



0001768



INFOR
435
1a. ed.
c.1

PROPAGACIÓN, RESPALDO Y EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO DE MATERIAL GENÉTICO SELECTO Y PINO OREGÓN

SÍNTESIS DE LOS RESULTADOS DEL PROYECTO
INNOVA CHILE 02C8FT-01:
"PROPAGACIÓN DE GENOTIPOS DE INTERÉS COMERCIAL
DE PINO OREGÓN"

Editor:
Braulio Gutiérrez C.

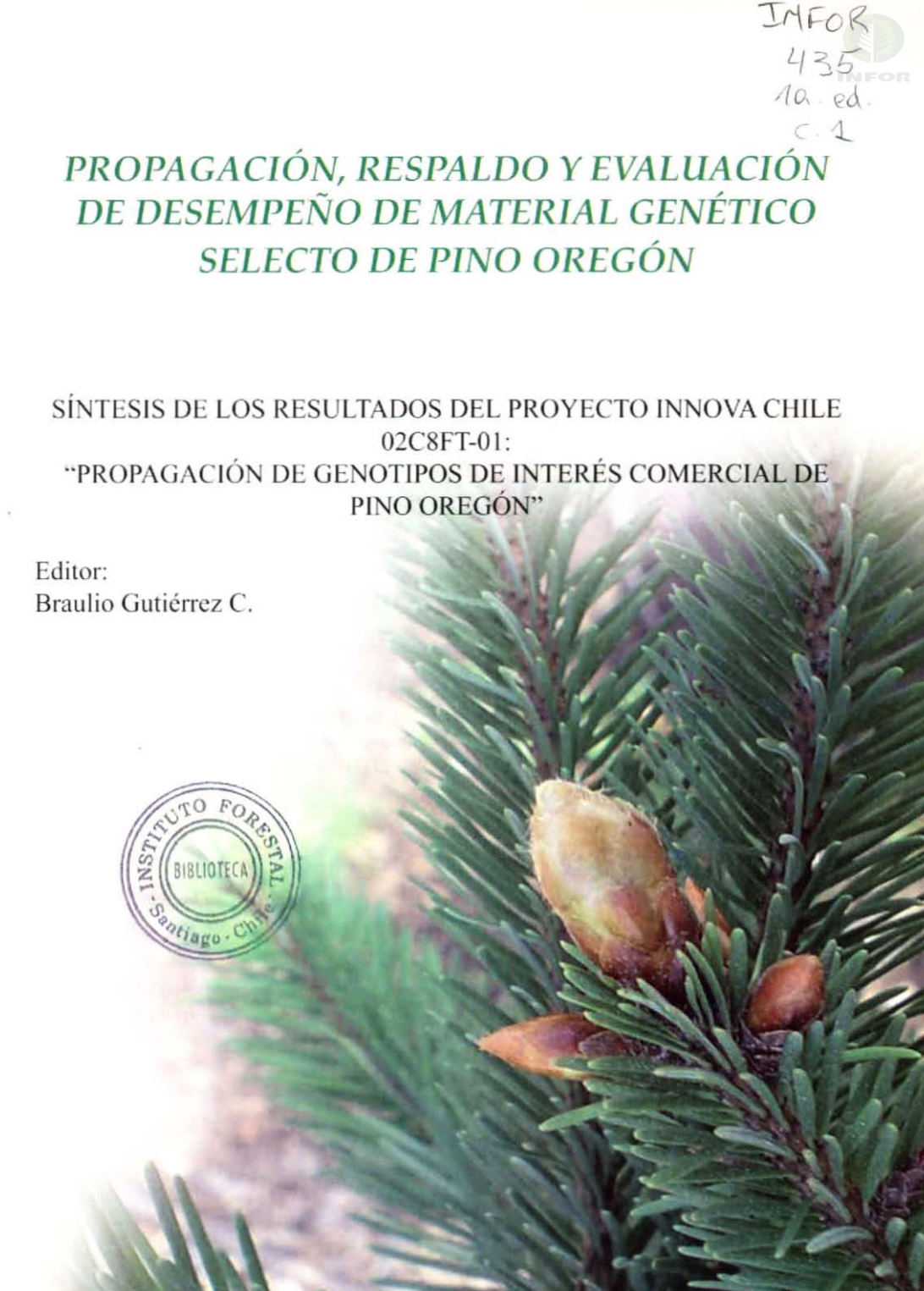


INFOR
435
1a. ed.
C. 1

PROPAGACIÓN, RESPALDO Y EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO DE MATERIAL GENÉTICO SELECTO DE PINO OREGÓN

SÍNTESIS DE LOS RESULTADOS DEL PROYECTO INNOVA CHILE
02C8FT-01:
“PROPAGACIÓN DE GENOTIPOS DE INTERÉS COMERCIAL DE
PINO OREGÓN”

Editor:
Braulio Gutiérrez C.



La información contenida en este documento fue obtenida durante el desarrollo del proyecto INNOVA CHILE (ex FDI) 02C8FT-01 "Propagación de Genotipos de Interés Comercial de Pino Oregón", ejecutado por el Instituto Forestal entre los años 2003 y 2006, con la colaboración de la Corporación Nacional Forestal, Universidad Austral de Chile, Forestal Natalhue, Forestal Tornagaleones y Forestal Voipir. El proyecto así como la publicación de este texto fueron financiados por el Fondo de Desarrollo e Innovación de la Corporación de Fomento a la Producción (CORFO).

Copyright © 2006 Instituto Forestal

Derechos Reservados. Prohibida su reproducción total o parcial sin la autorización del Instituto Forestal.

Primera edición 2006.

Propagación, respaldo y evaluación de desempeño de material genético selecto de pino oregón: Síntesis de los resultados del proyecto "Propagación de Genotipos de Interés Comercial de Pino Oregón".

Editor: Braulio Gutiérrez C.

ISBN. 956-8274-83-9

Registro de Propiedad Intelectual N° 159.953. Diciembre 2006.

ÍNDICE

PRÓLOGO	5
---------	---

I	ANTECEDENTES GENERALES DEL PROYECTO PROPAGACIÓN DE GENOTIPOS DE INTERÉS COMERCIAL DE PINO OREGÓN. <i>Braulio Gutiérrez C. e Iván Quiroz M.</i>	7
II	ACTUALIZACIÓN DE TÉCNICAS DE PROPAGACIÓN Y PRODUCCIÓN DE PLANTAS DE PINO OREGÓN. <i>Patricio Alzugaray O.</i>	13
III	PROPAGACIÓN VEGETATIVA DE PINO OREGÓN. <i>Patricio Alzugaray O.</i>	29
IV	INDUCCIÓN FLORAL EN PINO OREGÓN. <i>Braulio Gutiérrez C.</i>	57
V	VARIABILIDAD GENÉTICA Y DESEMPEÑO EN TERRENO DE PINO OREGÓN. <i>Braulio Gutiérrez C.</i>	95
VI	RESPALDO DE MATERIAL GENÉTICO SELECTO DE PINO OREGÓN. <i>Braulio Gutiérrez C. y Patricio Alzugaray O.</i>	133



PRÓLOGO

Numerosos esfuerzos se han efectuado para promover la diversificación del sector forestal nacional, identificándose a algunas especies como prioritarias para contribuir a tal objetivo. Este es el caso de pino oregón, conífera norteamericana considerada como una importante fuente de madera en la economía mundial y ampliamente difundida en el mundo como consecuencia de la calidad y versatilidad de su madera.

En Chile pino oregón ha encontrado un ambiente muy propicio para su desarrollo entre las regiones IX y XI, totalizando en la actualidad una superficie plantada ligeramente superior a las 15.000 hectáreas, que la posicionan como la segunda conífera más plantada en el país, muy por debajo de pino insigne. Aún así, en términos de mercado no ha logrado crecer a un ritmo constante y creciente, participando en no más de un 0,6% de la producción nacional de madera aserrada.

El nivel de desarrollo tecnológico de su cultivo no ha experimentado los mismos avances que evidencian otras especies forestales tradicionales en el país (pino radiata y eucaliptos), no obstante, atendiendo a la gran potencialidad que concentra pino oregón, se han implementado diversas iniciativas de investigación tendientes a sobrellevar esta limitación.

El proyecto "Propagación de genotipos de interés comercial de pino oregón", iniciativa ejecutada por el Instituto Forestal con el financiamiento de INNOVA CHILE y la participación de diversas instituciones asociadas, viene a continuar una línea institucional de investigación, tendiente a aumentar la productividad de esta especie, promoviendo así su adopción por un número de creciente de forestadores. En particular, este programa aborda aspectos que son de relevante trascendencia para permitir la masificación de las ganancias genéticas logradas en fases previas de esta línea de investigación, como lo son aquellos relacionados con la masificación de material genético selecto, mediante técnicas de propagación vegetativa e inducción floral, y también la conservación, caracterización genética y evaluación del desempeño de este material seleccionado.

En tal sentido, la presente obra que resume los principales resultados del proyecto mencionado, pretende constituir un fuente de información que contribuya a la masificación del cultivo de esta especie, entregando antecedentes que serán de interés para forestadores y propietarios forestales en general.

Brulio Gutiérrez C.
Diciembre de 2006



ANTECEDENTES GENERALES DEL PROYECTO PROPAGACIÓN DE GENOTIPOS DE INTERÉS COMERCIAL DE PINO OREGÓN

Braulio Gutiérrez C.
Iván Quiroz M.

INTRODUCCIÓN

Si bien pino oregón (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) es la segunda conífera más plantada en Chile, el nivel de desarrollo de sus plantaciones aún es distante del alcanzado en los cultivos forestales tradicionales del país (pino insigne y eucaliptos). Aunque se han desarrollado investigaciones desde antigua data, aún existen aspectos básicos que no han sido abordados completamente. En esta situación se encuentran los estudios de mejoramiento genético, en los cuales se ha empezado a incursionar recién en el último tiempo, y no se han materializado todavía en incrementos productivos. No existen fuentes de semillas mejorada en producción, exceptuando algunas APS's (áreas productoras de semillas) y un huerto clonal recientemente establecido que aún no entra en fase productiva. Por lo mismo, en la actualidad la mayoría de sus plantaciones se establecen con semilla corriente no mejorada o adquirida directamente desde fuentes externas, principalmente desde Estados Unidos.

Por otra parte, investigaciones realizadas por el Instituto Forestal, particularmente a través del proyecto FONDEF "Desarrollo y fomento de plantaciones de pino oregón y pino ponderosa: Opción económica para Chile" han sido efectivos en identificar material superior (árboles plus) y también han materializado importantes esfuerzos por representar a estos individuos en huertos semilleros clonales. Sin embargo, estos no se han difundido masivamente y no ha sido posible aprovechar su superioridad en el establecimiento de plantaciones más productivas.

Los esfuerzos comprometidos en tales iniciativas han apuntado a la utilización de este recurso a través de esquemas de propagación sexual (por semilla), los cuales no permiten traspasar toda la ganancia genética a los esquemas operacionales de producción. En esta situación, solo se traspasa a las generaciones siguientes una parte de las bondades de sus progenitores, particularmente la proporción correspondiente a la varianza genética aditiva. Por el contrario, la utilización de esquemas clonales de propagación



permite traspasar toda la varianza genética (aditiva y no aditiva) y masificar en forma más rápida al material superior seleccionado, complementando eficientemente a los programas basados en los esquemas sexuales propuestos anteriormente.

En este escenario, surge el proyecto **“Propagación de genotipos de interés comercial de pino oregón”** adjudicado al Instituto Forestal en el marco del Concurso Nacional de Proyectos de Innovación e Interés Público FDI 2002 (actualmente Comité Innova Chile de CORFO). Esta nueva iniciativa viene a continuar y complementar los anteriores esfuerzos ejecutados en el mejoramiento de la productividad de las plantaciones de pino oregón, concentrando sus actividades en dos aspectos principales que resultan de gran relevancia para masificar la producción de material genéticamente mejorado; Por una parte investigación en propagación vegetativa y por otra aspectos de inducción floral orientados a adelantar y aumentar la producción de semilla mejorada en huertos clonales.

La finalización de este proyecto, en diciembre del año 2006, ha dado origen a la publicación de este texto, en el cual se compilan algunos de los antecedentes más relevantes derivados de su ejecución. Particularmente, en este primer capítulo se describen los aspectos generales del referido programa de investigación, mientras que en los capítulos siguientes se presenta una síntesis de algunos de sus principales resultados técnicos.

EL PROYECTO:

“PROPAGACIÓN DE GENOTIPOS DE INTERÉS COMERCIAL DE PINO OREGÓN”

Objetivos

El referido proyecto tuvo por objetivo general aumentar la productividad del pino oregón, a través de la propagación vegetativa y generativa de genotipos selectos adaptados a las condiciones de crecimiento de la zona centro-sur del país.

Sus objetivos específicos fueron: (i) Desarrollar protocolos de propagación vegetativa y generativas para material selecto de pino oregón; y (ii) Identificar genotípicamente a clones selectos (árboles plus) de esta especie.

El primer objetivo específico consideró el desarrollo de protocolos

de inducción floral; protocolos de propagación vegetativa mediante enraizamiento de estacas; y la instalación de ensayos de progenies a partir de las semillas de los árboles plus previamente identificados. Por su parte, el segundo objetivo contempló la evaluación del efecto del sitio en el desarrollo de procedencias y progenies norteamericanas de pino oregón, así como también la identificación del patrón genético y la determinación del grado de similitud o diversidad genética de los árboles plus nacionales seleccionados como base de su programa de mejoramiento.

Metodología

Para efectos prácticos el proyecto se estructuró en las tres etapas que se describen a continuación:

- Procedimientos Silvícolas y de Propagación

Esta consistió en la implementación de infraestructura para el desarrollo de las actividades del proyecto, particularmente de la habilitación de dependencias de propagación para llevar a cabo las labores de enraizamiento, producción de plantas madres, evaluación de técnicas de inducción floral y producción de plantas para el establecimiento de pruebas de progenies.

- Registro Genético de Clones Selectos

Correspondió a la fase en que se caracterizó genéticamente a los clones (árboles plus) de pino oregón considerados en el proyecto. En ella se hizo uso de marcadores moleculares, particularmente de microsatélites, para caracterizar los clones y cuantificar la similitud o divergencia genética de los mismos. Esta etapa fue subcontratada al Instituto de Sanidad y Producción Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile.

- Determinación Clonal Genotipo Ambiente

Las actividades de esta etapa correspondieron a la evaluación de pruebas de progenies y procedencias de pino oregón establecidas con anterioridad al inicio de este proyecto. Tales pruebas comprenden una gran colección de semillas provenientes de Estados Unidos, que fue instalada en tres sitios de la zona centro sur de Chile. De igual forma esta etapa comprometió el establecimiento y evaluación de dos pruebas de progenies correspondientes a los árboles plus seleccionados en plantaciones nacionales.

Instituciones asociadas

- Forestal Voipir
- Forestal Natalhue
- Forestal Tornagaleones
- Universidad Austral de Chile
- CONAF IX Reg.

Equipo de trabajo

- Braulio Gutiérrez (Director)
- Patricio Alzugaray (Director alterno)
- Marcos Barrientos (Técnico)
- Iván Quiroz (Formulador de propuesta)
- Jaime Espejo (Asesor Inducción floral)

Resultados Obtenidos

Los resultados obtenidos en la ejecución de este proyecto corresponden a los siguientes:

1. Habilitación de infraestructura de propagación
2. Protocolos de inducción floral
3. Técnica de formación de plantas madres
4. Protocolo de propagación por enraizamiento de estacas
5. Caracterización genética de clones selectos (diversidad y distancia genética)
6. Instalación de pruebas de progenies
7. Evaluación técnica del comportamiento de pino oregón
8. Instalación de un banco clonal de respaldo de genotipos selectos
9. Instalación de un banco de setos o jardín de plantas madres para propagación por enraizamiento de estacas.
10. Establecimiento de una plantación clonal experimental

Los detalles asociados a la obtención de los resultados técnicos del proyecto se abordan en los sucesivos capítulos de este libro.

Los aspectos relativos al resultado N° 2, se presentan en el capítulo IV Inducción Floral en Pino Oregón.

Los resultados 3 y 4 se encuentran en el capítulo III Propagación Vegetativa en Pino Oregón.

Los resultados 5, 6 y 7 se detallan en el capítulo V Variabilidad Genética y Desempeño en Terreno de Pino Oregon.

Los resultados 8, 9 y 10 se describen en el capítulo VI Respaldo de Material Genético Selecto.

Los detalles asociados a la obtención del resultado 1 no se incluyen en este texto, por cuanto corresponden a aspectos que escapan al interés de difusión técnica de este libro. Por el contrario, se incluye en forma adicional en el capítulo II Actualización de Técnicas de Propagación y Producción de Plantas de Pino Oregón, un resumen de los antecedentes obtenidos durante la realización de una gira tecnológica organizada por el proyecto a Estados Unidos, ocasión en que se visitaron diversas empresas e instituciones vinculadas a la producción de plantas de pino oregón.



II

ACTUALIZACIÓN DE TÉCNICAS DE PROPAGACIÓN Y PRODUCCIÓN DE PLANTAS DE PINO OREGÓN

Patricio Alzugaray O.

INTRODUCCIÓN

El proyecto “Propagación de genotipos de interés comercial de pino oregón”, en su interés por desarrollar y depurar las técnicas de producción de plantas de pino oregón y aplicarlas a la multiplicación sexual y vegetativa de individuos selectos de esta especie, organizó una gira tecnológica a la costa oeste de Estados Unidos, particularmente a los estados de Washington y Oregón, donde pino oregón es la especie nativa más estudiadas y constituye uno de los pilares de la economía forestal estadounidense

El objetivo de la gira fue complementar la experiencia desarrollada por INFOR en el área de la producción de plantas y capturar conocimientos técnicos y científicos desde instituciones líderes en la propagación de pino oregón. Esta se desarrolló en el mes de mayo del año 2006 y contempló entrevistas y reuniones con representantes y personal técnico de empresas forestales, centros de investigación universitarios y organizaciones gubernamentales.

Los aspectos técnicos más relevantes en relación a las actuales tecnologías de producción de plantas de pino oregón en las instituciones y empresas estadounidenses visitadas se resumen en el presente capítulo. Los antecedentes recopilados se presentan organizados bajo el nombre del organismo anfitrión que aportó la información.

INSTITUCIONES Y EMPRESAS CONSULTADAS

- Centro de Repoblación Forestal de Rochester de la Compañía Weyerhaeuser (Weyerhaeuser Rochester Forest Regeneration Center. Rochester, Washington).
- Vivero Forestal Mima de la Compañía Weyerhaeuser (Weyerhaeuser Mima Forest Tree Nursery. Washington).

- Cooperativa Tecnológica de Viveros de la Universidad Estatal de Oregon (Nursery Technology Cooperative, Oregon State University. Corvallis, Oregon).
- Cooperativa de Mejoramiento Genético del Pacífico Noroeste de la Universidad Estatal de Oregon (Pacific North West Tree Improvement Research Cooperative. Corvallis, Oregon).
- Vivero Forestal Estatal de Oregon, (D.L. Phipps State Forest Nursery. Elkton, Oregon).
- Vivero forestal y huertos semilleros de la empresa Plum Creek Timber Company, Inc. Cottage Grove, Oregon.
- Centro de Mejoramiento Genético de Dorena, (Dorena Tree Improvement Center U.S. Department of Agriculture. Cottage Grove, Oregon).

CENTRO DE REPOBLACION FORESTAL DE ROCHESTER

Este centro pertenece a la compañía forestal Weyerhaeuser, que es una empresa internacional de productos forestales (Celulosa y papel; cartones y reciclaje; inmobiliaria; productos y plantaciones forestales) fundada en 1900 en la costa oeste de Estados Unidos, con operaciones en 19 países, principalmente, Estados Unidos, Canadá, México, Australia, Francia, Nueva Zelanda, Irlanda, Brasil y Uruguay. En total administra alrededor de 15 millones de hectáreas de plantaciones, las que dan trabajo directamente a 53.600 empleados. Durante el año 2004 plantó 111 millones de árboles y generó ventas de productos del orden de los 22.700 millones de dólares.

En el Centro de Repoblación Forestal de Rochester la compañía dispone de un huerto semillero de pino oregón de primera generación de 35 años de edad y de un vivero o unidad de producción de plantas a raíz cubierta.

Huerto Semillero del Centro de Repoblación Forestal de Rochester

El huerto semillero de Rochester es una de las tres unidades de huertos de primera generación del programa de mejoramiento genético de Weyerhaeuser, el cual se inició en 1970 con la selección de 2.400 árboles plus.

El huerto de Rochester ocupa una superficie de 22,5 hectáreas y produce anualmente alrededor de 500Kg de semillas de pino oregón (**figura 1**). En él están injertadas las selecciones de árboles plus correspondiente a cuatro zonas de mejoramiento del estado de Washington. Cada zona está representada por 120 clones. Unidades similares de primera generación están instaladas en Turner, Oregon y Sequim, Washington. El huerto de Turner fue instalado para abastecer de semillas las operaciones de la empresa en el estado de Oregon y Sequim como una unidad de contingencia ante eventuales años de baja producción. La segunda generación para ambos estados fue concentrada en Medford, Oregon sobre una superficie de 100 hectáreas. Durante los próximos dos años la empresa tiene planificado instalar sus huertos de tercera generación en los mismos sitios en los que se estableció la primera generación, es decir, Rochester, Turner y Sequim. Las ganancias en volumen estimadas a la fecha por el programa de mejoramiento genético de Weyerhaeuser son del 20% para la primera generación y 30% para la segunda generación.



Figura 1: Vista parcial del huerto semillero de pino oregón del Centro de Repoblación Forestal de Rochester.

Con el objeto de aumentar la producción de semillas, el manejo de los huertos considera la estimulación anual de los rametos mediante anillado de los fustes inyecciones de giberelinas. Esta práctica se realiza en al menos 20 clones por cada zona de mejoramiento (**figura 2**). Adicionalmente, con el mismo objetivo de maximizar la producción de semillas, durante el período de heladas la producción de flores es protegida por ventiladores que aplican aire tibio y por irrigadores instalados a nivel del suelo (**figura 2**). Las aplicaciones de insecticidas se efectúan, cuando son necesarias, en forma aérea.

La injertación para la instalación de huertos se realiza en invernaderos durante el período de receso vegetativo, utilizando patrones compatibles cultivados en almacigueras de 15 cavidades y 1.000cc de capacidad por cavidad. Una vez que el injerto está consolidado es transplantado a terreno a una zona de acopio, en la que se acumulan hasta completar suficiente material para la instalación del huerto definitivo (**figura 3**). Este proceso puede tardar hasta cinco años. En caso de incompatibilidad temprana se rechaza el clon del programa.



Figura 2: Mecanismos para maximizar la producción de semillas en un huerto semillero de pino oregón del Centro de Repoblación Forestal de Rochester: A la izquierda aplicación de inyecciones de giberelinas para estimular floración. A la derecha vista de un molino de viento para proteger las flores del efecto de las heladas



Figura 3. Vista parcial de un banco de injertos para establecer o reemplazar rametos en el huerto semillero del Centro de Repoblación Forestal de Rochester

Unidad de producción de plantas del Centro de Repoblación Forestal de Rochester

El vivero de Rochester es uno de dos centros de producción de plantas a raíz cubierta dentro de las operaciones que Weyerhaeuser mantiene en la costa oeste de Estados Unidos. Cuarenta por ciento de su producción está orientada al consumo interno de la empresa y el 60% restante para ventas a terceros. El 100% de las semillas utilizadas en los programas de producción de plantas son genéticamente mejoras obtenidas de los huertos de la compañía. La producción anual del vivero Rochester es de 13 millones de plantas, 11 millones de las cuales son transplantes para producción a raíz desnuda. Para ello el vivero cuenta con 2 hectáreas de invernaderos totalmente controlados (Figura 4).



Figura 4: Vista parcial del invernadero climatizado del vivero del Centro de Repoblación Forestal de Rochester

En el proceso de producción de plantas el vivero emplea una amplia diversidad de almacigueras, que van de los 14 hasta 320cc por cavidad, dependiendo del objetivo y el destino final de la planta. Almacigueras de 14cc por cavidad son utilizadas para la producción de transplantes a almacigueras de mayor volumen (130cc y mayores). Almacigueras de 40 y 60cc por cavidad son utilizadas para la producción de transplantes para la producción de plantas a raíz desnuda (Plug+1). Almacigueras mayores a 130cc por cavidad son utilizadas para la producción de plantas a raíz cubierta de una temporada (Figura 5).

El proceso completo de la producción en contenedores es de una temporada. Se inicia en marzo con la siembra del material que completará su ciclo a raíz



cubierta, incluyendo los que serán transplantados a almacigueras de mayor tamaño. Este transplante se realiza durante mayo. El despacho de las plantas a raíz cubierta se realiza a contar del mes de enero, con especificaciones morfológicas mínimas de 5mm de diámetro y 34cm de altura. La siembra de los transplantes a raíz desnuda se realiza durante los meses de abril y mayo para ser cosechadas durante diciembre y enero, almacenadas en frío y transplantadas a raíz desnuda en primavera donde completarán su proceso como planta a raíz desnuda.



Figura 5: Transplantes de pino oregón producidos en almacigueras de 14cc.

El sustrato que utiliza este vivero para la producción de plantas de pino oregón corresponde a una mezcla de turba pasteurizada (85-90%) y perlita (15-10%). Este sustrato se suplementa con fertilizantes recubiertos de liberación controlada y con una mezcla complementaria de macro y micronutrientes (**Figura 6**). Una vez efectuada la siembra sobre los recipientes que contienen el sustrato, la semilla se cubre con una capa de vermiculita para mantenerla húmeda.



Figura 6: Incorporación de fertilizante de liberación controlada al sustrato de producción de plantas de pino oregón.

VIVERO FORESTAL MIMA

A diferencia del vivero del Centro de Repoblación Forestal de Rochester, que produce plantas en contenedores, el Vivero Forestal Mima es la principal unidad de producción de plantas a raíz desnuda de Weyerhaeuser en el Estado de Washington (figura 7).

Esta unidad fue instalada en 1976 para controlar de mejor forma el establecimiento de las plantaciones de la empresa. La producción anual es del orden de los 20 millones de plantas, 90% de las cuales son del tipo 1+1. El 60% de la producción es para consumo interno de la empresa y el 40% restante para venta a terceros. La venta de plantas a estos últimos se regula a través de contratos de venta.



Figura 7: Vista general del Vivero Mima de producción de plantas de pino oregón a raíz desnuda.

Los estándares morfológicos mínimos para las plantas de pino oregón obtenidos con cada sistema de producción aplicado en el vivero forestal de Mima se resumen en el cuadro 1.

CUADRO 1
ESTÁNDARES MORFOLÓGICOS MÍNIMOS PARA PLANTAS DE PINO OREGON SEGÚN SISTEMA DE PRODUCCIÓN

Sistema de producción	Diámetro mínimo (mm)	Altura mínima (cm)
1+1	6	30
2+0	4	25
2+1	7	35
Plug+1	4	30

El proceso productivo se inicia con la siembra, la que se realiza a mediados de abril, utilizando una densidad de siembra de 490 semillas por metro lineal de platabanda de 1,5 metros de ancho (1,2 m entre hileras externas). De acuerdo con la experiencia del vivero, esta densidad de siembra produce aproximadamente 330 plantas aptas para trasplante.

Transcurridas dos semanas desde la siembra se produce la emergencia de las plántulas, las que permanecerán en la platabanda hasta el invierno, época en que son cosechadas, empacadas y almacenadas en frío hasta ser transplantadas en primavera. Los trasplantes se realizan a una densidad de 105 plantas por metro lineal de platabanda de las que se esperan obtener 88 plantas plantables, esta labor se efectúa con maquinaria especializada (**figura 8**). La cosecha y plantación se realiza en los meses de invierno y sólo se almacenan aquellas que irán a plantación en forma tardía en zonas con problemas de accesibilidad.

El manejo nutricional de este vivero es administrado por una empresa externa, la que fertiliza el suelo previo al establecimiento de los cultivos, de acuerdo a los resultados de análisis químicos del mismo. Una vez que el cultivo está establecido, se realizan aplicaciones de sulfato diamónico, cada tres semanas, a una dosis de 15Kg de N por hectárea, con el objeto de promover el crecimiento de las plantas hasta julio. Desde julio en adelante se inicia el endurecimiento de las plantas exponiéndolas a ciclos de estrés hídrico y descalces, complementados con aplicaciones de Potasio y Calcio (**figura 9**).



Figura 8: Transplante de plantas de pino oregón en Vivero Forestal Mima.



Figura 9: Descalce de plantas de pino oregón cultivadas a raíz desnuda en vivero Mima

COOPERATIVA TECNOLÓGICA DE VIVEROS (UNIVERSIDAD DE OREGON)

La Universidad Estatal de Oregon tiene su campus principal en la ciudad de Corvallis, Oregon, la formación forestal es responsabilidad del College of Forestry, que cuenta con 7 cooperativas de investigación en que la universidad se vincula con empresas para transferencia tecnológica.

La Cooperativa Tecnológica de Viveros fue creada al alero del Departamento de Ciencias Forestales de la Universidad Estatal de Oregon, en julio de 1982, con el objetivo de aumentar la productividad de los bosques del noroeste de los Estados Unidos, mediante el empleo de plantas de tecnología de avanzada para alcanzar regeneración óptima. A través de un programa coordinado de estudios, intercambio de información y asistencia técnica, la cooperativa se preocupa de todos los aspectos del manejo en vivero, especialmente en sus implicancias sobre el comportamiento en terreno. Son miembros de esta cooperativa, empresas y viveros forestales, de insumos, organizaciones federales y estatales y reservaciones indígenas.

En los últimos años, la investigación desarrollada por esta organización se ha enfocado al estudio de la aplicación de fertilizantes de liberación, tanto en plantaciones como en vivero, para promover el crecimiento de las plantas; al estudio de la influencia de diferentes prácticas de manejo en vivero, tales como la época y densidad de transplante, el tiempo de almacenamiento y diseño de los contenedores; y a otros temas relacionados con la calidad de las plantas. Respecto a esto último, la cooperativa presta servicios de evaluación integral de calidad de plantas a terceros, para lo cual dispone de implementación de laboratorios y de un invernadero totalmente automatizado (figura 10).



Figura 10: Invernadero de investigación de la Cooperativa Tecnológica de Viveros de la Universidad de Oregon.



COOPERATIVA DE MEJORAMIENTO GENÉTICO DEL PÁCIFICO NOROESTE (UNIVERSIDAD DE OREGON)

La Cooperativa de Mejoramiento Genético del Noroeste del Pacífico fue formada en 1983 para desarrollar investigación para apoyar programas operacionales de mejoramiento genético en el noroeste de Estados Unidos. Esta organización también está instalada en el Departamento de Ciencias Forestales de la Universidad Estatal de Oregon. Los miembros de esta Cooperativa incluyen empresas forestales y organizaciones públicas del oeste de Oregon, Washington y British Columbia.

Las líneas de investigación abordadas por esta organización están relacionadas con el manejo de huertos semilleros miniaturizados y la incorporación de la calidad de madera en los programas de mejoramiento genético.

En el área del manejo de huertos semilleros miniaturizados están en desarrollo estudios de espaciamiento, regímenes de poda y contaminación de polen.

En cuanto a la incorporación de la calidad de madera dentro de los programas de mejoramiento genético, estudian metodologías para la determinación de módulos de elasticidad y tracción utilizando métodos no destructivos. También realizan estudios genómicos para la identificación de parámetros genéticos que regulan la elasticidad y la tracción de la madera.

En la **figura 11** se observa una vista general de un huerto semillero miniaturizado de pino oregón, en el que se evalúan diferentes esquemas de manejo de la copa para evitar que los árboles se desarrollen sobre los tres metros de altura, facilitando así la colecta de sus frutos para la obtención de semillas.



Figura 11: Vista parcial de huerto semillero miniaturizado de pino oregón.

En los huertos semilleros miniaturizados los clones son establecidos utilizando menor espaciamiento y son manejados para que se mantengan entre 2 y 4 metros de altura. Las ventajas de este sistema están relacionadas con: i) Aumento de las ganancias genéticas, debido a que se facilita la polinización controlada y se reduce la contaminación por polen exógeno; ii) La aceleración en la obtención de las ganancias genéticas, debido a la producción de semillas a una edad más temprana y al mayor número de clones por unidad de superficie; iii) Reducción de los costos de operación, debido a que los conos están más cercanos al suelo.

VIVERO FORESTAL ESTATAL DE OREGON (D.L. PHIPPS FOREST NURSERY).

D.L. Phipps Forest Nursery es el único vivero estatal de Oregon, realiza la totalidad de su producción a raíz desnuda y se financia exclusivamente con la venta de plantas forestales, lo que en los últimos años le ha generado ingresos por 2 millones de dólares anuales.

El vivero es administrado por el Departamento Forestal de Oregon y produce plantas para todo tipo de clientes, desde pequeños propietarios hasta empresas forestales. El vivero se estableció originalmente en la ciudad de Corvallis en 1927 y fue trasladado a Elkton en 1957. El vivero ocupa una superficie de 100 hectáreas y en los últimos años ha producido entre 6 y 10 millones de plantas anuales. Aproximadamente el 50% de la producción es contratada por empresas forestales de la región y el resto es venta a propietarios particulares.

Tradicionalmente, dependiendo de las condiciones climáticas la siembra se realiza en primavera, durante los meses de marzo o abril. Las plantas que van a trasplante de otoño se cosechan y transplantan inmediatamente en otoño, sin períodos de almacenamiento.

Los trasplantes de primavera son cosechados en invierno y almacenados en frío hasta la primavera, cuando serán transplantados. Las plantas transplantadas permanecen en las platabandas hasta diciembre, fecha en la que se inicia la cosecha y despacho de plantas.

El 80% de la producción del vivero es pino oregón. Las plantas de pino oregón que serán transplantadas (1+1) se siembran en platabandas de 1,2 metros de ancho distribuidas en 12 hileras con una densidad de 820 semillas



por metro lineal de platabanda. La densidad de transplante, depende de las especificaciones morfológicas (diámetro de cuello mínimo) solicitadas por el cliente y varía entre 80-115 plantas por metro lineal de platabanda sobre cinco hileras de platabanda. Las plantas que no serán transplantadas (2+0) se siembran a menor densidad (230 semillas por metro lineal de platabanda) y sobre platabandas de nueve hileras (**figura 12**).



Figura 12: Preparación de platabandas para transplantes de pino oregón en vivero estatal de Oregon.

COMPAÑÍA FORESTAL PLUM CREEK TIMBER INC.

Plum Creek Timber Company Inc. es la mayor compañía forestal en los Estados Unidos, se dedica al cultivo, cosecha y venta de madera desde sus plantaciones, las que representan un patrimonio cercano a 3,3 millones de hectáreas distribuido en 19 estados.

En la localidad de Cottage Grove en el estado de Oregon, la compañía dispone de un vivero y huertos semilleros clonales de pino oregón.

Vivero Forestal de Plum Creek Timber Company Inc.

El vivero de Plum Creek Timber Company Inc. es una unidad de producción de plantas a raíz cubierta. Produce anualmente 12 millones de plantas en un área de cuatro acres bajo invernaderos climatizados (**figura 13**). El 50% de su producción se destina al consumo interno de la compañía y el otro 50% a ventas a terceros. De las 12 millones de plantas que produce el vivero, la mitad son producidas en almacigueras de poliestireno expandido de 2 pulgadas cúbicas (30cc) para ser transplantadas a raíz desuda. La otra mitad

se distribuye en almacigueras de 5 hasta 20 pulgadas cúbicas por cavidad (82 a 328cc).



Figura 13. Fotografía aérea de las instalaciones del vivero de la compañía Plum Creek Timber Company Inc.

El período de siembra se inicia durante el mes de enero, en pleno invierno. Las plantas destinadas a ser transplantadas a raíz desnuda son enviadas a platabanda durante junio-julio (transplante de verano-otoño) o en primavera (**Figura 14**). Los trasplantes de primavera son cosechados en el invierno y almacenados en frío (congelados) hasta la fecha de su transplante. La cosecha del material para plantaciones se realiza durante los meses de invierno.



Figura 14. Planta de pino oregón cultivada para transplante a raíz desnuda en el vivero de la compañía Plum Creek Timber Company Inc.

El sustrato utilizado consiste de 95% de turba y 5% de perlita. Posterior a la siembra las almacigueras se sellan con una delgada capa de gravilla. El riego de las plantas se realiza en base al peso de la almaciguera y experiencia personal y la nutrición a través de fertirrigación

Huertos Semilleros de Plum Creek Timber Company Inc.

La compañía dispone de un huerto semillero tradicional de pino oregón, de primera generación, injertado en 1975. Se estableció originalmente con 60 clones, de los cuales después de su depuración se conservan 50. En sus bloques se representan clones de cada una de las cuatro zonas de mejoramiento identificadas en el patrimonio de la compañía en el estado de Oregon (figura 15).



Figura 15. Vista parcial del huerto semillero tradicional de la compañía Plum Creek Timber Inc. en Cottage Grove.

Para mejorar la producción de semillas se aplican procedimientos de inducción floral, consistentes en el anillado de árboles más la adición de nitrato de calcio cada tres años. El rendimiento promedio de semillas alcanza a 250g/rameto/año.

Además del huerto tradicional, la compañía dispone de un huerto miniaturizado instalado recientemente, en el que se evalúan diferentes espaciamientos de plantación (1x3m; 2x4m y 4x6m) sobre una base de 24

clones y 2048 rametos dispuestos en un diseño de 8 bloques. En esta unidad se estudian diferentes regímenes de poda para controlar el desarrollo de las copas y mantenerlas entre los 2 y 4 metros de altura. Se practica un control total de la vegetación en la línea de plantación de los rametos y se dispone de sistemas de irrigación (figura 16).



Figura 16: Vista parcial del huerto semillero miniaturizado de pino oregón de la compañía Plum Creek Timber Inc. en Cottage Grove. Se observa el tendido de riego y el completo control de malezas en la línea de plantación.

CENTRO DE MEJORAMIENTO GENÉTICO DE DORENA

El Centro de Mejoramiento Genético de Dorena es uno de los cuatro centros genéticos regionales del Servicio Forestal, correspondiendo particularmente al de la zona noroeste de Estados Unidos.

En este centro se estudia la resistencia de coníferas del oeste estadounidense a plagas exóticas. Ejemplos de estos estudios son el programa de resistencia a *Cronartium ribicola* (pine blister rust), hongo que infecta el follaje de determinados pinos produciendo su muerte y el programa de resistencia a *Phytophthora lateralis* en *Chamaecyparis lawsoniana*.

Este centro además ofrece los servicios para caracterizar semillas y examinar la variabilidad genética de diferentes especies forestales de esta zona de los Estados Unidos. Además es una unidad de conservación y reservorio genético donde se almacenan en frío innumerables colecciones de semillas. Para estos fines, el centro cuenta con equipamiento para el procesamiento de conos, limpieza y calibración de semillas, análisis de viabilidad de semillas (mediante gravedad y rayos x), cámaras germinadoras y de refrigeración (Figura 17).



Figura 17: Equipo de rayos equis para chequear viabilidad de semillas.

COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

Giras tecnológicas de este tipo resultan muy beneficiosa para Chile, pues permiten conocer en terreno las actuales técnicas de producción de semillas y plantas utilizadas tanto operacionalmente como en investigación en pino oregón, posibilitando desarrollar nuevas líneas de investigación nacional que contribuyan a consolidar al pino oregón como una especie de importancia forestal a nivel nacional.

Particularmente se debe mencionar las coincidencias observadas en cuanto a integrar huertos semilleros con viveros de producción, aspecto que pudo ser constatado tanto en Weyerhaeuser como en la compañía Plum Creek Timber Inc.

Se confirma la plasticidad del proceso de producción de plantas el cual puede industrializarse tanto en sistemas de raíz desnuda como en contenedores. Al respecto existen grandes viveros especializados en cada tema e incluso dentro de una misma empresa se dispone de distintos viveros orientados a los diferentes esquemas productivos.

Se percibe una tendencia al uso de huertos semilleros miniaturizados, los cuales parecen ofrecen importantes ventajas sobre los huertos tradicionales, particularmente para la aplicación de procedimientos de polinización controlada, pero detectándose también que este nuevo tipo de huerto aún está en etapa de investigación y depuración tecnológica.

Debe destacarse también la gran cantidad de instituciones, de la más distinta naturaleza, involucradas en la producción comercial de pino oregón (empresas privadas, universidades, organizaciones cooperativas, instituciones estatales).

III

PROPAGACIÓN VEGETATIVA MEDIANTE ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS DE PINO OREGÓN

Patricio Alzugaray O.
Braulio Gutiérrez C.

INTRODUCCIÓN

La propagación vegetativa, también denominada propagación asexual, agámica o clonal, se ha utilizado desde la antigüedad como una forma de producción de plantas, constituyendo en algunos casos la forma tradicional de multiplicar a algunas especies arbóreas. Esta forma de propagación corresponde a la generación de nuevos individuos a partir de células, tejidos u órganos, sin que se manifieste el proceso fecundación que implica la fusión de los gametos o células sexuales. Biológicamente se basa en el concepto de totipotencialidad de las células, que es la propiedad de cada célula vegetativa viviente de contener toda la información genética necesaria para regenerar al organismo completo del cual forma parte.

Independiente de su valor como herramienta de multiplicación, y de su uso como fuente de material homogéneo para investigación, las verdaderas ventajas de la propagación vegetativa se relacionan estrechamente con la calidad de los individuos que se están multiplicando. Por lo mismo, la ventaja característica de esta forma de propagación la constituye su capacidad para capturar y transferir a los nuevos individuos todo el potencial genético de la planta madre (ortet), permitiendo obtener copias genéticamente idénticas al individuo original. De esta forma, se constituye en una poderosa herramienta al servicio de los programas de mejoramiento genético, debido a que posibilita transferir aquellas características que por su baja heredabilidad no se traspasan eficientemente a la descendencia por vía sexual, permitiendo amplificar las ganancias genéticas al propagar masivamente el mejor material generado por un programa de selección o mejoramiento genético (Gutiérrez, 2005).

Todos los métodos de propagación vegetativa han sido probados en árboles forestales, aún cuando el más difundido lo constituye el enraizamiento de estacas. La amplia preferencia manifestada a nivel mundial por este procedimiento obedece a varias razones, entre las que se cuenta la gran



cantidad de descendientes que se puede obtener de un árbol individual, evitando los problemas de incompatibilidad de los injertos y costos generalmente más bajos que el de los sistemas de micropropagación (Gutiérrez et al., 1994; Gutiérrez, 1998).

Respecto a pino oregón se afirma que es una especie difícil de regenerar vegetativamente y que presenta problemas de plagiotropismo en sus estacas enraizadas (Gupta y Durzan, 1989; cit. por Quiroz y Rojas, 2003). En cuanto a los individuos propagados mediante injertos, es reconocido que estos suelen presentar incompatibilidad púa patrón en su desarrollo inicial e incluso en estados de desarrollo bastante más avanzados (Copes, 1970; Giannini *et al.*, 1988). Aún así, se han desarrollado importantes programas comerciales de propagación asexual de pino oregón, situación que motivó a abordar este tema para evaluar la factibilidad de aplicar esta técnica en la multiplicación de individuos selectos de alto valor comercial de pino oregón.

En consecuencia, en este capítulo se resumen los antecedentes derivados de las actividades de investigación efectuadas en el marco del proyecto “Propagación de genotipos de interés comercial de pino oregón” respecto al tema de la propagación vegetativa de esta especie.

ANTECEDENTES GENERALES

En términos generales, el proceso de propagación vegetativa de árboles forestales se puede dividir en tres etapas, que abarcan desde la selección del material genético a considerar, hasta la multiplicación masiva del mismo (Gutiérrez, 1998).

Una vez adoptada la propagación clonal como alternativa de multiplicación se deberá enfrentar como primera etapa la evaluación y selección de los árboles a propagar. Esta selección tendrá diferentes características en función del estado de avance del programa de mejoramiento. Inicialmente podrá tratarse de una selección fenotípica o masal, mientras que en estados más avanzados la selección podrá basarse en evaluaciones genéticas de ensayos establecidos en terreno desde los cuales identificar el material de mejor desempeño.

En el caso particular del proyecto “Propagación de genotipos de interés comercial de pino oregón” se efectuó una selección masal en plantaciones nacionales, identificando en ellas a individuos de características sobresalientes clasificados como árboles plus

La segunda etapa, denominada pre-propagación, corresponde a la primera propagación del individuo seleccionado en la fase anterior y tiene por objeto obtener material rejuvenecido del individuo selecto, que sea capaz de responder adecuadamente a la técnica de enraizamiento de estacas. En este sentido, considerando que los árboles plus de pino oregón fueron seleccionados en un avanzado estado de desarrollo (árboles adultos), ellos, al igual que la mayoría de las especies forestales, manifiestan dificultades para enraizar. Tal situación motiva que se deban implementar mecanismo de rejuvenecimiento o revigorización del material vegetal antes de multiplicarlo.

Para efectuar este rejuvenecimiento existen diversas opciones, entre ellas: el volteo del árbol para posteriormente utilizar su rebrote como fuente de estacas; la realización de injertos para usar los brotes desarrollados en la púa como material enraizable; utilizar técnicas de micropropagación para generar copias vegetativas rejuvenecidas; usar semillas del individuo selecto para producir plantas juveniles desde las cuales obtener estacas para enraizamiento. Esta última opción fue la implementada en el proyecto que se discute para propagar material genético selecto de pino oregón, por cuanto no resultaba recomendable voltear los árboles plus y los brotes de sus injertos experimentaban sólo un fugaz y escaso rejuvenecimiento por lo que no constituyen buen material para confeccionar estacas enraizables.

Durante la fase de pre-propagación se producen las plantas madres que se utilizarán en la propagación a gran escala del árbol seleccionado. Estas plantas madres representan el material genético del árbol seleccionado en una versión de mayor juvenilidad, más reactivas y preparadas para la tercera etapa y final correspondiente a la propagación masiva.

Por último en la tercera etapa, o fase de propagación masiva, ya se puede proceder a reproducir a gran escala al material genético seleccionado, de modo de disponer de las copias suficientes para evaluar otros efectos de interés, como por ejemplo la incidencia de plagiotropismo, o para establecer ensayos, plantaciones experimentales u operacionales en terreno.

Durante el proceso de producción de plantas mediante enraizamiento de estacas es posible que se manifiesten algunos inconvenientes relacionados con su hábito o patrón de crecimiento, fenómeno denominado plagiotropismo. Se trata de un fenómeno complejo, que limita el uso de la propagación vegetativa, pero que es reversible. En consecuencia, las plantas afectadas por este defecto pueden posteriormente reasumir el crecimiento normal,



para lo cual requerirán de un periodo de tiempo cuya extensión dependerá de las condiciones de cultivo y crecimiento.

En los apartados siguientes de este capítulo se presentan los antecedentes derivados de la investigación en propagación vegetativa de pino oregón, particularmente los aspectos relacionados con la formación de plantas madres, el enraizamiento de estacas y las evaluaciones del efecto de plagiotropismo o anomalías de crecimiento exhibidas por ellas.

PRODUCCIÓN DE PLANTAS MADRES DE PINO OREGÓN

Uno de los aspectos más importantes dentro de los programas de mejoramiento genético forestal es la multiplicación del material selecto. Una alternativa técnica de multiplicación de plantas de bajo costo y que no requiere gran desarrollo tecnológico, es el estaquillado a partir de plantas madres (setos). En este caso, la ganancia genética se concentra en la planta madre y es masificada a través de la clonación. Tal como la embriogénesis somática y organogénesis, el empleo de esta técnica se justifica en la medida que se quieren multiplicar las ganancias genéticas asociadas a materiales valiosos.

Aún cuando se afirma que pino oregón es difícil de propagar por enraizamiento de estacas, empresas como Weyerhaeuser desarrollaron en Estados Unidos exitosos programas de propagación mediante esta técnica, los cuales les permitían obtener millones de plantas de pino oregón al año (Ritchie, 1996; Wigmore y Woods, 2000), siendo la principal característica del proceso el hecho de que las plantas madres pierdan prontamente su juvenilidad y productividad, situación que obliga a usar plantas muy juveniles y reemplazarlas tempranamente.

En el proyecto "Propagación de genotipos de interés comercial de pino oregón" se produjeron plantas madres a partir de semillas de polinización abierta, obtenida desde árboles plus previamente seleccionados en plantaciones de pino oregón existentes en el país. A partir de estas plantas madres se colectaron estacas para desarrollar un protocolo de enraizamiento y se instaló un banco de setos en vivero para conservar el material y disponer de él para continuar propagándolo.

El proceso de producción de las plantas madres se inició con la siembra de las semillas y su detalle se describe en los apartados siguientes.

Siembra

Una vez recepcionada la semilla de los árboles plus de pino oregón, esta se debe limpiar y tratar con fungicida en polvo para prevenir la aparición de hongos. Para estos efectos resulta adecuada la utilización de Pomarsol® en una proporción de 5g por cada 100g de semillas. Una vez desinfectada, y antes de la siembra en primavera, la semilla debe someterse a un tratamiento pregerminativo de estratificación fría por 30 a 45 días, para lo cual debe mezclarse con arena húmeda y disponerse dentro de bolsas de polietileno o género, a una temperatura de entre 3 y 4°C. Mediante este proceso se simulan las condiciones naturales a las cuales se ven expuestas las semillas una vez que maduran y caen a principios de otoño de árboles que crecen en climas con inviernos fríos. La exposición a la humedad y al frío activa los procesos metabólicos al interior de la semilla que facilitarán su germinación durante la primavera.

Posteriormente, a inicios de primavera, las semillas se siembran en invernadero, usando almacigueras de poliestireno expandido de 84 cavidades y 100cc de capacidad volumétrica por cavidad. Como sustrato se puede usar corteza de pino compostada, enriquecida con fertilizantes de liberación controlada, como el Basacote® Plus 9M en una dosis de 10Kg por cada metro cúbico de corteza. La composición nutricional de este fertilizante se detalla en el cuadro 1.

CUADRO 1

COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DEL FERTILIZANTE BASACOTE® PLUS 9M

ELEMENTO	COMPOSICIÓN
Macroelementos	
Nitrógeno total (N)	15%
Nítrico	7%
Amoniacal	8%
Anhidrido fosfórico (P ₂ O ₅)	8%
Óxido de potasio (K ₂ O)	5,6%
Óxido de Magnesio (MgO)	2%
Anhidrido sulfúrico (SO ₃)	5%
Microelementos	
Hierro (Fe)	0,4%
Cobre (Cu)	0,05%
Manganeso (Mn)	0,06%
Zinc (Zn)	0,02%
Boro (B)	0,02%
Molibdeno (Mo)	0,015%

Adaptado de: Basacote®Plus Nueva generación de abonos recubiertos para sustratos.

Cultivo y manejo

Concluida la siembra, es fundamental regar el sustrato frecuentemente con bajos volúmenes de agua, con el objetivo de mantenerlo húmedo y sin saturación. La desecación de las semillas durante esta primera fase de la postsiembra puede inducir nuevamente la latencia de las mismas, con el consecuente retraso en su germinación y emergencia. En condiciones normales y siguiendo estas simple instrucciones, la emergencia de las plantas debe producirse transcurrida dos a tres semanas desde su siembra.

Con el objeto de promover el desarrollo y mejorar los atributos morfológicos de las plantas madres, una vez que estas alcanzan una altura aproximada de 5cm, se transplantan a contenedores de mayor volumen. Para estos fines resultan apropiadas las almacigueras de poliestireno expandido de 60 cavidades y una capacidad volumétrica individual de 280cc (**figura 1**). Alternativamente, se pueden utilizar bolsas de polietileno negro de 20x20cm, que permiten contener un volumen de sustrato de aproximadamente 1.500cc (**figura 2**). En ambos casos, al disminuir la densidad de cultivo, de 337 plantas por metro cuadrado (situación de almaciguera de 84 cavidades) a 69 plantas por metro cuadrado (situación con bolsas), aumenta el espacio disponible para cada planta, lo que les permite desarrollar en mejor forma su parte aérea y subterránea, generando por ende mayor número de estaquillas. Otra razón para cultivarlas en contenedores de mayor volumen, es que esto permite prolongar la vida útil de las plantas madres.



Figura 1: Producción de plantas madres de pino oregón en bandejas de poliestireno expandido de 60 cavidades individuales de 280 cc de capacidad



Figura 2: Producción de plantas madres de pino oregón en macetas de polietileno de 20x20 cm

Una vez que las plantas son transplantadas a los contenedores de mayor volumen, es necesario regarlas abundantemente durante el periodo de actividad vegetativa (sin yemas terminales visibles), de modo de maximizar sus tasas de crecimiento y promover la formación de follaje y ramas laterales.

Por otra parte, considerando que el efecto residual del fertilizante aplicado al sustrato tiene una duración aproximada de 9 meses, cumplido este lapso de tiempo será necesario realizar nuevas aplicaciones de nutrientes.

En la medida que las plantas se desarrollan, aumentan sus requerimientos nutricionales por lo que es fundamental monitorearlas periódicamente con el fin de detectar síntomas de deficiencias nutricionales o daños de otra naturaleza.

El método descrito permite que durante el primer año de vida de las plantas madres se obtenga un crecimiento y estado fisiológico que posibilitan producir un promedio de 5 estaquillas juveniles, adecuadas para enraizamiento, a partir de cada planta (**figura 3**).



Figura 3: Planta madre de pino oregón durante su primera temporada de crecimiento.

Después de la colecta de las estacas, las plantas madres generan nuevos rebrotes juveniles durante el segundo año, multiplicando así su capacidad productiva. Sin embargo, es importante señalar que tanto el enraizamiento como la velocidad de crecimiento de las estacas enraizadas disminuyen con la edad del material parental. Razón por la cual se recomienda utilizar plantas madres juveniles, obteniéndose los mejores resultados con aquellas de una temporada de crecimiento.

Esta estrategia ha sido utilizada en el Noroeste de Estados Unidos por la Compañía Weyerhaeuser en la que ellos cultivan plantas madres durante una temporada, cosechan las estaquillas y a continuación desechan las plantas madres debido a la pérdida de juvenilidad de las estaquillas, lo que aumenta las posibilidades de plagiotropismo en las estaquillas una vez enraizadas.

ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS

El uso de técnicas de propagación vegetativa ha aumentado rápidamente en el sector forestal. Hasta mediados de la década del noventa, en el país, la mayor cantidad de plantas de pino radiata eran producidas a partir de semillas. Sin embargo, la situación se empieza a revertir hacia la producción de plantas a partir de estacas desde el año 1996. Los programas de mejoramiento genético forestal se apoyan en técnicas de propagación vegetativa, ya que a partir

de este método es posible obtener mayores ganancias genéticas, existen mejores posibilidades de obtener plantas más uniformes comparados con las producciones de plantas a partir de semillas y bajo ciertas condiciones permiten acelerar los resultados de las actividades del mejoramiento genético forestal.

Con el objetivo de minimizar el plagiotropismo y maximizar la capacidad de enraizamiento de las estacas, en el caso de pino oregón se recomienda que estas se obtengan desde plantas madres de un año de edad. Además, para facilitar el proceso de enraizamiento se recomienda la aplicación exógena de reguladores de crecimiento, particularmente auxinas, como el ácido indolbutírico, en una concentración que varía entre 5.000 a 10.000ppm dependiendo del estado de lignificación de la estaca.

Las estacas se mantienen en invernadero y se enraízan usando un adecuado sustrato, temperatura y humedad. Transcurrido un año son llevadas a vivero para que crezcan durante una temporada adicional. Después de esta temporada en vivero, las plantas obtenidas por enraizamiento de estacas presentan una apariencia y desempeño similar al de plantas del mismo tamaño y calidad genética obtenidas desde semillas. Después de cinco años, el comportamiento en terreno de ambos grupos de plantas no presenta diferencias de crecimiento en altura, aún cuando Ritchie *et al.* (1992) señala que las estacas tienden a presentar un diámetro ligeramente inferior y menor cantidad de ramas.

Para una propagación efectiva de pino oregón mediante enraizamiento de estacas es fundamental utilizar propágulos adecuados en cuanto a estado de desarrollo y condición fisiológica; un sustrato apropiado; y un eficaz sistema de control de las variables ambientales durante el proceso, fundamentalmente temperatura y humedad.

Una fuente apropiada de estacas la constituyen las plantas madres producidas según las pautas indicadas en el acápite anterior.

Respecto al sustrato, este debe proporcionar soporte mecánico a las estacas, mantener un alto contenido de humedad, presentando a la vez un buen drenaje, permitir un adecuado intercambio gaseoso y estar libre de insectos y enfermedades. Mezclas en distintas composiciones y proporciones de arena, turba, humus, vermiculita, perlita y corteza compostada, entre otros, resultan apropiadas para enraizar pino oregón, en la medida que cumplan con los requisitos enunciados previamente.

Respecto a las condiciones ambientales de enraizamiento, existe consenso en que se requiere una alta humedad relativa del aire (superior al 75%), una temperatura ambiental del orden de los 22 a 24°C e idealmente una calefacción adicional del sustrato, que brinde una temperatura en la zona basal de las estacas, de un par de grados superior a la temperatura del aire.

Si bien las condiciones generales para el enraizamiento de estacas de pino oregón son relativamente conocidas y no se diferencian significativamente de las usadas para otras especies forestales, existen aspectos que deben depurarse y adecuarse a las condiciones locales de trabajo. Al respecto, en los apartados siguientes se presentan los resultados de ensayos experimentales destinados a identificar el efecto de diferentes factores sobre el enraizamiento de estacas de pino oregón, particularmente la influencia de la concentración de hormonas, el origen de la estaca dentro de la planta madre y el origen genético de la planta madre.

Efecto de la concentración hormonal sobre el enraizamiento de estacas juveniles de pino oregón.

- **Método**

Utilizando un diseño de bloques completamente aleatorizados, se evaluó el efecto de cuatro concentraciones de ácido indolbutírico sobre la capacidad de enraizamiento de estacas de pino oregón de un año de edad fisiológica.

Las estacas fueron cosechadas desde los ápices principales de plantas madres generadas a partir del protocolo descrito en este capítulo. Se usaron propágulos de aproximadamente 6cm de longitud, los cuales fueron impregnados con una mezcla de ácido indolbutírico en polvo (**figura 4**), en cuatro concentraciones que constituyeron los tratamientos a evaluar: 0, 2000, 4.000 y 8.000 ppm.

Posteriormente, las estacas fueron puestas a enraizar en invernadero, usando como contenedores a almacigueras de 104 cavidades y 70 cm³ por cavidad. Como sustrato se utilizó la mezcla comercial Sunshine® N° 3, la cual se compone entre un 70 y 80% de turba canadiense, combinada con vermiculita, piedra caliza, yeso agrícola y agente humectante. Los cuatro tratamientos fueron asignados al azar dentro de una almaciguera. Cada tratamiento fue representado en 24 estaquillas (8 columnas y tres filas dentro de la almaciguera) replicada en cuatro almacigueras diferentes.



Figura 4: A la izquierda, estaca de pino oregón obtenida desde ápice de planta madre de una temporada de crecimiento. A la derecha, aplicación de ácido indolbutírico en la base de la estaca antes de ser puesta a enraizar.

Una vez puestas a enraizar, se mantuvo a las estacas en cama caliente a 25°C, dentro de un invernadero con control automático de temperatura y humedad. Cinco meses después de iniciar este ensayo se realizó un premuestreo para evaluar el porcentaje de enraizamiento y la calidad del mismo. La evaluación final se efectuó a los 9 meses, ocasión en que se registró el porcentaje de enraizamiento, número de raíces principales, peso fresco de las raíces, N° de cuadrantes del tallo colonizados por las raíces, diámetro de tallo (mm), biomasa fresca radicular (g) y biomasa seca radicular(g).

Los datos anteriores fueron analizados utilizando análisis de varianza de una vía usando el software estadístico SAS versión 7.1 (SAS Institute 1999). Las diferencias entre promedios de tratamientos fueron identificadas a través del test de Tuckey con un alfa $\leq 0,05$.

• Resultados

De acuerdo con el premuestreo efectuado a los cinco meses de establecido el ensayo, se observa que la proporción de estacas enraizadas, y la proporción de estacas de buena calidad, aumenta en la medida que se usan mayores concentraciones de ácido indolbutírico (**figuras 4 y 5**).

Alrededor del 90% de las estacas tratadas con ácido indolbutírico logró enraizar transcurridos cinco meses desde instaladas, mientras que en el testigo sin auxina sólo un 79% de las estacas formó raíces adventicias.



En relación a la calidad de los sistemas radiculares, la mayor proporción de estacas con raíces de buena calidad se logra al aplicar 8.000ppm del ácido. Sólo un 54% de las estacas no impregnadas generó raíces de buena calidad.

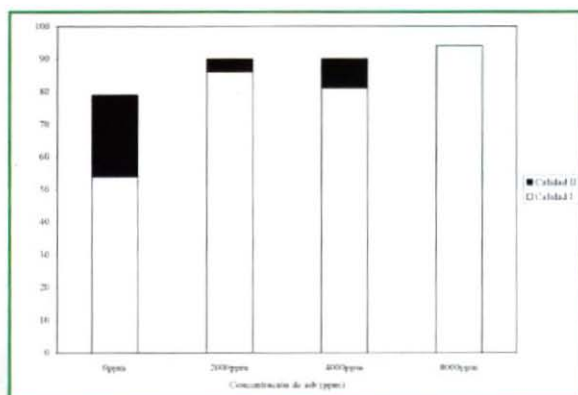


Figura 4: Porcentaje de enraizamiento y calidad de las raíces en estacas de pino oregón tratadas con distintas concentraciones de ácido indolbutírico (AIB).



Figura 5: Diferentes categorías de calidad de raíces formadas en estacas de pino oregón. A la izquierda, calidad I con abundantes raíces principales. A la derecha, calidad II con raíces principales incipientes.

La evaluación final de este ensayo, a los 9 meses de su establecimiento, permite concluir que el aumento de la concentración de ácido indolbutírico aplicado para promover el enraizamiento de estacas juveniles de pino oregón, no afecta el porcentaje de enraizamiento ($p=0,8730$), el diámetro de tallo ($p=0,2141$), el número de raíces principales ($p=0,9276$), el número de cuadrantes del tallo colonizados por las raíces ($p=0,1201$), el peso fresco de raíces ($p=0,2320$) y tampoco el peso seco de raíces ($p=0,2668$). Los promedios de cada una de las variables analizadas al final del estudio se muestran en el cuadro 2.

CUADRO 2
CARACTERÍSTICAS DE ESTACAS ENRAIZADAS DE PINO OREGÓN
TRATADAS CON DISTINTAS CONCENTRACIONES DE ÁCIDO
INDOLBUTÍRICO

Dosis de AIB (ppm)	Enraizamiento (%)	Diámetro de tallo (mm)	Nº de raíces principales	Nº de cuadrantes colonizados	Peso fresco (g)	Peso seco (g)
0	95,83	3,22	8,90	2,83	1,30	0,27
2000	93,75	3,27	9,33	2,97	1,33	0,28
4000	95,84	3,20	9,24	2,69	1,08	0,23
8000	93,75	3,47	9,96	3,31	1,11	0,26

Las altas tasas de enraizamiento logradas por los diferentes tratamientos, especialmente el testigo (Dosis 0), así como la ausencia de efectos significativos de la concentración de hormona sobre las demás variables evaluadas, pueden atribuirse a la gran reactividad del material juvenil utilizado. Esta observación permite concluir que no existe necesidad de aplicar tratamientos hormonales para inducir el enraizamiento adventicio en estacas obtenidas de plantas madres juveniles.

Los resultados obtenidos en este ensayo superan ampliamente a los reportados por la bibliografía, donde en general se indican porcentajes de enraizamiento para pino oregón que fluctúan entre el 39 y 73%. Otro antecedente importante respecto de esta experiencia, es que como consecuencia de enraizar estacas cosechadas desde el brote principal de la plantas madres, no se detectaron indicios de plagiotropismo ni anomalías de crecimiento.



Efecto de la posición de la estaca y de la dosis hormonal sobre el enraizamiento de pino oregón.

- Método

Con el objetivo de evaluar el efecto de la concentración de ácido indolbutírico y de la posición de la estaca en la planta madre, sobre la respuesta rizogénica de estacas de pino oregón, se estableció un ensayo de enraizamiento con estacas obtenidas desde plantas madres de dos años de edad.

El diseño utilizado fue el de bloques completamente aleatorizados, con tratamientos de estructura factorial 2X5, donde el factor posición de la estaca se presenta en dos niveles (ápices principales y ápices laterales) y el factor concentración de AIB en cinco niveles (0, 500, 2.000, 5.000 y 10.000ppm). Cada tratamiento fue aplicado aleatoriamente sobre estacas de pino oregón de aproximadamente 10cm de largo.

El ensayo fue instalado a comienzos de primavera en almacigueras de poliestireno expandido de 60 cavidades con 280cc de capacidad volumétrica por cavidad. Como sustrato se utilizó un 70% de mezcla comercial Sunshine® N° 3 y un 30% de perlita. Las estacas se dispusieron en invernadero, sobre un sistema de cama caliente bajo condiciones ambientales controladas mediante un sistema de nebulización y riego automáticos para mantener las estacas hidratadas, reducir la temperatura ambiental y mantener una alta humedad relativa durante el periodo estival.

A comienzos de otoño las almacigueras fueron removidas desde el interior del invernadero a la intemperie para adaptarse a las condiciones exteriores. En esta ocasión se procedió a evaluar el enraizamiento, en términos de porcentaje, para cada tratamiento evaluado.

Los datos fueron analizados a través de análisis de varianza de dos vías para los efectos principales y las interacciones utilizando el software estadístico SAS versión 7.1 (SAS Institute 1999). La agrupación de tratamiento estadísticamente similares se efectuó a través del test de Tuckey con un alfa $\leq 0,05$.

- Resultados

Los resultados obtenidos señalan que para el enraizamiento de pino oregón no existe interacción entre la posición de cosecha de la estaca y la concentración

de ácido indolbutírico utilizado ($p=0,4324$). De igual manera, no existe efecto del aumento de concentración de ácido indolbutírico ($p=0,1906$), pero sí es significativo el efecto de la posición de cosecha de la estaca ($p<0,0001$) sobre el enraizamiento de las mismas.

Las estacas colectadas desde las ramas laterales enraízan en promedio un 40%, mientras que aquellas que provienen del ápice principal (líder) sólo lo hacen en un 6% (**figura 6**).

Por otra parte, a pesar de no tener un efecto estadísticamente significativo, la aplicación de 5.000 ppm de AIB provoca los mayores porcentajes de enraizamiento (**figura 7**). Esta dosis permite alcanzar un promedio general de

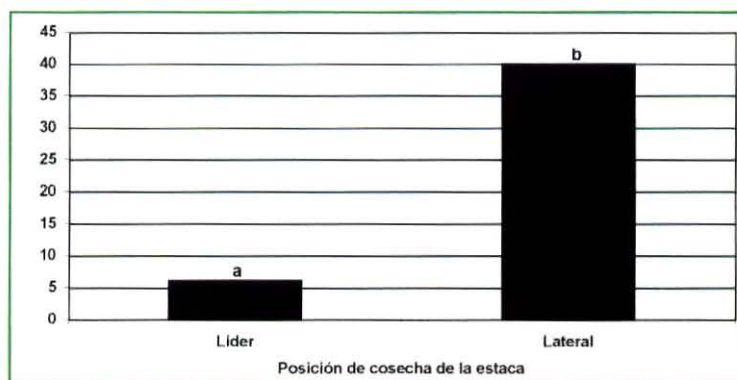


Figura 6: Efecto de la posición de cosecha de la estaca sobre el enraizamiento de pino oregón

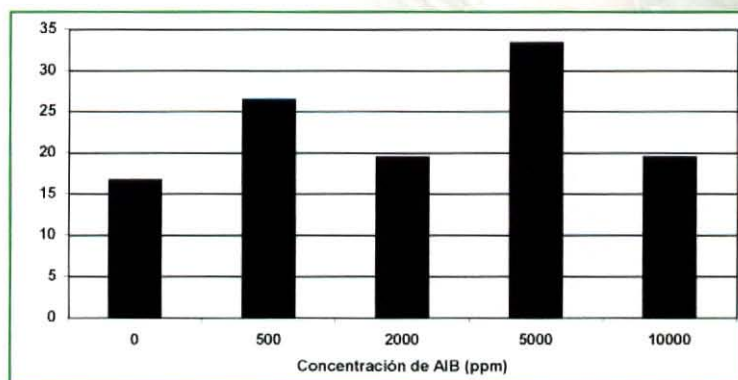


Figura 7: Efecto de la concentración de AIB sobre el enraizamiento de estacas de pino oregón.



33% de estacas enraizadas, valor que asciende a 55,6% cuando se consideran sólo las estacas provenientes de brotes laterales (**cuadro 3**).

Los valores obtenidos en este estudio se enmarcan dentro del rango de los reportados por la bibliografía para la especie. Si bien son menores a los obtenidos en el experimento descrito en el punto anterior, la diferencia parece ser atribuible directamente a la edad de las plantas madres consideradas en cada caso, confirmandose así la conveniencia de utilizar plantas madres tan juveniles como sea posible.

CUADRO 3

ENRAIZAMIENTO PROMEDIO DE ESTACAS DE PINO OREGÓN SEGÚN POSICIÓN DE COSECHA DE LA ESTACA Y CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO INDOLBUTÍRICO.

Concentración AIB (ppm) (ppm)	Posición de cosecha	
	Líder	Lateral
0	0	33,33
500	8,33	44,45
2000	11,11	27,78
5000	11,11	55,56
10000	0	38,89

Efecto de la dosis hormonal y el origen genético de la estaca sobre el enraizamiento de pino oregón.

- Metodología

Con el objetivo de evaluar el efecto de la concentración de ácido indolbutírico y del origen genético del material ensayado, sobre la capacidad rizogénica de estacas de pino oregón, se estableció una prueba de enraizamiento que consideró estacas procedentes de ápices laterales de tres clones individualizados, correspondientes a réplicas injertadas de árboles plus de pino oregón. Las estacas obtenidas recibieron un tratamiento hormonal consistente en la aplicación de ácido indolbutírico en tres concentraciones (0; 5.000 y 10.000 ppm).

El diseño utilizado fue el de bloques completamente aleatorizados, con tratamientos de estructura factorial 3X3 (factor clon y factor dosis de AIB,

ambos en tres niveles). Cada tratamiento fue aplicado aleatoriamente sobre estacas de aproximadamente 10 cm de largo.

El ensayo se estableció a mediados de primavera (octubre), en invernadero, bajo condiciones ambientales controladas de humedad y temperatura, usando como contenedores a almacigueras de poliestireno expandido de 60 cavidades y 280cc de volumen por cavidad. Como sustrato se utilizó un 70% de mezcla comercial Sunshine[®] N° 3 y un 30% de perlita. Una vez instaladas las estacas, éstas fueron mantenidas sobre un sistema de cama caliente dentro de invernadero, bajo un sistema de nebulización y riego para mantener las estacas hidratadas, reducir la temperatura ambiental y mantener una alta humedad relativa durante el verano.

Los datos fueron analizados a través de análisis de varianza de dos vías utilizando el software estadístico SAS versión 7.1 (SAS Institute 1999). En caso de ser significativo el efecto de alguno de los factores o de la interacción las diferencias entre promedio de tratamientos fueron identificadas a través del test de Tuckey con un $\alpha \leq 0,05$.

• Resultados

Los resultados de este ensayo indican que no existe interacción entre el origen genético de la estaca y la concentración de ácido indolbutírico utilizado ($p=0,6539$). De igual manera, no existe efecto del aumento de la concentración de ácido indolbutírico ($p=0,2996$) sobre el enraizamiento. Por el contrario, sí se observa un marcado y significativo efecto del origen genético de la estaca ($p<0,0001$) sobre el enraizamiento de las mismas.

Las estacas colectadas desde el clon IN-07 enraízan en promedio un 34,7% en comparación con un 6,0% y 8,8% para aquellas que vienen de los clones IN-08 e IN-38, respectivamente (**figura 8**). A pesar de no ser estadísticamente significativo, las estacas que recibieron 10.000 ppm de Ácido indolbutírico presentaron los mayores porcentajes de enraizamiento (**figura 9**) que aquellas tratadas con dosis menores.

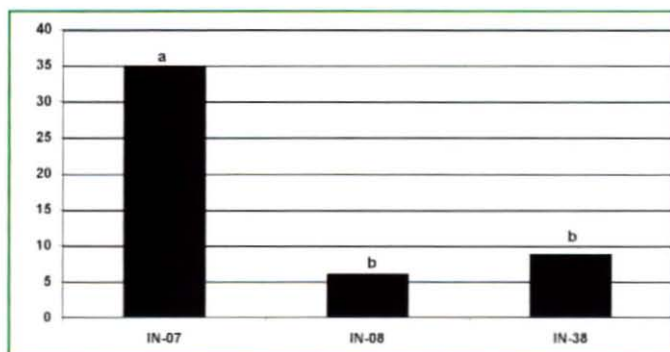


Figura 8: Respuesta rizogénica de tres clones de pino oregón que demuestra el marcado efecto del origen genético de la estaca sobre la capacidad de enraizamiento de las mismas.

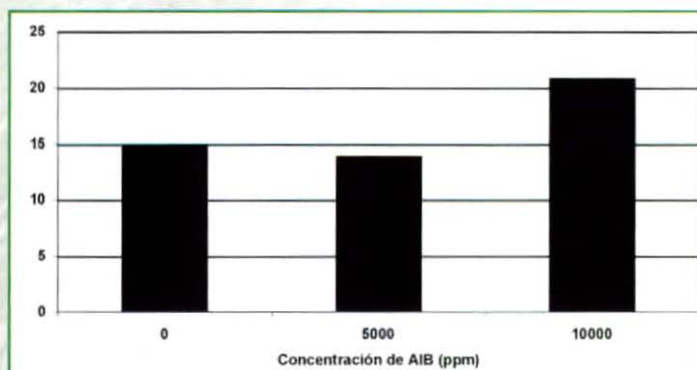


Figura 9: Efecto de la concentración de AIB sobre el enraizamiento de estacas de tres clones de pino oregón.

EVALUACIÓN DE PLAGIOTROPISMO EN ESTACAS ENRAIZADAS DE PINO OREGÓN

El hábito de crecimiento plagiotrópico es un defecto que comúnmente se presenta en estacas enraizadas de pino oregón.

El plagiotropismo es una anomalía de crecimiento experimentado por algunas plantas, especialmente aquellas obtenidas por enraizamiento de estacas, las cuales no crecen en forma vertical (ortotrópica) sino que con distintos grados de inclinación. En su forma más intensa el crecimiento se manifiesta en forma lateral, siguiendo un patrón similar al de una rama.

Este defecto se presenta, en algún grado, en varias especies forestales, pero en estacas de pino oregón suele ser más frecuente y acentuado. En esta especie, aunque las plantas pueden corregir este inconveniente y recuperar el crecimiento ortotrópico, el tiempo involucrado en tal recuperación dependerá de las condiciones de cultivo y crecimiento, de modo que bajo condiciones muy inferiores a las ideales, las estacas tardarán varios años en asumir el crecimiento vertical. En tal condición, mientras mayor es el tiempo en que persiste el crecimiento plagiotrópico en terreno, menor es la captura de las ganancias genéticas que se asociaban a la multiplicación clonal de un determinado individuo superior. Por otra parte, aun cuando las plantas recuperen el crecimiento vertical, un largo período de crecimiento plagiotrópico dejará defectos permanentes en la base del fuste.

Efectivamente, existe evidencia de la recuperación del crecimiento ortotrópico en estacas de pino oregón. Al respecto, Myers y Howe (1990) tomaron dos grupos de estacas plagiotrópicas de esta especie, uno de ellos fue establecido como una plantación en terreno, mientras que el otro se manejó en una platabanda de vivero, donde fueron fertilizadas, regadas y manejadas intensamente bajo condiciones óptimas de cultivo. Después de un año, las plantas de terreno continuaban exhibiendo un crecimiento anormal, mientras que la totalidad de las plantas de vivero habían recuperado el hábito ortotrópico.

Causas del plagiotropismo

A pesar de que las estacas cosechadas desde una planta madre son genéticamente idénticas, no siempre crecen de la misma manera. Los rametos de un determinado clon son idénticos entre sí, en el sentido de que están



constituidas por el mismo genotipo. Sin embargo, algunos genes son más eficaces que otros, o bien pueden ser activados o desactivados por factores ambientales, la edad, la posición en la ramilla o por algún tratamiento externo. En consecuencia, aún cuando son genéticamente idénticos, no todos los rametos crecen siguiendo un mismo patrón, ni exhiben la misma forma del árbol progenitor.

Las causas del plagiotropismo aún no están bien determinadas, sin embargo se reconoce que parecen involucrar a una interacción compleja entre factores fisiológicos, ambientales y genéticos. Entre ellos, (Wigmore y Woods, 2000) reconocen a los siguientes:

El estado de madurez del tejido propagado explica en gran medida el hábito de crecimiento. Así, plantas obtenidas a partir de material juvenil son más ortotrópicas que otras obtenidas de material más adulto, las cuales tienden a presentar mayor plagiotropismo. No obstante, existe aún cierta controversia al respecto, pues experiencias en cultivo *in vitro* señalan que plantas obtenidas desde tejidos evidentemente juveniles (cotiledones), de igual forma han exhibido crecimiento plagiotrópico.

La existencia de madera de compresión también se ha sugerido como una causa para la manifestación del plagiotropismo. Esta madera, cuya producción está regulada por la síntesis de auxinas del meristemo apical, es la responsable de mantener el ángulo normal de las ramas en las plantas y árboles. Al respecto, existe evidencia experimental que señala una distribución asimétrica de la concentración de auxinas en el tallo de algunas estacas de pino oregón, situación que estimularía la formación de madera de compresión y explicaría de esta forma la manifestación del plagiotropismo (Starbuck y Phelps, 1986 cit por Wigmore y Woods, 2000).

Además de las auxinas, otras hormonas vegetales, como las citoquininas sintetizadas en las raíces, estarían relacionadas con la manifestación del plagiotropismo. Efectivamente, explantes de pino oregón cultivados *in vitro* muestran características adultas, incluida la manifestación de plagiotropismo, cuando el medio se suplementa con citoquininas (Matschke y Weiser, 1988). Por el contrario, la adición de etileno fue el único factor que logró revertir la curvatura de estacas suculentas de pino oregón en experimentos de laboratorio (Starbuck *et al.*, 1983), aunque los autores señalaron que el efecto no fue estadísticamente significativo.

El confinamiento radicular en las estacas de pino oregón cultivadas en contenedores dentro de un invernadero conserva el crecimiento plagiotrópico en forma indefinida, sin embargo, cuando las plantas se transplantan a una platabanda de vivero recuperan el ortotropismo. Este efecto se ha observado también en plantas que se establecen en platabandas sin quitarles el contenedor. En este caso las raíces se expanden hacia el suelo a través del agujero de drenaje del contenedor y también recuperan el crecimiento ortotrópico. Aún así, no está claramente establecido si es el confinamiento radicular el que induce el plagiotropismo, o si en general es la pérdida de vigor de las plantas la responsable de ambos efectos, del menor crecimiento radicular y del crecimiento plagiotrópico.

Se ha sugerido también que algunas características ambientales del invernadero, más que el confinamiento radicular, serían las responsables de la persistencia del plagiotropismo (Ritchie *et al.*, 1997). Al respecto, en estacas de *Pinus taeda*, cultivadas experimentalmente bajo diferentes niveles de luminosidad, se ha observado que el efecto del plagiotropismo se acentúa a medida que disminuye la intensidad luminosa (Wise y Caldwell, 1994). Esta observación contribuye a explicar la reversión al ortotropismo que experimentan las estacas plagiotrópicas de pino oregón cuando se cambian de invernadero a condiciones de mayor luminosidad en vivero.

Asociado al tema del confinamiento radicular, se ha asociado la relación raíz:tallo con la manifestación de plagiotropismo. En efecto, según antecedentes publicados por Wigmore y Woods (2000) la menor relación raíz:tallo coincide con los mayores niveles de plagiotropismo en algunos estudios efectuados con estacas de pino oregón.

Respecto a los factores genéticos, numerosas investigaciones señalan la existencia de una significativa variación clonal, o genotípica, en cuanto a la manifestación e incidencia del fenómeno de plagiotropismo, pero normalmente es una conclusión colateral al tópico principal de la investigación. La intensidad en la expresión del crecimiento plagiotrópico es muy variable incluso al interior de familias de hermanos completos, situación que dificulta discriminar entre progenies para efectos de seleccionar las de crecimiento ortotrópico o descartar a las de crecimiento anormal. A nivel de clones esta variación también es relevante.

Experiencia nacional

En este apartado se resumen los resultados de evaluaciones efectuados en el marco del proyecto “Propagación de genotipos de interés comercial de pino oregón” respecto al hábito de crecimiento de estacas enraizadas de pino oregón y se comentan también algunas medidas de manejo para sobrellevar esta anomalía.

Las evaluaciones a que se hace referencia se realizaron sobre plantas obtenidas en ensayos de enraizamiento y en actividades de producción de plantas por esta misma vía para establecer bancos de setos y plantaciones clonales experimentales.

A diferencia de lo señalado por Wigmore y Woods (2000), quienes al trabajar con estacas obtenidas desde el brote principal y laterales de plantas madres de un año de edad, concluyen que todas las estacas presentan plagiotropismo, las experiencias conducidas en el marco de este proyecto, también con estacas procedentes de plantas madres de un año, no evidenciaron este efecto y todas ellas crecieron en forma ortotrópica normal.

Por el contrario, al enraizar estacas procedentes de plantas madres de 2 años de edad, se observa que el 79% de ellas evidencia crecimiento plagiotrópico (**figura 10**). Sin embargo, transcurrida una temporada de crecimiento de las estacas enraizadas, se detecta una reversión de este fenómeno, disminuyendo la incidencia del mismo a sólo un 56%. Vale decir que en una temporada de crecimiento, el 23% de las estacas plagiotrópicas adquieren el hábito normal, sin que hayan sido transplantadas a platabanda ni repicadas a contenedores de mayor capacidad volumétrica. También es destacable el hecho de que la mayor incidencia de este fenómeno se presenta en las plantas ubicadas en los bordes de las bandejas y no en el centro de las mismas, contradiciendo los postulados de Wise y Caldwell (1994) que señalan que el plagiotropismo es mayor a menor intensidad luminosa.

En otra experiencia, donde se evaluó la incidencia del crecimiento plagiotrópico en estacas enraizadas de 8 meses de edad, obtenidas desde plantas madres de dos años, se constató que el 61% de las plantas exhibía inclinación de su eje de crecimiento. El plagiotropismo observado si bien afectaba a una importante proporción de las plantas, era de escasa magnitud y coincidiendo con lo enunciado por (Ritchie *et al.*, 1997) manifestaba claras tendencias a revertirse cuando las estacas fueron extraídas de invernadero a vivero (**figura 11**).



Figura 10: Plagiotropismo en estacas enraizadas de pino oregón obtenidas de plantas madres de dos años de edad.



Figura 11: Estacas procedentes de plantas madres de dos años de edad. Detalle de crecimiento plagiotrópico (izq.) y de crecimiento ortotrópico normal (der.). Fotografías corresponde a los 8 meses de instalado el ensayo

Coincidiendo con los antecedentes aportados por la bibliografía, el plagiotropismo observado en las estacas cultivadas en contenedores dentro de invernadero se reduce al aumentar el desarrollo de las plantas y al exponerlas a condiciones de plena luz en vivero. De igual forma, este fenómeno se revierte en la medida que las plantas crecen en condiciones favorables, sin estrés, y con una adecuada nutrición y riego que promuevan el vigor de su sistema radicular. El transplante a contenedores de mayor tamaño o a platabandas de vivero a raíz desnuda también contribuiría a mitigar la incidencia de esta anomalía de crecimiento.

COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

El protocolo expuesto para producir plantas madres de pino oregón, a partir de semillas de individuos seleccionados, es una metodología que ha probado ser efectiva para abastecer un programa de enraizamiento de estacas. Aún así, atendiendo a la relativamente rápida pérdida de capacidad rizogénica observada al aumentar la edad de los setos, es recomendable privilegiar plantas jóvenes y reemplazarlas en la medida que maduran.

Las estacas de pino oregón son lentas para enraizar, requiriendo de dos a seis meses para que este fenómeno se manifieste. A su vez, las raíces adventicias se desarrollan solamente en la parte basal de la estaca y no existe desarrollo de otras preformadas en la porción intermedia de la misma. Los primordios radiculares aparecen en el callo basal, proliferando desde las células más bajas del cambium vascular, en asociación con el floema en diferenciación y el cambium dañado.

La edad fisiológica de las estacas es el principal factor que determina el éxito de su enraizamiento. Efectivamente al usar estacas provenientes de plantas madres de un año de edad, la respuesta es excelente y no se justifica la aplicación de estímulos hormonales exógenos para inducir la rizogénesis.

A medida que aumenta la edad de las estacas, como ocurre con las que se obtendrían a partir de un jardín de setos que se cosecha anualmente, su capacidad de enraizamiento disminuye. Por lo mismo, se hace necesario aplicar hormonas para obtener una respuesta rizogénica apropiada. Para estos efectos dosis cercanas a las 5.000 ppm de AIB resultan satisfactorias y no se observan diferencias significativas que justifiquen el uso de concentraciones más altas. En este tipo de material también comienza a hacerse relevante la posición de la estaca en la planta madre, resultando mucho más apropiado confeccionar las estacas con material proveniente de ramas laterales antes que del brote principal.

En relación a este último comentario, debe reconocerse que desde el punto de vista de la producción masiva de estacas, este representa una importante ventaja, por cuanto el número de propágulos que pueden obtenerse de brotes laterales es considerablemente superior al que se obtiene del brote principal. Por otra parte, el manejo que se aplica a las plantas madres está destinado precisamente a inducir la proliferación de ramas laterales, suprimiendo el crecimiento apical del seto.

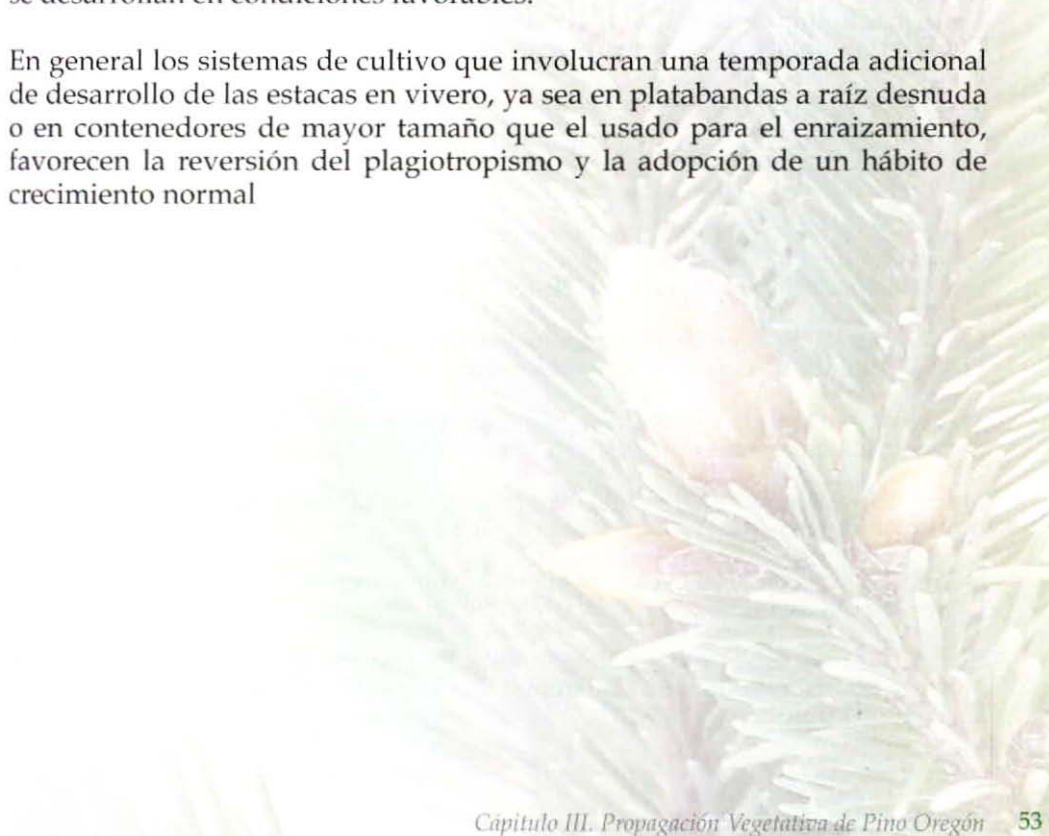


En el enraizamiento de estacas de pino oregón existe un marcado efecto clonal, lo que en situaciones operacionales es posible de obviar al trabajar con plantas madres muy juveniles, o evitando la inclusión de clones con una capacidad rizogénica excesivamente baja. La confirmación de este efecto en los ensayos realizados durante el proyecto, es coincidente con numerosos antecedentes aportados por diversos autores, los que coinciden en destacar una fuerte variación genotípica en la habilidad de pino oregón para producir raíces adventicias (Brix y Barker, 1973; Matschke y Weiser, 1988; Ewald, 1992).

El plagiotropismo es un fenómeno frecuente en estacas enraizadas de pino oregón. Sus causas no son del todo conocidas, reconociéndose que corresponde a una interacción de diversos factores, donde el grado de juvenilidad del material de origen juega un papel fundamental.

Tal anomalía de crecimiento puede afectar en distinto grado al material propagado, existiendo una tendencia a revertirse en la medida que las plantas se desarrollan en condiciones favorables.

En general los sistemas de cultivo que involucran una temporada adicional de desarrollo de las estacas en vivero, ya sea en platabandas a raíz desnuda o en contenedores de mayor tamaño que el usado para el enraizamiento, favorecen la reversión del plagiotropismo y la adopción de un hábito de crecimiento normal



BIBLIOGRAFÍA

Basacote® Plus Nueva Generación de Abonos Recubiertos para Substratos. Folleto promocional.

Brix, H. y Barker, H. 1973. Studies in rooting of Douglas fir cuttings. Can. For. Serv. Pacific Forstry Research Centre.

Copes, D. 1970. Initiation and development of graft incompatibility symptoms in Douglas fir. *Silvae Genetica* 19(2-3): 101-107.

Ewald, D. 1992. Aims and results of basic research in the Institute of Forest Tree Breeding in Waldsiedersdorf, Germany. *Silvae Genetica* 41(3):196-201.

Giannini, R.; Lambardi, M. Y Vendramin, G. 1988. Some observations on graft incompatibility in Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* Mir. Franco). *Acta Horticulturae* 227. Vegetative Propagation Woody Species. 84-86.

Gupta, P. y Durzan, D. 1989. In vitro problems related to mass propagation, establishment and multiplication of juvenile and mature Douglas fir and sugar pine. *Acta Horticulturae* 212 Pp: 483-487.

Gutiérrez, B. Ipinza, R. y Chung, P. 1994. Propagación vegetativa y silvicultura clonal en eucaliptos. *Ciencia e Investigación Forestal* 8(1):139-175.

Gutiérrez, B. 1998. La multiplicación clonal en el mejoramiento genético forestal. En: Ipinza, R., Gutiérrez, B. y Emhart, V. (editores). *Apuntes N° 1: Curso Mejora Forestal Operativa*. UACH-INFOR-CONAF. Valdivia 16 al 21 de noviembre de 1998. Pp: 201-218.

Gutiérrez, B. 2005. Propagación vegetativa y silvicultura clonal: Antecedentes generales. En: Gutiérrez, B.; Ortiz, O. y Molina, M. (editores). *Clonación de raulí: Estado actual y perspectivas*. CEFOR-INFOR-UACH. Concepción, Chile. Pp: 1-18.

Leadem, C. S/F. A guide to the Biology and Use of Forest Tree Seeds. Province of British Columbia. Ministry of Forests Research Program.

Matschke, J. y Weiser, F. 1988. Vegetative propagation of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*). *Beitrag für die Forstwirtschaft* 22(3):114-121.

Myers, J. y Howe, G. 1990. Vegetative propagation of Rocky Mountain Douglas-fir by stem cuttings. *Tree Planters' Notes* 41(3):3-6.

Quiroz, I. y Rojas, Y. 2003. Pino ponderosa y pino oregón. *Coníferas para el sur de Chile*. INFOR-FONDEF. Valdivia, Chile. 302 p + anexos.

Ritchie, G. 1984. Assessing seedling quality. In: Duryea, M., Landis, T., eds. *Forest Nursery Manual: Production of Bareroot Seedlings*. The Hague: Martinus Nijhoff/ Dr W. Junk Publishers. p 243-259.

Ritchie, G. 1996. Operational use of vegetative propagation in forestry: World overview of cloning and bulking. In: National Proceedings Forest and Conservation Nursery Associations. <http://www.na.fs.fed.us/spfo/rngr/pubs/np96/operation.htm>

Ritchie, G.; Keeley, J. y Ward, P. 1997. Effects of shade and root confinement on the expression of plagiotropic growth in juvenile origin Douglas-fir rooted cuttings. Canadian Journal of Forestry Research N° 27: 1142-1145.

Starbuck, C. y Phelps, J. 1986. Induction of compression wood in rooted cuttings of *Pseudotsuga menziesii* (Mirb) Franco by indole-3- acetic acid. IAWA bulletin 7(1):13-16.

Starbuck, C.; Proebsting, W. y Roberts, A. 1983. Response of excised Douglas-fir shoots to disorientation. Hort. Science 18(1):102-104.

Wigmore, B. y Woods, J. 2000. Cultural Procedures for Propagation of Rooted Cuttings of Sitka Spruce, Western Hemlock, and Douglas-fir in British Columbia. British Columbia Ministry of Forests Research Program Working Paper N° 46.

Wise, F. y Caldwell, T. 1994. Macropropagation of conifers by stem cuttings. In: Foster, G and Diner, A. (editors). Proceedings of the Southern Regional Information Exchange Group Biennial Symposium on Forest Genetic. Huntsville, Alabama. July 8-10, 1992. Southern Forest Experiment Station, New Orleans. Pp: 51-73.

Zobel B. y Talbert, J. 1984. Técnicas de Mejoramiento Genético de Árboles Forestales. Noriega Editores. Editorial Limusa, España.



IV

INDUCCIÓN FLORAL EN PINO OREGÓN

Braulio Gutiérrez C.

INTRODUCCIÓN

La exitosa actividad productiva y exportadora del sector forestal chileno se sustenta fundamentalmente en el cultivo de sólo dos especies forestales. Por consiguiente, para reducir los riesgos de carácter biológico asociados a los monocultivos, así como para garantizar la estabilidad del sector en los mercados mundiales, se ha definido como una necesidad estratégica propender a la diversificación de la base productiva de este importante sector de la economía nacional.

Diversas iniciativas se han desarrollado para promover la diversificación, e identificar especies forestales prioritarias para implementarla. Entre tales iniciativas, en el marco del “Programa Nacional de Diversificación de las Plantaciones Forestales” se elaboró el estudio “Potencialidad de Especies y Sitios para una Diversificación Forestal”, el que define a pino oregón junto a otras 10 especies nativas y exóticas como prioritarias para diversificar las plantaciones forestales en Chile.

Con excepción del álamo, todas las especies recomendadas en el estudio mencionado se propagan por semillas. Así, la primera dificultad que enfrentan los forestadores o productores de plantas es contar con semilla adecuada, no sólo en sus parámetros físicos sino que también en su calidad genética.

Como una primera medida para elevar el rendimiento de las especies alternativas, es necesario contar con fuentes de semillas apropiadas y material genéticamente mejorado para propagación. En este sentido, desde mediados de los '90 el Instituto Forestal ha venido desarrollando programas de mejoramiento genético en especies alternativas para la diversificación forestal, entre ellas para pino oregón. Como resultado de lo anterior se han instalado huertos semilleros para abastecer de semilla mejorada a las iniciativas de forestación.

No obstante lo anterior, en los huertos la producción de semillas puede ser



escasa, irregular o demandar varios años antes de manifestarse. Esta situación ha motivado que se depuren los procedimientos de manejo, adoptando medidas tendientes a favorecer una producción abundante y oportuna de semillas. Entre tales medidas, el uso de tratamientos de inducción floral, mediante la aplicación exógena de determinados reguladores de crecimiento, constituye una alternativa que ha demostrado ser efectiva. Los resultados más difundidos a nivel nacional se restringen al uso de paclobutrazol para promover la floración en eucalipto, pudiendo también generar resultados similares en otras latifoliadas.

En el caso de pino oregón, y en general de las coníferas, la respuesta floral también puede ser gatillada en forma artificial, pero en este caso se debe utilizar compuestos antagónicos al paclobutrazol. La experiencia en este grupo de especies es reducida en el país, concentrándose mayoritariamente en pino radiata y siendo nula en pino oregón. Aún así, en la bibliografía extranjera existen variados antecedentes que indican que el uso de mezclas de ácidos giberélicos, particularmente AG4 y AG7, son efectivos para promover su floración, ya sea aplicados como tratamiento único o combinados con medidas complementarias.

Atendiendo a lo expuesto, en el presente capítulo se entregan antecedentes desarrollados en el marco del proyecto "Propagación de genotipos de interés comercial de pino oregón", respecto a tratamientos de inducción floral para promover la floración en huertos destinados a la producción de semilla genéticamente mejorada de pino oregón.

La información entregada corresponde a los resultados obtenidos en la implementación de experimentos prácticos para evaluar la respuesta de copias vegetativas obtenidas mediante injertación de individuos selectos de pino oregón, ante la aplicación exógena de reguladores de crecimiento, orientados a promover una respuesta en la diferenciación de yemas florales. Incluye también la evaluación de la respuesta floral obtenida después de la aplicación operacional, en un huerto semillero clonal de pino oregón, del mejor tratamiento identificado en los experimentos mencionados.

OBJETIVOS

Los objetivos de este documento son: (i) Sintetizar información respecto a la inducción floral en pino oregón; (ii) Identificar experimentalmente una prescripción concreta, con su respectiva metodología de aplicación, para

inducir la formación de flores en pino oregón; (iii) Evaluar el resultado de la aplicación operacional de tal metodología en un huerto semillero clonal de esta especie.

ANTECEDENTES GENERALES

Floración, Fructificación y Producción de Semillas en Pino Oregón

Pino oregón es un árbol monoico diclino, es decir que produce en un mismo pie flores unisexuales masculinas y femeninas. La floración y producción de conos comienza a manifestarse entre los 12 y 15 años de edad, aunque también se han observado individuos más jóvenes que pueden producir estas estructuras reproductivas (Hermann y Lavender s/f).

El ciclo reproductivo de esta especie toma entre 17 y 18 meses, desde la formación de las yemas florales hasta la dispersión de las semillas maduras (Cuadro 1).

CUADRO 1
FENOLOGÍA REPRODUCTIVA DE PINO OREGÓN

AÑO 1												AÑO 2											
Invierno			Primavera			Verano			Otoño			Invierno			Primavera			Verano			Otoño		
J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J
E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
			1	1	1	2	2	3	3	4	4	4	4	5	5	5	5	6	6	7	7	4	4

(Fuente: Adaptado de Hermann y Lavender s/f; Leadem s/f y Rose, 2000).

Donde:

HS Hemisferio Sur

HN Hemisferio Norte

- 1 Brotación y elongación de brotes de yemas vegetativas (primordios florales no diferenciables)
- 2 Yemas florales diferenciables en microscopio
- 3 Yemas florales diferenciables a simple vista
- 4 Latencia
- 5 Floración y polinización
- 6 Crecimiento del cono y maduración de semillas
- 7 Apertura de conos y liberación de semillas maduras

En los árboles adultos, los primordios de las yemas florales femeninas y masculinas ya se encuentran presentes al iniciarse la actividad de las yemas vegetativas en la primavera del año anterior a la cosecha de los conos. Durante las primeras 10 semanas de su existencia ninguna de las estructuras florales se puede diferenciar de las yemas vegetativas.

A fines de primavera diferencias histoquímicas separan a los primordios de las yemas masculinas, que se agrupan cerca de la base de los brotes en elongación, de los primordios de las yemas femeninas, que se producen en forma aislada cerca de los ápices de los brotes y de los primordios de las yemas vegetativas.

Esas tres estructuras pueden diferenciarse microscópicamente desde comienzos de verano. Posteriormente, a fines de verano ya se pueden distinguir a simple vista; las yemas de los conos masculinos son de forma ovalada; las vegetativas son más oscuras y; las femeninas más grandes.

La producción de conos se determina por el número de primordios que se diferencian y se desarrollan como yemas y no por el sólo número de primordios formados. Por lo mismo, una pobre producción de conos refleja una alta tasa de aborción de primordios durante el año anterior. Por su parte, una gran producción de amentos (estructuras masculinas) durante el otoño solo indica la potencialidad de obtener una producción abundante de conos en el año siguiente. Los daños por heladas durante la antesis, o la depredación por insectos pueden destruir la mayor parte de los conos y semillas antes que maduren.

Las flores masculinas (amentos) tienen aproximadamente 2cm de longitud y su color varía del amarillo al rojo intenso. Los estróbilos femeninos superan los 3cm, con colores que varían del verde intenso al rojo. Estos últimos tienen además brácteas trifidas y son receptivos para la polinización inmediatamente después de emerger (**figura 1**).



Figura 1: Arriba, Izq. Flores femeninas (estróbilos); Arriba, Der. Flores masculinas (amentos); Abajo, Izq. yema vegetativa; Abajo Der. Cono maduro.

La antesis y la polinización de la variedad *menziesii* ocurren desde fines de invierno y comienzos de primavera en las zonas más cálidas y en primavera en las áreas más frías.

En altitudes bajas a medias la maduración de los frutos y semillas ocurre en verano. Los conos maduros tienen de 8 a 10cm de largo y sus brácteas se vuelven café cuando las semillas están maduras. La dispersión de las semillas ocurre inmediatamente después de la maduración. Para fines de verano y comienzos de otoño ya se han liberado 2/3 de las semillas. El remanente cae hasta los meses de invierno y primavera.

La calidad de la semilla varía durante el período de dispersión. Es mayor en otoño y declina rápidamente en invierno y primavera. Este patrón de variación refleja el hecho que las escamas del centro del cono donde se genera la semilla de mejor calidad, se abre más temprano, mientras que las escamas de la base y ápice del cono, que forman semillas más pobres, abren después.



Conos y semillas varían considerablemente en tamaño. Las semillas más pequeñas se presentan en los árboles de la Columbia Británica (132.000 sem/Kg) y las más grandes en los árboles de California (51.000 sem/Kg).

La producción de semillas se presenta en intervalos irregulares. En promedio en un ciclo de 7 años se presenta un año de abundante producción y otro de producción media. Incluso en los años de abundante semillación sólo una proporción cercana al 25% de los árboles produce una cantidad apreciable de conos.

Aspectos Generales de Inducción Floral

Por mucho tiempo los mejoradores forestales han intentado inducir floración en árboles forestales, especialmente en coníferas, de las cuales se han establecido numerosos huertos semilleros. Desde finales de los '70 numerosas publicaciones señalan la eficacia que en general presentan las giberelinas para producir este efecto en especies de la familia *Pinaceae*, particularmente cuando se combinan con algunos tratamientos culturales como anillamiento, fertilización, poda de raíces, etc. (Bonet-Masimbert y Doumas, 1992). Se han caracterizado más de 90 tipos de ácidos giberélicos, entre los cuales el AG4/7 parece ser uno de los más efectivos para inducir floración mediante aplicación exógena, siendo uno de los agentes más efectivos y seguros a la hora de incrementar la floración en huertos semilleros de especies de coníferas.

La mayoría de estos estudios se refieren a material adulto injertado, el cual también requiere de varios años antes de empezar a florecer en forma consistente. Así, la falta de floración juvenil y la necesidad de reducir la fase previa a la de madurez sexual sigue siendo un problema no resuelto.

El fenómeno de la reproducción sexual, expresado en la floración, se caracteriza por ser un fenómeno estacional que tiene lugar periódicamente después de superada la etapa juvenil en la que la planta se desarrolla solo vegetativamente.

El tránsito de la fase juvenil (vegetativa) a la fase adulta (reproductora), denominado cambio de fase, no es del todo conocido. Según algunos autores este se produce por un cambio en los equilibrios hormonales, el que se manifestaría después de un determinado número de ciclos vegetativos, requeridos para alcanzar la madurez (en este caso, la madurez vendría determinada por la edad de la planta). Otros autores han supuesto que el cambio de fase se produce al alcanzar la planta un determinado tamaño (es

decir un determinado nivel de crecimiento).

A diferencia de las plantas herbáceas, la mayoría de los árboles perennes presentan una floración indirecta. Es decir, existe un período de tiempo entre la iniciación y la antesis. La iniciación (formación de yema floral) no es una respuesta a un cambio específico de fotoperíodo o termoperíodo, sino que probablemente depende del estado de desarrollo en el sitio de iniciación, controlado hormonalmente y modificado por factores ambientales que actúan sobre diversos órganos de la planta (Bonet-Masimbert y Doumas, 1992). Por ejemplo, debe considerarse que los tratamientos de inducción floral, sean estos hormonales o culturales, no se aplican directamente en el sitio de iniciación, de modo que es difícil interpretar la respuesta fisiológica de la planta ante estos tratamientos.

El proceso de floración se puede dividir en 3 etapas: inducción floral (percepción del estímulo), citodiferenciación (formación del primordio) y organogénesis (formación del órgano reproductivo). Las últimas constituyen la fase de respuesta, que da lugar a la formación de la flor, a partir de un meristema vegetativo que se diferencia en un ápice reproductivo. Respecto a la inducción floral, las señales ambientales (temperatura y fotoperíodo) promueven cambios en las concentraciones hormonales que activan la respuesta floral. De igual forma, la aplicación exógena de reguladores de crecimiento (hormonas sintéticas) también puede estimular a las plantas a florecer.

La luz solar y las altas temperaturas estimulan la iniciación y desarrollo de yemas florales. El efecto de la luz se puede desprender de observaciones comunes tales como el hecho de que la exposición soleada de la copa tiende a presentar más flores que la exposición sombría; Los árboles de borde forman más flores que los del interior; La parte superior de la copa más que la inferior, los árboles aislados o más distanciados forman más flores que los agrupados o menos distanciados (Giertych, 1977). Estas consideraciones tradicionalmente han estado presentes en los esquemas de establecimiento y manejo de huertos semilleros para maximizar la producción de semillas. Aún así, no siempre son suficientes para promover una producción abundante y oportuna y por lo mismo se deben identificar otras variables que igualmente tengan efecto sobre la respuesta floral.

Varias prácticas culturales como el anillamiento, estrés hídrico, poda de raíces y fertilización promueven la floración en coníferas. En adición a estos tratamientos, las giberelinas también son efectivas para este fin.



Se ha demostrado que GA estimula la formación de flores en pino oregón, así como en numerosas otras especies de coníferas (**cuadro 2**).

CUADRO 2
CONÍFERAS QUE EXHIBEN REPUESTA POSITIVA EN SU FLORACIÓN AL TRATARLAS CON GIBERELINAS

ESPECIE	FUENTES
<i>Larix laricina</i>	Eysteinnsson y Greenwood, 1995
<i>Larix occidentalis</i>	Shearer <i>et al.</i> , 1999
<i>Picea abies</i>	Fogal <i>et al.</i> , 1996; Moritz y Oden, 1990, Oden <i>et al.</i> , 1994
<i>Picea engelmannii</i>	Ross, 1990
<i>Picea glauca</i>	Fogal <i>et al.</i> , 1996; Daoust <i>et al.</i> , 1995
<i>Picea mariana</i>	Smith, 1998; Smith y Greenwood, 1997
<i>Picea sitchensis</i>	Moritz <i>et al.</i> , 1989
<i>Pinus banksiana</i>	Cecich <i>et al.</i> , 1994; Fogal <i>et al.</i> , 1994; Fogal <i>et al.</i> , 1996
<i>Pinus caribaea</i>	Harrison y Slee, 1991
<i>Pinus contorta</i>	Greenwood, 1977
<i>Pinus radiata</i>	Siregar y Sweet, 1996; Ross <i>et al.</i> , 1984
<i>Pinus strobus</i>	Pijout, 2002; Ho, 1996; Ho y Eng, 1995;
<i>Pinus sylvestris</i>	Eriksson <i>et al.</i> , 1998; Wesoly, 19987
<i>Pinus taeda</i>	Greenwood, 1981; 1982; Wheeler y Bramlett, 1991
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	Ross, 1977; Owens <i>et al.</i> , 1985; Ross, 1983
<i>Tsuga heterophylla</i>	Harrison y Owens, 1992

Fuente. Referencias citadas en Smith (1998) y Pijut (2002).

Las Giberelinas en la Inducción Floral de Coníferas

Las giberelinas son los reguladores de crecimiento más utilizados para estimular la floración en coníferas. Ellas corresponden a un grupo de diterpenoides ácidos encontrados en angiospermas, gimnospermas, helechos, algas y hongos. Tradicionalmente son designadas con un número (AG3, AG4, AG5,...) basado en el orden cronológico de su aislamiento e identificación. Se han aislado del orden de 90 giberelinas, muchas de las cuales corresponden a estadios intermedios en la ruta de su síntesis y que carecen de actividad hormonal. Por ejemplo, AG1 puede convertirse en AG3 o AG5 y subsecuentemente en AG8 (Lozano, s/f).

Las giberelinas son sintetizadas en los primordios apicales de las hojas, en las puntas de las raíces y en semillas en desarrollo. No exhiben un movimiento



claramente polarizado como las auxinas, y al haber sido encontradas tanto en el floema como en exudados del xilema, se sugiere que exhibe un movimiento bidireccional al interior de la planta.

Las giberelinas promueven crecimiento vegetativo, afirmándose que la floración es promovida sólo cuando las giberelinas no polares están presentes en una concentración relativamente alta. Es así como en plantas de 10 años de pino oregón sometidas a una poda radicular que estimula la floración, se observa un aumento en la concentración de las giberelinas menos polares (AG4/7 y AG9/15) (Bonet-Masimbert y Doumas, 1992).

Se han hecho cuantificaciones de diferentes giberelinas en los primordios subterminales (sitios potenciales para iniciación de flores femeninas) en plantas de pino oregón de 10 años de edad con y sin poda radicular y con aplicación exógena de AG4/7. Se observó un notable incremento de AG9 y especialmente de AG7 en los primordios de los árboles tratados con poda o poda más aplicación de AG4/7, y estos fueron los únicos árboles que florecieron al año siguiente. La AG4 se incremento considerablemente sólo en el tratamiento con poda y AG4/7, demostrando el efecto interactivo entre ambos tratamientos sobre la concentración de giberelinas y la sinergia entre tratamientos hormonales y culturales para inducir floración.

Por otra parte, se ha observado que en *Picea spp.* los clones de buena floración se caracterizan por la ausencia de GA1 y GA3, las cuales si se presentan en clones de floración escasa. Contradictoriamente, en árboles adultos de esta misma especie se ha detectado AG3 y AG1, mientras que en individuos jóvenes que aún no florecen estas giberelinas estaban ausentes.

Las aparentes contradicciones en la relación entre concentraciones de las distintas giberelinas y la respuesta floral evidencian la falta de estudios metabólicos y fisiológicos en esta materia, particularmente en la forma de acción y tasas de conversión entre giberelinas. Al respecto se ha propuesto un modelo hipotético de regulación de la floración en coníferas, donde AG4, sin ser abundante, juega un rol principal. Su efecto sería diferencial dependiendo de si esta se transforma en AG1 para estimular el crecimiento vegetativo, se desactiva a la forma de AG34 o si se fija a un receptor hipotético de AG4 para estimular el crecimiento de órganos reproductivos (Moritz, 1989).

En pino oregón la inducción floral normalmente se asocia con un incremento en el número de meristemas axilares (latentes, sexuales o vegetativos). Bajo condiciones naturales durante un buen año de floración, en árboles adultos



se inician entre un 30 y 40% más de yemas que en un año de poca floración. Después de una inducción artificial con giberelinas y/o podas radiculares se encuentra entre 30 y 75% más de yemas por brote axilar en los árboles tratados que en los testigos. Así, el primer efecto de los tratamientos de inducción floral puede ser estimular el desarrollo de ápices laterales; Luego, un segundo efecto sería su crecimiento y conversión en yemas florales. Ambos efectos son necesarios, pero los tratamientos culturales y hormonales pueden jugar roles diferentes, y posiblemente contradictorios, en la iniciación y diferenciación de las yemas.

Respecto a la especificidad de algunas giberelinas para estimular la floración, esta parece estar directamente relacionada con su estructura química, por cuanto en la mayoría de las *Pinaceas* sólo las giberelinas monohidroxilatadas pueden promoverla. Por lo mismo, el efecto de los tratamientos culturales complementarios (anillado, poda raíces, etc.) podría influir en la respuesta floral mediante algún efecto sobre el proceso de hidroxilación en el metabolismo de las giberelinas.

Muchos tratamientos culturales para inducir floración tienen efecto directo sobre el crecimiento radicular, como las podas de raíces, estrés hídrico o anillamiento (este último priva a las raíces del flujo de savia elaborada a través del floema). La poda radicular es recomendada para inducir floración en huertos manejados en macetas de diferentes especies. Coincidentemente, la inyección de AG4/7 al xilema de pino oregón, tratamiento que estimula la floración, exhibe también el efecto de reducir la actividad radicular por al menos 4 meses.

No todos los tratamientos radiculares influyen en la floración, pero posiblemente el grado de estrés al que estas se someten si la afectan. Al respecto se ha observado que al aplicar calor a las raíces de *Picea glauca*, se reduce la actividad radicular sin ningún efecto sobre la floración; Por el contrario, cuando el calor se aplica a los brotes se estimula la floración sin provocarse efecto sobre las raíces. La misma ausencia de efecto sobre la floración se observa en pino oregón cuando se aplica calor, frío o privación de oxígeno en el área radicular, aún cuando los tres tratamientos reducen considerablemente la actividad de las raíces.

Es posible que si las raíces tienen algún efecto sobre la floración este sea indirecto, probablemente relacionado con modificaciones en el metabolismo (hidroxilación) de las giberelinas.

Inducción Floral en Pino Oregón y Otras Coníferas

En pino oregón, se ha demostrado que los injertos de material adulto y las plantas de semilla se pueden llevar a una condición de madurez sexual mediante la aplicación exógena de giberelinas, particularmente mezclas de los ácidos giberélicos AG4 y AG7 (AG4/7).

A diferencia de lo que ocurre en otras familias de coníferas (como *Cupresacea* y *Taxodiaceae*), donde las aplicaciones exógenas de giberelinas pueden terminar con su fase juvenil e inducir la formación de flores, en el caso de pino oregón estas hormonas solo pueden promover la floración en plantas que ya han alcanzado previamente una condición natural de madurez para florecer. Al parecer en esta respuesta estarían involucrados algunos cofactores presentes en las plantas jóvenes de cupresáceas y taxodiáceas, pero que no se encuentran en las de pino oregón.

Por otra parte, trabajos con plantas adultas de pino oregón han demostrado que se puede promover la floración mediante anillamiento, estrés hídrico, podas de raíces y fertilización con nitrógeno en forma de nitrato. Existe evidencia que algunos de estos elementos, solos o en combinación, pueden proveer de los cofactores necesarios para la floración. Coincidentemente, la eficacia de las aplicaciones de AG4/7 se mejora al combinarla con anillamiento, incluso cuando el anillamiento por sí sólo no tiene efecto.

Efectivamente, experimentos mencionados por Ross (1977) donde estudió el efecto de aplicaciones de AG4/7 junto a otras medidas para promover la floración (anillamiento, estrés hídrico y fertilización) sobre plantas jóvenes de semillas e injertos de material adulto, le permitieron obtener las siguientes conclusiones:

- Se puede inducir floración tanto en plantas jóvenes como en injertos de material adulto, siendo mejor la respuesta en injertos.
- En promedio para todos los tratamientos, los injertos exhibieron mayor frecuencia e iniciaron más yemas florales que las plantas de semillas. Esto refleja la mayor edad fisiológica de este material. Incluso sin tratamiento, los injertos florecieron profusamente, detectándose un importante efecto del tamaño del contenedor. Injertos en contenedores de 6,6 l iniciaron conos en un 94% de los casos, mientras que en contenedores de 2,2 l sólo lo hicieron el 23%. (Probablemente se debe a la poda radicular asociada al cambio de

maceta y no al tamaño del contenedor)

- La floración femenina fue promovida significativamente por la giberelina en plantas e injertos. Los tratamientos restantes no fueron significativos por sí solos.
- La producción de conos por injerto aumento en 3 veces como consecuencia de la aplicación de giberelinas.
- En injertos los tratamientos de anillamiento, estrés y fertilización disminuyeron la floración. El más antagonista fue el estrés hídrico y el menos la fertilización.
- En el caso de las plantas, los tratamientos culturales complementaron y mejoraron el efecto de la hormona, pero como tratamiento individual ninguno fue mejor que la giberelina, incluso la fertilización y el estrés tuvieron un efecto adverso. El anillamiento promovió la floración pero sólo en un 75% de lo que logró la hormona sola.

Experiencias similares han sido implementadas con *Pinus taeda* (Greenwood, 1977), donde también se ha evaluado el efecto de aplicaciones de giberelinas (AG4/7 y AG3) junto con tratamientos culturales complementarios (poda de raíces, estrés hídrico, anillamiento), los resultados obtenidos permiten obtener las mismas conclusiones que en el pino oregón

Los tratamiento de inducción floral en injertos de *P. taeda* cultivados en macetas son muy efectivos para promover formación de flores (aumentan hasta 20 veces el número de rametos que las producen). Las giberelinas GA3 y GA4/7 son efectivas por si solas para estimular la floración, no así los tratamientos culturales complementarios. Sin embargo el anillamiento y el estrés hídrico potencian el efecto de las giberelinas.

Aplicación de los Tratamientos de Inducción Floral.

Una vez que se ha dejado claramente establecido el rol protagónico de las giberelinas como elemento de inducción floral en coníferas, es necesario aclarar la forma en que esta debe aplicarse para lograra los resultados esperados.

Las giberelinas más apropiadas para inducir formación de flores corresponden a una mezcla de las AG4 y AG7 (AG4/7). Esta puede aplicarse como



aspersión foliar humedeciendo sin gotear el follaje de la planta, o inyectarse directamente en el tallo. En el primer caso, las concentraciones más efectivas fluctúan entre 100 y 600 mg/litro de solución (Pijut, 2002). En el caso de las inyecciones la absorción por la planta es más directa de modo que las concentraciones son menores; Ross (1977) utiliza 25 mg/l, inyectados en el tallo, justo bajo el comienzo de la copa viva y Greenwood (1977) 50 mg/l. inyectados algunos milímetros bajo la yema terminal.

La aplicación debe efectuarse en primavera, al iniciarse el crecimiento de las yemas vegetativas o durante la elongación activa de los brotes. En cualquier caso, ya sea que la solución se asperje foliarmente o se inyecte, es recomendable repetirla varias veces durante la temporada, ya sea semanal o bisemanalmente. El número de repeticiones que ha sido efectivo varía entre 1 y 11 Pijut (2002). Hare (1984) concluye que tres aspersiones bisemanales (200 mg/l) resultan efectivas en *Pinus taeda*, *P. elliotii* y *P. palustris*; Adams *et al.* (1992) repiten las aspersiones en forma semanal durante 8 oportunidades en *Picea mariana*, *Picea glauca* y *Pinus banksiana*, efectuando la primera de ellas justo al momento de activarse las yemas vegetativas; En pino oregón, Ross (1977) inyecta las giberelinas cada tres semanas, durante tres meses, desde justo antes que se activen las yemas vegetativas; Greenwood (1977) aplica las giberelinas en el mismo periodo, cada 2 semanas, en 5 ocasiones en *Pinus taeda*; Smith (1998) en *Picea mariana* la inyecta en el tercio superior de la copa, una sola vez, en la semana siguiente a la activación de las yemas vegetativas, cuando los brotes alcanzan 1 a 2 centímetros de longitud; Wesoly (1987) informa un incremento significativo de flores en *Pinus sylvestris* con una sola aplicación de 200 mg/l.

Existen productos comerciales que corresponden a AG4/7, entre ellos el proCone (4% p/p de ingrediente activo) y proVide (2% p/p de ingrediente activo). Las soluciones para aspersión pueden prepararse en agua utilizando un surfactante que facilite la aspersión. En cambio las preparaciones para inyección se preparan en una solución de alcohol al 5%.

En el caso de la aspersión foliar, las aplicaciones deben efectuarse a la sombra y sin viento, de modo de favorecer la absorción, reducir la evaporación desde el follaje y evitar la deriva del producto.

Una vez asperjadas las plantas es conveniente evitar el sombreado y idealmente manejarlas bajo invernadero. La luz y la temperatura favorecen la respuesta floral, aspecto que es confirmado por Adams *et al.* (1992) en experimentos efectuados con piceas tratadas con AG4/7, bajo condiciones



ambientales controladas, en los cuales concluyen que independientemente de la sombra, hay más floración en la zona cálida que en zona fría; que en ambas zonas la floración es mayor cuando no hay sombra; y que la mayor floración se produce en la zona cálida sin sombra y el peor en la zona fría sombreada.

La fertilización también es un elemento complementario que debe apoyar a los tratamientos con giberelinas. Enescu *et al.* (1977) evalúan diversos tratamientos de fertilización en plantas de pino oregón para determinar su efecto sobre la respuesta floral, concluyendo que todos los tratamientos inducen más floración que el testigo; que la fertilización con formulaciones simples o compuestas de N, P y K efectivamente estimulan la floración y fructificación de pino oregón, y que la combinación mas efectiva de todas las ensayadas es la compuesta por 1N:2P:1K.

Además de las consideraciones anteriores, existen algunas medidas culturales complementarias que pueden potenciar el efecto de la giberelina en la inducción floral, aún cuando por sí solas su efecto sea marginal o nulo para estimular esta respuesta. Entre ellas los tratamientos de poda radicular, anillamiento, estrés hídrico son los más analizados. Su efecto ha sido discutido en apartados anteriores e este mismo artículo señalándose que aparentemente son más efectivos como medida complementaria en plantas jóvenes y que su efecto no es importante en material adulto como el representado en los injertos de un huerto semillero. Por lo mismo y atendiendo a los negativos efectos que estos pueden tener sobre el vigor y salud de los rametos, su aplicación como medida práctica de manejo no parece recomendable.

No existen mayores antecedentes en cuanto al uso de otros reguladores de crecimiento como complemento a las giberelinas para inducir floración en coníferas. El paclobutrazol (PBZ), que tradicionalmente se utiliza para inducir floración en frutales y eucalipto, ha sido probado en coníferas. Este regulador si bien tiene una acción contraria a las giberelinas, actuando como un bloqueador de su síntesis, se ha reportado como efectivo en combinación con GA4/7 para promover respuesta floral en *Picea mariana* (Smith, 1998). Efectivamente, combinando bajas dosis de PBZ (inyecciones de 1mg de ingrediente activo) con AG4/7 se obtiene una mayor producción de flores que usando las giberelinas solas. Por su parte el PBZ sin giberelina tiene un efecto muy marginal sobre el incremento de la floración en *Picea mariana* (op. cit)

MATERIAL Y MÉTODO

La metodología empleada comprende dos fases, una experimental efectuada en vivero, para identificar el tratamiento más apropiado para inducir floración en pino oregón y posteriormente una operacional en que se evalúa el efecto de este tratamiento en un huerto semillero clonal de pino oregón.

En la fase experimental se efectuaron diversos ensayos para definir las dosis más apropiadas de AG4/7 en la estimulación floral de réplicas injertadas de árboles plus adultos de pino oregón. En ellos se prueba una completa batería de dosis que fluctúan entre 100 y 1.300mg/l de AG4/7 aplicado como aspersión foliar, en cuatro oportunidades, con una frecuencia bisemanal, desde el inicio de la brotación vegetativa. También se establecieron otros ensayos para evaluar la movilidad del regulador y su efecto en la respuesta floral en función de la zona de aplicación, así como un experimento adicional para evaluar el efecto combinado de AG4/7 con uniconazol (isómero comercial del PBZ). Posteriormente, en la fase operativa se aplicó el mejor tratamiento identificado durante la fase experimental a un huerto clonal de pino oregón.

Metodología fase experimental

Para establecer los ensayos de inducción floral se utilizaron réplicas injertadas de árboles plus adultos (**cuadro 3**). Los injertos se efectuaron en invierno del año 2001, usando la técnica de hendidura apical. Estos se manejaron en macetas de polietileno de 5 litros de capacidad y fueron fertilizados con fertilizante de liberación controlada (Osmocote 19:6:10, a razón de 12 g/planta) y manejados en vivero hasta el momento de establecer los distintos ensayos de inducción floral en primavera de 2003.

CUADRO 3
CARACTERÍSTICAS DE LOS ÁRBOLES PLUS INJERTADOS QUE SE UTILIZARON PARA LOS EXPERIMENTOS DE INDUCCIÓN FLORAL

CODIGO	EDAD (Años)	ALTURA (m)	DAP (cm)
IN 2	28	27,75	45,96
IN 3	28	33,75	55,90
IN 9	46	33,30	44,00
IN 11	50	42,50	61,50
IN 14	46	37,00	69,50
IN 17	43	33,50	44,10
IN 25	30	21,25	45,00
IN 26	28	25,00	50,00
IN 29	30	39,00	50,40
IN 30	30	28,00	46,20
IN 36	28	29,50	45,50
IN 37	28	29,00	43,00
IN 42	38	30,50	46,30
IN 43	40	30,00	47,00

Los reguladores de crecimiento utilizados para estimular la inducción floral fueron los siguientes:

Giberelinas: Se usó una mezcla de los ácidos giberélicos AG4 y AG7 en el producto comercial ProVide (2% i.a.), el que se aplicó como aspersión foliar en soluciones de distinta concentración, junto con el surfactante HIPOINT, a razón de 0,25ml/l.

Antigiberelinas: Se usó Uniconazol (UCZ) a través del producto comercial SUNNY (50 g/l i.a.). El uniconazol (UCZ) es un isómero del paclobutrazol (PBZ), al igual que este, corresponde a una antigiberelina del grupo de los triazoles. El uniconazol se aplicó en solución, directamente a las raíces de los injertos, a razón de 0,5 g de ingrediente activo por cada centímetro de perímetro en el cuello de la planta.

Se establecieron 4 ensayos de inducción floral en los que se evalúan distintas concentraciones de ácidos giberélicos (AG4/7), combinaciones de AG4/7 con uniconazol (UCZ) y capacidad de translocación de AG4/7 al interior de

la planta (cuadro 4).

CUADRO 4
DETALLE DE LOS EXPERIMENTOS ESTABLECIDOS

ENSAYO	CLONES UTILIZADOS	FECHA INICIO	TRATAMIENTOS	
Experimento 1: Dosis altas de GA4/7	IN2, IN9, IN17 e IN36	10.10.2003	T0	0 mg/l GA4/7
			T1	700 mg/l GA4/7
			T2	1000 mg/l GA4/7
			T3	1300 mg/l GA4/7
Experimento 2: Translocación	IN42 e IN43	10.10.2003	T0	0 mg/l GA4/7
			T1	700 mg/l GA4/7
			T2	1000 mg/l GA4/7
			T3	1300 mg/l GA4/7
Experimento 3: Dosis bajas de GA4/7	IN3, IN14, IN25 e IN29	24.10.2003	T4	0 mg/l GA4/7
			T5	100 mg/l GA4/7
			T6	400 mg/l GA4/7
			T7	700 mg/l GA4/7
Experimento 4: GA4/7 más UCZ	IN11, IN26, IN30 e IN37	02.12.2003	T8	0 mg/l GA4/7
			T9	UCZ + 700 mg/l GA4/7
			T10	700 mg/l GA4/7
			T11	UCZ + 1300 mg/l GA4/7

- Experimento 1. (Dosis altas): Considera la aplicación, mediante aspersión foliar de tres concentraciones de AG4/7 más un testigo sin aplicación, las cuales se repiten tres veces con una frecuencia bisemanal.

Cada tratamiento se aplica sobre 4 clones, representados por un rameto cada uno y se repite tres veces en un diseño completamente aleatorizado.

- Experimento 2 (Translocación): Se aplican las mismas concentraciones de giberelina del experimento 1, pero esta vez sobre una sola rama de cada injerto. Cada tratamiento se aplica sobre 2 clones, representados por 4 rametos cada uno, y se repite tres veces en un diseño completamente aleatorizado. La rama que recibe la aplicación se identifica con una etiqueta para su posterior evaluación.

- Experimento 3. (Dosis bajas): Se prueban tres concentraciones de AG4/7 más un testigo sin aplicación, usando el mismo esquema de aplicaciones y diseño experimental del experimento 1.
- Experimento 4. (AG4/7 + UCZ): Se usa el mismo esquema de aplicaciones y diseño del experimento 1. Las aplicaciones de AG4/7 se realizan en forma bisemanal (3 aplicaciones); UCZ se aplica al sustrato por una vez, en dosis de 0,5 g ia/cm de perímetro en el cuello de la planta.

En las plantas de los experimentos 1,3 y 4 se seleccionan tres ramas (el líder más dos laterales) las cuales se identifican con etiquetas, para hacer un seguimiento de su elongación, número y tipo de yemas (vegetativas, florales masculinas y florales femeninas). Lo mismo se hace con la rama de cada planta que recibió aplicación de AG4/7 del experimento 2.

Durante la aplicación de los reguladores crecimiento, los injertos se manejaron bajo sombreadero en vivero, esta situación se mantuvo hasta marzo de 2004 ocasión en que se ingresaron a invernadero (**figura 2**), donde fueron distribuidos de acuerdo al diseño experimental en la forma que se señala en el croquis de la **figura 3**.



Figura 2: Vista de los ensayos de inducción floral en invernadero.



Figura 3: Distribución de injertos en invernadero. Experimento 1 (azul); Experimento 2 (rojo); Experimento 3 (verde); Experimento 4 (negro). Donde; C_i T_j R_k = Clon "i", Tratamiento "j", Repetición "k".



Para la evaluación de los experimentos se efectuaron tres mediciones. La primera de ellas se efectuó al momento de montar cada ensayo (primavera 2003), midiéndose la longitud de las ramas individualizadas en cada planta y el número de yemas vegetativas presentes en ellas.

La segunda medición se realizó en invierno del 2004, una vez terminada la temporada de crecimiento vegetativo. Se registró la longitud de las ramas y el número de yemas vegetativas formadas durante la temporada de crecimiento. Su objetivo fue determinar los incrementos producidos en ambas variables y relacionarlos con los tratamientos aplicados. Este procedimiento constituye una forma de estimar anticipadamente el efecto de las aplicaciones de giberelinas, por cuanto uno de sus efectos secundarios más evidente es la mayor elongación de las ramas y la proliferación o aumento en el número de yemas totales, mientras que el efecto sobre la repuesta floral sólo se presenta en la temporada de floración del año siguiente.

La tercera medición se efectuó a comienzos de primavera del año 2004 (octubre, 2004), periodo en el cual se manifiesta la floración de los primordios florales formados en la temporada anterior. En esta evaluación se registró el número de flores masculinas y femeninas.

Las comparaciones entre tratamientos de un mismo ensayo, así como entre ensayos por medio de tratamientos comunes que actúan como conectores, permitió verificar el efecto sobre la respuesta floral de las distintas dosis de reguladores de crecimiento empleados. El contraste de los tratamientos del experimento 2 con su respectivo testigo y con los tratamientos del experimento 1 permitió verificar si el efecto de la aplicación es local en la rama tratada o si se expande a toda la planta.

RESULTADOS FASE EXPERIMENTAL

Los cuadros 5 al 8 muestran los resultados obtenidos en cuanto a incrementos en la longitud de las ramas evaluadas y el número de yemas presentes en ellas entre la medición 1 y 2. En este caso el incremento se expresa en términos porcentuales donde el 100% corresponde al valor expresado en la primera medición. De esta forma valores superiores a 100% significan que las ramas o el número de yemas fueron mayores que en la primera medición, mientras que valores inferiores al 100% indican que la longitud y el número de yemas fueron menores en la segunda evaluación con respecto a la primera.