos. Por lo general los brotes presentaron de 3 a 5 y de 8 a 10 estróbilos femeninos (Figura 4). Los múltiples alargamientos del brote reflejan el desarrollo de una múltiple floración (Figura 5).

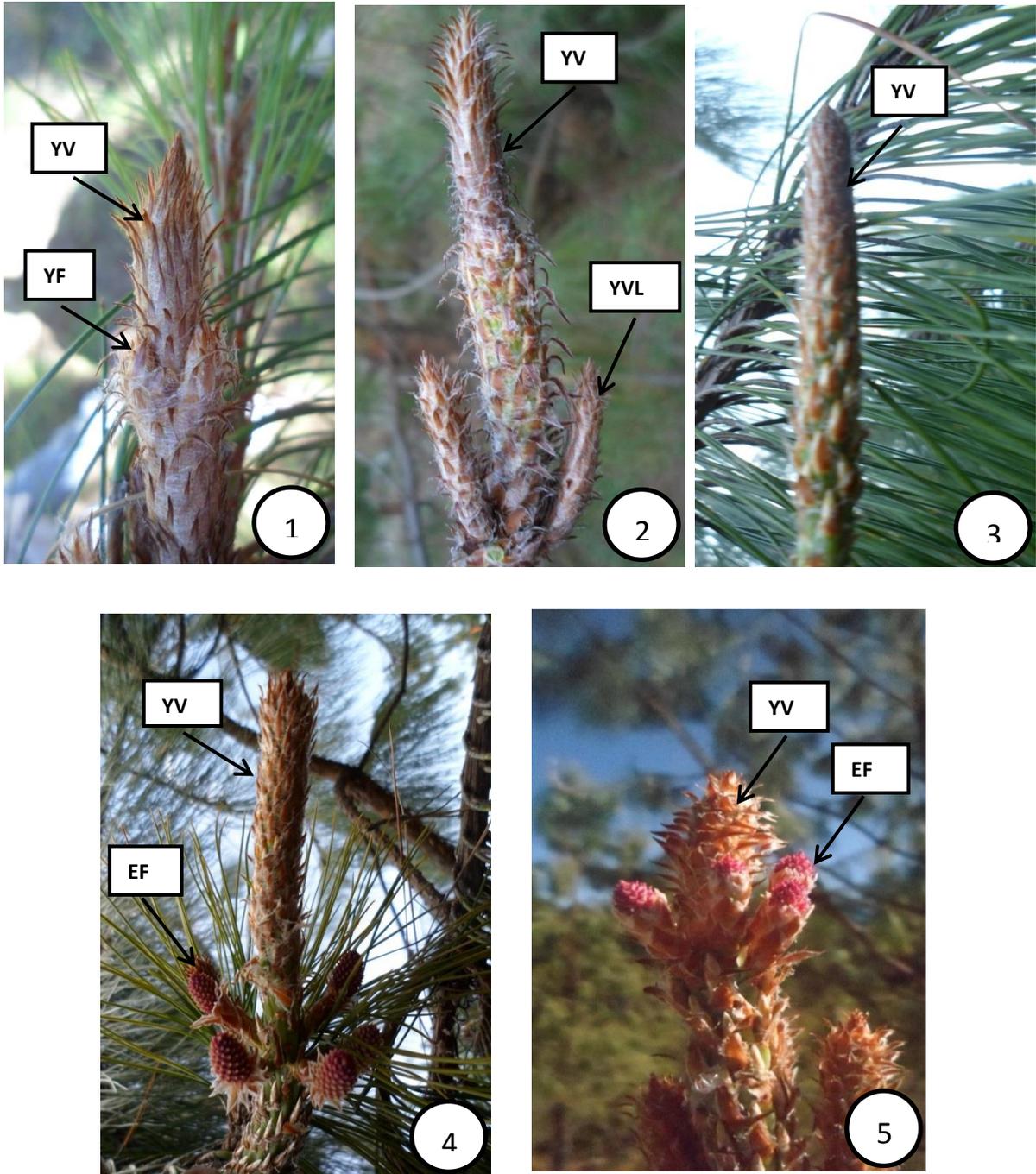


Figura 4.1. Elongación de la yema apical y producción de estróbilos. Figura 1. (YV) Yema vegetativa apical desarrollando de forma normal y (YF) yemas florales. Figura 2. (YV) Yema vegetativa apical y (YVL) yemas vegetativas laterales. Figura 3. (YV) Yema vegetativa alargándose, base del tallo y acículas. Figura 4. (EF) Estróbilos femeninos después de la polinización que muestra la yema vegetativa apical de nueva formación, el eje del brote alargado y el alargamiento de las hojas (acículas). Figura 5. (YV) Yema apical con cuatro (EF) estróbilos femeninos en desarrollo.

Las yemas terminales pueden ser clasificadas como vegetativas, masculinas, femeninas o bisexuales, las yemas vegetativas constituyen un crecimiento que da origen a la diferenciación y desarrollo. En el inicio, el meristemo apical de las yemas vegetativas se observó encerrado en una capa esclerificada compuesta por catáfilos estériles sin clorofila (Figura 6), en las cuales se ubican zonas con actividad mitótica. La división aleatoria de células hipodérmicas en la zona central generó una capa que se desarrolló desde el flanco apical, las células epidérmicas se dividieron periclinalmente originando el crecimiento hacia el exterior del primordio, así mismo a lo largo del margen del primordio se formó un amplio catáfilo estéril (Figura 7). No se observaron diferencias anatómicas o morfológicas evidentes entre los catáfilos estériles y fértiles. Las células de cada vértice axilar continuaron dividiéndose, los ápices se hicieron más grandes y comenzaron a generar primordios laterales, el primer primordio lateral se formó de dos prófilos opuestos los cuales se ajustan al envés axialmente hasta el punto del catáfilo fértil de inserción (Figura 8). A partir de esto se inició un patrón de crecimiento de catáfilos estériles hasta el inicio del desarrollo del brote de diferenciación (Figura 9, 10 y 11).

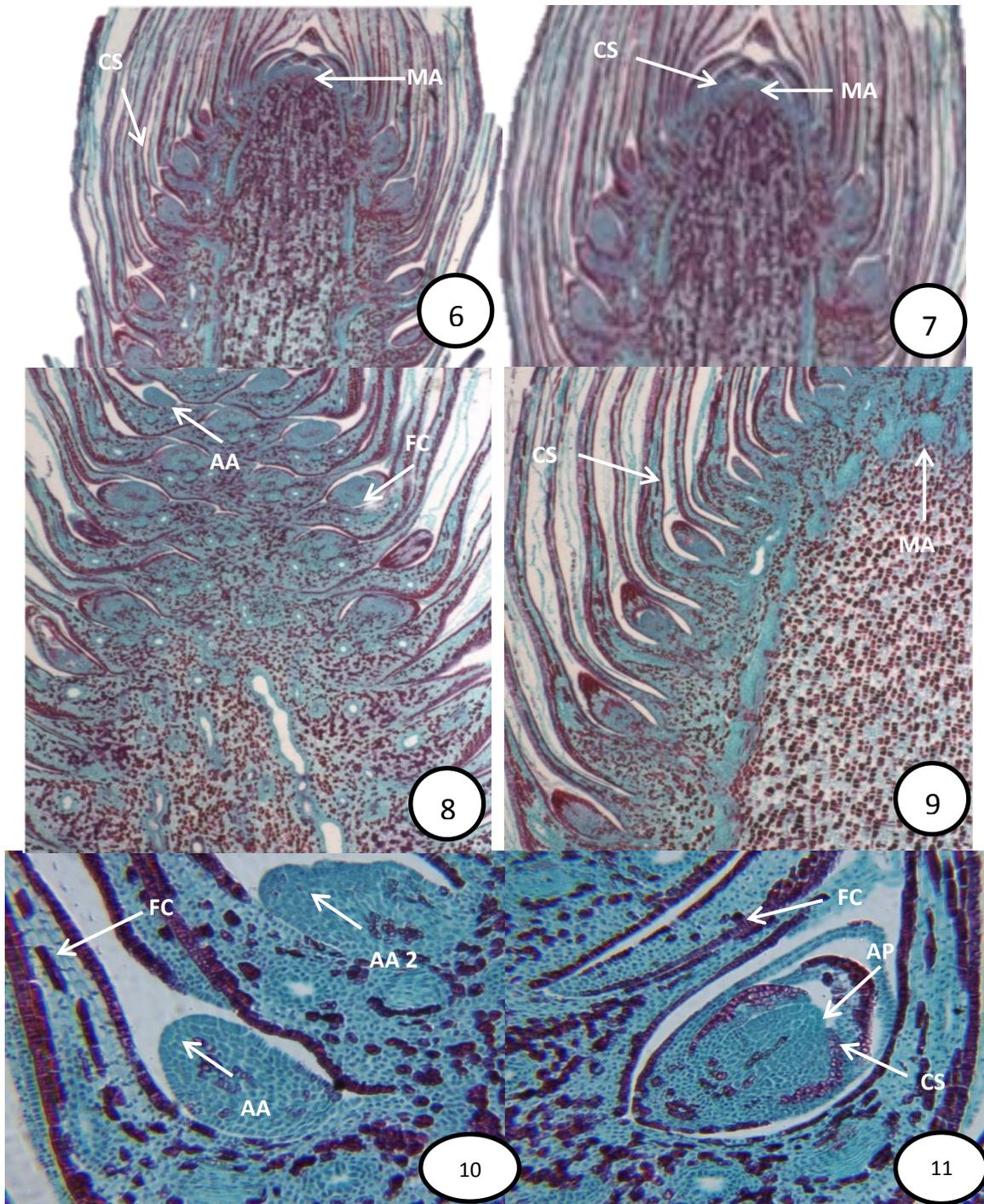


Figura 4.2. Secuencia organogénica Fig. 6. Sección longitudinal de una yema vegetativa terminal en inicio de la secuencia organogénica, se muestra el meristemo apical (MA) cubierto por una serie de catáfilos estériles esclerificados (CS), Figura 7. Aumento de la Figura 6 que muestra el meristemo apical (AM) y la iniciación de los catáfilos estériles. Figura 8. Sección longitudinal media de la yema vegetativa durante la formación de catáfilos fértiles (CF) y el ápice axilar (AA) iniciando en el meristemo apical. Figura 9. Aumento de la sección media de

ápices axilares ilustrando su inicio (AA) y desarrollo de los catafilos axilares fértiles Figura10. Sección media del desarrollo del ápice axilar (AA), región en la cual se inició la formación de dos prófilos (puntas de flecha han iniciado). Figura 11. Sección longitudinal de una yema axilar durante la iniciación de catáfilos estériles en el ápice (AP).

DISCUSIÓN

En desarrollo de los brotes vegetativos en *Pinus patula* se observaron cuatro fases o ciclos de crecimiento que se pueden clasificar en fase de reposo, fase de desarrollo y crecimiento temprano, fase de crecimiento y elongación de brotes, y una segunda fase de crecimiento formando un brote vegetativo.

El crecimiento vegetativo y la floración de *Pinus patula* es variable, presentando una secuencia organogénica que se completa de manera normal. Una característica presente en el desarrollo de brotes en climas templados es que debido a la temperatura del invierno este proceso se sincroniza, lo que representa una ventaja en comparación con los pinos que se desarrollan en climas tropicales, donde las condiciones ambientales favorece el crecimiento (Gibpson *et al.*, 1983). Esto consecuentemente se ve reflejado en la asincronía en el desarrollo del brote dentro y entre árboles. Considerando las secuencias organogénicas, en los pinos de clima templado, el desarrollo y diferenciación de yemas puede presentar pausas en varios puntos que dependen del clima (Greenwood, 1977; 1980). La diferenciación en *Pinus patula* se observó en verano y el desarrollo para polinización y receptividad de estróbilos se presentó en primavera, proceso que es parecido al observado por Owston (1969) en *Pinus chiapensis* Martínez. En *Pinus patula* la diferenciación puede requerir una etapa de desarrollo específico para la realización de una secuencia organogénica, iniciando con catáfilos estériles en el meristemo apical, condición que es similar a la floración de *Pinus taeda* L. (Greenwood, 1980), en la cual se tiene la presencia de una yema de crecimiento vegetativo en reposo durante un tiempo suficiente para la diferenciación.

En *Pinus patula* la diferenciación de yemas vegetativas comenzó a finales de julio principios de agosto. Sin embargo la diferenciación de los primordios florales se observó a finales de diciembre. En la mayoría de las especies de pinos de clima templado el inicio de los meristemas vegetativos, su elongación y el inicio de la secuencia organogénica se presenta a finales del invierno (Owston, 1969; Greenwood, 1980; Gibson *et al.*, 1983)

CONCLUSIONES

La presencia de crecimientos vegetativos en meristemas apicales, permite observar e identificar los procesos de diferenciación en *Pinus patula*. Se identificaron yemas vegetativas preformadas en las cuales hay reanudación de la hoja y la actividad mitótica apical, cuando se inician escamas de las yemas y brotes axilares, en cambios consecutivos que dan origen a la formación de estructuras reproductivas.

LITERATURA CITADA

- Bramlett, D.L. and C.H. O'Gwynn. 1980. Recognizing developmental stages in southern pine flowers: the key to controlled pollination. USDA For. Ser. Gen. Tech. Rep. SE-18. Southeast. For. Exp. Stn. Asheville, NC. 14 p.
- Dvorak, W.S., G.R. Hodge, J.E. Kietzka, F. Malán, L.F. Osorio and T.K. Stanger. 2000. *Pinus patula*. In: Conservation & Testing of Tropical & Subtropical Forest Tree Species by the CAMCORE Cooperative. CAMCORE Cooperative (Ed.). College of Natural Resources. NCSU. Raleigh, N.C. pp: 149-173.
- Greenwood, M.S. 1977. Notes: The role of dormancy in the development of male and female strobili of loblolly pine. *Forest Science* 23: 373-375.
- Greenwood, M.S. 1980. Reproductive development in loblolly pine: 1. The early development of male and female strobili in relation to the long shoot growth behavior. *Annals Journal of Botany* 67: 1414-1422.
- Gibson, G.L., R.D. Barnes., and J. Berrington, 1983. Flowering and its interaction with environment in provenance trails of *Pinus caribaea*. *Commonw. Forestry Review* 64: 251-263-
- Jackson, D.I., and G.B. Sweet. 1972. Flowering initiation in temperate woody plants. New Zealand Forest Service. 58 p.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 2000. Síntesis geográfica del Estado de Puebla y anexos cartográficos. Aguascalientes, Ags. 124 p.
- Lanner, R.M. 1976. Patterns of shoot development in *Pinus* and the relationship to growth potencial in tree physiology and yield improvement. *Annals of Botany* 50: 247-257.
- Mirov, N.T. 1967. Photoperiod and flowering of pines. *Forest Science* 2: 328-332.
- Patiño V., F. 1973. Producción de semillas forestales. *Bosques y Fauna* 12:41-45.

- Owston, P.W. 1969. The shoot apex in eastern white pine its structure, seasonal development and variation within the crown. *Canadian Journal of Botany* 47: 1181-1188.
- Velázquez M., A., G. Ángeles Pérez, T. Llanderal O., A.R. Román J. y J.V. Reyes H. 2004. Monografía de *Pinus patula*. SEMARNAT/CONAFOR. Colegio de Postgraduados. Zapopan, Jal. 425 p.