

Variación clonal de la fenología reproductiva en un huerto semillero de *Pinus patula*

Clonal variation in reproductive phenology in a seed orchard of *Pinus patula*

Omar Hernández Zaragoza ^a, Javier López Upton ^{**}, J Jesús Vargas Hernández ^a, Marcos Jiménez Casas ^a

*Autor de correspondencia: ^a Colegio de Postgraduados, Postgrado en Ciencias Forestales, Campus Montecillo, Km 36.5 Carretera México-Texcoco 56230, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México, uptonj@colpos.mx

SUMMARY

Pinus patula is an important native species from Mexico. A clonal seed orchard with 83 clones was established in a location at 2,800 m asl. Floral synchrony was evaluated on a sample of 157 ramets of 20 clones that were eight and nine years old. Reproductive phenology was recorded every five days for 10 weeks until the pollen was completely released, and scales of female strobili were closed. The beginning and ending dates of receptivity and pollen release was scored. Reproductive synchronization for all possible pairs of clones was quantified. Phenological synchronization index indicated an acceptable degree of crossover. The receptivity of the female strobili and delivering pollen from male strobili showed good synchronization, according to the synchronization index values that varied from 0.33 to 0.54 for female flowering, and it ranged from 0.22 to 0.55 for the male flowering of different clones. The index of phenological synchronization (pollen-ovule) of the group of clones with superior genetic quality was slightly larger than that of low genetic quality clones (0.48 vs 0.40). The contribution of pollen from lower genetic clones to higher clones was moderate (PO = 0.46). The behavior of the clones was stable over the two years of evaluation on synchronization, onset and duration of reproductive events, particularly in the male flowering. Female strobili production was very sensitive to the low temperatures occurred in 2013.

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

RESUMEN

Pinus patula es una especie nativa e importante de México. Para su mejora genética un huerto semillero clonal integrado por 83 clones se estableció a una elevación de 2.800 m. La sincronía floral se determinó en una muestra de 157 rametos de 20 clones, a ocho y nueve años de edad. La fenología reproductiva se registró cada cinco días durante 10 semanas hasta que el polen fue liberado completamente y las escamas de los estróbilos femeninos se cerraron. Las fechas de inicio y fin de la receptividad y emisión de polen se evaluaron. La sincronización reproductiva se cuantificó para las posibles parejas de clones. El índice de sincronización fenológica indica un grado de cruzamiento aceptable. La receptividad de los estróbilos femeninos y la emisión de polen de estróbilos masculinos presentaron buena sincronización, con valores del índice de sincronización de 0,33-0,54 para la floración femenina y de 0,22-0,55 para la masculina de los diferentes clones. El grupo de clones con calidad genética superior tuvo un índice de sincronización fenológica (polen-óvulos) ligeramente mayor que los clones de menor calidad genética (0,48 vs. 0,40). La contribución de polen de los clones inferiores a los superiores fue moderada (PO = 0,46). El comportamiento de los clones fue estable en los dos años de evaluación en la sincronización, inicio y duración de los eventos reproductivos, particularmente en la floración masculina. La producción de estróbilos femeninos fue muy sensible a las bajas temperaturas ocurridas en el 2013.

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

INTRODUCCIÓN

Para establecer plantaciones forestales es necesario contar con un suministro suficiente de germoplasma que genere plantas de crecimiento superior al de los bosques naturales (Zobel y Talbert 1988). La creciente demanda de semilla, las dificultades inherentes a la recolección de germoplasma de masas forestales naturales degradadas y la necesidad de emplear material genéticamente mejorado, dio lugar en los años treinta al establecimiento de huertos semilleros en Gran Bretaña y Estados Unidos (Pardos y Gil 1986). Desde entonces, debido a las ventajas de este

tipo de unidades productoras de germoplasma, la mayoría de los programas de mejora genética en especies forestales se han centrado en la creación de huertos establecidos con clones de árboles seleccionados (Hopkins y Hutcher 1994).

El objetivo principal de un huerto semillero es proporcionar semilla de calidad genética para la reforestación, la que depende del valor genético de los progenitores (Kang *et al.* 2001). La valía genética de la semilla está determinada desde el momento en que se seleccionan los progenitores; sin embargo, la inadecuada producción y sincronización de los estróbilos femeninos y masculinos, así como la auto-fecundación y la presencia de polen externo de

menor calidad pueden evitar que se alcance el potencial del huerto (Ericksson *et al.* 1973). Las diferencias en la fenología floral entre individuos generan un desbalance en la contribución genética de los mismos, lo que puede reducir o eliminar la contribución de algunos genotipos en la producción de semillas. Entre menor sea la sincronización fenológica, menor es el tamaño efectivo de la población y la diversidad genética de la semillas del huerto, aumentando la probabilidad de endogamia (Burczyk y Chalupka 1997). Por otra parte, determinar la sincronización floral es fundamental para tomar decisiones sobre el manejo del huerto como son los aclareos o el uso de polinización controlada para subsanar la falta de participación de clones que no estén sincronizados (El-Kassaby y Ritland 1986, Blush *et al.* 1993).

Un programa de mejoramiento genético para *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. *et* Cham. se inició en la región de Aquixtla, Puebla en el 2001, en el cual se incluyó el establecimiento en el 2003 de un huerto semillero clonal a partir de la selección fenotípica de árboles en los rodales naturales de la zona. Este huerto pretende satisfacer las necesidades de semilla mejorada para el establecimiento de plantaciones forestales en la región con material de calidad genética superior. Bajo las hipótesis de que existe variación fenológica reproductiva, que la emisión del polen y la receptividad femenina y la emisión de polen coinciden en dos años consecutivos y que la sincronización es igual entre grupos de clones de diferente calidad genética, el presente trabajo se realizó con los objetivos de: 1) determinar la variación fenológica en el desarrollo de estróbilos femeninos y masculinos entre clones de *Pinus patula*; 2) comparar el tiempo de la emisión de polen y receptividad femenina en los clones de esta especie en dos ciclos reproductivos sucesivos; y 3) evaluar la sincronía entre la emisión de polen y la receptividad de estróbilos femeninos entre clones de calidad genética superior y calidad genética inferior.

MÉTODOS

Un huerto semillero clonal de *Pinus patula* se estableció en el Conjunto Predial Forestal, municipio de Aquixtla, estado de Puebla en septiembre del año 2003. Inicialmente se contó con una población de 1.230 individuos de 95 clones, seleccionados fenotípicamente considerando la rectitud, altura y volumen del fuste, la presencia de buena poda natural y sanidad. Al momento de iniciar el estudio de fenología reproductiva, el huerto contaba con un total de 663 rametos de 83 clones distintos.

El huerto se ubica en las coordenadas 19° 34' 13" N y 97° 59' 20" O, a una altitud de 2.800 m, sobre un tipo de suelo primario Andosol húmico y asociado a este Litosol como secundario (INEGI 2000), en un bosque de *P. patula*-*Abies religiosa* (Kunth) Schltdl. *et* Cham. La plantación en el huerto semillero se realizó a un espaciamiento de 3 x 3 m, bajo un diseño completamente al azar, con diferente número

de rametos por clon, con la restricción de no dejar rametos del mismo clon cerca uno de otro. El clima en el área de investigación se caracterizó por presentar una temperatura media anual de 15 °C, durante el periodo de evaluación la temperatura del mes más cálido abril fue de 22 °C y el mes más frío fue marzo con una temperatura de 2,1 °C, los datos climáticos para el periodo de estudio se obtuvieron de la estación meteorológica situada dentro del área del huerto.

El desarrollo de las estructuras femeninas y masculinas se evaluó en 157 rametos de 20 clones en la primavera del 2012 y 2013, esto es 24 % del total de la población del huerto semillero. Con base en los resultados de dos ensayos de progenie de ocho años de edad establecidos en la zona, se identificaron los 10 clones que generan progenie de crecimiento superior y 10 clones cuya progenie es de menor crecimiento comparado a los 83 clones totales del huerto, así la fenología entre estos dos grupos de clones con calidad genética distinta se comparó. Las observaciones se realizaron en los mismos individuos durante los dos años.

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

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

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



Figura 1. Etapas fenológicas femenina (arriba) y masculina (abajo) en el huerto semillero de *Pinus patula*.

Female (top) and male (bottom) phenological stages in the seed orchard of *Pinus patula*.

Análisis de los datos. Los datos fenológicos se presentan como fenogramas representados por bandas en una línea de tiempo, en la cual una proporción de estróbilos se encuentra en una determinada etapa fenológica. De manera empírica, la superposición de la emisión de polen y receptividad de estróbilos femeninos es difícil de cuantificar y distinguir, razón por la que se calculó el índice de sincronización fenológica (PO_{ij}) (Askew y Blush 1990). Este índice cuantifica la similitud de cualquier par de fenogramas masculino y femenino en términos de simetría. El índice de sincronización es una medida cuantitativa que permite conocer la proporción simétrica de los fenogramas femeninos y masculinos, y esta es estimada por la relación de la zona común de la superficie máxima entre los fenogramas, sumado a través de todos los días y registrado para cada par de clones. El programa SYNCHRO del paquete estadístico SAS se empleó para cuantificar el grado de sincronización entre todos los pares de apareamiento de los clones evaluados en el huerto semillero de *Pinus patula* (SAS Institute 2002), el cual facilitó el procesamiento de los datos fenológicos y permitió el cálculo de varios índices de sincronización fenológica. Fenogramas femeninos y masculinos se construyeron con estos datos, los cuales son representaciones en forma de bandas que indican el grado de receptividad femenina o la dispersión de polen en una fecha determinada (Matziris 1994, Zas *et al.* 2003). Las gráficas de sincronía se realizaron para toda la muestra

del huerto y para cada uno de los dos grupos de clones (calidad genética superior vs. inferior).

El porcentaje de estróbilos femeninos receptivos y el porcentaje de estróbilos masculinos en fase de dispersión de polen se determinó en cada rameto en nueve ramas de la parte media y alta de la copa y en nueve ramas en la parte baja de la copa, correspondiente a cada etapa para cada fecha de observación (cuadro 1). El inicio, el fin y la duración del periodo de receptividad femenina se determinó al registrar el día de inicio de la etapa 2 hasta el fin de la etapa 3, que es cuando hay receptividad (Matziris 1994) y de emisión de polen para cada rameto y clon (Codesido y Merlo 2001). Además, el índice de sincronización fenológica (Askew y Blush 1990) se calculó, por una parte, para estimar la capacidad de cruzamiento entre todas las parejas posibles de la muestra de clones y, por otra, entre los clones de cada grupo de clones con diferente calidad genética.

RESULTADOS

Variación fenológica de la floración. El periodo de receptividad de los óvulos en los clones evaluados en el huerto semillero tuvo una duración promedio de 25 días en el año 2012, mientras que el de dispersión de polen fue de 20 días (cuadro 2). El primer estróbilo femenino receptivo se registró el 10 de febrero y el último el 1 de abril; el periodo de máxima receptividad individual duró de tres a

diez días. Las heladas de los días 2 y 3 de marzo del 2013 afectaron el desarrollo de los estróbilos femeninos, con temperaturas mínimas de -6,6 y -7,1 °C, respectivamente, lo que ocasionó el cese del desarrollo de estos estróbilos. En el 2013, el periodo de receptividad de los estróbilos femeninos fue de 18 días, antes de ocurrir las heladas, teniendo su inicio el 8 de febrero con el primer estróbilo receptivo. La emisión de polen duró 27 días en promedio (cuadro 2). El inicio más temprano en el 2013 se asocia a una mayor temperatura promedio de inicios del año hasta el día 59, que ocurrió la helada. El promedio de las temperaturas máximas hasta el 28 de febrero (un día antes de la helada) fue 2,5 °C mayor que durante el mismo periodo en el 2012; el promedio de las mínimas fue en este periodo de 2,85 °C en el 2013 vs. 2,09 °C en el 2012, por ejemplo hubo 9 días con una temperatura máxima mayor a 20 °C en el 2012, mientras que en el 2013 hubo 25 días por arriba de esta temperatura.

Sincronía fenológica. La receptividad de los estróbilos femeninos y la emisión de polen usando los datos de todos los rametos evaluados en el huerto semillero de *Pinus patula* en el año 2012 presentan una sincronización adecuada, con excepción de las primeras dos semanas en que no hay liberación de polen (figura 2). La receptividad inició el día 10 de febrero, extendiéndose hasta el 1 de abril. La máxima receptividad (57 %), se alcanzó el 18 de marzo. La emisión de polen inició el 24 de febrero, 14 días después de iniciada la receptividad, extendiéndose hasta el día 3 de abril. La máxima emisión de polen (56 %), se obtuvo el 18 de marzo. Lo que indica que en promedio en el huerto semillero clonal, la emisión de polen y la receptividad de los estróbilos femeninos presentaron una adecuada sincronización. La amplitud del periodo de emisión de polen fue menor que el de receptividad, lo que puede propiciar contaminación de polen externo durante este periodo, o un aumento en la producción de óvulos abortivos. En el año 2013 el proceso

Cuadro 1. Etapas fenológicas usadas para determinar sincronía de 20 clones evaluados en el huerto semillero de *Pinus patula*.
 Stages used to determine phenological synchrony of 20 clones evaluated in the seed orchard of *Pinus patula*.

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

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

Cuadro 2. Inicio, fin y duración del periodo de receptividad de los estróbilos femeninos y emisión de polen de los estróbilos masculinos a nivel de rameto durante 2012 y 2013.

Start, end and duration of female receptivity and pollen emission from male strobili at level of ramet during 2012 and 2013.

| Estróbilo | Etapas | 2012 | | | 2013 | | |
|-----------|-----------------|------------|------------|----------|------------|------------|------------|
| | | Media | Mínimo | Máximo | Media | Mínimo | Máximo |
| Femenino | Inicio | 25 febrero | 20 febrero | 3 marzo | 12 febrero | 10 febrero | 14 febrero |
| | Fin | 20 marzo | 19 marzo | 26 marzo | 2 marzo* | 2 marzo* | 3 marzo* |
| | Duración (días) | 25 | 21 | 30 | - | - | - |
| Masculino | Inicio | 1 marzo | 23 febrero | 8 marzo | 21 febrero | 19 febrero | 22 febrero |
| | Fin | 21 marzo | 17 marzo | 26 marzo | 21 marzo | 15 marzo | 25 marzo |
| | Duración (días) | 20 | 12 | 29 | 27 | 14 | 30 |

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

fue afectado por la helada que interrumpió el desarrollo de los estróbilos femeninos que se encontraban en el periodo de receptividad. Las bajas temperaturas tuvieron menor efecto en los estróbilos masculinos. La emisión de polen inició el 17 de febrero, nueve días después de iniciada la receptividad de los estróbilos femeninos que ocurrió el 8 de febrero, y tuvo una duración promedio de 18 días hasta el 2 y 3 de marzo, cuando se presentaron las heladas. Aunque se apreció un retraso en el desarrollo de las estructuras masculinas en el 2013, el periodo de receptividad y emisión de polen tuvo un comportamiento similar al del 2012.

Sincronización clonal. Durante el 2012 solo el 75 % de los clones muestreados formaron estróbilos femeninos y el 100 % de los clones generaron polen. Los clones del huerto semillero exhibieron una sincronía fenológica alta, excepto en las primeras semanas en donde hubo algunos clones que iniciaron temprano su periodo de receptividad sin haber dispersión de polen aún; en ese periodo inicial el porcentaje de clones con óvulos receptivos fue mayor que el de clones que liberan polen, pero a partir de la cuarta semana los valores son similares, en especial el 9 de marzo, cuando prácticamente todos los clones participaron (figura 3).

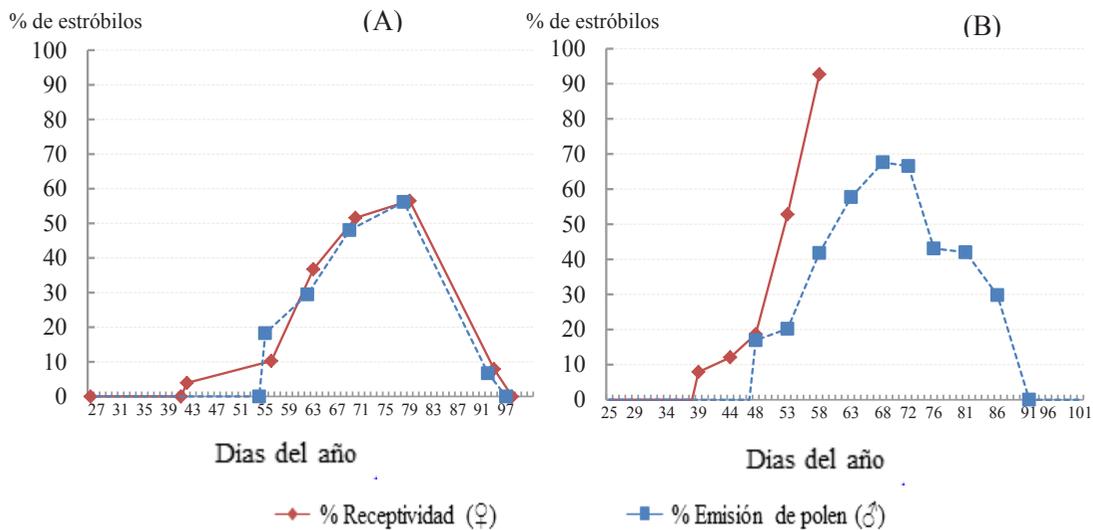


Figura 2. Sincronización fenológica (porcentaje de estróbilos femeninos receptivos y de estróbilos masculinos en fase de emisión de polen) a lo largo del periodo de evaluación A) 2012 y B) 2013 para los clones de *Pinus patula* muestreados en el huerto semillero.

Phenological synchronization (percentage of receptive female strobili and male strobili at the phase of pollen shed) along the evaluation period A) 2012 and B) 2013 for the clones of *Pinus patula* sampled in the seed orchard.

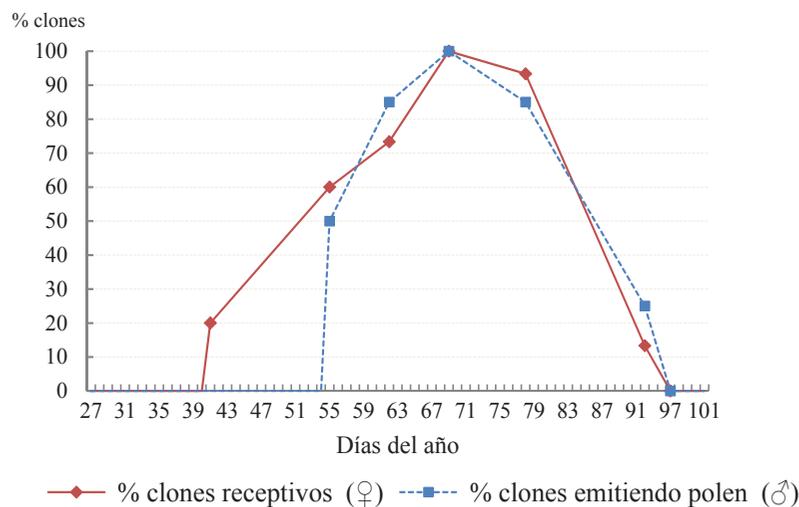


Figura 3. Sincronía fenológica (porcentaje de clones receptivos, ♀, y de clones con emisión de polen, ♂) en 2012 en una muestra de 20 clones de *Pinus patula* del huerto semillero.

Phenological synchronization (percentage of receptive clones, ♀, and clones with pollen emission, ♂) in 2012 on a sample of 20 clones of *Pinus patula* in the seed orchard.

Sincronía fenológica entre clones de calidad genética superior y calidad genética inferior. En 2012, el 100 % de los clones de calidad genética superior participó produciendo polen; en este grupo sobresale el clon 54 por terminar pronto el proceso, aunque presentó un índice de sincronización fenológica promedio de 32 %. El 90 % de los clones de este grupo contribuyó con estróbilos femeninos receptivos, excepto el clon 34. El 100 % de clones de calidad genética inferior produjeron polen, sobresaliendo el clon 21 por terminar pronto con la emisión de polen; de este grupo solo el 60 % de los clones presentaron estróbilos femeninos receptivos, ya que los clones 29, 44, 46 y 85 no produjeron (figura 4).

La receptividad de estróbilos femeninos para el grupo de genotipos superiores inició el 10 de febrero, extendiéndose hasta el 1 de abril; con una máxima receptividad de 52 % alcanzada del 9 al 18 de marzo. Para los de calidad genética inferior, el proceso inició en la misma fecha que el de los genotipos superiores, y alcanzó su máximo (61 %) el 18 de marzo. Con respecto a la liberación de polen, los de calidad genética superior e inferior, iniciaron el 24 de febrero extendiéndose hasta el 1 de abril (36 días), con el máximo de emisión de polen el 18 de marzo para ambos grupos, 63 % en los de calidad genética superior y 48 % en los de inferior (figura 4).

Índice de sincronización fenológica a nivel de grupos. El índice de sincronización fenológica (PO_{ij}) para el grupo de clones de calidad genética superior estimado para el año 2012 fue 0,48, lo que indica una posibilidad alta de que el polen de este grupo fertilice los óvulos de los clones del

mismo grupo. El índice promedio calculado para cada clon con floración femenina osciló de 0,38 a 0,57, y para floración masculina de 0,31 a 0,62. Estos valores favorecen la capacidad de cruzamiento entre todas las posibles parejas del grupo de clones superiores. De este grupo, el clon 36 tiene una alta sincronización masculina con la receptividad de óvulos del clon 60 ($PO_{ij} = 0,95$). El grupo de calidad genética inferior presentó un índice de 0,40 en promedio y el índice para cada clon con floración femenina osciló de 0,32 a 0,48 y para la floración masculina varió de 0,24 a 0,51; dentro de este grupo, el clon 44 presentó una sincronización masculina alta con la receptividad de los clones 18 y 33. En general, el menor índice de sincronización fenológica fue 0,07, entre la producción de polen del clon 21 con la receptividad de óvulos de los clones 36 y 60 (del grupo superior) y los clones 18 y 33 (del grupo inferior).

El índice de sincronización fenológica promedio entre los pares de clones fue 0,46 en ambas direcciones, ya sea polinizando estróbilos de clones inferiores con polen de calidad genética superior o lo contrario, polen de calidad genética inferior en estróbilos de clones superiores; lo último es más importante ya que indica que la contribución de polen de clones inferiores tiene probabilidad de reducir la calidad genética de la semilla en los clones superiores, aun considerando solo la recolecta de conos de estos para mejorar la calidad de la planta producida para la reforestación (cuadro 3).

Índice de sincronización fenológica general. El índice de sincronización fenológica (PO_{ij}) de los 20 clones seleccionados solo se estimó para el año 2012 y resultó de 0,45 en

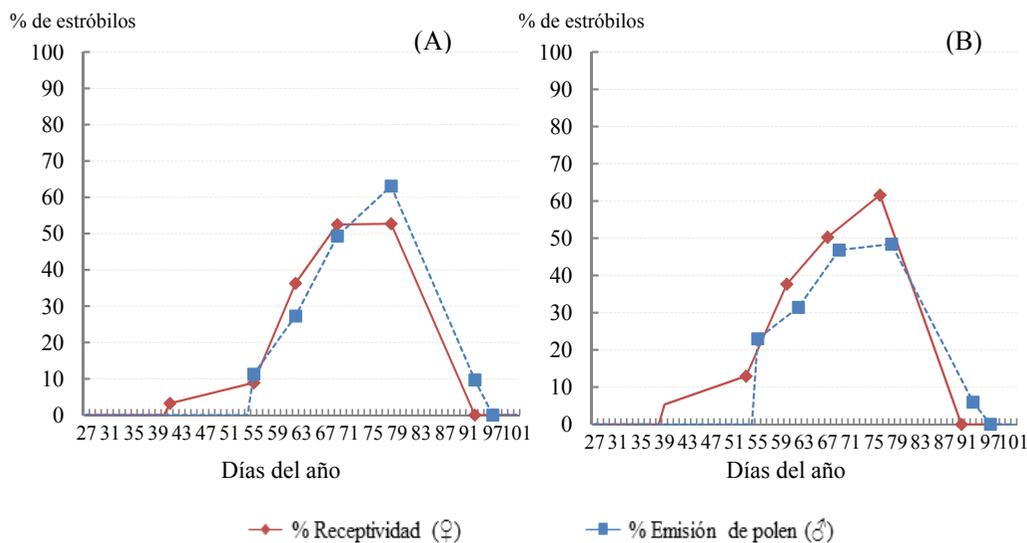


Figura 4. Sincronización fenológica (porcentaje de estróbilos femeninos receptivos y porcentaje de estróbilos masculinos en fase de emisión de polen) a lo largo del periodo de evaluación para los clones: A) superiores y B) inferiores de *Pinus patula* muestreados en el huerto semillero.

Phenological synchronization (percentage of receptive female strobili and percentage of male strobili at the phase of pollen shed) throughout the evaluation period for: A) superior, and B) lower genetic quality clones of *Pinus patula* sampled in the seed orchard.

Cuadro 3. Índice de sincronización fenológica (PO) para cada pareja de clones en cuatro combinaciones de los grupos de clones superiores e inferiores de *Pinus patula* en el huerto semillero evaluado en 2012, los valores varían de 0 (sin participación) a 1 (máxima). En la parte inferior y derecha de cada combinación se indica los valores promedio del índice de sincronía fenológica de los clones participando como masculino ($PO\delta$) o como femenino ($PO\ominus$).

Index of phenological synchronization (PO) for each pair of clones in four combinations of superior and lower groups of clones of *Pinus patula* in the seed orchard in 2012, where the assessed values range from 0 (no participation) to 1 (maximum). The average index values of phenological synchrony of each clone participating as male ($PO\delta$) or female ($PO\ominus$) are indicated in the bottom right part of each combination.

| | | Participación con estróbilos masculinos | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------|--|---|------|------|------|------|------|------|------|-----------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | | Clon superior ♀ x Clon superior ♂ | | | | | | | | Clon superior ♀ x Clon inferior ♂ | | | | | | | | | | | | | |
| Clones | | 12 | 34 | 36 | 54 | 58 | 60 | 76 | 110 | 116 | 117 | PO♀ | 18 | 21 | 29 | 33 | 40 | 44 | 46 | 63 | 85 | 112 | PO♀ |
| 12 | | 0,38 | 0,29 | 0,21 | 0,83 | 0,60 | 0,65 | 0,52 | 0,49 | 0,42 | 0,49 | 0,44 | 0,68 | 0,07 | 0,29 | 0,08 | 0,27 | 0,97 | 0,27 | 0,14 | 0,58 | 0,21 | 0,36 |
| 34 | | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 36 | | 0,44 | 0,89 | | 0,09 | 0,33 | 0,21 | 0,44 | 0,20 | 0,70 | 0,62 | 0,44 | 0,68 | 0,07 | 0,29 | 0,08 | 0,27 | 0,97 | 0,27 | 0,14 | 0,58 | 0,21 | 0,36 |
| 54 | | 0,42 | 0,27 | 0,18 | | 0,54 | 0,75 | 0,82 | 0,37 | 0,29 | 0,47 | 0,47 | 0,28 | 0,43 | 0,58 | 0,59 | 0,65 | 0,19 | 0,73 | 0,67 | 0,42 | 0,62 | 0,52 |
| 58 | | 0,44 | 0,36 | 0,26 | 0,47 | | 0,69 | 0,58 | 0,72 | 0,46 | 0,40 | 0,49 | 0,38 | 0,34 | 0,62 | 0,48 | 0,69 | 0,27 | 0,91 | 0,58 | 0,44 | 0,57 | 0,53 |
| 60 | | 0,44 | 0,89 | 0,95 | 0,09 | 0,33 | | 0,44 | 0,20 | 0,70 | 0,62 | 0,52 | 0,68 | 0,07 | 0,29 | 0,08 | 0,27 | 0,97 | 0,27 | 0,14 | 0,58 | 0,21 | 0,36 |
| 76 | | 0,61 | 0,31 | 0,22 | 0,34 | 0,73 | 0,77 | | 0,70 | 0,43 | 0,35 | 0,50 | 0,33 | 0,24 | 0,78 | 0,53 | 0,84 | 0,23 | 0,65 | 0,44 | 0,52 | 0,85 | 0,54 |
| 110 | | 0,31 | 0,25 | 0,15 | 0,65 | 0,41 | 0,61 | 0,42 | | 0,31 | 0,28 | 0,38 | 0,26 | 0,48 | 0,45 | 0,52 | 0,51 | 0,17 | 0,67 | 0,76 | 0,30 | 0,50 | 0,46 |
| 116 | | 0,73 | 0,50 | 0,40 | 0,28 | 0,68 | 0,58 | 0,86 | 0,54 | | 0,56 | 0,57 | 0,53 | 0,20 | 0,63 | 0,44 | 0,64 | 0,42 | 0,52 | 0,37 | 0,73 | 0,67 | 0,52 |
| 117 | | 0,44 | 0,15 | 0,06 | 0,45 | 0,58 | 0,73 | 0,42 | 0,71 | 0,24 | | 0,42 | 0,16 | 0,33 | 0,63 | 0,68 | 0,61 | 0,08 | 0,55 | 0,46 | 0,31 | 0,57 | 0,44 |
| $PO\delta$ | | 0,48 | 0,50 | 0,31 | 0,32 | 0,55 | 0,62 | 0,55 | 0,55 | 0,46 | 0,44 | 0,48 | 0,41 | 0,26 | 0,56 | 0,42 | 0,57 | 0,40 | 0,56 | 0,43 | 0,49 | 0,53 | 0,46 |
| | | Participación con estróbilos femeninos | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Clon inferior ♀ x Clon superior ♂ | | | | | | | | Clon inferior ♀ x Clon inferior ♂ | | | | | | | | | | | | | |
| Clones | | 12 | 34 | 36 | 54 | 58 | 60 | 76 | 110 | 116 | 117 | PO♀ | 18 | 21 | 29 | 33 | 40 | 44 | 46 | 63 | 85 | 112 | PO♀ |
| 18 | | 0,44 | 0,89 | 0,95 | 0,09 | 0,33 | 0,21 | 0,44 | 0,20 | 0,70 | 0,62 | 0,49 | 0,68 | 0,07 | 0,29 | 0,08 | 0,27 | 0,97 | 0,27 | 0,14 | 0,58 | 0,21 | 0,32 |
| 21 | | 0,64 | 0,59 | 0,52 | 0,17 | 0,64 | 0,49 | 0,58 | 0,42 | 0,60 | 0,44 | 0,51 | 0,48 | | 0,59 | 0,29 | 0,50 | 0,53 | 0,39 | 0,24 | 0,61 | 0,43 | 0,45 |
| 29 | | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 33 | | 0,44 | 0,89 | 0,95 | 0,09 | 0,33 | 0,21 | 0,44 | 0,20 | 0,70 | 0,62 | 0,49 | 0,68 | 0,07 | 0,29 | 0,08 | 0,27 | 0,97 | 0,27 | 0,14 | 0,58 | 0,21 | 0,39 |
| 40 | | 0,48 | 0,34 | 0,23 | 0,32 | 0,59 | 0,55 | 0,60 | 0,66 | 0,48 | 0,41 | 0,47 | 0,39 | 0,21 | 0,63 | 0,39 | 0,25 | 0,25 | 0,74 | 0,46 | 0,48 | 0,69 | 0,47 |
| 44 | | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 46 | | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 63 | | 0,20 | 0,18 | 0,12 | 0,71 | 0,28 | 0,46 | 0,30 | 0,45 | 0,20 | 0,26 | 0,32 | 0,25 | 0,57 | 0,30 | 0,52 | 0,35 | 0,13 | 0,48 | | 0,19 | 0,36 | 0,35 |
| 85 | | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 112 | | 0,56 | 0,26 | 0,18 | 0,37 | 0,71 | 0,85 | 0,54 | 0,76 | 0,36 | 0,29 | 0,49 | 0,28 | 0,27 | 0,75 | 0,54 | 0,73 | 0,19 | 0,68 | 0,45 | 0,43 | 0,48 | 0,48 |
| $PO\ominus$ | | 0,46 | 0,53 | 0,49 | 0,29 | 0,48 | 0,46 | 0,48 | 0,45 | 0,51 | 0,44 | 0,46 | 0,42 | 0,24 | 0,48 | 0,36 | 0,42 | 0,51 | 0,47 | 0,29 | 0,48 | 0,38 | 0,40 |

promedio; el valor promedio calculado para cada clon con floración femenina varió de 0,33 a 0,54 y para la floración masculina varió de 0,25 a 0,55, lo que es una aproximación moderada a la panmixia en el huerto.

Los valores de índice de sincronización fenológica indicaron una sincronía parcial con respecto al máximo teórico ($PO = 1$), debido principalmente a las fallas en floración femenina de los clones 29, 34, 44, 46 y 85. El 75 % restante de la muestra que produjeron óvulos tuvieron oportunidad de polinizarse; los clones con mayor posibilidad de polinizarse fueron el 116, 76 y 58, con valores de 0,54, 0,52 y 0,51, respectivamente. Por otro lado, el 100 % de los clones tuvieron la posibilidad de polinizar a los demás. Los clones que presentaron mayor participación como polinizadores con el resto fueron el 60, 29, 46, 40, 58 y 76, con valores de sincronía de 0,55, 0,53, 0,53, 0,52, 0,52 y 0,52, respectivamente. Los clones menos sincronizados como polinizadores fueron el 54 y el 21, con valores de 0,31 y 0,25, siendo clones que concluyeron la liberación de polen antes que los demás y solo 60 % de sus rametos produjeron polen, pero la amplitud del periodo de liberación de polen fue reducida.

La variación entre clones con respecto al inicio, duración y fin de la emisión de polen y la receptividad de estróbilos femeninos fue evidente en los fenogramas (figura 5), que indican los periodos de receptividad de estróbilos femeninos y de liberación del polen en cada uno de estos. Dos clones de los de menor calidad genética destacaron en este proceso (de los 83 clones representados en el huerto) por tener un periodo temprano de emisión de polen, el 54 y el 21, que termina mucho antes que el resto de los clones; el clon 21 se comportó igual de precoz en los dos años

de evaluación. Ambos clones tuvieron un menor índice de sincronización fenológica con el periodo de receptividad de los otros clones. Sin embargo, estos clones tuvieron una adecuada sincronización en la receptividad de sus óvulos con respecto a la liberación del polen de los otros clones. Por otro lado, la falta de producción de estróbilos femeninos de los clones 29, 34, 44, 46 y 85, y que por tanto no participaron como hembras al momento de la liberación de polen, reduce las posibilidades de apareamiento para el conjunto de clones del huerto.

En general la secuencia de la aparición de los estróbilos masculinos entre los clones evaluados fue similar entre años ($r = 0,69$ y $P = 0,001$); esto es, clones que inician la floración en el primer año también lo fueron en el segundo. En el inicio de la floración femenina no se encontró una correlación significativa entre años. En la terminación de la floración masculina hay moderada repetitividad de los clones entre años ($r = 0,43$ y $P = 0,06$), pero no así en la duración del periodo de floración masculina de los clones entre años. Los clones que iniciaron más temprano a producir estróbilos masculinos tendieron a durar más ya que terminaron más tarde, lo que indica una correlación negativa entre inicio y fin de la floración masculina ($r = -0,67$ y $P = 0,001$).

DISCUSIÓN

La fenología de la floración en el huerto semillero clonal se caracteriza por un aumento gradual en el número de clones receptivos en los periodos de evaluación. Al inicio del periodo de receptividad de los estróbilos femeninos existió una marcada ausencia de polen, lo que aumenta las posibilidades de una menor proporción de semillas llenas en esos

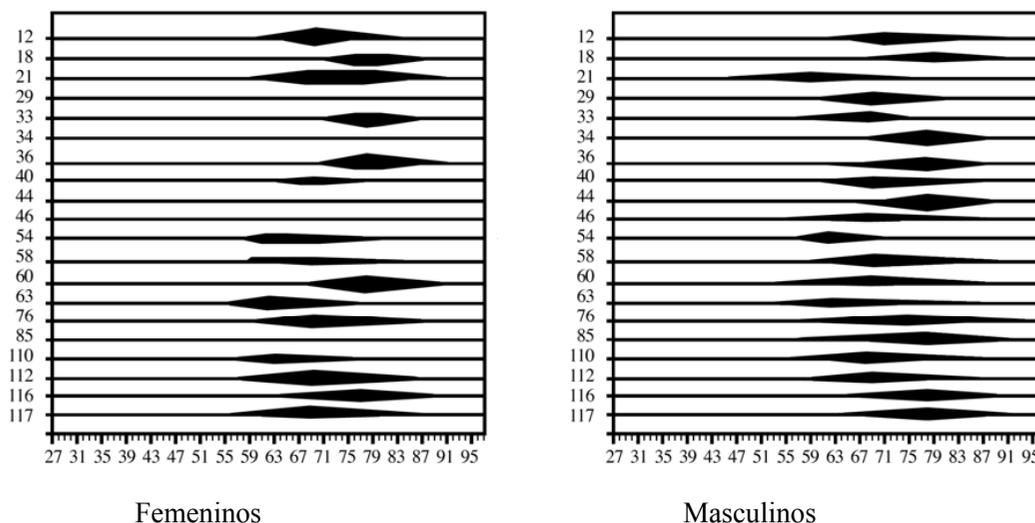


Figura 5. Fenogramas de estróbilos femeninos y masculinos de 20 clones de *Pinus patula* en el huerto semillero evaluados en 2012. El ancho de las líneas horizontales en una fecha determinada representa el porcentaje total de receptividad o emisión de polen.

Phenograms of female and male strobili from the 20 clones of *Pinus patula* in the seed orchard evaluated in 2012. The width of horizontal lines on a certain date represents the total percentage of receptivity or emission of pollen.

estróbilos. La emisión de polen comienza con un aumento gradual que se mantiene sensiblemente por debajo de los valores de receptividad femenina en las primeras semanas, pero ambos valores coinciden a mediados del periodo, cuando se alcanza la máxima receptividad de los óvulos.

Los resultados obtenidos coinciden con los encontrados en *Pinus radiata* D. Don (Griffin 1984, Lario *et al.* 2001) y *Pinus sylvestris* L. (Sarvas 1962, Burczyk y Chalupka 1997), en los cuales la floración femenina inició antes que la masculina. La duración del periodo receptivo del grupo de clones evaluados en el huerto semillero clonal de *P. patula* para el año 2012 fue de 25 días, el cual es menor al reportado para *P. radiata* de 35 días (Matziris 1994, Codesido *et al.* 2005) y de *Picea sitchensis* (Bong.) Carr. el cual fue de 33 días (El-Kassaby y Reynolds 1990); en *Pseudotsuga mensiezii* (Mirb.) Franco se reportaron 30 días (El-Kassaby *et al.* 1984) y para *Pinus sylvestris* 31 días (Jonsson *et al.* 1976). La menor duración de la floración en el huerto semillero de *P. patula* puede atribuirse a que los materiales provienen de una región reducida en comparación a los citados que provienen de una región más amplia. En otras palabras se esperaría mayor sincronización en este huerto por encontrarse en la misma área geográfica de origen del material, de hecho en la parte central de las 250 ha que fueron recorridas para obtener los 83 clones del huerto. También, su periodo menor de floración puede ser característico de la especie.

La floración individual a nivel de rametos de *P. patula* presentó una duración de tres a 10 días, la mayor variación entre rametos que integran un mismo clon permite que el periodo de floración del clon sea más amplio y que haya una mayor participación como madre o padre en el proceso de recombinación con otros clones del huerto, aunque pudiera reducirse la cantidad de polen emitido por día. Este valor a nivel de rametos es similar al reportado para *Pinus nigra* Arn. de nueve días (Alizoti *et al.* 2010), y coincide con el reportado por Matziris (1994) para la misma especie (2 a 10 días), pero es menor al mencionado por Lill y Sweet (1977) para *P. radiata* (dos a 13 días), y mayor al de dos a tres días para *P. nigra* (Vidacovic 1974). La variación dentro de un rameto puede deberse a condiciones fisiológicas de cada rama asociada a su vigor, exposición al sol y posición en el árbol, y las diferencias entre los rametos al vigor otorgado por el patrón (Medina-Perez *et al.* 2007, Darikova *et al.* 2011) y a las condiciones del micrositio que nutren al árbol en particular (Ericksson *et al.* 1973, Nikkanen y Ruotsalainen 2000).

Los valores obtenidos para cada grupo de clones favorecieron una participación adecuada de estos en la producción de semilla. Aunque el valor máximo de sincronización fenológica que se puede obtener es uno, este valor es difícil de obtener debido a la variación natural en la floración de los clones; en el año 2012, en la primera evaluación, el índice promedio de sincronización fenológica (estimado de acuerdo con el procedimiento de Askew y Blush 1990) fue de 0,45 en el grupo de 20 clones muestreados, el cual es ligeramente mayor al valor de 0,41 reportado para *P. syl-*

vestris a los 17 años de edad (Burczyk y Chalupka 1997). Este valor es consistente con el obtenido en *P. pinaster* Ait. a nueve años (Zas *et al.* 2003) y menor al de 0,59 reportado por Alizoti *et al.* (2010) para *P. nigra*. Al inicio de la evaluación 2013 se observó mayor participación clonal en la producción de estróbilos femeninos y masculinos, aumento que fue afectado por las heladas presentadas en el mes de marzo después de un periodo de temperaturas por arriba de 5 °C y mayores a las del 2012, que propiciaron el cese de la receptividad con la muerte de un 84 % de la producción de estróbilos femeninos. Esto afectó de manera directa el proceso reproductivo en el huerto para ese año.

La evaluación del huerto semillero clonal de *Pinus patula* a ocho y nueve años de edad indica que pese a que algunos clones no produjeron estróbilos femeninos, los índices de sincronización fenológica femenina se mantuvieron por arriba de 33 %. La falta de polen al inicio del periodo receptivo es un factor importante que incrementa la posibilidad de contaminación de polen externo, en caso de existir fuentes de producción de polen (Jonsson *et al.* 1976, El-Kassaby y Ritland 1986) y reduce el intercambio de genes al azar entre clones; en consecuencia, se reduce el tamaño efectivo de la población del huerto y la base genética de la semilla producida en el huerto (Ericksson *et al.* 1973, Codesido y Fernández 2014). Los clones 21 y 54 presentaron niveles bajos de sincronización con respecto a los otros clones del huerto debido a que terminaron temprano la emisión de polen; a pesar de que la producción de estróbilos masculinos en estos clones fue alta, su participación como padres se reduce por terminar pronto con la liberación de polen; sin embargo, estos clones también tuvieron una participación adecuada como madres en la producción de semilla, con una buena sincronización con los otros clones del huerto. Si este problema fuera generalizado, se podría aplicar hormonas para estimular la producción de primordios florales, usar polinización masiva, o emplear cruza para maximizar la participación de los clones en la producción de semilla controladas (El-Kassaby *et al.* 1984, El-Kassaby y Reynolds 1990, Blush *et al.* 1993) y aumentar la base genética de la semilla producida en el huerto a estas edades (Ericksson *et al.* 1973, Codesido y Fernández 2014).

CONCLUSIONES

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

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

Existe una sincronización fenológica aceptable dentro del grupo de clones de calidad genética superior, que fue

ligeramente superior a la de los clones de calidad inferior dentro del huerto.

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

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

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos de manera especial al Ing. León Jorge Castaños Martínez y al Ing. Salvador Castro Zavala, propietarios del Conjunto Predial Forestal, por todas las facilidades y apoyo logístico proporcionado durante la realización del estudio. A la LPI 1 Manejo Sustentable de Recursos Naturales del Colegio de Postgraduados.

REFERENCIAS

- Alizoti P, K Kilimis, P Gallios. 2010. Temporal and spatial variation of flowering among *Pinus nigra* Arn. clones under changing climatic conditions. *Forest Ecology and Management* 259: 786-797.
- Askew G, R Blush. 1990. Short note: An index of phenological overlap in flowering for clonal conifers seed orchards. *Silvae Genetica* 39: 168-171.
- Blush T, D Bramlett, Y El-Kassaby. 1993. Reproductive phenology of seed orchards. In *Advances in Pollen Management*. Washington DC, USA. USDA Agriculture Handbook 698. p. 15-23.
- Burczyk J, W Chalupka. 1997. Flowering and cone production variability and its effects on parental balance in a Scots pine clonal seed orchard. *Annals of Forest Science* 54: 129-144.
- Codesido V, E Merlo. 2001. Caracterización fenológica del huerto semillero de *Pinus radiata* de Sergude. In *Actas III Congreso Forestal Español*, Tomo III. p. 69-74.
- Codesido V, E Merlo, J Fernández. 2005. Variation in reproductive phenology in a *Pinus radiata* D. Don seed orchard in northern Spain. *Silvae Genetica* 54: 246- 255.
- Codesido V, J Fernández. 2014. Juvenil radiata pine clonal seed orchard management in Galicia (NW Spain). *Silvae Genetica* 54: 246- 255.
- Darikova JA, YV Savva, EA Vaganov, AM Grachev, GV Kuznetsova. 2011. Grafts of woody plants and the problem of incompatibility between scion and rootstock (a review). *Journal of Siberia Fedral University, Biology* 1: 54-63.
- El-Kassaby Y, A Fashler, O Sziklai. 1984. Reproductive phenology and its impact on genetically improved seed production in a Douglas-fir seed orchard. *Silvae Genetica* 33: 120-125.
- El-Kassaby Y, K Ritland. 1986. The relation of outcrossing and contamination to reproductive phenology and supplemental mass pollination in a Douglas-fir seed orchard. *Silvae Genetica* 35: 240-244.
- El-Kassaby Y, S Reynolds. 1990. Reproductive phenology, parental balance, and supplemental mass pollination in Sitka spruce seed orchard. *Forest Ecology and Management* 31: 45-54.
- Ericksson G, A Jonsson, D Lindren. 1973. Flowering in a clonal trial of *Picea abies* Karst. *Studia Forestalia Suecica* 110: 5-45.
- Griffin A. 1984. Clonal variation in radiata pine seed orchards. II Flowering phenology. *Australian Forest Research* 14:271-281.
- Hopkins E, T Hutcher. 1994. Improvement of *Pinus pinaster* Ait. in Western Australia. *CALMScience* 1: 159-242.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, MX). 2000. Síntesis Geográfica del Estado de Puebla y Anexos Cartográficos. Aguascalientes, México. INEGI. 124 p.
- Jonsson A, I Ekberg, G Eriksson. 1976. Flowering in a seed orchard of *Pinus sylvestris* L. *Studia Forestalia Suecica* 135: 1-38.
- Kang K, D Lindgren, T Mullin. 2001. Prediction of genetic gain and gene diversity in seed orchards crops under alternative management strategies. *Theoretical and Applied Genetics* 103:1099-1107.
- Lario F, E Merlo, J Peñuelas, L Gil. 2001. Variabilidad clonal de la fenología reproductiva y producción floral. Participación clonal en un huerto semillero de *Pinus nigra* Arnol *salzmanni* (Dunal) Franco. In *Actas III Congreso Forestal Español*, Tomo III. p. 539-545.
- Lill B, G Sweet. 1977. Pollination in *Pinus radiata*. *New Zealand Journal of Forestry Science* 7: 21-34.
- Matziris D. 1994. Genetic variation in the phenology of flowering in Black pine. *Silvae Genetica* 43: 321-328.
- Medina-Perez AM, TL White, DA Huber, TA Martin. 2007. Graft survival and promotion of female and male strobili by topgrafting in a third-cycle slash pine (*Pinus elliottii* var. *elliottii*) breeding program. *Canadian Journal of Forest Research* 37: 1244-1252.
- Nikkanen T, S Ruotsalainen. 2000. Variation in flowering abundance and its impact on the genetic diversity of the seed crop in a Norway spruce seed orchard. *Silva Fennica* 34: 205-222.
- Pardos J, L Gil. 1986. Los huertos semillero: Estudios básicos para su establecimiento en España. Madrid, España. ICONA. 128 p. (monografías 44).
- SAS (Statistical Analysis System) Institute. 2002. SAS/STAT Computer Software. Release 9.00. SAS Institute Inc. Cary.
- Sarvas R. 1962. Investigations on the flowering and seed crop in *Pinus sylvestris*. *Communicationes Instituti Forestalis Fenniae* 53:1-198.
- Vidacovic M. 1974. Genetics of European black pine (*Pinus nigra* Arn.). *Annales Forestales* 6(3): 57-86.
- Zas R, E Merlo, J Fernández. 2003. Synchro: A SAS program for analysing the floral phenological synchronisation in seed orchards. *Silvae Genetica* 52: 212-215.
- Zobel B, J Talbert. 1988. Técnicas de Mejoramiento Genético de Árboles Forestales. México DF, México. Limusa. 545 p.

Recibido: 26.05.14
Aceptado: 14.01.16