



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO FORESTAL**

**Efecto del AG<sub>4/7</sub> y anillado en la inducción de estructuras reproductivas y crecimiento del brote en árboles juveniles de *Pseudotsuga menziesii*.**

**LILIANA MUÑOZ GUTIÉRREZ**

**T E S I S**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS**

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2010

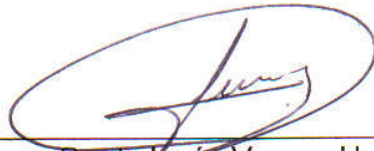
La presente tesis, titulada: **Efecto del AG<sub>4/7</sub> y anillado en la inducción de estructuras reproductivas y crecimiento del brote en árboles juveniles de *Pseudotsuga menziesii***, realizada por la alumna: **Liliana Muñoz Gutiérrez** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**FORESTAL**

**CONSEJO PARTICULAR**

Consejero



Dr. J. Jesús Vargas Hernández

Asesor



Dr. Javier López Upton

Asesor



Dr. Nicolás Gutiérrez Rangel

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Abril de 2010

**EFFECTO DEL AG<sub>4/7</sub> Y ANILLADO EN LA INDUCCIÓN DE ESTRUCTURAS  
REPRODUCTIVAS Y CRECIMIENTO DEL BROTE EN ARBOLES JUVENILES DE  
*PSEUDOTSUGA MENZIESII*.**

Liliana Muñoz Gutiérrez, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2010

Con el propósito de establecer un programa de producción de semilla en *Pseudotsuga menziesii* y disminuir la presión en la cosecha de semilla en poblaciones naturales de la especie, se evaluó el efecto del ácido giberélico (AG<sub>4/7</sub>) y del anillado en el tronco en la formación de estructuras reproductivas y en el crecimiento del brote en dos ensayos de campo y uno en macetas con árboles juveniles. Se utilizaron cuatro dosis de AG<sub>4/7</sub> (0, 1.27, 2.55 y 5.10 mg cm<sup>-2</sup>) aplicadas por inyección en el tronco; durante el periodo de crecimiento se midió la longitud del brote y un año después se evaluó el porcentaje de árboles con respuesta, y el número y posición de las estructuras reproductivas. La proporción de árboles con estróbilos femeninos fue de 37.5 % en el ensayo 1, 62.5 % en el 2 y 0 % en el ensayo en macetas; menos del 20 % de los árboles formaron estróbilos masculinos en los dos ensayos de campo. La dosis alta de AG<sub>4/7</sub> aumentó tres veces el número de estróbilos femeninos con respecto a la dosis baja (14.54 vs. 4.23), mientras que el testigo no produjo estróbilos; el anillado aumentó el número de estróbilos de 2.1 a 8.4 cuando se combinó con dosis bajas de AG<sub>4/7</sub>; el estado fenológico del árbol al momento de la aplicación fue un factor importante en la inducción floral. También se encontraron diferencias entre ensayos, así como entre los niveles de anillado y dosis de AG<sub>4/7</sub> sobre la longitud del brote. El anillado redujo en 9 % y retrasó en 6 días el crecimiento del brote, mientras que el AG<sub>4/7</sub> aumentó en 12 % la longitud final del brote y aceleró su crecimiento. La formación de estróbilos femeninos ocasionó un retraso en la curva de crecimiento del brote, pero no redujo en forma significativa su longitud. Los resultados indican que la aplicación de AG<sub>4/7</sub> en combinación con el anillado del tronco es efectiva en la inducción de floración en individuos juveniles de *Pseudotsuga menziesii*, y que los tratamientos no afectan de manera negativa el crecimiento total de los brotes en el primer año.

**Palabras clave:** ácido giberélico (AG<sub>4/7</sub>), anillado, fenología, floración, producción de semilla, longitud de brote, tasa de crecimiento.

**EFFECT OF GA<sub>4/7</sub> AND BARK GIRDLING ON THE INDUCTION OF  
REPRODUCTIVE STRUCTURES AND SHOOT GROWTH IN JUVENILE  
*PSEUDOTSUGA MENZIESII* TREES.**

Liliana Muñoz Gutiérrez, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2010

With the purpose of establishing a seed production program for *Pseudotsuga menziesii*, and reduce pressure on the seed crop in natural populations of the species, the effects of gibberellic acid (GA<sub>4/7</sub>) and bark girdling on the formation of reproductive structures and shoot elongation were evaluated in two field trials and one pot trial with juvenile trees. Four doses of GA<sub>4/7</sub> (0, 1.27, 2.55, and 5.10 mg cm<sup>-2</sup>) were injected into the tree trunk at time of bud burst. Total shoot length was periodically measured during the growing season, and one year later the percentage of trees with a response and the number and position of the reproductive structures were evaluated. The percentage of trees with female cones was 37.5 % in trial 1, 62.5 % in trial 2 and 0 % in the pot trial; fewer than 20% of the trees formed male cones in both field trials. The high dose of GA<sub>4/7</sub> increased three times the number of cones as compared to the low dose (14.54 vs. 4.23), whereas the control didn't produce strobilus; bark girdling increased the number of cones of 2.1 to 8.4 when it was combined with low doses of GA<sub>4/7</sub>. Shoot phenology at the moment of applying the treatments was an important factor in flower induction. Differences in shoot length were found across trials as well as among AG<sub>4/7</sub> doses and girdling levels. Bark girdling reduced shoot growth by 9 % and retarded it by 6 days, whereas GA<sub>4/7</sub> increased 12 % the final shoot length and accelerated its growth. The induction of female cones caused a slight delay in the shoot growth curve, but final shoot length was not significantly reduced. Results indicated that the application of GA<sub>4/7</sub> combined with bark girdling is effective in flower induction of sexually immature *Pseudotsuga menziesii* trees, and that treatments don't adversely affect the total length of shoots during the first year.

**Key words:** Gibberellic acid (GA<sub>4/7</sub>), bark girdling, phenology, flowering, seed production, shoot length, growth rate.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) porque a través de su programa de Becas para estudios de posgrado fue posible que realizara con éxito y calidad mis estudios de Maestría en Ciencias.

Al Colegio de Postgraduados a través del Programa Forestal por la calidad de sus profesores y facilidades otorgadas para mi formación profesional.

Un agradecimiento muy especial y sincero para el Dr. J. Jesús Vargas Hernández por confiar en mí para llevar a cabo este proyecto, por su inagotable paciencia, disponibilidad, por su generosidad para compartir su experiencia y por su invaluable amistad, con respeto y admiración por su gran calidad humana.

Quiero agradecer al Dr. Javier López Upton con quien compartí un valioso e interesante proceso de aprendizaje, por sus comentarios y asesoría en el trabajo de investigación, por dedicarme tiempo, por su confianza y amistad.

Al Dr. Nicolás Gutiérrez Rangel y Dr. Héctor M. De los Santos por sus consejos y comentarios durante la realización de la investigación, que ayudaron a enriquecer mi formación como profesional. Agradecimientos especiales al Dr. Porfirio Ramírez Vallejo y Dr. R. Marcos Soto Hernández por su apoyo desinteresado, disponibilidad y ayuda en todo momento.

Agradecimientos especiales al Ing. León Jorge Castaños Martínez y al Ing. Salvador Castro Zavala, propietarios del Conjunto Predial Forestal, por todas las facilidades y el apoyo logístico proporcionado durante la realización del estudio.

Un especial reconocimiento para el personal del Programa de Botánica, M.C. Rubén San Miguel Chávez y Sr. Domingo González Meraz, y del Programa de Genética, Sr. Juan Carlos Zaragoza Ramírez y Sra. Ángeles Arenas Díaz, por brindarme su amistad y su ayuda desinteresada en el momento que se requirió.

Un agradecimiento sincero para la Biól. Diana Córdoba Rodríguez por su invaluable apoyo en la fase de campo, por su tiempo y esfuerzo dedicado.

A lo largo de mi vida, han sido muchas las personas que contribuyen a mi formación como hija y como profesional, deseo expresar mi más sincero agradecimiento a familiares, amigos y profesores que hacen que sea mejor cada día.

## DEDICATORIAS

Es maravilloso tener un DIOS en quien creer.

A mi mamá Betty y mis abuelitos Alicia e Isidoro

Quiero agradecerles lo que ahora soy.

Sus brazos siempre se abren cuando necesito un abrazo.

Su corazón sabe comprender cuando necesito consuelo.

Sus ojos sensibles se endurecen cuando necesito una lección.

Su fuerza y su amor me han dirigido por la vida y

me han dado las alas que necesitaba para volar.

Gracias por el ejemplo de la honradez, del entusiasmo y la calidez.

A mi hermano Erick

A mis tíos Mary, Mago, Elo, Licha, Jaime y Paulino

A mis primos y en especial a Leo

Gracias con todo mi corazón, gracias por ser como son,

Dios no pudo escoger de una manera mejor a mi familia.

Gracias por estar a mi lado en el momento justo y el más anhelado,

cuando necesito sentir su amor y cariño.

A mi novio y futuro esposo Rogelio Meraz

Un corazón estable,

que me da la seguridad que necesito para enfrentar mi destino

y saber que todo tiene su lugar y su tiempo, que nada ocurre por casualidad.

*Liliana*

## CONTENIDO

RESUMEN GENERAL.....	i
GENERAL ABSTRACT.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIAS.....	iv
CONTENIDO .....	v
LISTA DE CUADROS .....	vii
LISTA DE FIGURAS .....	viii
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
CAPÍTULO I. EFECTO DEL ANILLADO Y AG <sub>4/7</sub> SOBRE LA INDUCCIÓN DE ESTRUCTURAS REPRODUCTIVAS EN ÁRBOLES JÓVENES DE <i>Pseudotsuga menziesii</i> .....	4
RESUMEN .....	4
ABSTRACT.....	5
INTRODUCCIÓN.....	6
MATERIALES Y MÉTODOS .....	8
Localización de los ensayos de campo .....	8
Definición y aplicación de los tratamientos .....	8
Variables evaluadas y análisis de los datos .....	9
RESULTADOS .....	11
Proporción de árboles con estructuras reproductivas .....	11
Número de estructuras reproductivas por árbol .....	11
Posición de las estructuras reproductivas en la copa del árbol .....	14
DISCUSIÓN .....	16
Efectividad de la inducción de estructuras reproductivas .....	16
Efecto de la fenología del brote .....	16
Efecto de la dosis de AG <sub>4/7</sub> .....	17
Efecto del anillado del tronco .....	19
Implicaciones para la producción de semillas .....	19
CONCLUSIONES.....	21

CAPÍTULO II. EFECTO DEL AG <sub>4/7</sub> SOBRE EL CRECIMIENTO DEL BROTE EN ÁRBOLES	
JUVENILES DE <i>Pseudotsuga menziesii</i> .....	22
RESUMEN .....	22
ABSTRACT.....	23
INTRODUCCION.....	24
MATERIALES Y MÉTODOS .....	27
Localización y establecimiento del experimento .....	27
Diseño experimental y aplicación de los tratamientos .....	27
Variables consideradas y toma de datos .....	28
Análisis de los datos .....	28
RESULTADOS .....	30
Crecimiento promedio del brote en los tres ensayos.....	30
Parámetros estimados del modelo de crecimiento del brote .....	31
Efecto del anillado y de la dosis de AG <sub>4/7</sub> sobre el crecimiento del brote.....	32
Relación entre inducción floral y crecimiento del brote.....	33
DISCUSIÓN .....	35
Diferencias entre ensayos.....	35
Efecto de la aplicación de AG <sub>4/7</sub> .....	35
Efecto del anillado en el tronco .....	37
Efecto de la inducción floral sobre el crecimiento del brote .....	38
CONCLUSIONES.....	40
CAPITULO III. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES .....	41
LITERATURA CITADA .....	44



## LISTA DE CUADROS

Cuadro	Pág.
I.1. Proporción (%) de árboles de <i>Pseudotsuga menziesii</i> que desarrollaron estróbilos femeninos (♀) y masculinos (♂) en los dos ensayos de estimulación floral.....	12
I.2. Significancia estadística (P) para el número de estróbilos femeninos y masculinos por árbol en los ensayos de estimulación floral en <i>Pseudotsuga menziesii</i> . ....	12
I.3. Efecto de la interacción sitio X dosis de AG <sub>4/7</sub> sobre el número de estróbilos femeninos y masculinos en los dos ensayos de estimulación floral en <i>Pseudotsuga menziesii</i> .....	14
I.4. Efecto del anillado y de la dosis de AG <sub>4/7</sub> sobre la distribución (%) de los estróbilos femeninos en la copa del árbol en dos ensayos de estimulación floral en <i>Pseudotsuga menziesii</i> .....	15
II.1. Significancia estadística (P) para la longitud promedio del brote en los ensayos de estimulación floral en <i>Pseudotsuga menziesii</i> . ....	30
II.2. Significancia (P) de los parámetros estimados del modelo de Schumacher ajustado a la curva de crecimiento del brote en relación con los diferentes factores evaluados. ....	31
II.3. Significancia estadística (P) para el incremento en la longitud del brote en el ensayo 2 y su relación con la formación de estróbilos femeninos en <i>Pseudotsuga menziesii</i> .....	34
II.4. Significancia (P) de los parámetros estimados del modelo de Schumacher ajustado a la curva de crecimiento del brote en relación con el efecto de la floración y la dosis de AG <sub>4/7</sub> en el ensayo 2.....	34

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Pág.
<b>I.1.</b> Relación entre la fenología del árbol (porcentaje de brotación en la copa) y la formación de estróbilos ( <b>a</b> ) femeninos (♀) y ( <b>b</b> ) masculinos (♂) en dos ensayos de estimulación floral en árboles juveniles de <i>Pseudotsuga menziesii</i> (x = No. de estróbilos; n <sub>a</sub> =64; n <sub>b</sub> =64). .....	13
<b>I.2.</b> Efecto de la interacción anillado X dosis de AG <sub>4/7</sub> sobre el número de estróbilos femeninos por árbol en <i>Pseudotsuga menziesii</i> . .....	14
<b>II.1.</b> Efecto del factor ensayo (a), anillado (b) y dosis de AG <sub>4/7</sub> (c) sobre la longitud promedio de brote. ....	31
<b>II.2.</b> Curva ajustada de crecimiento del brote (a) y tasa de crecimiento del brote (b) en los tres ensayos de estimulación floral en árboles juveniles de <i>Pseudotsuga menziesii</i> . .....	32
<b>II.3.</b> Efecto del anillado sobre la curva de crecimiento del brote en los ensayos 1 (a), 2 (b) y 3 (c) de estimulación floral en árboles juveniles de <i>Pseudotsuga menziesii</i> . .....	33
<b>II.4.</b> Efecto de la dosis de AG <sub>4/7</sub> sobre la curva de crecimiento del brote en los ensayos 1 (a), 2 (b) y 3 (c) de estimulación floral en árboles juveniles de <i>Pseudotsuga menziesii</i> . ....	33
<b>II.5.</b> Efecto de la formación de estróbilos sobre la curva de crecimiento (a) y la tasa de crecimiento del brote (b) en los árboles del ensayo 2 que recibieron 1.27 mg cm <sup>-2</sup> de AG <sub>4/7</sub> . .....	34

## INTRODUCCIÓN GENERAL

*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco pertenece a la familia *Pinaceae* y es la especie más conocida e importante económicamente para la producción de árboles de navidad; de manera natural se distribuye en casi todo el noroeste del Pacífico, hacia el sur a lo largo de las Montañas Rocallosas y en México en mayores elevaciones (Allen y Owens, 1972). En México, su distribución natural abarca el norte del país, tanto en la sierra Madre Occidental, en los estados de Chihuahua, Sonora, Coahuila, Durango y Zacatecas, como en la sierra Madre Oriental, en los estados de Nuevo León, Coahuila y Tamaulipas, así como la región central, con algunos bosquetes aislados y pequeños en los estados de Querétaro, Hidalgo, Puebla, Tlaxcala, Veracruz (Rzedowski, 1978) y Oaxaca (Debreczy y Rácz, 1995).

México tiene una demanda aproximada de 1.8 millones de árboles de navidad por año, de especies como *P. menziesii*, *Pinus ayacahuite* var. *veitchii*, *P. cembroides* y *Abies religiosa*; en la actualidad existen poco más de 500 proyectos de plantaciones forestales comerciales especializadas en el cultivo de árboles de navidad, con una superficie plantada de 1,750 ha en 14 estados. A pesar de los esfuerzos por producir árboles de navidad con especies de México, la importación de árboles de navidad ha mantenido una tendencia creciente en los últimos cuatro años; en 2008 fue de 1.2 millones de unidades, cantidad superior en 15 % a la de 2007. La mayor cantidad de árboles importados viene de EE.UU. y Canadá, y corresponde en gran medida a *P. menziesii* (CONAFOR, 2009).

Dado que *P. menziesii* existe de manera natural en México, es posible ampliar su uso en plantaciones de árboles de navidad en diferentes regiones del país; sin embargo, para ello se requiere de un abasto continuo de semilla de buena calidad. Aunque es posible obtener semilla de algunos rodales naturales de la especie, la mayoría de estas poblaciones se encuentran fragmentadas y discontinuas en manchones aislados, lo que reduce la calidad de la semilla por diversos factores de carácter genético y antropogénico, además de poner en riesgo la permanencia de la especie. Por ejemplo, las fluctuaciones climáticas bruscas, las deficiencias de nutrimentos, los cambios de uso de suelo, los incendios, el sobrepastoreo, la deriva genética y los efectos de endogamia reducen la posibilidad de que se presente polinización cruzada, ocasionando una

reducción de la variabilidad dentro de las poblaciones de esta especie (Zavala-Chávez y Méndez-Montiel, 1996; Mápula-Larreta *et al.*, 2007). Además, la producción de conos en rodales naturales fluctúa de un año a otro, con cosechas adecuadas en ciclos de 5 a 7 años (Allen y Owens, 1972).

Una alternativa para resolver el problema de abasto de semilla consiste en establecer un programa de producción de germoplasma en árboles juveniles de la especie. Diversos estudios han demostrado que es posible inducir la producción de estructuras reproductivas en especies de coníferas con diferentes tratamientos. Algunas prácticas culturales para incrementar la producción de conos han incluido anillado del tronco, poda de raíz, estrés por temperaturas y fertilización (Ross, 1991; Philipson, 1992). La estimulación floral mediante la aplicación de reguladores del crecimiento, particularmente giberelinas (AG), ha mostrado resultados satisfactorios en la producción de conos en una gama amplia de especies de coníferas; giberelinas menos polares que AG<sub>3</sub>, como AG<sub>4</sub>, AG<sub>7</sub> y AG<sub>9</sub>, han sido efectivas en la estimulación de la floración en diferentes especies de la familia *Pinaceae*. Se ha encontrado que la combinación del AG<sub>4</sub> y AG<sub>7</sub> (AG<sub>4/7</sub>) es la más efectiva y utilizada en la inducción de estructuras reproductivas, en concentraciones que varían de 25 a 800 mg L<sup>-1</sup> disueltas en 0.5-5 % de etanol (Ross, 1983). Los métodos más comunes de aplicación de las giberelinas son por aspersión foliar o por inyección en el tronco del árbol. Sin embargo, el uso de estos tratamientos solos o combinados tienen diferente grado de efectividad en la inducción de la floración, debido a diversos factores como la edad del árbol (Cherry *et al.*, 2007), la época, la dosis y el métodos de aplicación (Aderkas *et al.*, 2004).

Los tratamientos de inducción de estructuras reproductivas con AG<sub>4/7</sub> o con el uso de prácticas culturales, a menudo tienen efectos colaterales sobre el crecimiento de los brotes (Pharis and Kuo, 1977); estos efectos también dependen de diversos factores como el momento de aplicación de los tratamientos, la fenología y edad del árbol (Ross, 1983), así como la dosis y la especie (Little y Macdonald, 2003). En *P. menziesii*, la aplicación de AG<sub>4/7</sub> redujo la tasa relativa de crecimiento de los brotes (Cherry *et al.*, 2007), y en especies de *Picea* spp., la sequía y poda de raíz combinadas con AG<sub>4/7</sub> aceleraron el crecimiento del brote y redujeron su tasa de crecimiento (Philipson, 1992).

El presente trabajo se desarrolló con el propósito de establecer un programa de producción de semilla de *P. menziesii*, evaluando la efectividad de diferentes tratamientos para inducir estructuras reproductivas en árboles juveniles, de origen sexual. En el primer capítulo se analiza el efecto de la dosis de ácido giberélico ( $AG_{4/7}$ ) aplicado por inyección y del anillado del tronco sobre la inducción de estructuras reproductivas en árboles de diferentes edades y creciendo bajo diferentes condiciones ambientales; además, se analiza la influencia de la fenología sobre la respuesta a los tratamientos. Éstas prácticas de manejo se han utilizado con éxito en diversas especies de coníferas para inducir la diferenciación de estructuras reproductivas (Pharis *et al.*, 1987).

En el segundo capítulo se analiza el efecto de los tratamientos de inducción floral sobre la longitud total del brote y su curva de crecimiento estacional, dado que se ha observado que el  $AG_{4/7}$  pueden influir sobre estas características (Owens *et al.*, 1985); además, tratamientos que inducen estrés en los árboles, como el anillado o la poda de raíz, pueden acelerar o retrasar el crecimiento (Phillipson, 1983). En este capítulo también se analiza la posible relación entre la formación de estructuras reproductivas y el crecimiento del brote, para determinar si existe algún efecto de competencia entre ambos procesos, dado que se ha encontrado que en árboles juveniles las giberelinas son utilizadas preferentemente para el crecimiento vegetativo y que la floración sólo ocurre cuando la demanda de hormonas ha sido satisfecha (Webber *et al.*, 1985).

## CAPÍTULO I. EFECTO DEL ANILLADO Y AG<sub>4/7</sub> SOBRE LA INDUCCIÓN DE ESTRUCTURAS REPRODUCTIVAS EN ÁRBOLES JÓVENES DE *Pseudotsuga menziesii*

### RESUMEN

Con el propósito de establecer un programa de producción de semilla mejorada en *Pseudotsuga menziesii* para la producción de árboles de navidad, se evaluó el efecto del ácido giberélico (AG<sub>4/7</sub>) y del anillado en el tronco en la formación de estructuras reproductivas en dos ensayos de campo con árboles juveniles de origen sexual. Se utilizaron cuatro dosis de AG<sub>4/7</sub> (0, 1.27, 2.55 y 5.10 mg cm<sup>-2</sup>) aplicadas por inyección en el tronco del árbol y un año después se evaluó el porcentaje de árboles con respuesta y el número y posición de las estructuras reproductivas. Los tratamientos fueron más efectivos en formar estróbilos femeninos, con una respuesta que varió de 37.5 % en el sitio 1 a 62.5 % en el sitio 2; menos del 20 % de los árboles formaron estróbilos masculinos en los dos sitios. El desarrollo fenológico del árbol al momento de aplicar los tratamientos influyó sobre el número de estróbilos femeninos y masculinos formados. Además, el efecto del AG<sub>4/7</sub> sobre el número de estróbilos varió entre ensayos; en el sitio 1 la dosis baja (1.27 mg cm<sup>-2</sup>) fue la más efectiva en inducir estróbilos femeninos, mientras que en el sitio 2 fue la dosis alta (5.10 mg cm<sup>-2</sup>). El anillado aumentó el número de estróbilos cuando se combinó con dosis bajas de AG<sub>4/7</sub>, pero no tuvo efecto positivo cuando se utilizaron dosis altas. El análisis de los resultados indica que la aplicación de AG<sub>4/7</sub> en combinación con el anillado del tronco es efectiva en la inducción de floración en individuos sexualmente inmaduros de *Pseudotsuga menziesii*, lo que permite acelerar la producción de semilla mejorada en esta especie.

**Palabras clave:** ácido giberélico (AG<sub>4/7</sub>), anillado, fenología, floración, producción de semilla.

## ABSTRACT

With the purpose of establishing a program for the production of improved seed in *Pseudotsuga menziesii* for Christmas tree plantations, the effects of gibberellic acid (AG<sub>4/7</sub>) and bark girdling were evaluated on the formation of reproductive structures in two field essays with juvenile trees originated from seed. Four doses of AG<sub>4/7</sub> (0, 1.27, 2.55, and 5.10 mg cm<sup>-2</sup>) were injected into the tree trunk, and one year later the percentage of trees with a response and the number and position of the reproductive structures were evaluated. The treatments were more effective in the formation of female cones (strobili), with a response varying from 37.5% in site 1, to 62.5% in site 2; fewer than 20% of the trees formed male cones in both sites. Shoot phenology at the moment of applying the treatments affected the number of male and female cones formed. In addition, the effect of AG<sub>4/7</sub> on the number of cones varied across essays; in site 1 the low dosage (1.27 mg cm<sup>-2</sup>) was the most effective in inducing female cones, while in site 2 it was the high dose (5.10 mg cm<sup>-2</sup>). Bark girdling increased the number of cones when it was combined with low doses of AG<sub>4/7</sub>, but had no positive effect when high doses were used. The results indicate that the application of AG<sub>4/7</sub> combined with bark girdling is effective in flower induction of sexually immature *Pseudotsuga menziesii* trees, which allows accelerating production of genetically improved seed in this species.

**Key words:** Gibberellic acid (AG<sub>4/7</sub>), bark girdling, phenology, flowering, seed production.

## INTRODUCCIÓN

*Pseudotsuga menziesii* es una conífera valiosa en México para la producción de árboles de navidad; aunque suele importarse de EE.UU. y Canadá (Zavala-Chávez y Méndez-Montiel, 1996); la especie, aunque escasa, se localiza de manera natural en México, en las Sierras Madre Occidental, Oriental y del Sur (Martínez, 1963; Debreczy y Rácz, 1995), por lo que existe el potencial de establecer plantaciones comerciales. Para ello se requiere de un abasto continuo de semilla de buena calidad; sin embargo, la producción de semilla en rodales naturales de esta especie es afectada por las fluctuaciones climáticas bruscas, las deficiencias de nutrimentos, la polinización, la depredación de conos y semillas y los efectos de endogamia (Zavala-Chávez y Méndez-Montiel, 1996; Mápula-Larreta *et al.*, 2007).

Las poblaciones naturales de la especie, especialmente en la región central del país, se encuentran fragmentadas, aisladas y con baja capacidad reproductiva, lo que limita su permanencia (Mápula-Larreta *et al.*, 2008). La cosecha de semilla en estos rodales reduce aún más sus posibilidades de conservación; ante esta situación, se han iniciado programas de producción de germoplasma que permitan satisfacer las necesidades de plantación, reducir la presión en las poblaciones naturales y aumentar el intercambio genético entre poblaciones para contrarrestar los efectos de la deriva genética y la endogamia (Mápula-Larreta *et al.*, 2007).

Para producir semilla abundante, de buena calidad y en el menor tiempo posible, en especies de coníferas se han utilizado con éxito diversas prácticas de manejo que inducen la diferenciación de estructuras reproductivas (Pharis *et al.*, 1987); estas prácticas incluyen, entre otras, el anillado del tronco y la aplicación de reguladores del crecimiento (Ross y Bower, 1989, 1991; Philippe *et al.*, 2004; Cherry *et al.*, 2007). El anillado consiste en un bloqueo parcial del floema para modificar el transporte de carbohidratos y de otras sustancias dentro del árbol. Su efectividad depende de varios factores (Ebell, 1971); por ejemplo, Ross y Bower (1989) mostraron que el anillado incrementó la proporción de injertos con estróbilos femeninos (69 vs. 20 %) y masculinos (83 vs. 43 %) en *P. menziesii*. En otro estudio con la misma especie, se encontró que el anillado fue efectivo únicamente cuando se combinó con la aplicación de giberelinas (Ross y Pharis, 1976).



El ácido giberélico (AG) es el regulador de crecimiento más utilizado para inducir diferenciación floral en árboles (Kong y Aderkas, 2004); se ha encontrado que la combinación de AG<sub>4/7</sub> es la más efectiva para inducir la formación de estructuras reproductivas en los géneros *Pinus*, *Picea*, *Abies* y *Pseudotsuga* (Pharis *et al.*, 1980; Owens *et al.*, 2001). Sin embargo, existen diferentes factores que pueden afectar el éxito del AG<sub>4/7</sub>, entre ellos la edad de los árboles (Cherry *et al.*, 2007), la época, la dosis y el método de aplicación (Aderkas *et al.*, 2004), además de la combinación con prácticas culturales, como anillado, poda, manejo del riego y fertilización (Ross, 1991, 1992; Philipson, 1992, 1996).

Se han desarrollado técnicas de inducción floral en individuos jóvenes de origen asexual (estacas o injertos) de *P. menziesii* (Ross y Pharis, 1976; Ross *et al.*, 1980; Ross, 1983), y en clones injertados de mayor edad (Bonnet-Masimbert, 1989; Ross y Bower, 1989; Cherry *et al.*, 2007), con diferente grado de éxito. Sin embargo, no existe información del efecto de estos tratamientos en individuos juveniles de origen sexual y en materiales de México. En este trabajo se evaluó el efecto de la dosis de AG<sub>4/7</sub> en combinación con el anillado del tronco sobre la diferenciación de estructuras reproductivas en árboles jóvenes de *P. menziesii* de origen sexual; también se analizó la efectividad de los tratamientos en ensayos separados y la influencia de la fenología sobre la respuesta, con la finalidad de establecer una práctica de manejo eficiente para acelerar la producción de semilla en esta especie.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización de los ensayos de campo

El experimento se estableció en el Conjunto Predial Forestal, en el municipio de Aquixtla, Puebla (19° 43' 13" N y 97° 59' 20" O). Se realizaron dos ensayos paralelos en árboles jóvenes de *P. menziesii* establecidos en el bosque. El ensayo 1 se llevó a cabo en el paraje "El Manantial" a 2900 m, en una plantación de árboles de navidad de 10 años de edad (plantados en el 2000, a la edad de 2 años, con semilla procedente de Mineral del Chico, Hidalgo), creciendo en condiciones de luz solar plena, con podas recurrentes de la copa. El ensayo 2 se estableció en el paraje "Área semillera" a 2800 m, en una plantación de 11-13 años de edad (árboles plantados en 1996 y 1997, a la edad de un año, con semilla procedente de Terrenates, Tlaxcala, y Huayacocotla, Veracruz), creciendo bajo el dosel de árboles adultos de *Pinus patula*, sin poda de ramas durante los últimos 4 años. En cada ensayo se seleccionaron 32 árboles lo más homogéneo posible en altura, diámetro y condiciones de la copa. En cada árbol se midió el diámetro del tronco a una altura de 50 cm del suelo, para calcular el área transversal del mismo.

### Definición y aplicación de los tratamientos

En cada ensayo se evaluó el anillado y la dosis de AG<sub>4/7</sub> en un arreglo factorial, con dos niveles de anillado (con y sin anillado) y cuatro dosis de AG<sub>4/7</sub> (0, 1.27, 2.55 y 5.10 mg cm<sup>-2</sup>, equivalente a 0, 100, 200 y 400 mg de AG<sub>4/7</sub> en un árbol de 10 cm de diámetro basal), con 4 repeticiones. Los tratamientos se aplicaron al inicio del crecimiento del brote terminal, y se determinó en cada árbol el estado fenológico de la copa (porcentaje de brotación en el árbol). El anillado consistió en realizar dos cortes en forma de media luna con un serrote, aproximadamente en un 60 % de la circunferencia del tronco; el primer corte se hizo a una altura de 50 cm del suelo y el segundo a una distancia de 1.5 veces el diámetro del árbol.

El AG<sub>4/7</sub> se aplicó en una solución de 30 mg mL<sup>-1</sup> en alcohol etílico al 95 %, en un solo evento en ambos ensayos. En el tronco se hicieron orificios inclinados de 2-3 cm de profundidad, a 10 cm por arriba del corte superior del anillado y a una altura similar en los árboles no

anillados. La solución requerida, en función de la dosis y el área transversal del tronco, se aplicó con micro-pipeta; en el control se aplicó un volumen equivalente de alcohol etílico al 95 %; posteriormente los orificios se taparon con cera para evitar pérdida de la solución por evaporación.

### **Variables evaluadas y análisis de los datos**

Al año siguiente de aplicar los tratamientos se determinó en cada ensayo el porcentaje de árboles con estróbilos femeninos y masculinos, así como el número y posición de éstos en la copa de cada árbol, dividiendo la copa en cuartiles, desde el ápice hasta la base. Con estos datos se estimó el número de estróbilos por árbol, el número de ramas con estróbilos y la distribución relativa de estróbilos por cuartil en la copa.

Dado que las variables en estudio no se ajustan a una distribución normal (Kuehl, 2001), se utilizaron Modelos Lineales Generalizados (MLG) que permiten trabajar con variables que se ajusten a una distribución de la familia exponencial (Poisson, Binomial, etc.). El número de estróbilos por árbol y el número de ramas con estróbilos son variables discretas que no poseen valores negativos y tienen una distribución tipo Poisson. Para introducir las en el MLG, se realizó la transformación logarítmica de la respuesta  $[\log_e(x+0.1)]$ , lo que permite contraer la distribución, normalizarla y homogeneizar las varianzas (Zar, 1996). Después del análisis, las variables fueron re-transformadas a su escala original. El procedimiento PROC GENMOD (SAS, 1999) toma directamente la variable con distribución Poisson suponiendo, entre otras cosas, que se incrementa la varianza al aumentar la media; para este modelo se utilizó la función de enlace log (SAS, 1999). Los datos se sometieron a un análisis de varianza conjunto para los dos sitios, de acuerdo con el diseño experimental utilizado; dado que se encontró una correlación significativa entre el estado fenológico de la copa y la diferenciación de estructuras reproductivas, para remover el efecto de este factor se incluyó la fenología de los árboles como covariable en el modelo.

Para comparar el porcentaje de árboles con respuesta, y la distribución relativa de los estróbilos en los cuartiles de la copa entre tratamientos y ensayos, se utilizó la prueba de ji-cuadrada ( $\chi^2$ ), mediante tablas de contingencia (Infante y Zárate, 2000).

## RESULTADOS

### Proporción de árboles con estructuras reproductivas

En los dos ensayos de campo se observó la formación de estructuras reproductivas, pero mientras en el sitio 1 el 37.5 % de los árboles formaron estróbilos femeninos, en el sitio 2 la proporción fue de 62.5 % (Cuadro I.1). La frecuencia de árboles con estróbilos masculinos fue notoriamente menor en ambos sitios, variando de 6 % en el sitio 2 a 12.5 % en el sitio 1. El anillado al tronco no afectó de manera importante la proporción de árboles que formaron estructuras reproductivas, excepto en el caso de los estróbilos masculinos en el sitio 1 (6 % en los árboles anillados y 19 % en los no anillados). En cambio, la dosis de AG<sub>4/7</sub> sí tuvo un efecto importante; en el sitio 1 la frecuencia de árboles con estróbilos femeninos varió de 0 % en el testigo (sin AG<sub>4/7</sub>) hasta 75 % al aplicar 1.27 mg cm<sup>-2</sup> de AG<sub>4/7</sub> y la de estróbilos masculinos de 0 a 38 % en los mismos tratamientos (Cuadro I.1).

### Número de estructuras reproductivas por árbol

El número de estróbilos por árbol fue afectado significativamente ( $p \leq 0.05$ ) por varios de los factores evaluados (Cuadro I.2), aunque los efectos fueron más notorios en los femeninos. Por ejemplo, la fenología del árbol influyó en el número de estróbilos femeninos por árbol y el número de ramas con estróbilos ( $p \leq 0.001$ ), pero no sobre los estróbilos masculinos (Cuadro I.2). Los factores sitio y anillado por sí solos no tuvieron efectos significativos, pero cada uno de ellos en interacción con la dosis de AG<sub>4/7</sub> sí tuvo un efecto importante sobre la inducción de estructuras reproductivas. Por otro lado, la dosis de AG<sub>4/7</sub> influyó en el número de estróbilos femeninos por árbol y el número de ramas con estróbilos femeninos, pero no sobre el número de estróbilos masculinos en el árbol (Cuadro I.2).

**Cuadro I.1.** Proporción (%) de árboles de *Pseudotsuga menziesii* que desarrollaron estróbilos femeninos (♀) y masculinos (♂) en los dos ensayos de estimulación floral.

Ensayo	Estróbilos	Proporción de árboles con estróbilos (%)					
		Anillado <sup>†</sup>		Dosis de AG <sub>4/7</sub> (mg cm <sup>-2</sup> ) <sup>‡</sup>			
		Si	No	0	1.27	2.55	5.10
Sitio 1	♀	31	44	0	75	38	38
	♂	6	19	0	38	0	13
Sitio 2	♀	69	56	13	75	75	88
	♂	6	6	0	0	0	25

<sup>†</sup>El valor de  $\chi^2$  del efecto del anillado en los estróbilos ♀ y ♂ en el sitio 1 fue de 0.5 y 1.1. <sup>‡</sup>El valor de  $\chi^2$  del efecto de la dosis de AG<sub>4/7</sub> en los estróbilos ♀ y ♂ en el sitio 1 fue de 9.7 y 6.9.

El número de estróbilos tendió a aumentar en los árboles que se encontraban más avanzados en el desarrollo de los brotes (Figura I.1a); el efecto más notorio fue en árboles del sitio 2, en donde el mayor número de estróbilos femeninos se presentó en árboles con más del 90% de brotación al momento de aplicar los tratamientos. La inducción de estróbilos masculinos en el sitio 1 ocurrió en árboles que tenían entre el 30 y 70 % de brotación (Figura I.1b), mientras que en el sitio 2 no se observó efecto de la fenología sobre esta variable.

**Cuadro I.2.** Significancia estadística (P) para el número de estróbilos femeninos y masculinos por árbol en los ensayos de estimulación floral en *Pseudotsuga menziesii*.

Fuente de variación	Estróbilos femeninos (♀)		Estróbilos masculinos (♂)	
	♀/árbol	ramas (No.)	♂/árbol	ramas (No.)
Fenología	<0.001	<0.001	0.253	0.946
Sitio (S)	0.189	0.750	0.662	0.582
Anillado (A)	0.093	0.198	0.848	0.789
S x A	0.259	0.485	0.408	0.634
Dosis (D)	<0.001	<0.001	0.066	0.361
A x D	<0.001	0.592	0.673	0.882
S x D	<0.001	<0.002	0.008	0.386
S x A x D	0.124	0.613	0.045	0.663

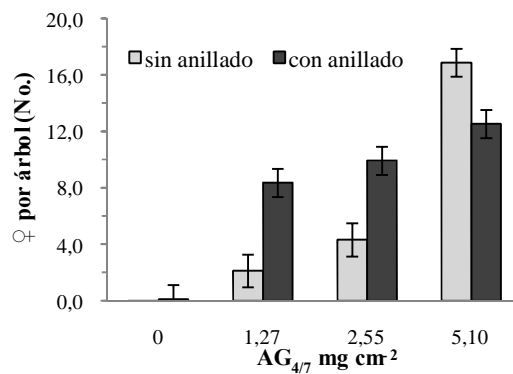


**Cuadro I.3.** Efecto de la interacción sitio X dosis de AG<sub>4/7</sub> sobre el número de estróbilos femeninos y masculinos en los dos ensayos de estimulación floral en *Pseudotsuga menziesii*.

Dosis AG <sub>4/7</sub> (mg cm <sup>-2</sup> )	Estróbilos femeninos (♀/árbol)			Estróbilos masculinos (♂/árbol)		
	Sitio 1	Sitio 2	Promedio	Sitio 1	Sitio 2	Promedio
0	0.01 c <sup>†</sup>	0.08 c	0.04 b	0.00 b	0.01 a	0.00 a
1.27	9.20 a	1.92 b	4.23 a	1.57 a	0.01 a	0.33 a
2.55	2.33 b	18.12 ab	6.56 a	0.00 b	0.01 a	0.00 a
5.10	8.36 ab	25.25 a	14.54 a	0.53 b	1.61 a	0.94 a

<sup>†</sup>Valores con diferente letra en columna son estadísticamente diferentes (Tukey; p ≤ 0.05).

El anillado del tronco con dosis bajas de AG<sub>4/7</sub> aumentó la formación de estróbilos femeninos por árbol, pero combinado con dosis altas tuvo un efecto negativo, en comparación con árboles sin anillar (Figura I.2). Así, árboles anillados y con 1.27 mg cm<sup>-2</sup> de AG<sub>4/7</sub> aumentaron de 2.1 a 8.4 el número de estróbilos, mientras que el anillado redujo el número de estróbilos de 16.9 a 12.5 con la dosis de 5.10 mg cm<sup>-2</sup>.



**Figura I.2.** Efecto de la interacción anillado X dosis de AG<sub>4/7</sub> sobre el número de estróbilos femeninos por árbol en *Pseudotsuga menziesii*.

### Posición de las estructuras reproductivas en la copa del árbol

En ambos ensayos, la mayoría de los estróbilos femeninos se encontró en los dos primeros cuartiles de la parte superior de la copa del árbol, y ninguno en el cuartil inferior (Cuadro I.4). En



ambos casos el anillado modificó la distribución de los estróbilos, aumentando su proporción hacia las ramas bajas de la copa, en el segundo (sitio 1) y tercer (sitio 2) cuartil, respecto a los árboles no anillados (Cuadro I.4). La dosis de AG<sub>4/7</sub> también afectó la distribución de los estróbilos femeninos en la copa del árbol, pero el efecto fue distinto entre sitios; en el sitio 1, la dosis elevada propició una mayor formación de estróbilos en el primer cuartil de la copa, mientras que en el sitio 2 el efecto fue en el segundo cuartil (Cuadro I.4).

**Cuadro I.4.** Efecto del anillado y de la dosis de AG<sub>4/7</sub> sobre la distribución (%) de los estróbilos femeninos en la copa del árbol en dos ensayos de estimulación floral en *Pseudotsuga menziesii*.

Cuartil de la copa	Proporción (%) de estróbilos femeninos en la copa del árbol											
	Anillado <sup>†</sup>				Dosis de AG <sub>4/7</sub> (mg cm <sup>-2</sup> ) <sup>‡</sup>							
	Sitio 1		Sitio 2		Sitio 1				Sitio 2			
	No	Si	No	Si	0	1.27	2.55	5.10	0	1.27	2.55	5.10
Primero	65.2	18.2	24.3	30.3	0.0	16.3	27.3	73.3	0.0	66.7	27.8	25.1
Segundo	31.9	79.5	59.3	39.7	0.0	81.4	72.7	23.3	100.0	14.8	41.2	53.3
Tercero	2.9	2.3	16.4	30.0	0.0	2.3	0.0	3.3	0.0	18.5	31.0	21.6
Cuarto	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

<sup>†</sup>El valor de  $\chi^2$  del efecto del anillado en los sitios 1 y 2 fue de 37.1 y 20.6. <sup>‡</sup> El valor de  $\chi^2$  del efecto de la dosis de AG<sub>4/7</sub> en los sitios 1 y 2 fue de 51.2 y 32.3.

## DISCUSIÓN

### Efectividad de la inducción de estructuras reproductivas

Se logró inducir la formación de estróbilos masculinos y femeninos en árboles jóvenes de origen sexual de *P. menziesii*, de manera consistente en dos ensayos realizados bajo diferentes condiciones ambientales y de manejo. La mayoría de los trabajos publicados en esta especie han utilizado material de origen asexual, generalmente injertos obtenidos de individuos sexualmente maduros (Philippe *et al.*, 2004) y con un historial de producción conocido. Aunque la proporción de árboles que formó estróbilos femeninos y masculinos fue baja (Cuadro I.1), el estudio muestra que mediante la aplicación oportuna de la dosis apropiada de AG<sub>4/7</sub>, con o sin anillado del tronco, es posible acelerar la producción de semilla en individuos sexualmente inmaduros de *P. menziesii*.

La efectividad de la inducción varió ligeramente entre los ensayos; la proporción de árboles que formaron estróbilos femeninos fue mayor en el sitio 2 (62.5 y 37.5 %) y la proporción con estróbilos masculinos fue mayor en el sitio 1 (12.5 vs. 6.0 %); el número de estróbilos femeninos fue mayor en el sitio 2 y el de estróbilos masculinos similar en los dos sitios (Cuadro I.3). Estas diferencias se pueden deber a diversos factores, incluyendo la edad (los árboles del sitio 2 eran mayores que los del sitio 1), el microambiente (en el sitio 2 la temperatura media durante el periodo de febrero a mayo de 2008 fue ligeramente mayor (11.4 vs. 10.2 °C), el manejo previo de los árboles (los árboles del sitio 1 recibieron podas recurrentes, mientras que los del sitio 2 no fueron podados en los últimos 4 años), o el estado fenológico de los árboles (los árboles del sitio 2 se encontraban más avanzados fenológicamente que los del sitio 1, como resultado del microambiente y la procedencia del germoplasma).

### Efecto de la fenología del brote

El estado fenológico de los brotes influyó sobre la efectividad de los tratamientos para inducir estructuras reproductivas; la formación de estróbilos femeninos fue más común en los árboles fenológicamente avanzados, mientras que los masculinos ocurrieron en árboles menos

avanzados (Figura I.1). Esto parece indicar que la diferenciación de las estructuras femeninas y masculinas en esta especie ocurre en diferentes etapas de desarrollo de los brotes, como se ha encontrado en otras especies. Por ejemplo, en *Picea engelmannii*, el estrés por sequía y calor aplicado en etapas tempranas del desarrollo de los brotes favoreció la formación de estróbilos masculinos, mientras que en etapas más avanzadas favoreció a los femeninos (Ross, 1985).

Aunque Ross (1983) señala que las aplicaciones de AG<sub>4/7</sub> en *P. menziesii* al inicio de la apertura del brote son más efectivas para inducir los dos tipos de estróbilos, otros autores han demostrado que el estado fenológico del brote influye sobre la proporción de sexos en las estructuras diferenciadas (Harrison y Owens, 1994). En *Larix laricina* la formación de estróbilos femeninos incrementa cuando se aplica antes de la apertura del brote y al inicio del crecimiento, mientras que la formación de estróbilos masculinos sólo ocurre cuando se aplican al inicio del crecimiento del brote (Eysteinnsson y Greenwood, 1995). Por el contrario, Ho y Eng (1995) encontraron que en *Pinus strobus* la producción de estróbilos masculinos aumenta al inicio de la etapa de crecimiento rápido del brote, mientras que en la etapa final de crecimiento no hay efecto de los tratamientos. Por lo anterior, se puede inferir que la diferenciación de estructuras masculinas ocurre primero, en la fase inicial de crecimiento del brote y en etapas más avanzadas se diferencian las estructuras femeninas (Ross, 1985; Harrison y Owens, 1994).

### **Efecto de la dosis de AG<sub>4/7</sub>**

Los resultados corroboraron la efectividad del AG<sub>4/7</sub> para inducir la diferenciación de estructuras reproductivas; sin embargo, la dosis más adecuada varió de un sitio a otro y con respecto al sexo de los estróbilos (Cuadro I.3). Greenwood (1987) menciona que el AG<sub>4/7</sub> es más efectivo en promover la producción de estróbilos femeninos, aunque las diferencias entre ambos sexos también podrían deberse al momento de aplicación de la hormona en relación con la fenología del brote (Harrison y Owens, 1994) o a las dosis utilizadas. Cherry *et al.* (2007) lograron promover mayor número de estróbilos masculinos que femeninos con dosis bajas de AG<sub>4/7</sub> (0.338 y 1.35 mg cm<sup>-2</sup>). En la familia Cupressaceae también se ha encontrado que las dosis bajas de AG<sub>4/7</sub> promueven los estróbilos masculinos (Pharis y Kuo, 1977).

La formación de estróbilos femeninos fue mayor en el sitio 2 al utilizar dosis altas de AG<sub>4/7</sub>, mientras que en el sitio 1 la dosis baja tuvo mayor efecto en la formación de estróbilos. La edad y el manejo previo de los árboles en cada sitio pudieron influir en estos resultados, al modificar su estado de juvenilidad; los árboles del sitio 2 representan una mayor edad fisiológica y se ha encontrado que la respuesta a la estimulación floral incrementa con la edad de los árboles (Cherry *et al.*, 2007); estos mismos autores sugieren aplicar dosis bajas en árboles jóvenes en combinación con el anillado del tronco, lo cual coincide con Ross (1983), quien con dosis bajas (100 mg L<sup>-1</sup>) obtuvo una mayor formación de estróbilos femeninos en *P. menziesii* que con las dosis altas (800 mg L<sup>-1</sup>) de AG<sub>4/7</sub>.

Dosis elevadas de AG<sub>4/7</sub> pueden tener efectos adversos sobre los árboles tratados, especialmente en los jóvenes, en algunos árboles se observó una ligera declinación en las ramas de la parte baja del árbol, posiblemente por efectos de fito-toxicidad, como se ha observado en otros estudios (Ross y Bower, 1991). En otros casos se ha observado que las dosis elevadas de AG<sub>4/7</sub> pueden tener efectos indirectos que afectan la salud y el vigor de los árboles, derivados de la energía utilizada en la producción de estróbilos (Bonnet-Masimbert, 1987; Cherry *et al.*, 2007).

En condiciones naturales, las especies de coníferas forman los estróbilos femeninos en la parte superior de la copa y los masculinos en la parte media y baja (Dick *et al.*, 1985). Este mismo patrón se ha observado en árboles jóvenes o injertos fisiológicamente maduros al aplicar tratamientos para estimular la floración (Philipson, 1985a; Ross, 1990). Sin embargo, en este trabajo se encontró que la dosis de AG<sub>4/7</sub> afectó la distribución de los estróbilos femeninos en ambos sitios (Cuadro I.4). En el sitio 1, la dosis baja aumentó la proporción de estróbilos en el segundo cuartil de la copa y la dosis más alta la aumentó en el primer cuartil; en el sitio 2, aunque se mantiene una mayor proporción de estróbilos en la parte alta de la copa, también aumenta la formación de estróbilos en el tercer cuartil. Dado que los árboles del sitio 2 tienen mayor altura que los del sitio 1, las diferencias en la posición de los estróbilos pueden deberse a la distancia que hay del punto de aplicación de la hormona al ápice de la copa.

## **Efecto del anillado del tronco**

El anillado en el tronco por sí solo no tuvo el efecto esperado, ya que se ha demostrado que el anillado es una práctica efectiva en la formación de estróbilos en especies de *Larix* y *Pseudotsuga* (Ross y Bower, 1989; Philipson, 1996; Cherry *et al.*, 2007). Sin embargo, cuando se utilizaron dosis bajas de AG<sub>4/7</sub>, el anillado aumentó la producción de estróbilos femeninos, indicando que esta práctica de manejo influye sobre la efectividad del tratamiento hormonal. En *Picea abies* los mejores resultados para formar estróbilos masculinos y femeninos se obtuvieron cuando se aplicó el AG<sub>4/7</sub> sin anillado (Bonnet-Masimbert, 1987); por el contrario, en *Picea sitchensis* el AG<sub>4/7</sub> combinado con calor y sequía estimuló la formación de ambos tipos de estróbilos y el anillado fue más efectivo cuando se combinó con calor (Philipson, 1992).

El anillado también modificó la posición de los estróbilos femeninos en la copa del árbol, aumentando su proporción en la parte baja (segundo y tercer cuartil) de la copa (Cuadro I.4). Este efecto coincide con la acción del AG<sub>4/7</sub>, indicando que el bloqueo parcial en el floema ocasionó una mayor disponibilidad de carbohidratos y de otras sustancias promotoras del crecimiento en las ramas bajas de la copa, más cercanas al punto de bloqueo, como se ha encontrado en estudios previos (Ross y Bower, 1989).

## **Implicaciones para la producción de semillas**

Los tratamientos aplicados son efectivos y prácticos para inducir estróbilos femeninos y masculinos en árboles juveniles de *P. menziesii*; sin embargo se debe promover un mayor equilibrio en la formación de estructuras de ambos sexos. La época de aplicación fue apropiada para la formación de estróbilos femeninos, pero es necesario explorar la aplicación en etapas fenológicas más tempranas para aumentar la formación de estróbilos masculinos y la proporción de árboles con respuesta favorable. Es evidente que las diferencias en la respuesta de los árboles se deben a múltiples factores relacionados con la edad, vigor y estado fisiológico de cada uno de ellos, por lo que es importante asegurar una mayor homogeneidad en el manejo de la plantación para aumentar la capacidad de producción de semilla.

La producción de polen es a menudo un factor limitante en árboles juveniles; sin embargo, en la producción operativa de semilla el problema se puede resolver en forma práctica mediante la recolecta de polen de árboles maduros y la polinización artificial de los estróbilos femeninos inducidos. En este trabajo, los estróbilos que no fueron polinizados se desarrollaron de manera normal, posiblemente por el efecto de las giberelinas, pero no formaron semillas; en cambio, los estróbilos polinizados artificialmente alcanzaron un mayor tamaño y formaron semillas con embrión. Por ende es posible obtener semilla viable en árboles juveniles a bajo costo, especialmente si se utilizan dosis bajas de AG<sub>4/7</sub> en combinación con anillado del tronco.

## CONCLUSIONES

En los dos ensayos se logró promover la formación de estructuras reproductivas femeninas y masculinas en árboles juveniles de origen sexual con la aplicación de AG<sub>4/7</sub> inyectado al tronco; el nivel de éxito varió en cada caso debido a las condiciones del sitio, la edad de los árboles, el manejo previo y el desarrollo fenológico. El anillado fue efectivo cuando se combinó con dosis bajas de AG<sub>4/7</sub> ( $\leq 2.55 \text{ mg cm}^{-2}$ ), pero combinado con dosis altas tuvo un efecto negativo. Estos tratamientos pueden ser útiles en programas operativos de producción de semilla de *Pseudotsuga menziesii*.

## CAPÍTULO II. EFECTO DEL AG<sub>4/7</sub> SOBRE EL CRECIMIENTO DEL BROTE EN ÁRBOLES JUVENILES DE *Pseudotsuga menziesii*

### RESUMEN

Con el propósito de evaluar posibles efectos colaterales de los tratamientos de inducción floral en individuos juveniles de *Pseudotsuga menziesii*, se analizó el efecto del AG<sub>4/7</sub> y del anillado en el tronco sobre el crecimiento de los brotes y la posible relación entre la formación de estróbilos femeninos y el crecimiento del brote. Los tratamientos se aplicaron en dos ensayos con árboles de 11-13 años creciendo en el terreno y uno en árboles de cuatro años, en maceta. Se utilizaron cuatro dosis de AG<sub>4/7</sub> (0, 1.27, 2.55 y 5.10 mg cm<sup>-2</sup>) aplicadas por inyección en el tronco del árbol y durante el periodo de crecimiento se midió la longitud total de los brotes y se ajustó la curva de crecimiento promedio con el modelo de Schumacher. Se encontraron diferencias entre ensayos, entre los niveles de anillado y dosis de AG<sub>4/7</sub> sobre la longitud del brote, pero no se encontró un efecto significativo de las interacciones entre los factores. En el ensayo 1 el brote creció 30 % más que en los otros ensayos, pero en el ensayo 2 inició primero el crecimiento y alcanzó una mayor tasa máxima de crecimiento; los árboles de menor edad en el ensayo 3 presentaron la menor longitud del brote. El anillado redujo en 9 % y retrasó en seis días el crecimiento del brote con respecto a los árboles no anillados; en cambio el AG<sub>4/7</sub> aumentó en 12 % la longitud final del brote y aceleró su crecimiento. La formación de estróbilos femeninos ocasionó un retraso en la curva de crecimiento del brote, pero no redujo de manera significativa su longitud total.

**Palabras clave:** Ácido giberélico (AG<sub>4/7</sub>), anillado, longitud de brote, tasa de crecimiento, inducción floral.



## ABSTRACT

To evaluate potential collateral effects of flower induction treatments applied to juvenile *Pseudotsuga menziesii* trees, the effects of GA<sub>4/7</sub> and bark girdling on shoot elongation and the relationship between induction of female cones (strobili) and shoot elongation were evaluated. Induction treatments were applied in two field trials with 11- to 13-years-old trees and one pot trial with 4-years-old trees. Four doses of AG<sub>4/7</sub> (0, 1.27, 2.55 y 5.10 mg cm<sup>-2</sup>) were evaluated, applied by injection into the tree trunk at the time of bud-burst; during the growing period the total length of shoots was measured and the average growth curve was adjusted using the Schumacher model. Differences in shoot length were found across trials as well as among AG<sub>4/7</sub> doses and girdling levels, but no significant interactions between factors were detected. In trial 1 shoot grew 30 % more than in the others, but in trial 2 shoot growth started first and reached the highest maximum growth; the youngest trees in trial 3 showed the lowest shoot length. Bark girdling reduced shoot growth by 9 % and retarded it by six days, whereas AG<sub>4/7</sub> increased 12 % the final shoot length and accelerated its growth. The induction of female cones caused a slight delay in the shoot growth curve, but final shoot length was not significantly reduced.

**Key words:** Gibberellic acid (GA<sub>4/7</sub>), bark girdling, shoot length, growth rate, flower induction.

## INTRODUCCIÓN

Las especies forestales leñosas, especialmente las coníferas de clima templado frío, requieren de un periodo prolongado para alcanzar la madurez sexual (Aderkas *et al.*, 2004), lo cual limita en gran medida la producción de semilla en los programas de mejoramiento genético. Una de las alternativas para acelerar la producción de semilla en estas especies es la inducción de estructuras reproductivas en árboles juveniles. Existen diferentes técnicas y tratamientos de cultivo que se han utilizado con éxito para inducir floración precoz en especies de coníferas, como la aplicación de reguladores del crecimiento, combinada con tratamientos culturales como anillado, poda, tratamientos de calor, sequía y fertilización, entre otros (Bonnet-Masimbert, 1987; Pharis *et al.*, 1980; Ross, 1983; Webber *et al.*, 1985).

Los tratamientos de inducción floral utilizados en las especies de coníferas estimulan el desarrollo de ápices laterales, seguido del crecimiento y transformación a brotes sexuales (Greenwood, 1981); sin embargo, algunos de estos tratamientos, como la poda, anillado, altas temperaturas, sequía y otras técnicas que producen estrés en los árboles, también pueden retardar o reducir el crecimiento vegetativo de las ramillas (Pharis and Kuo, 1977; Greenwood, 1981). Pharis *et al.* (1980) observaron que plántulas de *Pseudotsuga menziesii* contienen altos niveles de AG<sub>3</sub>, pero tienen una cantidad baja de otras giberelinas menos polares como AG<sub>4</sub> y AG<sub>7</sub>, y que árboles tratados con giberelinas polares, como la AG<sub>3</sub>, no son eficientes para promover la floración ni el crecimiento de brotes en esta especie. Las giberelinas endógenas se movilizan de manera similar a las giberelinas aplicadas en forma exógena, como AG<sub>4</sub> y AG<sub>7</sub>, y los niveles endógenos de giberelinas incrementan a medida que el árbol alcanza la madurez sexual (Ross, 1976). En árboles juveniles, las giberelinas son utilizadas primordialmente para mantener el crecimiento vegetativo, mientras que en árboles maduros la cantidad de giberelinas utilizadas para promover el crecimiento del brote disminuye, como consecuencia de la reducción en la tasa de crecimiento; esto ocasiona una mayor disponibilidad de giberelinas endógenas para los procesos reproductivos (Ross, 1983).

En *Picea sitchensis* (Bong.) Carr. bajo condiciones de altas temperaturas, sequía y aplicaciones de AG<sub>4/7</sub> el crecimiento del brote se acelera y en un periodo aproximado de dos

meses alcanza el 98% de su longitud total, comparado con los testigos que en el mismo periodo alcanzan sólo el 35% de su longitud total (Phillipson, 1992). En otro estudio, Owens y Simpson (1988) encontraron que en *Picea engelmannii* (Parry) los tratamientos de poda de raíz, estrés por sequía y altas temperaturas, redujeron la tasa de crecimiento del brote. Algunos trabajos aseguran que los tratamientos que inducen estrés (anillado, poda de raíz, sequía) invariablemente retardan el crecimiento de los brotes (Phillipson, 1983; Webber *et al.*, 1985) y que el incremento de temperaturas en el invernadero no constituye un ambiente de estrés en el mismo sentido que la sequía (Ross, 1985). En *P. menziesii*, la aplicación de AG<sub>4/7</sub> estimuló la floración pero redujo la tasa relativa de crecimiento de los brotes (Cherry *et al.*, 2007) durante el periodo de desarrollo de los conos; esto indica que los tratamientos que estimulan una mayor producción de estructuras reproductivas (AG<sub>4/7</sub> solo y AG<sub>4/7</sub> + anillado) generalmente ocasionan una reducción en el crecimiento total y/o en la tasa de crecimiento del brote.

La época de aplicación del AG<sub>4/7</sub> puede influir en la respuesta del crecimiento del brote (Owens *et al.*, 1985); aplicaciones al inicio del periodo de crecimiento de los brotes promueven una mayor longitud de estos, mientras que aplicaciones tardías tienen muy poco efecto o ninguno. Por ejemplo, en *Tsuga heterophylla* (Raf.) Sarg. aplicaciones foliares de AG<sub>4/7</sub> en una concentración de 200 mg/L<sup>-1</sup> durante el crecimiento del brote ocasionaron un aumento del 80% en su longitud final; sin embargo, la respuesta no fue similar en todos los clones, por lo que es evidente que también influye el genotipo (Harrison y Owens, 1994).

Ross (1983) demostró en *P. menziesii* que la aplicación de AG<sub>4/7</sub> antes de la apertura de las yemas vegetativas incrementa el crecimiento del brote pero no la floración, mientras que al aplicarlo durante el periodo de rápido crecimiento, incrementa la floración pero no la longitud del brote; este mismo autor sugiere que tanto las giberelinas endógenas como exógenas son utilizadas por el árbol preferentemente para el crecimiento vegetativo, con un incremento en la floración sólo después de alcanzar cierto umbral de concentración. Consistente con lo anterior, Webber *et al.* (1985) encontraron que aplicaciones de AG<sub>4/7</sub> en *P. menziesii* son utilizadas preferentemente para el crecimiento vegetativo y que la floración sólo ocurre cuando la demanda de hormonas ha sido satisfecha.

Con base en lo anterior, en este trabajo se analizó el efecto del anillado en el tronco y de la aplicación de diferentes dosis de  $AG_{4/7}$  con fines de inducción floral sobre el crecimiento de brotes laterales en árboles jóvenes de *Pseudotsuga menziesii* y la posible relación entre la inducción de estructuras reproductivas y el crecimiento del brote.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización y establecimiento del experimento

El experimento se estableció en el Conjunto Predial Forestal, en el municipio de Aquixtla, Puebla ( $19^{\circ} 43' 13''$  N y  $97^{\circ} 59' 20''$  O). Se realizaron dos ensayos en árboles jóvenes de *P. menziesii*, en condiciones de campo, y uno en árboles creciendo en maceta. El ensayo 1 se estableció en el paraje “El Manantial” a 2,900 m, en una plantación de árboles de navidad de 10 años de edad, creciendo en condiciones de luz solar plena, con podas recurrentes de la copa. El ensayo 2 se estableció en el paraje “Área semillera” a 2,800 m, en una plantación de 11-13 años de edad, creciendo bajo el dosel de árboles adultos de *Pinus patula*, sin poda de ramas durante los últimos cuatro años. El ensayo 3 se estableció en el vivero del paraje El Manantial en condiciones de luz solar plena, con árboles de cuatro años de edad. En cada ensayo se seleccionaron 32 árboles lo más homogéneo posible en cuanto a altura, diámetro y condiciones de la copa. En cada árbol se midió el diámetro del tronco a una altura de 50 cm (ensayos 1 y 2) o 10 cm (ensayo 3) del suelo, para calcular el área transversal del tallo.

### Diseño experimental y aplicación de los tratamientos

En cada ensayo se evaluó el efecto del anillado en dos niveles (con y sin anillado) y cuatro dosis de  $AG_{4/7}$  (0, 1.27, 2.55 y 5.10  $mg\ cm^{-2}$ , equivalente a 0, 100, 200 y 400 mg de  $AG_{4/7}$  en un árbol de 10 cm de diámetro basal), en un arreglo factorial con cuatro repeticiones por tratamiento. Los tratamientos se aplicaron al inicio del crecimiento del brote terminal, determinando en cada árbol el estado fenológico de la copa (porcentaje de brotación en el árbol). El anillado consistió en realizar dos cortes en forma de media luna con un serrrote, aproximadamente en un 60% de la circunferencia del tronco. En los ensayos 1 y 2, el primer corte se hizo a una altura de 50 cm del suelo y el segundo a una distancia de 1.5 veces el diámetro del árbol; en el ensayo 3, el primer corte se hizo a una altura de 10 cm y el segundo corte a una distancia equivalente a 1.5 veces el diámetro del árbol.

El AG se aplicó en una solución de 30 mg ml<sup>-1</sup> en alcohol etílico al 95%, en un solo evento en los tres ensayos. En el tronco se hicieron orificios inclinados a una altura de 10 cm por arriba del corte superior del anillado y a una altura similar en los árboles no anillados. La solución requerida, en función de la dosis y área transversal del tronco, se aplicó con micro-pipeta; en el control se aplicó un volumen equivalente de alcohol etílico al 95%; posteriormente los orificios se taparon con cera para evitar pérdida de la solución por evaporación.

### **VARIABLES CONSIDERADAS Y TOMA DE DATOS**

En los 32 árboles incluidos en cada ensayo se seleccionaron y marcaron varias ramillas terminales por árbol a lo largo de la copa, a partir del ápice (siete ramillas en los ensayos 1 y 2, y cinco ramillas en el ensayo 3); cada ramilla se identificó con un listón de diferente color en función de su posición en la copa. Al momento de aplicar los tratamientos se determinó el estado fenológico de la yema terminal de cada ramilla y la longitud inicial del brote (en caso de que la yema ya hubiera “reventado”). Posteriormente, cada dos semanas se midió la longitud acumulada del brote en cada una de las ramillas, a partir de la base de la yema terminal, con una regla graduada en mm; la toma de datos continuó durante un periodo de siete meses (del 21 de marzo hasta el 4 de octubre), para asegurar el término del periodo de crecimiento de los brotes. Cuando una de las ramillas marcadas murió o se dañó, se eliminó de la base de datos. Con los datos de crecimiento obtenidos se generó una curva de crecimiento para cada uno de los brotes muestreados.

### **ANÁLISIS DE LOS DATOS**

Con los valores promedio de longitud de brotes por árbol se realizó un análisis de varianza para determinar el efecto de los factores ensayo, anillado y dosis de AG<sub>4/7</sub> mediante el procedimiento GLM (SAS, 1998). En los factores que mostraron efectos significativos se realizó una comparación de medias utilizando la prueba Tukey ( $p \leq 0.05$ ). Para identificar los posibles efectos de los tratamientos de inducción floral sobre el patrón de crecimiento del brote, se efectuaron análisis de regresión no lineal mediante el procedimiento PROC MODEL (SAS, 1998) para estimar los parámetros desconocidos del siguiente modelo [Longitud = f (dosis,

anillado)]. Posteriormente, con los parámetros estimados se ajustó el modelo de tipo Schumacher por medio del método de mínimos cuadrados con el paquete estadístico S-Plus (S-Plus, 2005). El modelo de Schumacher utilizado fue el siguiente:

$$Y = \beta_0 * e^{(-\beta_1/d)} \quad (1)$$

donde:  $Y$  = longitud del brote (cm);  $d$  = número de días;  $e$  = base del logaritmo natural;  $\beta_0$  y  $\beta_1$  = parámetros de regresión del modelo.

Este modelo permite separar los parámetros específicos  $\beta_0$  y  $\beta_1$  que representan la asíntota o valor máximo que puede alcanzar la curva de crecimiento, y la fecha en que ocurre la tasa máxima de crecimiento acumulado, respectivamente. Para comparar el efecto de los factores ensayo, dosis de AG<sub>4/7</sub> y anillado del tronco sobre la curva de crecimiento y longitud total del brote, se tomó como base el modelo (1), derivando la siguiente ecuación:

$$Y_{ijk} = (\beta_{00} + \beta_{0D1} + \beta_{0D2} + \beta_{0D3} + \beta_{0A1} + \beta_{0E1} + \beta_{0E2}) * e^{-(\beta_{10} + \beta_{1D1} + \beta_{1D2} + \beta_{1D3} + \beta_{1A1} + \beta_{1E1} + \beta_{1E2})/d_{ijk}} + \square_{ijk}$$

$D_i$  es la variable indicadora del  $i$ -ésimo nivel de dosis;  $A_j$  es la variable indicadora del  $j$ -ésimo nivel de anillado; y  $E_k$  es la variable indicadora del  $k$ -ésimo ensayo; las demás variables fueron definidas anteriormente.

Para evaluar la relación entre la inducción de estructuras reproductivas y el crecimiento del brote, se realizó un análisis de varianza de la longitud total del brote en los árboles del ensayo 2 (donde se obtuvo la mayor proporción de árboles con estructuras reproductivas); los árboles de este ensayo que recibieron dosis de 1.27 y 5.10 mg cm<sup>-2</sup> de AG<sub>4/7</sub> se separaron en dos grupos (árboles con y sin estróbilos) y se comparó la longitud promedio del brote entre ellos. Además, se comparó la curva de crecimiento del brote de los dos grupos de árboles, utilizando el procedimiento de ajuste del modelo de Schumacher (1) descrito anteriormente:

$$Y_{ij} = (\beta_{00} + \beta_{0F} + \beta_{0D3}) * e^{-(\beta_{10} + \beta_{1F} + \beta_{1D3})/d_{ij}} + \square_{ij}$$

donde  $F$  es la variable indicadora de la formación de estróbilos femeninos, las demás variables fueron definidas anteriormente.

## RESULTADOS

### Crecimiento promedio del brote en los tres ensayos

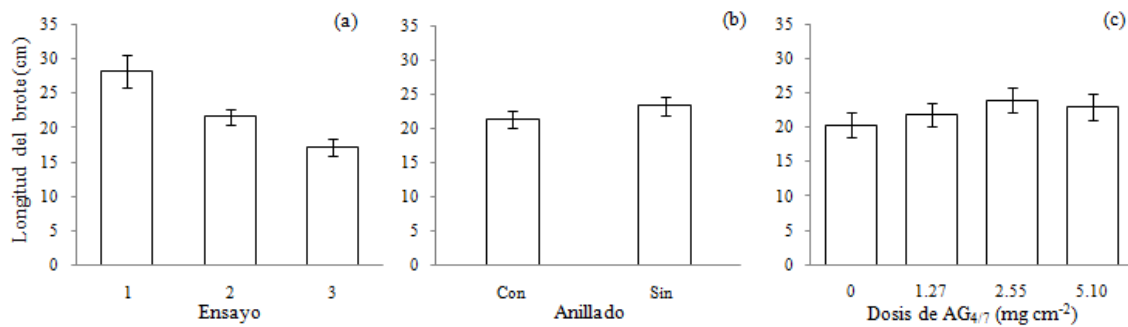
Los resultados del análisis de varianza mostraron diferencias significativas entre los ensayos ( $P < 0.001$ ) y entre los niveles de anillado y las dosis de  $AG_{4/7}$  ( $P < 0.05$ ) en la longitud del brote alcanzada al final del periodo de crecimiento, pero no se encontró un efecto significativo de las interacciones entre los factores evaluados (Cuadro II.1).

**Cuadro II.1.** Significancia estadística (P) para la longitud promedio del brote en los ensayos de estimulación floral en *Pseudotsuga menziesii*.

Fuente de variación	Significancia estadística (P)
Ensayo	<0.001
Rep(ensayo)	0.4919
Anillado	0.0196
Ensayo*anillado	0.0548
Dosis	0.0180
Ensayo*dosis	0.4202
Anillado*dosis	0.8126
Ensayo*anillado*dosis	0.9066

El crecimiento total del brote en el ensayo 1 fue 30 % mayor que en el ensayo 2 (28.2 vs. 21.6 cm), en árboles de edad similar; en los árboles más jóvenes del ensayo 3 el crecimiento del brote fue menor (Figura II.1a). Por otro lado, el anillado en el tronco redujo en 9 % la longitud promedio del brote (21.3 vs 23.3 cm) (Figura II.1b) mientras que la aplicación de  $AG_{4/7}$  aumentó en promedio 12 % la longitud del brote con respecto a los árboles que no recibieron este regulador del crecimiento (Figura II.1c); una prueba de contrastes indicó que el testigo (sin  $AG_{4/7}$ ) fue estadísticamente diferente ( $P \leq 0.01$ ) al promedio de los árboles que recibieron  $AG_{4/7}$ .





**Figura II.1.** Efecto del factor ensayo (a), anillado (b) y dosis de AG<sub>4/7</sub> (c) sobre la longitud promedio de brote.

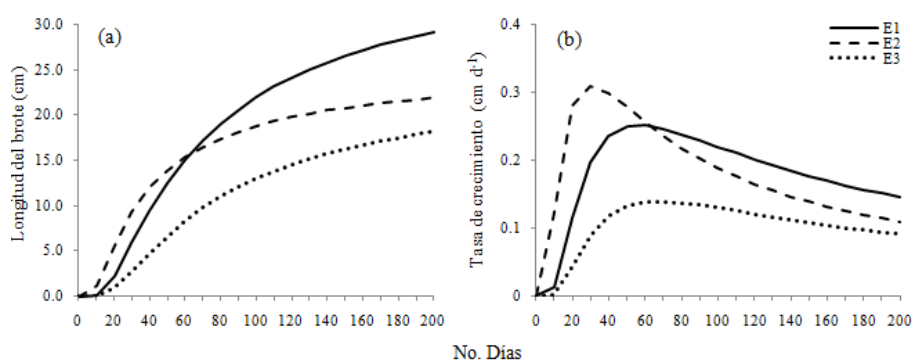
### Parámetros estimados del modelo de crecimiento del brote

La mayoría de los factores evaluados tuvieron un efecto significativo en el patrón de crecimiento del brote, ajustado con el modelo de Schumacher (Cuadro II.2). El modelo básico ( $\beta_{00}$  y  $\beta_{10}$ ) representa la curva de crecimiento del brote en los árboles testigo del ensayo 3 (sin anillado y sin AG<sub>4/7</sub>); los otros parámetros muestran el efecto aditivo de la dosis de AG<sub>4/7</sub>, del anillado y del ensayo, que influyeron tanto sobre el crecimiento total del brote ( $\beta_0$ ) como sobre el momento en que ocurrió la tasa máxima de crecimiento acumulado ( $\beta_1$ ). Por ejemplo, en la Figura II.2 se observa que los árboles del ensayo 1 alcanzaron una mayor longitud del brote que en los otros ensayos, pero los árboles del ensayo 2 iniciaron primero el alargamiento del brote y alcanzaron la tasa máxima de crecimiento acumulado casi un mes antes que en los otros dos ensayos. En el ensayo 3, con un estado fenológico menos avanzado que en los otros dos, el alargamiento del brote se retrasó, con una menor tasa de crecimiento y menor crecimiento potencial (Figura II.2b).

**Cuadro II.2.** Significancia (P) de los parámetros estimados del modelo de Schumacher ajustado a la curva de crecimiento del brote en relación con los diferentes factores evaluados.

Parámetro	Valor estimado	Error estándar	P
$\beta_{00}$	25.46	1.16	<.0001
$\beta_{10}$	67.34	4.10	<.0001
$\beta_{0D1}$	2.38	0.92	0.0096

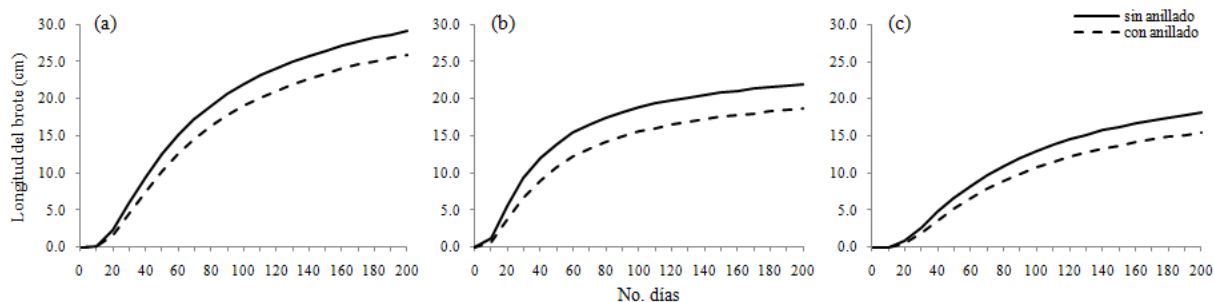
$\beta_{0D2}$	7.55	1.05	<.0001
$\beta_{0D3}$	3.22	0.98	<.0001
$\beta_{1D1}$	-5.66	2.60	0.0297
$\beta_{1D2}$	11.80	2.93	<.0001
$\beta_{1D3}$	3.524	2.84	0.2158
$\beta_{0A0}$	-3.17	0.70	<.0001
$\beta_{1A1}$	5.86	1.97	0.0029
$\beta_{0E1}$	13.13	1.18	<.0001
$\beta_{0E2}$	0.41	1.06	0.6982
$\beta_{1E1}$	-10.97	3.97	0.0057
$\beta_{1E2}$	-37.05	3.83	<.0001



**Figura II.2.** Curva ajustada de crecimiento del brote (a) y tasa de crecimiento del brote (b) en los tres ensayos de estimulación floral en árboles juveniles de *Pseudotsuga menziesii*.

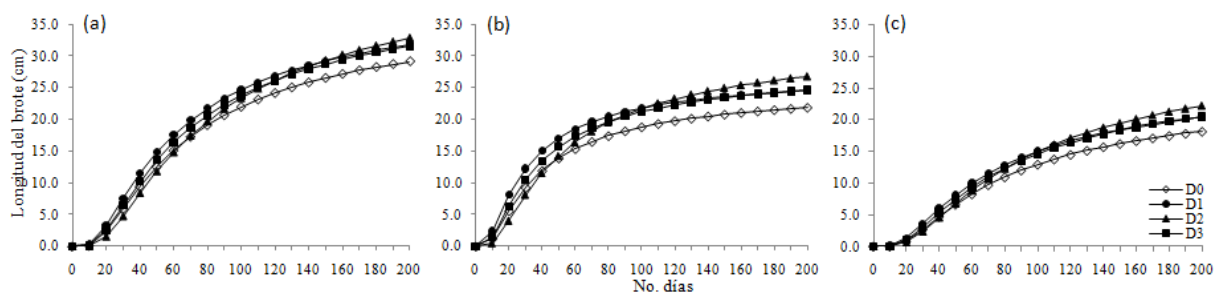
### Efecto del anillado y de la dosis de AG<sub>4/7</sub> sobre el crecimiento del brote

El anillado redujo y retrasó el crecimiento del brote en los tres ensayos (Figura II.3); en promedio, los árboles no anillados tuvieron un crecimiento potencial 18 % mayor (38.6 vs. 35.4 cm en el ensayo 1) y alcanzaron la tasa máxima de crecimiento acumulado seis días antes que los árboles anillados. De la misma manera, los arboles no anillados alcanzaron una tasa máxima de crecimiento acumulado 22 % mayor que en los anillados.



**Figura II.3.** Efecto del anillado sobre la curva de crecimiento del brote en los ensayos 1 (a), 2 (b) y 3 (c) de estimulación floral en árboles juveniles de *Pseudotsuga menziesii*.

De manera consistente, la dosis de  $2.55 \text{ mg cm}^{-2}$  de  $\text{AG}_{4/7}$  ocasionó la mayor longitud promedio del brote en los tres ensayos, 12 % mayor que los árboles testigo (Figura 4); sin embargo, también ocasionó un retraso de 11 días para alcanzar la tasa máxima de crecimiento acumulado. En contraste, la dosis de  $1.27 \text{ mg cm}^{-2}$  tuvo un efecto menor sobre el crecimiento total del brote, pero aceleró en casi seis días la fecha en que se alcanzó la tasa máxima de crecimiento acumulado (Cuadro 2) respecto al testigo. Las mayores tasas de crecimiento acumulado en los tres ensayos se alcanzaron con la dosis baja ( $1.27 \text{ mg cm}^{-2}$ ) de  $\text{AG}_{4/7}$ .



**Figura II.4.** Efecto de la dosis de  $\text{AG}_{4/7}$  sobre la curva de crecimiento del brote en los ensayos 1 (a), 2 (b) y 3 (c) de estimulación floral en árboles juveniles de *Pseudotsuga menziesii*.

### Relación entre inducción floral y crecimiento del brote

Los resultados del análisis de varianza indicaron que la formación de estróbilos femeninos y la dosis de  $\text{AG}_{4/7}$  no afectaron el crecimiento total del brote en los árboles del ensayo 2 (Cuadro II.3). Sin embargo, el análisis de regresión de las curvas de crecimiento del brote mostró que la floración influyó sobre el patrón de crecimiento de los mismos, mientras que la dosis de  $\text{AG}_{4/7}$

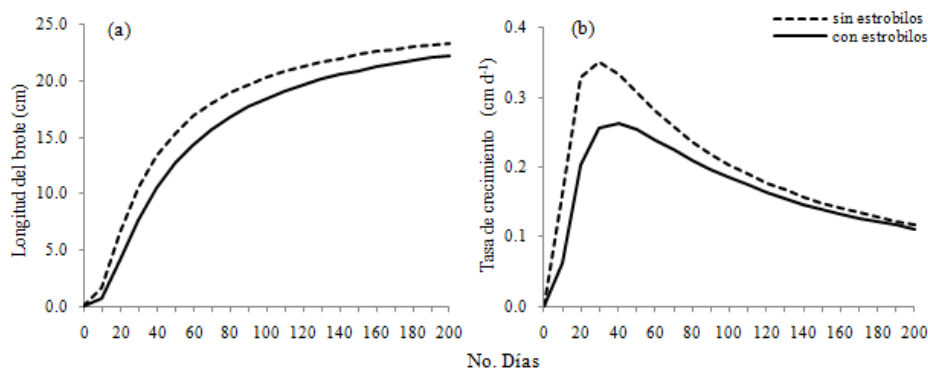
afectó su crecimiento potencial (Cuadro II.4). La formación de estróbilos femeninos ocasionó una ligera reducción en el crecimiento potencial del brote y un retraso de 10 días en la fecha en que ocurrió la tasa máxima de crecimiento acumulado, así como una reducción en ésta (Figura II.5).

**Cuadro II.3.** Significancia estadística (P) para el incremento en la longitud del brote en el ensayo 2 y su relación con la formación de estróbilos femeninos en *Pseudotsuga menziesii*.

Fuente de variación	Significancia estadística (P)
Estróbilos	0.8002
Dosis	0.2239
Estróbilos*Dosis	0.2534

**Cuadro II.4.** Significancia (P) de los parámetros estimados del modelo de Schumacher ajustado a la curva de crecimiento del brote en relación con el efecto de la floración y la dosis de AG<sub>4/7</sub> en el ensayo 2.

Parámetro	Estimado	Error estándar	Valor de rechazo ( $pr >  t $ )
$\beta_{00}$	26.92	1.21	<.0001
$\beta_{10}$	28.13	3.27	<.0001
$\beta_{0F}$	2.46	1.32	0.0621
$\beta_{1F}$	9.62	3.63	0.0080
$\beta_{0D3}$	-2.99	1.13	0.0083
$\beta_{1D3}$	-4.17	3.18	0.1898



**Figura II.5.** Efecto de la formación de estróbilos sobre la curva de crecimiento (a) y la tasa de crecimiento del brote (b) en los árboles del ensayo 2 que recibieron 1.27 mg cm<sup>-2</sup> de AG<sub>4/7</sub>.

## DISCUSIÓN

### Diferencias entre ensayos

Las diferencias observadas entre ensayos en la longitud total del brote se pueden deber a diversos factores, incluyendo la edad y las condiciones de crecimiento y manejo de los árboles. Las plantas del ensayo 3 eran mucho más jóvenes que las de los otros ensayos y es bien conocido que en las especies de coníferas el crecimiento anual del brote aumenta gradualmente con la edad en los primeros años de vida (Borchert, 1976). Por otro lado, los árboles del ensayo 1 fueron podados el año previo y se encontraban creciendo a plena luz solar, a diferencia de los árboles del ensayo 2, que crecieron bajo sombra y no fueron podados en los últimos años. Las diferencias entre estos dos ensayos también pueden deberse al estado fenológico del brote al momento de la aplicación de los tratamientos, ya que los árboles del ensayo 2 se encontraban más avanzados fenológicamente que los del ensayo 1 (ver Capítulo I) y, por lo tanto, el efecto de los tratamientos en dicho ensayo pudo ser menor. En un estudio con la misma especie, Ross (1983) encontró que se obtiene una mayor estimulación del crecimiento del brote cuando las giberelinas se aplican antes de que ocurra la brotación de las yemas (yemas hinchadas).

### Efecto de la aplicación de AG<sub>4/7</sub>

Los tratamientos con AG<sub>4/7</sub> para inducir floración influyeron en el crecimiento de los brotes, consistente con el estudio de Pharis y Kuo (1977), quienes indican que en especies de coníferas la inducción de estructuras reproductivas por medio de AG<sub>4/7</sub> a menudo está acompañado por un incremento en el crecimiento del brote, mientras que otras técnicas de inducción pueden retrasar y reducir el crecimiento (Bonnet-Masimbert *et al.*, 1982). En el presente trabajo se encontró que en los árboles que recibieron AG<sub>4/7</sub> los brotes crecieron en promedio 12 % más que en los árboles testigo. En *Pinus sylvestris* L. se encontró que la aplicación de diferentes moléculas de AG, por separado o combinadas, aumentaron la longitud total de los brotes de un 7 a 10 % en comparación con el testigo (Chalupka, 1980). En la misma especie, utilizando de una a cuatro aplicaciones de 50 mg ml<sup>-1</sup> de AG<sub>4/7</sub>, inyectado en el tronco, no se encontraron diferencias significativas en la longitud final del brote entre los testigos y los árboles tratados (Almqvist, 2003).

Little y Macdonald (2003) encontraron que la efectividad de diferentes giberelinas (AG<sub>1</sub>, AG<sub>3</sub>, AG<sub>4</sub>, AG<sub>5</sub>, AG<sub>9</sub> y AG<sub>20</sub>) para estimular el crecimiento del brote varía en función de la dosis y la especie; algunas de ellas fueron igualmente eficientes en *Pinus sylvestris* y *Picea glauca* (Moench) Voss, pero otras solo lo fueron en esta última o en ninguna de ellas; los efectos se asociaron con un incremento en la longitud de las unidades del brote pero no en el número de unidades por brote. Sin embargo, en otros estudios se ha encontrado que el AG<sub>4/7</sub> no tiene ningún efecto sobre la longitud final del brote en especies como *Tsuga heterophylla* (Harrison y Owens, 1994), *Larix laricina* (Du Roi) K. Koch. (Eysteinnsson y Greenwood, 1995), *Picea mariana* (P. Mill.) B. S. P. (Smith y Greenwood, 1997) y *P. menziesii* (Ross y Pharis, 1976), pero sí un efecto en la tasa máxima de crecimiento. Ho y Eng (1995), por ejemplo, determinaron que el AG<sub>4/7</sub> acelera el crecimiento de los brotes en *Pinus strobus* L. aunque no haya efecto sobre la longitud final. En el presente estudio, las mayores tasas de crecimiento acumulado se alcanzaron cuando se utilizó una dosis baja de AG<sub>4/7</sub>.

Ross (1983) afirmó que la AG<sub>4/7</sub> no afecta el patrón de crecimiento del brote, sólo la tasa de crecimiento y la longitud final. El cambio en la tasa de crecimiento de los brotes depende de la fenología del árbol; en el momento de apertura de las yemas en *P. menziesii* la división celular es frecuente, hay un pequeño alargamiento de las células hasta que los brotes alcanzan un 10% de la longitud total y empieza la brotación. Después de la brotación, la división celular disminuye y el alargamiento de las células incrementa rápidamente y continúa hasta alcanzar el 90% de la longitud final (Owens *et al.*, 1985). La acción de las giberelinas depende de varios factores, incluyendo la posición del brote en la copa, la disponibilidad de luz, y el momento y método de aplicación (Chalupka, 1980), entre otros. Se ha demostrado la importancia de la época de aplicación del AG<sub>4/7</sub> debido a su efecto diferencial sobre la división y el alargamiento de las células (Owens *et al.*, 1985). Ross (1983) obtuvo el máximo crecimiento del brote cuando la AG<sub>4/7</sub> se aplicó antes de que comenzara la apertura de yemas pero solo un leve incremento cuando se aplicó 4.5 semanas después de la apertura; esto sugiere que el AG<sub>4/7</sub> afecta principalmente la elongación de las células; además, el nivel y distribución de carbohidratos varía durante el crecimiento del brote, por lo que la competencia por estos recursos también influye sobre la longitud total del brote en árboles con diferentes condiciones fisiológicas y ambientales (Owens *et al.*, 1985).

Se ha determinado que a medida que aumenta la edad en los árboles y se llega a la madurez sexual, se incrementan los niveles de giberelinas endógenas menos polares (AG<sub>3</sub>) y la eficiencia en la promoción de la floración por medio de giberelinas exógenas (Ross, 1976). Sin embargo, Ross (1983) indica que en árboles juveniles ambos tipos de giberelinas son preferentemente utilizadas para el crecimiento vegetativo; la AG<sub>4/7</sub> utilizada en el crecimiento vegetativo disminuye en árboles maduros, debido a la reducción de la tasa de crecimiento y al incremento de giberelinas endógenas, por lo que una mayor proporción del AG<sub>4/7</sub> aplicado queda disponible para los procesos reproductivos. Ross *et al.* (1984) demostró que en *Pinus radiata* D. Don. los tres tipos de giberelinas (AG<sub>3</sub> y AG<sub>4/7</sub>) pueden aumentar la tasa de crecimiento del brote, en un efecto correlacionado con la redistribución de los nutrientes.

### **Efecto del anillado en el tronco**

El anillado redujo la longitud total del brote y la tasa máxima de crecimiento; además, retrasó la curva de crecimiento del brote en los tres ensayos (Figura 3). En estudios realizados en otras especies se han encontrado resultados similares; así, en árboles injertados de *Picea sitchensis* se encontró que el anillado redujo la longitud anual del brote en 15 % con respecto a los árboles no anillados (Longman *et al.*, 1986); en *P. abies* (L.) Karst. , la reducción fue del 30 %. Sin embargo, en *P. menziesii* se observó un aumento en la longitud promedio del brote (0.98 vs. 1.27 m año<sup>-1</sup>) por efecto del anillado, y en *Pinus contorta* Dougl. y *P. rigida* (Mill.) la longitud de brote no fue afectada por este tratamiento (Wilson y Gartner, 2002). Las diferencias entre estudios también pueden deberse al momento de realizar el anillado, ya que en las especies de *Pinus* se hizo antes de que iniciaran su crecimiento mientras que en *P. menziesii* fue durante la apertura de las yemas.

Es bien conocido que el xilema transporta agua y nutrientes del suelo a las hojas y que el floema transporta fotosintatos de los sitios de síntesis (por ejemplo, hojas) o almacenamiento a las regiones de crecimiento activo. Cuando se anilla el tronco se afecta parcialmente la parte del floema, ocasionando un bloqueo de carbohidratos y de las hormonas de crecimiento; además, se ha determinado que el anillado reduce la conductividad hidráulica del xilema ocasionando un

estrés en el árbol, lo que afecta su crecimiento (Zwieniecki *et al.*, 2004). El anillado en el tronco también puede estimular el flujo de carbohidratos (Ebell, 1971), o reducir la disponibilidad de carbohidratos a la raíz y provocar un estrés. Los tratamientos culturales que provocan estrés pueden alterar el metabolismo de las giberelinas, incrementando o reduciendo su disponibilidad (Philipson, 1985b). Owens (1987) indica que los tratamientos culturales que incrementan la floración en respuesta a la aplicación de AG<sub>4/7</sub>, en teoría, hacen que el crecimiento vegetativo se retrase o se reduzca, por lo que dichos tratamientos puede inhibir la división celular en los brotes.

En el efecto del anillado influyen muchos factores, como la especie, edad del árbol, tipo de herida, severidad de la herida, regulación de la herida y la interacción con otros tratamientos o condiciones como la fertilización, estrés por humedad, factores climáticos (Puritch, 1972), entre otros. Ross *et al.* (1984) señaló que los factores que inducen estrés combinado con aplicaciones de AG tienen un efecto sinérgico sobre la floración. Esto apoya la hipótesis de que las giberelinas actúan causando una redistribución de nutrientes dentro de los brotes, lo que puede retrasar su desarrollo. A pesar de que en este trabajo no se encontraron diferencias estadísticas en la interacción de los factores evaluados (Cuadro II.1), en otros estudios se han evaluado diversas técnicas de inducción floral que provocan estrés y su relación con el crecimiento del brote. En *Picea engelmannii* la aplicación de AG combinado con sequía y calor tiende a disminuir la tasa de crecimiento de los brotes y también disminuye su longitud total respecto a los testigos (Owens y Simpson, 1988).

### **Efecto de la inducción floral sobre el crecimiento del brote**

Contrario a lo esperado, no se encontró un efecto negativo de la formación de estróbilos femeninos sobre el crecimiento del brote en los árboles que recibieron la aplicación de AG<sub>4/7</sub>. Aunque se observó un retraso en la velocidad de crecimiento del brote y una reducción en la tasa máxima de crecimiento acumulado en los árboles que formaron estróbilos femeninos (Figura II.5), la longitud promedio del brote fue similar en los dos grupos de árboles. Estos resultados muestran evidencias de una posible competencia por recursos entre la diferenciación de estructuras reproductivas y el alargamiento del brote en los árboles que fueron estimulados con AG<sub>4/7</sub>, pero el efecto no fue suficiente para afectar negativamente el crecimiento del brote.



En un estudio con árboles de 9-10 años de edad de *P. menziesii*, procedentes de familias con un historial de floración conocido, se encontró que las giberelinas aumentaron en mayor grado la longitud del brote en las familias con menor producción de conos (Webber *et al.*, 1985). En otro estudio, los árboles con estróbilos mostraron un menor crecimiento del brote que aquellos que no formaron estróbilos (Bonnet-Masimbert, 1987). Los estróbilos femeninos pueden competir con el crecimiento del brote por recursos, especialmente en el segundo año, cuando están en pleno desarrollo, aunque no siempre limitan su crecimiento (Dick *et al.*, 1990). Otros autores indican que la producción de estróbilos de ambos sexos aumenta con la edad del árbol, mientras que el crecimiento de los brotes se reduce (Greenwood, 1981). En *P. menziesii*, la respuesta de los brotes al AG<sub>4,7</sub> disminuyó con la edad, mientras que la floración (en particular masculina) aumentó (Ross, 1983). Sin embargo, determinar la influencia de los estróbilos femeninos sobre el crecimiento de los brotes es muy complejo, ya que es difícil comparar adecuadamente los estados reproductivos y vegetativos entre árboles, por las diferencias genéticas, el estado fisiológico y otros factores asociados a la producción de estróbilos (Dick *et al.*, 1990).

## CONCLUSIONES

Los tratamientos de AG<sub>4/7</sub> y anillado en el tronco que promovieron la formación de estructuras reproductivas también afectaron el crecimiento de los brotes; el anillado redujo la longitud final del brote, la tasa máxima de crecimiento y retrasó la velocidad de crecimiento. La aplicación de giberelinas, en cambio, incrementó la longitud total y la tasa máxima de crecimiento del brote en los tres ensayos, y aceleró la velocidad de crecimiento, especialmente con dosis bajas de AG<sub>4/7</sub>. El efecto de los tratamientos fue consistente en los tres ensayos realizados con árboles de diferente edad, a pesar de las diferencias en el crecimiento del brote asociadas a la edad y a las condiciones ambientales de cada ensayo. En los árboles que recibieron AG<sub>4/7</sub> no se encontró un efecto negativo de la formación de estróbilos sobre el crecimiento total del brote, indicando que no se manifestó un efecto de competencia entre ambos procesos durante el primer año.

### CAPITULO III. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

El estudio muestra que mediante el uso de un nivel adecuado de AG<sub>4/7</sub>, con y sin anillado en el tronco, es posible acelerar la producción de semillas en árboles jóvenes de *Pseudotsuga menziesii* de origen sexual, considerando aspectos relacionados con el manejo previo de los árboles, la edad, el microambiente, procedencia del germoplasma y factores relacionados a los tratamientos de inducción floral, como el momento de aplicación en relación con la fenología del brote.

La proporción de árboles con estróbilos femeninos fue mayor en el sitio 2 y la de estróbilos masculinos lo fue en el sitio 1; estos resultados se relacionan con el desarrollo fenológico de los árboles en los dos sitios al momento de aplicar los tratamientos. El estado fenológico del árbol también influyó en el número de estróbilos masculinos y femeninos formados en cada árbol; árboles fenológicamente más avanzados formaron un mayor número de estróbilos femeninos mientras que los estróbilos masculinos se formaron preferencialmente en árboles menos avanzados, lo que parece indicar que la diferenciación de ambos tipos de estructuras ocurre en diferentes etapas de desarrollo de los brotes y que el momento de aplicación de los tratamientos influye de manera determinante.

La efectividad de los tratamientos varió entre ensayos y por efecto de la dosis de AG<sub>4/7</sub> y del anillado. En el sitio 1 se formaron más estróbilos femeninos con dosis bajas de AG<sub>4/7</sub> (1.27 mg cm<sup>-2</sup>) y en el sitio 2 con dosis altas (5.10 mg cm<sup>-2</sup>), posiblemente asociado a las diferencias de edad y manejo de los árboles. El anillado en el tronco por sí solo no tuvo el efecto esperado, a pesar de que en estudios previos se ha demostrado que es una práctica efectiva para la inducción floral (Wheeler *et al.*, 1985; Cherry *et al.*, 2007). Sin embargo, se determinó que esta práctica influye sobre la efectividad del AG<sub>4/7</sub>. El análisis de los resultados indicó que la aplicación de AG<sub>4/7</sub> en combinación con el anillado del tronco es efectiva en individuos sexualmente inmaduros. Aunque otros estudios sobre prácticas culturales como el anillado, poda de raíz y fertilización indican que éstas interactúan positivamente con el AG<sub>4/7</sub> para incrementar la floración en *P. menziesii*, estas prácticas frecuentemente no son efectivas en árboles juveniles.

Los tratamientos también afectaron la distribución de los estróbilos femeninos en la copa del árbol; el anillado aumentó la proporción de estróbilos hacia las ramas bajas de la copa mientras que una dosis alta de AG<sub>4/7</sub> modificó la distribución hacia la parte superior de la copa (los dos primeros cuartiles), similar a lo que se ha descrito para las especies de coníferas en condiciones naturales (Dick *et al.*, 1985). Las diferencias en la posición de los estróbilos se atribuyen a la distancia del punto de aplicación de las hormonas y del anillado al ápice de la copa de los árboles.

Además de los efectos de los tratamientos en la formación de estructuras reproductivas se analizaron los posibles efectos colaterales sobre el crecimiento de los brotes, ya que diversos trabajos afirman que los tratamientos con AG<sub>4/7</sub> y aquellos que inducen estrés en el árbol (anillado, poda de raíz, sequía, etc.) tienen efectos sobre el crecimiento de los brotes terminales y laterales, modificando la curva de crecimiento, la longitud final y las tasas máximas de crecimiento (Ross, 1983; Webber *et al.*, 1985; Cherry *et al.*, 2007). Las diferencias observadas entre ensayos en la longitud total del brote se pueden deber a diversos factores, incluyendo la edad y las condiciones de crecimiento y manejo de los árboles. Ross (1983) encontró que se obtiene una mayor estimulación del crecimiento del brote cuando las giberelinas se aplican antes de que ocurra la brotación de las yemas (yemas hinchadas).

En los árboles tratados con AG<sub>4/7</sub> los brotes crecieron en promedio 12% más que los testigos, apoyando la hipótesis de que las giberelinas endógenas y exógenas son utilizadas primero para procesos de crecimiento vegetativo y que la floración sólo ocurre cuando esta demanda ha sido satisfecha. Sin embargo, en otros estudios se ha encontrado que el AG<sub>4/7</sub> no tiene ningún efecto sobre la longitud final del brote o al menos no afecta el crecimiento de la misma manera. Una dosis baja (1.27 mg cm<sup>-2</sup>) fue suficiente para acelerar y generar las mayores tasas de crecimiento. Estudios previos muestran que en algunas especies el AG<sub>4/7</sub> no afecta el patrón de crecimiento del brote, pero sí la tasa de crecimiento; sin embargo, las diferencias de un estudio a otro pueden deberse a las diferencias en la madurez o en la fenología de los árboles. Por ejemplo, cuando los tratamientos ocasionan un aumento en la floración generalmente hay una reducción en el crecimiento del brote; por otro lado, el cambio en la tasa de crecimiento de los

mismos depende de la fenología del árbol, lo que se relaciona con la importancia del momento de aplicación del AG<sub>4/7</sub> y del efecto que tenga sobre la división y alargamiento de las células.

La reducción del crecimiento de los brotes también está asociada con un efecto de estrés, provocado por las prácticas culturales como el anillado, dado que el estrés altera el metabolismo de las giberelinas en los brotes. En este estudio se observó que el anillado redujo y retrasó el crecimiento del brote, con menor tasa de crecimiento en los tres ensayos. En otros estudios se ha demostrado que los tratamientos de estrés provocan una acumulación de AG menos polares en el brote; en *P. menziesii*, por ejemplo, bajo condiciones de no estrés la AG<sub>4</sub> que es menos polar se metaboliza rápidamente a una giberelina más polar y sus conjugados (Dunberg *et al.*, 1983); por otra parte, el anillado también puede modificar el flujo de carbohidratos y alterar el metabolismo de las giberelinas incrementando o reduciendo su disponibilidad.

Un aspecto importante del estudio es que no se encontró un efecto negativo de la formación de estróbilos femeninos sobre el crecimiento del brote en los árboles tratados, por lo que no hay evidencias precisas que indiquen una competencia entre el crecimiento vegetativo y la inducción de la floración en árboles juveniles.

Con base en los resultados del estudio, el anillado es un tratamiento práctico y efectivo para incrementar la floración femenina cuando se combina con dosis bajas de AG<sub>4/7</sub>; además, estos tratamientos no tiene efectos adversos en el crecimiento vegetativo y vigor de los árboles en el mismo año de aplicados los tratamientos, aunque es posible que al siguiente año se presenten efectos más notorios, una vez que los estróbilos se encuentren en pleno desarrollo. Estos tratamientos pueden incrementar significativamente la cantidad de semilla producida en un huerto semillero y, si se aplican en árboles juveniles seleccionados, acelerar la producción de semillas y las ganancias derivadas de un programa de mejoramiento genético. Estos tratamientos con la dosis adecuada de AG<sub>4/7</sub> son prácticas de manejo efectivas para obtener semilla en menor tiempo y a bajo costo en árboles juveniles, contando con la información necesaria de los árboles, como historial de producción, procedencia, edad, o manejo.

## LITERATURA CITADA

- Aderkas, P., L. Kong, S. Abrams, I. Zaharia, S. Owens, and B. Porter. 2004. Flower induction methods for lodgepole pine and Douglas-fir. Centre for Forest Biology, University of Victoria. 59 p.
- Allen, G. S., and J. N. Owens. 1972. The life history of Douglas-fir. Environment Canada Forest Service. Canada. 139 p.
- Almqvist, C. 2003. Timing of GA<sub>4/7</sub> application and the flowering of *Pinus sylvestris* grafts in the greenhouse. *Tree Physiol.* 23:413-418.
- Bonnet-Masimbert, M. 1987. Preliminary results on gibberellins induction of flowering of seedlings and cuttings of Norway spruce indicate some carry-over effects. *For. Ecol. Manage.* 19:163-171.
- Bonnet-Masimbert, M. 1989. Field experiment on the effect of girdling and gibberellin application on flowering induction of 12 yr-old seedlings of Douglas fir and Norway spruce. *Ann. Sci. For.* 46 suppl.: 47-50.
- Bonnet-Masimbert, M., P. Delanzy, G. Chanteloup, and J. Coupaye. 1982. Influence de l'état d'activité des racines sur la floraison induite par des gibberellines 4 et 7 chez *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco. *Silvae Genet.* 31:178-183.
- Borchert, R. 1976. Differences in shoot growth patterns between juvenile and adult trees and their interpretation based on systems analysis of trees. *Acta Hort. (ISHS)* 56:123-130.
- Chalupka, W. 1980. Regulation of flowering in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) grafts by gibberellins. *Silvae Genet.* 29:118-121.
- Cherry, M. L., T. S. Anekonda, M. J. Albrecht, and G. T. Howe. 2007. Flower stimulation in young miniaturized seed orchards of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*). *Can. J. For. Res.* 37:1-10.
- CONAFOR. Comisión Nacional Forestal. 2009. Cosecha nacional y comercialización de árboles de navidad 2009. Ficha informativa. En línea. Disponible en: <http://www.conafor.gob.mx/navidad/>. Fecha de consulta: 10/02/2010.
- Debreczy, Z., and I. Rácz. 1995. New species and varieties of conifers from Mexico. *Phytologia* 78:217-243.

- Dick, J. M., R. I. Smith, and K. A. Longman. 1985. Effect of bark-ringing and gibberellins on the number and distribution of cones in Sitka spruce (*Picea sitchensis*). *Acta Univ. Agric. Fac. Agron. (Brno)*. 3:659-663.
- Dick, J. McP., R. R. B. Leakey, and P. G. Jarvis. 1990. Influence of female cones on the vegetative growth of *Pinus contorta* trees. *Tree Physiol.* 6:151-163.
- Dunberg, A., G. Malmberg, T. Sassa, and R. P. Pharis. 1983. Metabolism of tritiated gibberellins A<sub>4</sub> and A<sub>9</sub> in Norway spruce, *Picea abies* (L.) Karst. *Plant Physiol.* 71:257-262.
- Ebell, L. F. 1971. Girdling: its effect on carbohydrate status and on reproductive bud and cone development of Douglas-fir. *Can. J. Bot.* 45:453-466.
- Eysteinsson, T., and M. S. Greenwood. 1995. Flowering on long and short shoots of *Larix laricina* in response to differential timing of GA<sub>4/7</sub> applications. *Tree Physiol.* 15:467-469.
- Greenwood, M. S. 1981. Reproductive development in loblolly pine. II. The effect of age, gibberellins plus water stress and out-of-phase dormancy on long shoot growth behavior. *Am. J. Bot.* 68:1184-1190.
- Greenwood, M. S. 1987. Rejuvenation of forest trees. *Plant Growth Regulation* 6:1-12.
- Harrison, D. L. S., and J. N. Owens. 1994. Gibberellins A<sub>4/7</sub> enhanced flowering in *Tsuga heterophylla*. II. Apical development and shoot formation. *Int. J. Plant Sci.* 155:302-312.
- Ho, R. H., and K. Eng. 1995. Promotion of cone production on field-grown eastern white pine grafts by gibberellin A<sub>4/7</sub> application. *For. Ecol. Manage.* 75:11-16.
- Infante G., S., y G. P. Zárate L. 2000. *Métodos Estadísticos; un enfoque interdisciplinario*. Edit. Trillas, México. 643 p.
- Kong, L., and P. Aderkas. 2004. *Plant growth regulators and cone induction in Pinaceae*. University of Victoria, Victoria, BC. Canada. 27 p.
- Kuehl, R. 2001. *Diseño de experimentos. Principios estadísticos para el diseño y análisis de investigaciones*. Thomson Learning. México. 666 p.
- Little, C. H. A., and J. E. Macdonald. 2003. Effects of exogenous gibberellins and auxin on shoot elongation and vegetative bud development in seedlings of *Pinus sylvestris* and *Picea glauca*. *Tree Physiol.* 23:73-83.
- Longman, K. A., J. McP. Dick, M. Mugglestone, and R. I. Smith. 1986. Effects of gibberellins A<sub>4+7</sub> and bark-ringing on cone initiation in mature *Picea sitchensis* grafts. *Tree Physiol.* 1:101-113.

- Mápula-Larreta, M., J. López-Upton, J. J. Vargas-Hernández and A. Hernández-Livera. 2007. Reproductive indicators in natural populations of Douglas-fir in Mexico. *Biodiversity & Conservation* 16:727-742.
- Mápula-Larreta, M., J. López-Upton, J. J. Vargas-Hernández y A. Hernández-Livera. 2008. Germinación y vigor de semillas en *Pseudotsuga menziesii* de México. *Ra Ximhai* 4:119-134.
- Martínez, M. 1963. Las Pináceas Mexicanas. Universidad Nacional Autónoma de México. 3<sup>a</sup> Ed. México. pp: 27-74.
- Owens, J. N. 1987. Development of Douglas-fir apices under natural and cone-inducing conditions. *For. Ecol. Manage.* 19:85-97.
- Owens, J. N., and S. J. Simpson. 1988. Bud and shoot development in *Picea engelmannii* in response to cone induction treatments. *Can. J. For. Res.* 18: 231-241.
- Owens, J. N., J. E. Webber, S. D. Ross, y R. P. Pharis. 1985. Interaction between gibberellins A<sub>4/7</sub> and root-pruning on the reproductive and vegetative processes in Douglas-fir. III. Effects on anatomy of shoot elongation and terminal bud development. *Can. J. For. Res.* 15:354-364.
- Owens, J. N., L. M. Chandler, J. S. Bennett, and T. J. Crowder. 2001. Cone enhancement in *Abies amabilis* using GA<sub>4/7</sub>, fertilizer, girdling and tenting. *For. Ecol. Manage.* 154: 227-236.
- Pharis, R. P., and C. G. Kuo. 1977. Physiology of gibberellins in conifers. *Can. J. For. Res.* 7:299-325.
- Pharis, R. P., J. E. Weber, and S. D. Ross. 1987. The promotion of flowering in forest trees by gibberellin A<sub>4+7</sub> and cultural treatments: a review of the possible mechanisms. *For. Ecol. Manage.* 19:65-84.
- Pharis, R. P., S. D. Ross, and E. E. McMullan. 1980. Promotion of flowering in the Pinaceae by gibberellins. III. Seedlings of Douglas-fir. *Physiol. Plant.* 50:119-126.
- Philippe, G., S. J. Lee, G. Schute, and B. Heois. 2004. Flower stimulation is cost-effective in Douglas-fir seed orchards. *Forestry* 77:279-286.
- Philipson, J. J. 1983. The role of gibberellins A<sub>4/7</sub>, heat and drought in the induction of flowering in Sitka spruce. *J. Exp. Bot.* 34:291-302.



- Philipson, J. J. 1985a. The effect of top pruning, girdling, and gibberellins A<sub>4/7</sub> application on the production and distribution of pollen and seed cones in Sitka spruce. *Can. J. For. Res.* 15:1125-1128.
- Philipson, J. J. 1985b. The promotion of flowering in large field-grown Sitka spruce by girdling and stem injections of gibberellins A<sub>4/7</sub>. *Can. J. For. Res.* 15:166-170.
- Philipson, J. J. 1992. Optimal conditions for inducing coning of container-grown *Picea sitchensis* grafts: effects of applying different quantities of GA<sub>4/7</sub>, timing and duration of heat and drought treatment, and girdling. *For. Ecol. Manage.* 53:39-52.
- Philipson, J. J. 1996. Effects of girdling and gibberellins A<sub>4/7</sub> on flowering of European and Japanese larch grafts in an outdoor clone bank. *Can. J. For. Res.* 26:355-359.
- Puritch, G. S. 1972. Cone production in conifers. *Can. For. Serv. Pac. For. Res. Cent. Inf. Rep.* BC-X-65.
- Ross, S. D. 1976. Differential flowering responses by young Douglas-fir grafts and equi-sized seedlings to gibberellins and auxins. *Acta Hortic.* 56:163-168.
- Ross, S. D. 1983. Enhancement of shoot elongation in Douglas-fir by gibberellins A<sub>4/7</sub> and its relation to the hormonal promotion of flowering. *Can. J. For. Res.* 13:986-994.
- Ross, S. D. 1985. Promotion of flowering in potted *Picea engelmannii* (Perry) grafts: effects of heat, drought, giberellin A<sub>4/7</sub> and their timing. *Can. J. For. Res.* 15:618-624.
- Ross, S. D. 1990. Control sex expression in potted *Picea engelmannii* grafts by gibberellins A<sub>4/7</sub> and the auxin, naphthaleneacetic acid. *Can. J. For. Res.* 20:875-879.
- Ross, S. D. 1991. Promotion of flowering in western larch by girdling and gibberellins A<sub>4/7</sub> and recommendations for selection and treatment of seed trees. British Columbia. Research note no. 105. 13 p.
- Ross, S. D. 1992. Promotion of flowering in Engelmann-white spruce seed orchards by GA<sub>4/7</sub> stem injection: effects of site, clonal fecundity, girdling and NAA, and treatment carry-over effects. *For. Ecol. Manage.* 50:43-55.
- Ross, S. D., and R. C. Bower. 1989. Cost-effective promotion of flowering in a Douglas-fir seed orchard by girdling and pulsed stem injection of gibberellin A<sub>4/7</sub>. *Silvae Genet.* 38:189-195.
- Ross, S. D., and R. C. Bower. 1991. Promotion of seed production in Douglas-fir grafts by girdling + gibberellin A<sub>4/7</sub> stem injection, and effect of retreatment. *New Forests* 5:23-34.

- Ross, S. D., and R. P. Pharis. 1976. Promotion of flowering in the Pinaceae by gibberellins. I. Sexually mature, non-flowering grafts of Douglas-fir. *Physiol. Plant.* 36:182-186.
- Ross, S. D., M. P. Bollmann, R. P. Pharis, and G. B. Sweet. 1984. Gibberellin A<sub>4/7</sub> and the promotion of flowering in *Pinus radiata*. Effects on partitioning of photoassimilate within the bud during primordial differentiation. *Plant Physiol.* 76:326-330.
- Ross, S. D., R. P. Pharis, and J. C. Heaman. 1980. Promotion of cone and seed production in grafted and seedling Douglas-fir seed orchards by applications of gibberellins A<sub>4/7</sub> mixture. *Can. J. For. Res.* 10:464-469.
- Rzedowski, J. 1978. *Vegetación de México*. Limusa, México. 432 p.
- SAS Institute Inc. 1998. *SAS user's guide: statistics*. Release 6.03 Ed. SAS Institute, Inc. Cary, NC. p. 1028.
- SAS Institute Inc. 1999. *SAS/STAT® User's Guide Version 8*, Cary, NC: SAS Institute Inc. Cary, NC. Chapter 29. The GENMOD Procedure. pp: 1363-1464.
- Smith, R. F. and M. S. Greenwood. 1997. Effects of cone-induction treatments on black spruce (*Picea mariana*) current-year needle development and gas exchange properties. *Tree Physiol.* 17:407-414.
- S-Plus. 2005. *S-Plus 7. Guide to Statistics*. Insightful Corporation. Seattle, Washington.
- Webber, J. E., S. D. Ross, R. P. Pharis, and J. N. Owens. 1985. Interaction between gibberellin A<sub>4/7</sub> and root-pruning on the reproductive and vegetative process in Douglas-fir. II. Effects on shoot elongation and its relationship to flowering. *Can. J. For. Res.* 15:348-353.
- Wheeler, N. C., C. J. Masters, S. C. Cade, S. D. Ross, J. W. Keeley, and L. Y. Hsin. 1985. Girdling: an effective and practical treatment for enhancing seed yields in Douglas-fir seed orchards. *Can. J. For. Res.* 15:505-510.
- Wilson, B. F., and B. L. Gartner. 2002. Effects of phloem girdling in conifers on apical control of branches, growth allocation and air in wood. *Tree Physiol.* 22:347-353.
- Zar, J. 1996. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall. New Jersey. 662 p.
- Zavala-Chávez, F. y J. T. Méndez-Montiel. 1996. Factores que afectan la producción de semillas en *Pseudotsuga macrolepis* Flous. en el Estado de Hidalgo, México. *Acta Botánica Mexicana* 36:1-13.

Zwieniecki, M. A., P. J. Melcher, T. S. Field, and N. M. Holbrook. 2004. A potential role for xylem-phloem interactions in the hydraulic architecture of trees: effects of phloem girdling on xylem hydraulic conductance. *Tree Physiol.* 24:911-917.