

BOSQUE

CONTENIDO

OPINIONES

- Klier G, M Gattás Vargas. **¿Cómo narrar un bosque? Imbricaciones entre artes y ciencias en la Isla Victoria.** 89
- Balocchi F, JL Arumí, A Iroumé. **Cooperación interinstitucional para desarrollar un nuevo enfoque hidrológico forestal para apoyar la silvicultura sostenible en Chile.** 95

ARTÍCULOS

- Bernaola-Paucar RM, B Ruiz-Blandon, E Salcedo-Pérez, I Zapata-Hernández. **Factores de manejo en vivero que influyen sobre crecimiento y supervivencia de *Pinus douglasiana* en México.** 101
- Tejada-Alvarado JJ, JB Meléndez-Mori, NC Vilca-Valqui, E Huaman-Huaman, SM Oliva-Cruz. **Efecto de biocidas y consistencia del medio de cultivo para el establecimiento *in vitro* de *Guadua angustifolia*.** 117
- Cruz-Sánchez Y, LC López-Teloxa, JD Gómez-Díaz, AI Monterroso-Rivas. **Respiración de CO₂ desde el suelo en bosques templados del Parque Nacional Iztaccihuatl-Popocatepetl, centro de México.** 125
- Meneguzzi A, MC Navroski, S Silva Camargo, M de Oliveira Pereira, R Silveira de Andrade. **Rescate vegetativo y propagación *in vitro* de *Persea willdenovii*.** 135
- Loewe Muñoz V, C Delard R, R del Río, M Balzarini. **Características morfológicas del fruto y dasometría del avellano chileno (*Gevuina avellana*) que impactan la producción bajo arboricultura de calidad.** 149
- Alperen Coskuner K. **El uso del suelo / cambio en la cobertura del suelo como un factor importante de la inflamabilidad del paisaje actual en la región del Mediterráneo oriental: un estudio de caso en el suroeste de Turquía.** 157
- Santos Gonçalves D, GC Teixeira, DM Santana Costa Souza, JC Tannure Faria, L Vaz Molinari, G Ebling Brondani. **Emisión de brotes epicórmicos y establecimiento *in vitro* de *Cordia trichotoma* árboles adultos seleccionados.** 169
- Jacaranda Cruz-Larios I, C Ramírez-Herrera, JI Valdez-Hernández, MV Velasco-García, VM Cetina-Alcalá, J Jasso Mata. **Estructura y patrón de distribución horizontal de *Bursera linanoe* en dos subprovincia bióticas en México.** 179
- Romero-Saritama JM, K Minga, Á Benítez. **Relación del tamaño de la sámara con la dispersión de *Gallesia integrifolia* (Phytolaccaceae) en un bosque seco tropical.** 193

BOSQUE es publicada por la Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales de la Universidad Austral de Chile. Fundada en 1975 con una periodicidad anual, a partir de 1985 aumentó su periodicidad a semestral. A partir del año 2003, se publican tres números al año en (abril, agosto y diciembre).

BOSQUE is published by the Faculty of Forest Sciences and Natural Resources at the Austral University of Chile. It was first published as a yearly journal in 1975. Since 1985 it has been issued twice a year and since 2003 it is issued three times a year (April, August, and December).

Los artículos publicados en BOSQUE son indizados por:
Articles published in BOSQUE are indexed by:

Bibliografía Latinoamericana
Cabi Publishing
Forestry Abstracts
Forest Products Abstracts

WoS Web of Science (ISI)
Plant Growth Regulator Abstracts
Review of Agricultural Entomology
Scientific Electronic Library Online (SciELO)

SCOPUS
Seed Abstracts
Journal Citation Report (JCR)

COMITÉ CIENTÍFICO/SCIENTIFIC COMMITTEE

Luis Apiolaza University of Canterbury, Nueva Zelandia; **Claudia Bonomelli** Pontificia Universidad Católica de Chile, Chile; **Roberto Carrillo** Universidad Austral de Chile, Chile; **Miguel Castillo** Universidad de Chile, Chile; **Luis Chauchard** Universidad Nacional del Comahue, Argentina; **Jordi Cortina** Universidad de Alicante, España; **Fred Cabbage** North Carolina State University, USA; **Guilherme de Castro Andrade** Centro Nacional de Pesquisa de Florestas EMBRAPA, Brasil; **Ignacio Díaz-Maroto** Universidad de Santiago de Compostela, España; **Jorge Etchevers** Colegio de Postgraduados, México; **Thomas Fox** Virginia Tech, USA; **Jorge Gayoso** Universidad Austral de Chile, Chile; **Roberto Godoy** Universidad Austral de Chile, Chile; **Andrés Iroumé** Universidad Austral de Chile, Chile; **Douglass Jacobs** Purdue University, USA; **Antonio Jurado Bellote** Centro Nacional de Pesquisa de Florestas EMBRAPA, Brasil; **Thomas Knoke** Technische Universität München, Alemania; **Ludmila La Manna** Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónico CIEFAP, Argentina; **Antonio Lara** Universidad Austral de Chile, Chile; **María V. Lencinas** CADIC-CONICET, Argentina; **Rafael Navarro** Universidad de Córdoba, España; **Peter Niemz** Eidgenössische Technische Hochschule, Zürich; **Mario Niklitschek** Universidad Austral de Chile, Chile; **Leif Nutto** Universidad de Freiburg, Alemania; **Ralph Nyland** SUNY College of Environmental Science and Forestry, USA; **Pablo L. Peri** Universidad Nacional de la Patagonia Austral, Argentina; **Benno Pokorny** Albert-Ludwigs Universität Freiburg, Alemania; **Albert Reif** Universidad de Freiburg, Alemania; **Christian Salas** Universidad Mayor, Chile; **Luis Silveira** Universidad de La República, Uruguay; **Tom Veblen** University of Colorado, USA; **Alejandra Zúñiga** Universidad Austral de Chile, Chile.

Editor:

Marco Contreras S., Universidad Austral de Chile

Asistente del Comité Editorial:

Nolwenn Boucher, Universidad Austral de Chile

Revisores de Formato:

Natalia Cáceres N., Universidad Austral de Chile

Esteban Gallardo P., Universidad Austral de Chile

Claudia Leal M., Universidad Austral de Chile

Revisora de Redacción: **Cecilia Ilharreborde**

Revisora de Inglés: **Amapola López**

Oficina de la Revista: **Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales, Valdivia, Chile.**
Fono: 56 (63) 2221743. Correo electrónico: revistabosque@uach.cl y <https://www.revistabosque.org>
Página web: <http://revistas.uach.cl/index.php/bosque/index>
Toda correspondencia respecto a publicaciones debe ser remitida al editor (revistabosque@uach.cl), Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales, Valdivia, Chile.

Editorial Office: **Faculty of Forest Sciences and Natural Resources, Austral University of Chile, Valdivia, Chile.**
Phone: 56 (63) 2221743, email: revistabosque@uach.cl Web: <http://revistas.uach.cl/index.php/bosque/index> and <https://www.revistabosque.org>

Correspondence related with publications should be sent to the editorial team (revistabosque@uach.cl), Austral University of Chile, Faculty of Forest Sciences and Natural Resources, Valdivia, Chile.

BOSQUE es financiada por la Universidad Austral de Chile.

BOSQUE

CONTENTS

OPINIONS

- Klier G, M Gattás Vargas. **How to narrate a forest? Imbrications between arts and sciences on Isla Victoria.** 89
- Balocchi F, JL Arumí, A Iroumé. **Inter-institutional cooperation to develop a new forest hydrological approach to support sustainable forestry in Chile.** 95

ARTICLES

- Bernaola-Paucar RM, B Ruiz-Blandon, E Salcedo-Pérez, I Zapata-Hernández. **Nursery management factors that influence growth and survival of *Pinus douglasiana* in Mexico.** 101
- Tejada-Alvarado JJ, JB Meléndez-Mori, NC Vilca-Valqui, E Huaman-Huaman, SM Oliva-Cruz. **Viability of biocides and consistency of the culture medium on the *in vitro* establishment of *Guadua angustifolia*.** 117
- Cruz-Sánchez Y, LC López-Teloxa, JD Gómez-Díaz, AI Monterroso-Rivas. **Respiration of CO₂ from the soil of temperate forests in the Iztaccihuatl-Popocatepetl National Park, Mexico.** 125
- Meneguzzi A, MC Navroski, S Silva Camargo, M de Oliveira Pereira, R Silveira de Andrade. **Vegetative rescue and *in vitro* propagation of *Persea willdenovii*.** 135
- Loewe Muñoz V, C Delard R, R del Río, M Balzarini. **Fruit morphometry and biometry of *Gevuina avellana* affecting seed production under quality arboriculture.** 149
- Alperen Coskuner K. **Land use / land cover change as a major driver of current landscape flammability in Eastern Mediterranean region: A case study in Southwestern Turkey.** 157
- Santos Gonçalves D, GC Teixeira, DM Santana Costa Souza, JC Tannure Faria, L Vaz Molinari, G Ebling Brondani. **Emission of epicormic shoots and *in vitro* establishment of *Cordia trichotoma* selected adult trees.** 169
- Jacaranda Cruz-Larios I, C Ramírez-Herrera, JI Valdez-Hernández, MV Velasco-García, VM Cetina-Alcalá, J Jasso Mata. **Structure and pattern of horizontal distribution of *Bursera linanoe* in two biotic subprovinces in Mexico.** 179
- Romero-Saritama JM, K Minga, Á Benítez. **Relationship of samara size with dispersal of *Gallesia integrifolia* (Phytolaccaceae) in a tropical dry forest.** 193

OPINIONES

**¿Cómo narrar un bosque?
Imbricaciones entre artes y ciencias en la Isla Victoria**

How to narrate a forest?
Imbrications between arts and sciences on Isla Victoria

Gabriela Klier ^{,} Maia Gattás Vargas ^b**

*Autora de correspondencia: ^a Universidad Nacional de Río Negro, CITECDE, CONICET Villegas 360, Bariloche, Argentina, tel.: 0294 442-8225, grklier@unrn.edu.ar

^b Universidad de Buenos Aires, Centro de Estudios en Ciencia, Tecnología, Cultura y Desarrollo, CONICET, Bariloche, Río Negro, Argentina.

SUMMARY

The purpose of this manuscript is to contribute to the discussion on the links between arts and sciences in the practices of environmental care and biodiversity conservation. The starting point is the experience in Isla Victoria Laboratory project. This island, located in Nahuel Huapi Lake, is a historical environmental emblem, where a century ago the most important *Arboretum* in Patagonia was installed and where many conservation projects are currently being developed. The study presents a debate of de arts-sciences relationship in the context of environmental crisis, and hence, taking the case of Isla Victoria as a starting point, explores certain questions and experiences on the horizons of these approaches in pursuit of environmental care.

Keywords: biodiversity, transdisciplinary research, Patagonia, *arboretum*.

RESUMEN

El propósito de este manuscrito fue contribuir a la discusión por los vínculos entre artes y ciencias para las prácticas de cuidado ambiental y conservación de la biodiversidad partiendo desde la experiencia en el proyecto Laboratorio Isla Victoria. Esta isla, situada en el lago Nahuel Huapi, es un emblema ambiental histórico de Argentina, donde hace casi un siglo se instaló el arboreto más importante de la Patagonia y actualmente presenta numerosos proyectos de conservación. Se presentará un debate sobre la relación de las artes con las ciencias en el contexto de crisis ambiental, para luego, desde el caso de la Isla Victoria, recorrer ciertas preguntas y experiencias sobre los horizontes de estas aproximaciones en pos del cuidado ambiental.

Palabras clave: biodiversidad, transdisciplina, Patagonia, arboreto.

INTRODUCCIÓN

¿Qué es un bosque? ¿Cómo cuidar un bosque? Estas preguntas despliegan una pluralidad de respuestas y modos de habitar que resuenan en la necesidad de abordajes polifónicos para la conservación. En particular, reconociendo la dimensión afectiva y estética en las relaciones ambientales, las artes conforman un campo de cada vez mayor importancia para el cuidado ambiental (Giraldo y Toro 2021). En este trabajo se presentarán algunos desafíos y resultados del proyecto Laboratorio Isla Victoria, en la Patagonia argentina, como una experiencia que emerge entre las artes y las ciencias en torno a un territorio controversial. El proyecto parte desde abordajes transdisciplinarios que reconocen en las problemáticas ambientales asuntos complejos que entrecruzan dimensiones políticas,

éticas, afectivas y relacionales, y desbordan el conocimiento científico. Desde la isla, nos interesó captar y producir diferentes relatos en torno a los bosques patagónicos e indagar sobre las construcciones de la idea de naturaleza que fueron desplegándose en los últimos 100 años en la región. En el cruce entre investigación y producción artística, buscamos generar otros reconocimientos y creaciones de territorios en disputa.

LAS CIENCIAS, LAS ARTES Y EL CUIDADO AMBIENTAL

La consolidación de las ciencias naturales en la Modernidad ha seguido un proceso de escisión y especialización, que la han separado de otro tipo de saberes, así como de las dimensiones éticas y estéticas (Foucault 1984, Adorno

y Horkheimer 2007). Desde el siglo XVII ha habido un proceso de distinción entre artes y ciencias, no sin mantener encuentros (como ocurre en las ilustraciones científicas, con los casos emblemáticos de Ernst Haeckel o María Sibylla Merian), que han puesto en tensión la idea de una ciencia liberada de componentes estéticos (Gould 2010).

Desde la década de 1960, las problemáticas ambientales han sido denunciadas por diferentes grupos sociales (Bowler 1998). Sin embargo, estas han sido prioritariamente abordadas desde las ciencias naturales (Taylor y Buttel 1992). Particularmente, la pérdida de biodiversidad ha sido delimitada por las ciencias ecológicas, sobre todo con la emergencia en la década de 1980 de la biología de la conservación (Sarkar 2005).

Con el paso del tiempo, estos abordajes orientados desde un saber técnico-experto y con una epistemología propia de las ciencias naturales (con una incidencia fuerte de la estadística, abordajes cuantitativos y descriptivos) fueron dando paso a otras preguntas y prácticas, entendiendo que las problemáticas ambientales son siempre socio-ambientales, involucran tejidos multi-especies, valoraciones y una complejidad propia que escapa a los límites del saber experto y requiere el reconocimiento de una pluralidad de voces y corporalidades en diálogo (o tensión) (Haraway 2019). Desde los numerosos cuestionamientos al saber técnico-experto como saber primario en las problemáticas ambientales (e.g. Wynne 2004, Latour 2017), emergieron otras miradas - sobre todo en la conservación de la biodiversidad - que buscan dar paso a una transdisciplinariedad. Es decir, a la integración de saberes científicos y no científicos - incluyendo saberes locales y / o tradicionales - como conocimientos necesarios para pensar y hacer territorialmente (Max-Neef 2005). De aquí la emergencia del marco de los socio-ecosistemas, la etnobiología o el marco de IPBES (The Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services) de las contribuciones de la naturaleza a las personas, entre otros, que promueven estrategias de plurales para la conservación de la biodiversidad y el cuidado ambiental (Klier 2018). En este sentido, la problemática ambiental ha sido generadora de diálogos entre ciencias, éticas, estéticas y diferentes saberes (Haraway 2019).

La pérdida de biodiversidad no es solo una cuestión de estadísticas o servicios ambientales, sino que es un proceso que implica fines de mundos, relatos y de afectos (Van Dooren 2014). Por ello resulta necesario dar cuenta de la dimensión relacional y afectiva entre humanos y no humanos, entre ambientes y diferentes especies que no se reduzca a información cuantitativa, sino que invite a diferentes formas de afectación - acción entre humanos, no humanos y territorios. De aquí surgieron abordajes que articulan artes y ciencias, así como la investigación basada en artes con el potencial de contribuir al cuidado ambiental desde diferentes lenguajes para comprender, afectar y construir relatos ambientales (McNiff 1998, Westley *et al.* 2015, Leavy 2017).

En 2015 la revista *Ecology & Society* publicó un número especial que instaba a explorar los vínculos entre arte y ciencia, con el fin de desarrollar nuevas comprensiones, aproximaciones y motivaciones para la investigación vinculada al cuidado ambiental (Westley *et al.* 2015), donde diversos trabajos dan cuenta de las posibilidades de cruces entre arte y ciencia para la sustentabilidad. En la interacción artes y ciencias se presentan diferentes aportes vinculados a un enfoque experiencial de la producción de conocimiento, que incluye explícitamente procesos, afectivos y sensoriales, diferentes tipos de conocimiento, de interacción y de agencia (Pröpper 2017). Se ha señalado que las artes permiten el reconocimiento de las problemáticas de biodiversidad de forma situada, promoviendo la autorreflexión y recuperando experiencias vividas (Van Dooren 2014, Rivera López *et al.* 2018). A su vez, abren la posibilidad de evocar emociones y cultivar la empatía a través de encuentros y obras (Athayde *et al.* 2017, Rivera López *et al.* 2018) y la comunicación a través de diferentes lenguajes (no solo verbales) de los vínculos, valores y afectos ambientales (Haraway 2019). En diferentes estudios se cuenta cómo la integración entre artes y ciencias permitió una co-producción genuina de conocimiento, evitando la jerarquización de saberes y acortando la distancia entre investigadores y otros actores ambientales (Rathwell y Armitage 2016, Athayde *et al.* 2017). Se suma a esto la posibilidad de generar vectores para transmitir información sobre territorios e identidad con mayor apropiación y difusión (Curtis *et al.* 2012) y de generar otras formas de intervención política (Merlinsky y Serafini 2019).

SOBRE LA ISLA VICTORIA

Al comenzar a indagar sobre la Isla Victoria encontramos que dicha fracción de tierra condensaba, en gran medida, las políticas ambientales que ocurrieron en toda la Patagonia argentina durante el siglo XX. La Isla Victoria es la isla más grande (3.800 ha) del Lago Nahuel Huapi y es parte de las provincias de Río Negro y Neuquén. La isla es emblemática por varios motivos, y si bien se abre al imaginario por las numerosas pinturas rupestres de pobladores originarios, nos interesó particularmente la mirada estatal y europeizante que transformó el paisaje desde inicios de 1900.

Esta historia puede resumirse en tres períodos. En el primero, desde 1903, la isla funcionó como estancia privada y sitio de recreación para la aristocracia porteña, en manos de Aarón Anchorena, quien hizo uso de esta porción de tierra hasta 1911. En este período se construyeron casas, tambos, molinos y se introdujeron diferentes especies vegetales y animales exóticas. Cuando Anchorena desistió de la concesión ofrecida por el Estado Argentino, la isla fue concedida a diferentes madereros y productores agropecuarios que devastaron mediante incendios y talas la región central del territorio (Núñez y Núñez 2008).

Una segunda etapa comenzó en la década de 1920, cuando la región norpatagónica heredó el modelo estadounidense de parques nacionales (Navarro Floria 2004), con la creación del Gran Parque Nacional del Sur en 1922 que se transformará en 1934 en el Parque Nacional Nahuel Huapi. El gran proyecto que transformó la isla fue aquel que comenzó en 1925: el Vivero Nacional, que buscó fomentar la plantación de forestales y frutales exóticos en la región, dando origen al arbolito. Este proyecto siguió el horizonte delineado estatalmente de transformar la Patagonia en una “Suiza argentina”, tanto desde la arquitectura como desde la introducción de especies exóticas. Posteriormente se contrató a un grupo de ingenieros forestales extranjeros, particularmente rusos y ucranianos, que desde 1936 desarrollaron los proyectos forestales del vivero, modificando no solo el paisaje de la isla sino de toda la región norpatagónica. Para 1949, la Estación Forestal superaba el millón de plantas, para uso de espacios públicos y venta a forestaciones particulares (Vargas y Klier 2021).

A partir de la década de 1970, frente a las denuncias ambientales, la emergencia de la ecología de paisajes junto con los estudios críticos de las especies exóticas e invasoras (Anderson y Valenzuela 2014), comenzó el tercer período, que problematizó el manejo forestal de la isla. Desde aquí

en adelante comenzó un control de las especies forestales invasoras (particularmente *Pinus ponderosa* Dougl. ex Laws.) y, ya en el siglo XXI, el vivero de especies del mundo se transformó en un vivero de especies nativas. El arbolito de la isla sigue siendo parte importante del patrimonio local (Vargas y Klier 2021). De este modo la isla conforma un mosaico de diferentes entendimientos e intervenciones - muchas veces contradictorias - sobre aquello llamado naturaleza, desplegando diferentes imaginarios e historias.

RECORRIDOS DEL LABORATORIO ISLA VICTORIA

Conocimos la historia de la isla gracias al hallazgo de un mapa (figura 1) en el archivo del Museo de la Patagonia que mostraba árboles y cuentas matemáticas. El mapa nos encontró con una búsqueda común: entender los modos en que las ciencias modernas representan la naturaleza en Patagonia. Además, este sitio se presentó como emblema para comprender los procesos de intervención territorial, manejo de especies invasoras, así como para la restauración ambiental. Para abordar estos interrogantes, el proyecto se orientó a la investigación teórica, articulando saberes desde filosofía de la biología, ciencias de la comunicación y artes.



Figura 1. Fotografía de Mapa de la Isla Victoria de Boris Arschanow (Archivo: Museo de la Patagonia) componiendo la tapa del fanzine Laboratorio Isla Victoria.

Photograph of Boris Arschanow's Map of Isla Victoria (Archive: Museo de la Patagonia) composing the cover of the fanzine Laboratorio Isla Victoria.

Posteriormente entendimos que necesitábamos encontrar otros lenguajes para explorar los diferentes modos y momentos de la isla. En 2019 se organizó la “Residencia Isla Victoria: Arte-Ciencia-Naturaleza”, que convocó artistas e investigadores - principalmente de Patagonia - con el horizonte de construir colectivamente otros relatos de este territorio. La residencia - con duración de cuatro días - se realizó en 2019, 2020 y 2021 y en ella participaron, convivieron y crearon personas de las artes y las ciencias, provenientes desde la biología, las artes audiovisuales, artes visuales, artes de la escritura, antropología, cartografía y museología, entre otros. Se articularon los distintos saberes con talleres teórico - prácticos, lecturas, caminatas y exploraciones sensoriales en el territorio. Uno de los horizontes de las residencias fue crear obras artísticas que reflejaran los recorridos realizados. Estas producciones fueron compartidas con la comunidad local: se montó una exposición colectiva de artes visuales, presentada en 2019 en el Museo de la Patagonia y en el Centro Científico Tecnológico de Patagonia Norte, donde también acontecieron lecturas de poesías, simposios y recitales. En 2020 se realizó la primera publicación digital (LIV 2020). Las producciones - investigaciones producto de la residencia se organizaron en tres ejes: la reflexión sobre el espacio isla, sobre las representaciones de la naturaleza en Patagonia y, por último, las producciones investigaciones sobre la historia y devenires propios de la Isla Victoria. A partir de las residencias se realizaron producciones audiovisuales, intervenciones y creaciones de mapas, escrituras poéticas, intervenciones de archivos y producciones de objetos, entre otros. Algunos ejemplos son:

- La obra audiovisual “Un museo de árboles” de Maia Vargas (2020), inspirada en el arboreto de la Isla Victoria, trabaja con el archivo de los mapas del Museo de la Patagonia.
- La producción de mapas sonoros de la artista Ingrid Roddick y la intervención de mapas a través de SIG de Constanza Casalderrey y Gabriela Klier disponibles en el Fanzine (LIV 2020).
- El trabajo de Verónica Vides “Capa Modesta Victoria”, realizado con materiales reciclados que animó reflexiones sobre la contaminación y el antropoceno.
- La obra de Mariela Barrientos, “Cuerpo Isla: reanimar un cuerpo extraño”, que creó una escultura de la isla que expresa las capas históricas y de sentido del territorio. En esta dirección la obra textil de Analí Lacalle juega con el sentido de paisajes entramados a partir de tejer diferentes imágenes de la isla.
- La obra de Nazarena Mastronardi articula ilustraciones científicas con ficciones de laboratorio, dislocando la pregunta por las representaciones y el naturalismo (LIV 2020).

Muchas de estas producciones utilizan materiales de archivo, resignificándolos en la asociación con otros elementos. Cabe destacar que las personas de ciencias participantes también produjeron obra, generando nuevas prácticas, juegos y lenguajes. Otras obras parten de elementos naturales (tierras, plantas, piedras), que se encuentran como objetos poéticos. En estas búsquedas, la naturaleza de la isla fue también un elemento poético donde encontrar nuevos afectos, pensamientos y deseos.

PREGUNTAS QUE SE ABREN

En la relación entre artes y ciencias aparecen más preguntas que respuestas. Y quizás ese sea el desafío de las artes en general: suscitar preguntas y diferentes modos de experimentar. En este recorrido encontramos que la articulación entre artistas y científicos no solo es posible, sino que es capaz de promover, en términos de Haraway (2019), otros mundos habitables. Si desde el Renacimiento comienza una consolidación de ciencia y artes como campos separados, la crisis ambiental parece ser un tiempo para nuevos encuentros. La práctica artística - para personas de diferentes ámbitos - permitió aflorar otras sensibilidades que articulaban la historia personal de quienes participaban con la historia de la región, que acercaban lo personal, lo político y lo poético. Por ejemplo, indagando en torno a las valoraciones y afectos de las especies nativas y exóticas en diferentes momentos históricos. Estos debates entrelazaron historias políticas y familiares en torno a las valoraciones de la biodiversidad. Las artes y sus prácticas posibilitaron articular lo diverso, lo monstruoso, aquello que suele quedar al margen de las publicaciones en ciencias y aflora lo singular de las memorias ambientales. La participación de personas en experiencias de escucha, de dibujo o de lectura y escritura poética logró convocar otros registros de la isla que no estaban en la bibliografía: qué se siente al encontrar un ciervo, qué sueños aparecen con el sonido del lago, qué memorias familiares habitan la Isla Victoria. Estos registros hablan también de lo que es la biodiversidad: una multiplicidad de afectos, memorias y sentidos. A la vez, en las exhibiciones públicas se posibilitó el diálogo con personas (guardaparques, turistas, científicos) que gracias a la muestra compartieron diferentes experiencias de vida en la isla, aflorando entendimientos de su historia ambiental. Estos son puntos de partida para seguir indagando en torno a cómo las ciencias pueden encontrar horizontes comunes con las artes para construir espacios de producción, investigación y comunicación. Particularmente, frente a los bosques patagónicos, ¿cómo armar relatos co-construidos desde diferentes voces y sentidos para el cuidado ambiental? Este proyecto en proceso busca también compartir, desde una experiencia singular, la inquietud sobre cómo convocar afectivamente al cuidado ambiental, sosteniendo que la dimensión sensible es fundamental para las estrategias de conservación y convivencia con diferentes seres.

REFERENCIAS

- Adorno TW, M Horkheimer. 2007. *Dialéctica de la Ilustración*. Madrid, España. Trotta. 304 p.
- Anderson CB, AE Valenzuela. 2014. Do what I say, not what I do. Are we linking research and decision-making about invasive species in Patagonia? *Ecología Austral* 24(2): 133-264.
- Athayde S, J Silva-Lugo, M Schmink, A Kaiabi, M Heckenberger. 2017. Reconnecting art and science for sustainability: learning from indigenous knowledge through participatory action-research in the Amazon. *Ecology and Society* 22(2).
- Bowler PJ. 1998. *Historia Fontana de las Ciencias Ambientales*. México DF, México. Fondo de Cultura Económica. 468 p.
- Curtis DJ, N Reid, G Ballard. 2012. Communicating ecology through art: what scientists think. *Ecology and Society* 17(2): 3.
- Foucault, M. 1984. *Las palabras y las cosas: una arqueología de las ciencias humanas*. Planeta-Agostini. 281 p.
- Giraldo OF, I Toro. 2021. *Afectividad ambiental: sensibilidad, empatía, estéticas del habitar*. Campeche, México. El Colegio de la Frontera Sur. 178 p.
- Gould, SJ. 2010. *Érase una vez el zorro y el erizo: Las humanidades y las ciencias en el tercer milenio*. Barcelona, España. *Drakontos*. 334 p.
- Haraway D. 2019. *Seguir con el problema*. Buenos Aires, Argentina. Consonni. 368 p.
- Klier G. 2018. *Tiempos Modernos: un análisis sobre los discursos de la biología de la conservación*. Tesis doctoral en Biología. Buenos Aires, Argentina. Universidad de Buenos Aires. 201 p.
- Latour B. 2017. *Cara a cara con el planeta. Una nueva mirada sobre el cambio climático alejada de las posiciones apocalípticas*. Buenos Aires, Argentina. Siglo Veintiuno. 420 p.
- Leavy P. 2017. *Handbook of arts-based research*. Nueva York, EE.UU. Guilford Publications. 738 p.
- LIV (Laboratorio Isla Victoria, AR). 2020. *Fanzine Laboratorio Isla Victoria*. Consultado abr. 2021. Disponible en <https://laboratorioislavictoria.tumblr.com/fanzine1>.
- Max-Neef M. 2005. Foundations of transdisciplinarity. *Ecological Economics* 53: 5-16.
- Merlinsky G, P Serafini. 2019. *Arte y resistencias al extractivismo en Argentina. Lenguajes para defender y reinventar lo común*. *Ecología Política* 81.
- Navarro Floria P. 2004. *Patagonia ciencia y conquista*. Neuquén, Argentina. Educo. 176 p.
- Núñez M, PG Núñez. 2008. *Naturaleza construida. Una revisión sobre la interpretación del paisaje en la zona del Nahuel Huapi*. 3as Jornadas de Historia de la Patagonia San Carlos de Bariloche. San Carlos de Bariloche, Argentina. Consultado abr. 2021. Disponible en <http://www.hechohistorico.com.ar/Trabajos/Jornadas%20de%20Bariloche%20-%202008/N%C3%BA%C3%B1ez-N%C3%BA%C3%B1ez.pdf>.
- Pröpper M. 2017. Sustainability science as if the world mattered: Sketching an art contribution by comparison. *Ecology and Society* 22(3): 31.
- Rathwell KJ, D Armitage. 2016. Art and artistic processes bridge knowledge systems about social-ecological change: An empirical examination with Inuit artists from Nunavut, Canada. *Ecology and Society* 21(2). DOI: <https://doi.org/10.5751/ES-08369-210221>
- Rivera Lopez F, F Wickson, VH Hausner. 2018. Finding CreativeVoice: Applying arts-based research in the context of biodiversity conservation. *Sustainability* 10(6): 1778.
- Sarkar S. 2005. *Biodiversity and Environmental Philosophy: An Introduction*. Cambridge, UK. Cambridge University Press. 280 p.
- Taylor P, FH Buttel. 1992. How do we know we have global environmental problems? Science and the globalization of environmental discourse. *Geoforum* 23(3): 405-416.
- Van Dooren T. 2014. *Flight Ways: Life and Loss at the Edge of Extinction*. New York, EEUU. Columbia University Press. 208 p.
- Vargas M. 2021. *Un museo de árboles*. Consultado abr. 2021. Disponible en <https://vimeo.com/438592152>.
- Vargas M, G Klier. 2021. Representaciones de Naturaleza en Isla Victoria. *Aisthesis* 69: 259-280. DOI: <https://doi.org/10.7764/69.12>
- Westley F, M Scheffer, C Folke. 2015. Reconciling art and Science for sustainability. Consultado 09 ene. 2020. Disponible en <https://www.ecologyandsociety.org/issues/view.php?sf=112>.
- Wynne B. 2004. ¿Pueden las ovejas pastar seguras? Una mirada reflexiva sobre la separación entre conocimiento experto-conocimiento lego. *Revista Colombiana de Sociología* 23: 109-157.

Recibido: 02.04.21
Aceptado: 20.07.22

Cooperación interinstitucional para desarrollar un nuevo enfoque hidrológico forestal para apoyar la silvicultura sostenible en Chile

Inter-institutional cooperation to develop a new forest hydrological approach to support sustainable forestry in Chile

Francisco Balocchi ^{a,b,*}, José Luis Arumí ^{b,c}, Andrés Iroumé ^d

*Autor de correspondencia: ^a Bioforest SA, Ecosistema, Productividad y Cambio Climático, camino a Coronel s/n km 15, Coronel, Chile, francisco.balocchi@arauco.com/frabalocchi@udec.cl

^b Universidad de Concepción, Programa de Doctorado en Recursos Hídricos y Energía para la Agricultura, Chillán, Chile.

^c Universidad de Concepción, Facultad de Ingeniería Agrícola, Departamento de Recursos Hídricos, Centro FONDAP CRHIAM, avenida Vicente Méndez 595, Chillán, Chile.

^d Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales, Valdivia, Chile.

SUMMARY

There are more than 4 billion hectares of forests in the world, which corresponds to 31 % of the surface of our planet. In Chile, 17 million ha of forests cover the country where more than 3 million correspond to plantations. The role of vegetation cover in the dynamics of precipitation, in the generation of runoff and in the protection and conservation of degraded land is known. This cover plays an important role in the hydrological cycle and its balance, especially in the north central zone to the south. A new impulse is required in research, both from the Government and the private sector, as well as reformation to public policies, thus articulating research in forest hydrology with an imperative sense of integrality. Therefore, this document presents a proposal for the development of research in forest hydrology with an integral and decentralization approach. Highly capable scientific human capital in Chile, organized in geographically defined nuclei, would be capable of answering relevant research questions in forest hydrology that would support public policies based on scientific evidence. All this, under the auspices of a technical integrating entity to allow a fluid conversation and discussion of the actors of the forestry sector, both in research matters and in the generation of public policies from an integral and multidisciplinary perspective at the catchment level.

Keywords: water resources, plantations, native forest, stakeholders, forest hydrology.

RESUMEN

Las más de 4 mil millones de hectáreas de bosques en el mundo corresponden al 31 % de la superficie planetaria. Chile posee 17 millones de hectáreas de bosques y más de 3 millones corresponden a plantaciones. El rol de la cobertura vegetal en la dinámica de la precipitación y en la generación de escorrentía, y en la protección y conservación de suelos degradados, es conocido. Esta cobertura juega un papel importante en el ciclo hidrológico y su balance, especialmente desde la zona centro norte al sur. Se requiere de un nuevo impulso en las investigaciones, tanto desde el Estado como del sector privado, así como la reforma de las políticas públicas, articulando las investigaciones en hidrología forestal con un imperativo sentido de integralidad. Este documento presenta una propuesta de desarrollo de la investigación en hidrología forestal con un enfoque de integralidad y descentralización, cuyo sustento es la alta capacidad del capital humano científico en Chile, que organizándose en núcleos definidos geográficamente sería capaz de responder las principales preguntas de investigación en hidrología forestal para sustentar políticas públicas basadas en evidencia científica. Todo esto, bajo el alero de un ente integrador técnico que permita una conversación y discusión fluida de los actores del sector forestal, tanto en materias de investigación como en la generación de políticas públicas, desde una mirada integral y multidisciplinaria a nivel cuenca.

Palabras clave: recursos hídricos, plantaciones, bosque nativo, tomadores de decisión, hidrología forestal.

INTRODUCCIÓN

Las primeras cuencas experimentales establecidas para estudiar el efecto del bosque en la hidrología se implementaron a comienzos del 1850 (Andreassian 2004), debido a la observación de que el bosque podía modificar el clima, y

con ello el caudal. Luego de décadas de investigación, esta preocupación sigue vigente, ya que no solo es necesario saber cómo el bosque influye en el caudal, sino que también es necesario saber cuánto y cómo condiciones entre cuencas, clima, y diferentes tipos de bosque y su manejo afectan los cambios (e.g. Pinchot 1905). A lo anterior se suma la

dinámica del cambio global (cambios en el uso del suelo, agua y clima), que se ha acelerado en las últimas décadas y que crecientemente estresa los procesos hidrológicos, que obliga a una visión a largo plazo en cuanto a mediciones en campo y con ello la ciencia detrás para su análisis. Los efectos del cambio climático en la hidrología pueden alterar el retorno financiero de plantaciones, pero principalmente la escasez de agua que impactaría a las comunidades locales.

En Chile, la primera mención del efecto de los bosques y las lluvias se encuentra en una Carta que Lord Cochrane envió a Bernardo O'Higgins en 1820 luego de liberar Valdivia. Pero, los estudios relacionados con la hidrología forestal comienzan en el siglo XX (Cabaña-Chávez *et al.* 2013) y desde entonces se han intensificado (Jones *et al.* 2016). Posteriormente, Jones *et al.* (1975) publican el primer artículo científico que presenta y discute el caudal de tres cuencas pequeñas en Chile Central. La época de mayor productividad científica fue el año 2021 con 13 estudios relacionados con la producción de agua y plantaciones, y producción de sedimentos desde cuencas forestales. Se suman a lo anterior los esfuerzos de la Unidad de Cuencas de la Corporación Nacional Forestal (CONAF) con el plan de ordenación de cuencas en Magallanes en 1974, los proyectos CONAF-JICA, CONAF-DF-ID (modelo SHERTRAN), y algunas cuencas experimentales de mediados de 1995 (Cabaña-Chávez *et al.* 2013). Estos estudios fueron financiados principalmente por programas de las Naciones Unidas como la FAO, PNUD y CEPAL, y el Banco Interamericano de Desarrollo (BID), además del apoyo de organizaciones nacionales como la Dirección General de Aguas (DGA) y la Comisión Nacional del Medio Ambiente (CONAMA), y organizaciones internacionales como la German Technical Cooperation, la Overseas Development Agency de Gran Bretaña.

A pesar de que el sector forestal es la segunda actividad económica más importante en Chile, que aporta 4,9 mil millones de pesos al PIB y con 3,1 millones de hectáreas plantadas entre las regiones de O'Higgins y Los Lagos (INFOR 2021), no existe financiamiento público o líneas de investigación ligadas directamente con la hidrología forestal. El Instituto Forestal (INFOR), institución de investigación dependiente del Ministerio de Agricultura y su programa Agua y Bosque, es la única institución que aborda la hidrología forestal desde lo público, no universitario.

Uno de los pocos ejemplos de concursos orientados al sector forestal es el Fondo de Investigación por el Bosque Nativo (FIBN) de la CONAF. Con montos bajos y plazos acotados, que no permiten mantener proyectos de largo plazo como son los estudios hidrológicos. Otros programas nacionales como el Fondo de Financiamiento de Centros de Investigación en Áreas Prioritarias (FONDAP) y Centros I+D de la Corporación de Fomento de la Producción (CORFO) apuntan a otras actividades productivas como la agricultura y la minería, pero no han incluido el sector forestal. Es posible que esto se deba a que la cobertura forestal no necesita de derechos de aguas, por lo

tanto, desde la mirada nacional, deja de ser atractivo, a pesar de la influencia de los bosques en el ciclo hidrológico. Además, sería importante incluir al sector forestal, porque influye en otros servicios ecosistémicos y, por lo tanto, puede incidir en la sostenibilidad de los territorios y sus conflictos sociales.

Al no existir un fondo público específico, desde la necesidad de conocer el efecto de las plantaciones en el ciclo hidrológico y también desde los requerimientos de las certificaciones forestales, el sector privado ha financiado programas de investigación. Por ejemplo, Forestal Arauco a través de Bioforest, posee una red de 16 cuencas experimentales entre las regiones del Maule y de Los Ríos, en donde algunas de ellas se monitorean desde el año 2008 (Balocchi *et al.* 2021). Forestal Mininco posee 18 cuencas experimentales localizadas en las comunas de Nacimiento, Los Ángeles, y Coronel. Algunas de estas cuencas se monitorean desde el año 2008 y se encuentran principalmente cubiertas con plantaciones forestales (*e.g.* Iroumé *et al.* 2021). Finalmente, MASISA inició el año 2008 el monitoreo de 6 cuencas forestales, programa que actualmente se ha discontinuado. Desde el sector privado, la información recogida se debería compartir, analizar y evaluar con el fin de generar una discusión compartida aunando esfuerzos con la comunidad, la academia, el sector privado, y el Estado.

Ha existido una fragmentación de estudios en el país, con diferentes objetivos y no se ha buscado complementariedad y/o sinergias entre las instituciones. Además, la inversión estatal en investigación en hidrología forestal no posee un correlato con la importancia del sector. Si bien en el año 2017-2018 la entonces Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT, hoy la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo de Chile, ANID) definió entre sus ejes estratégicos al área de los recursos hídricos como prioritarios, una búsqueda en su base de datos (ANID, 2021) utilizando palabras claves como hidrología, erosión, uso de suelo, recursos hídricos, sedimentos, cambio de uso, plantaciones, pino insigne y eucalipto, arrojó que entre el 2001 y 2019 se adjudicaron 32 proyectos asociados a estas palabras clave de un total de 23.383 proyectos aprobados (se incluyeron todos los instrumentos CONICYT/ANID). Sin embargo, el plazo de estos proyectos es acotado, generando la necesidad de aumentar el horizonte con el fin de recolectar la mayor cantidad de información y variabilidad del sitio en estudio y evaluar el efecto del cambio climático a largo plazo (Garreaud *et al.* 2020).

La relevancia del sector forestal en nuestro país con respecto a la producción y conservación de agua para consumo humano es poco conocida o desestimada. Un análisis realizado con la ubicación de las captaciones de Agua Potable Rural (APR) en las regiones de la Araucanía y Los Lagos (información solicitada por la Ley 20285 de Acceso a la Información Pública) sobrepuestas sobre el mapa de usos de Zhao *et al.* (2016) de 287 captaciones (superficiales y subterráneas), determinó que el 41 % de las ubicaciones de APR se encuentra en cuencas con algún

uso con cobertura vegetal no agrícola (matorral, bosque nativo, plantaciones y praderas). Otro ejemplo de lo anterior es el de Forestal Arauco, que mantiene en sus predios alrededor de 1.200 captaciones y estructuras anexas (879 de estas captaciones son superficiales) distribuidas en su patrimonio, abasteciendo alrededor de 630.000 personas y donde es la propia empresa que facilita su gobernanza. Forestal Mininco, por otro lado, administran 352 bocatomas a lo largo de su patrimonio. Aun así, el sector forestal no está considerado en las discusiones de políticas públicas, y participa de forma esporádica y no activamente de las acciones gubernamentales, a pesar de su disponibilidad para integrarse a estas discusiones. Por ejemplo, Nuñez (2004) estimó un valor entre \$11 - \$25 el m³ de agua desde la cuenca de Llancahue, en Valdivia, cubierta principalmente de bosque nativo, lo que se traduce en \$74.971 - \$170.389 por ha de bosque nativo. Por otro lado, en muy pocas de las diversas mesas del agua existentes participan representantes del sector forestal. Un caso de lo anterior es la Mesa Nacional del Agua (MOP 2019), en donde no participa el sector forestal a pesar de la importancia, rol e influencia de la cobertura vegetal en el ciclo hidrológico. Tampoco participan miembros de la sociedad civil relacionados con el recurso hídrico, ni universidades o centros de excelencia, encontrándose una alta participación de gremios productivos principalmente ligados al sector agrícola (*e.g.* Juntas de Vigilancia). Entonces, existe una desconexión de la ciencia (revisada por pares) desde el sector forestal con el Estado e incluso desde la misma ciencia con el sector.

Se debe destacar el capital humano presente en el país con investigadores altamente capacitados. Esta capacidad abre la posibilidad de lograr mayor eficacia y eficiencia en el impacto de la ciencia. Hoy existe una serie de temáticas similares abordadas por diferentes universidades o centros de investigación, pero es poco común que se aúnen esfuerzos relacionados con la hidrología forestal.

El sector forestal público y privado tiene un rol relevante en la adaptación al cambio climático, la provisión de agua y otros múltiples servicios ecosistémicos en Chile. Si bien por ahora, no hay conflictos entre usuarios con derechos de aguas, desde la protección del suelo y de los recursos hídricos, los servicios ecosistémicos y lo social, hacen sumamente relevante que el sector sea parte de las discusiones y de las políticas públicas. Así, es necesario que este sector participe activamente y con investigaciones diseñadas para construir una agenda efectiva de políticas públicas.

La preocupación por parte de las comunidades sobre la provisión de agua y el cambio climático, la apertura de actores clave (*i.e.* privados), un cambio de gobierno, y el desarrollo de importantes investigaciones parecen hacer de este un momento crítico para abordar los problemas del agua y su relación con la cobertura vegetal en Chile. Por ejemplo, lo reportado por Pizarro *et al.* (2022) en grandes cuencas donde el uso mixto de cobertura vegetal (bosque nativo y plantaciones) parece ser una alternativa viable frente al cambio climático, o que, en un ejercicio de

modelación, las diferencias entre caudales de escenarios de bosque nativo pristino y plantaciones son mínimas (Gimeno *et al.* 2022).

Todos estos factores mencionados abren la necesidad y oportunidad para un nuevo enfoque hidrológico forestal. La situación es muy adecuada para adoptar un enfoque de gestión adaptativa con la participación de todos los sectores: ciencia, industria, gobierno, comunidades y organizaciones no gubernamentales.

PROPUESTA DE UNA INVESTIGACIÓN DESCENTRALIZADA Y COOPERATIVA

Dada la experiencia de la hidrología forestal nacional, se hace necesario hacer ciencia coordinada, aprovechando el capital humano avanzado presente en universidades, centros de investigación y el sector privado. Existen sitios de estudio en Chile en donde se puede hacer investigación multidisciplinaria y con ello aportar a la discusión del efecto de la cobertura vegetal sobre los recursos hídricos. Sin embargo, esto conlleva a un compromiso tanto de los investigadores como del Estado, por cuanto estos estudios son de largo plazo y necesitan financiamiento. Un ejemplo interesante es la red de bosques y cuencas experimentales establecidos por Estados Unidos (EE. UU.) en los primeros años del siglo XX, donde desde los años 1930s se han realizado múltiples experimentos a largo plazo y a escala de cuencas para analizar y evaluar los efectos de diversas prácticas forestales en la hidrología (Lugo *et al.* 2006, Adams *et al.* 2008). Desde 1980, los bosques experimentales del Servicio Forestal han recibido financiamiento del programa LTER de la National Science Foundation de los EE. UU. (Lugo *et al.* 2006), lo que permitió agregar estudios detallados de clima, suelo y cambios de vegetación y sus efectos (Peters *et al.* 2011), disponibles a la sociedad (USDA-FS 2021).

En Chile, dado que existen variadas cuencas en estudio, una red de cooperación interinstitucional formal parece ser una buena estrategia (ejemplos de éxito en EE. UU. se describen en Driscoll *et al.* 2012 y Swanson *et al.* 2021). Esta red concentraría a los investigadores que se encuentran cercanos a los sitios de estudio, descentralizando las investigaciones en determinadas universidades, pero sin perder la cooperación. Además, esto permitiría centralizar el rescate de datos hidrológicos en una única plataforma con el fin de globalizar datos y estudios, como lo es, por ejemplo, la red experimental de cuencas del United States Department of Agriculture - Agricultural Research Service (Goodrich *et al.* 2021). Luego, sería posible extender el conocimiento generado para aportar a la creación de políticas públicas y nuevos programas de investigación. Esta red, sumado a la ya reconocida experiencia de la ciencia chilena, creemos que pueden promover nuevos bríos en la investigación hidrológica nacional. Para ello, debiese existir un foco inicial en (i) cantidad de agua y su relación con las diferentes coberturas y (ii)

calidad de agua como punto de partida, desde una mirada multidisciplinaria. Esto permitiría obtener resultados no solo para políticas públicas, sino que para la comunidad y sector privado, con el fin de garantizar un balance con respecto a la captura de carbono, provisión de agua y de productos forestales (*i.e.* pulpa).

Sin embargo, es necesario crear un ente integrador técnico que permita una conversación y discusión fluida de los actores del sector forestal, tanto en materias de investigación como en la generación de políticas públicas desde una mirada integral y multidisciplinaria a nivel de cuenca. Su mayor foco sería la investigación en el sector forestal, por lo tanto, debiera depender del Ministerio de Ciencia y Tecnología. Este ente debería ser capaz de traducir los resultados de la investigación a recomendaciones o incentivar la discusión informada de futuras políticas públicas. Un caso similar, que puede ser un ejemplo, es el Cooperative Research Centre for Catchment Hydrology establecido en Australia en los años noventa y cuyo fin fue crear un sistema de apoyo para decisiones en la hidrología con foco en la cuenca. Además de la creación de este ente, se debería crear un consejo consultivo integrado por los usuarios del agua, es decir, sociedad civil, empresas sanitarias, empresas forestales, universidades y el Estado, a través de la ANID o de la CORFO, y de los diferentes estamentos públicos que tienen relación con los recursos hídricos.

El financiamiento debería venir de variadas fuentes, pero principalmente desde el sector público. Actualmente, el sector privado posee líneas propias de investigación en hidrología forestal autofinanciadas. Por lo tanto, debería existir una interacción entre financiamiento público (desde la ANID o desde CORFO) con el fin de evitar la duplicidad de esfuerzos.

CONCLUSIONES

Existe en Chile una capacidad instalada de investigadores de alto nivel. Sin embargo, la investigación no tiene una guía clara del Estado, por lo que es difícil aportar a la discusión de políticas públicas sin un eje nacional definido. Tampoco se visualiza una estrategia desde los investigadores que ayude al Estado a definir materias específicas para un territorio sustentable. Así, se presenta una recomendación de acción para poder incentivar el apoyo del Estado a la investigación ligada a la hidrología forestal, además de una estrategia con respecto a cómo se pueden desenvolver espacialmente las diferentes instituciones, sin perder la cooperación interinstitucional. Creemos que esto es posible hacerlo en Chile con (i) la formalización de experimentos a largo plazo en las empresas forestales y grupos públicos y privados con patrimonio para estudiar la interacción de las coberturas vegetales en el ciclo hidrológico, con (ii) la capacidad para diseñar e implementar proyectos de investigación con el apoyo de la academia en conjunto con el sector privado, la comunidad (entregando herramientas y educando con respecto al rol

de la cobertura vegetal), el Estado (ANID) y las ONGs, y (iii) el Estado, el cual tiene la capacidad de promulgar leyes basadas en los resultados de cooperación aquí propuestos. Esto conlleva a la creación de un ente integrador de las investigaciones que sea capaz de comunicarse con la academia y los tomadores de decisión para una gobernanza del agua integrada e informada.

AGRADECIMIENTOS

A la ANID por la Beca ANID-PFCHA/Doctorado Nacional/2021-21210861 y ANID/FONDAP/15130015. A los dos revisores anónimos, por sus aportes que ayudaron a mejorar el presente documento.

REFERENCIAS

- Adams MB, L Loughry, L Plaugher. 2008. Experimental Forests and Ranges of the USDA Forest Service. United States Department of Agriculture Forest Service. Northeastern Research Station. General Technical Report NE-321 Revised. Newtown Square, Pennsylvania, USA. 178 p. DOI: <https://doi.org/10.2737/NE-GTR-321>.
- Andréassian V. 2004. Waters and forests: from historical controversy to scientific debate. *Journal of hydrology* 291(1-2): 1-27.
- ANID (Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo, CL). Repositorio ANID GITHUB. Consultado may. 2021. Disponible en <https://github.com/ANID-GITHUB>.
- Balocchi F, DA White, RP Silberstein, P Ramírez de Arellano. 2021. Forestal Arauco experimental research catchments; daily rainfall-runoff for 10 catchments with different forest types in Central-Southern Chile. *Hydrological Processes* 35(4): e14047. DOI: <https://doi.org/10.1002/hyp.14047>.
- Cabaña Chávez C, M Benavides Silva, N Pizarro Núñez. 2013. CONAF su historia y rol en el desarrollo forestal y ambiental de Chile, 1972-2013. Santiago, Chile. CONAF (Corporación Nacional Forestal, CL). 382 p.
- Driscoll CT, KF Lambert, FS Chapin III, DJ Nowak, TA Spies, FJ Swanson, DB Kittredge, CM Hart. 2012. Science and society: The role of long-term studies in environmental stewardship. *BioScience* 62(4): 354-366.
- Garreaud RD, JP Boisier, R Rondanelli, A Montecinos, HH Sepúlveda, D Veloso-Aguila. 2020. The Central Chile mega drought (2010–2018): A climate dynamics perspective. *International Journal of Climatology* 40(1): 421-439. DOI: <https://doi.org/10.1002/joc.6219>
- Goodrich DC, P Heilman, M Anderson, C Baffaut, J Bonta, D Bosch, R Bryant, M Cosh, D Endale, TL Veith, SC Havens, A Hedrick, PJ Kleinman, EJ Langendoen, G McCarty, T Moorman, D Marks, F Pierson, JR Rigby, H Schomberg, P Starks, J Steiner, T Strickland, T Tsegaye. 2021. The USDA-ARS Experimental Watershed Network: Evolution, Lessons Learned, Societal Benefits, and Moving Forward. *Water Resources Research* 57(2): e2019WR026473. DOI: <https://doi.org/10.1029/2019WR026473>
- INFOR (Instituto Forestal, CL). 2021. Anuario Forestal 2021. 274 p. (Boletín Estadístico N°180).
- Jones J, A Almeida, F Cisneros, A Iroumé, E Jobbágy, A Lara, W de Paula Lima, C Little, C Llerena, L Silveira, JC Villegas.

2016. Forests and water in South America. *Hydrological Processes* 31(5): 972-980. DOI: <https://doi.org/10.1002/hyp.11035>
- Jones M, PF Ffolliott, WO Rasmussen. 1975. Precipitation & Streamflow on 3 Small Chilean Watersheds. *Progressive Agriculture in Arizona* 27(1): 13-16.
- Lugo AE, FJ Swanson, OR González, MB Adams, B Palik, RE Thill, DG Brockway, C Kern, R Woodsmith, R Musselman, 2006. Long-term research at the USDA Forest Service's experimental forests and ranges. *BioScience* 56(1): 39-48.
- MOP (Ministerio de Obras Públicas, CL). 2019. Mesa Nacional del Agua. Santiago, Chile. Consultado 13 sept. 2022. Disponible en <https://www.mop.cl/MesaAgua/index.html>
- Núñez D. 2004. Valoración económica del servicio ecosistémico de producción de agua del bosque de la cuenca de Llancahue, Décima Región. Tesis Magíster en Desarrollo Rural. Valdivia, Chile. Facultad de Ciencias Agrarias y Facultad de Filosofía y Humanidades, Universidad Austral de Chile. 182 p.
- Peters DP, AE Lugo, FS Chapin III, ST Pickett, M Duniway, AV Rocha, FJ Swanson, C Laney, J Jones. 2011. Cross-system comparisons elucidate disturbance complexities and generalities. *Ecosphere* 2(7): 1-26.
- Pinchot G. 1905. A primer of forestry. Washington, DC. Bureau of Forestry, United States Department of Agriculture, Government Printing Office. 48 p. (Bulletin N°24).
- Pizarro R, R Valdés-Pineda, PA Garcia-Chevesich, A Ibáñez, J Pino, DF Scott, DG Neary, JE McCray, M Castillo, P Ubi-lla. 2022. The large-scale effect of forest cover on long-term streamflow variations in mediterranean catchments of central Chile. *Sustainability* 14(8): 4443. DOI: <https://doi.org/10.3390/su14084443>
- Swanson FJ, DR Foster, CT Driscoll, JR Thompson, LE Rustad. 2021. How LTER Site Communities Can Address Major Environmental Challenges. The Challenges of Long Term. *Ecological Research: A Historical Analysis* 59: 223-241.
- USDA-FS (United States Department of Agriculture, UU. EE.). 2021. Experimental Forests and Ranges. Consultado may. 2021. Disponible en <https://www.fs.usda.gov/research/forestsandranges>.
- Zhao Y, D Feng, L Yu, X Wang, Y Chen, Y Bai, HJ Hernández, M Galleguillos, C Estades, GS Biging, P Gong. 2016. Detailed dynamic land cover mapping of Chile: Accuracy improvement by integrating multi-temporal data. *Remote Sensing of Environment* 183: 170-185. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rse.2016.05.016>

Recibido: 22.05.21
Aceptado: 01.07.22

ARTÍCULOS

Factores de manejo en vivero que influyen sobre crecimiento y supervivencia de *Pinus douglasiana* en México

Nursery management factors that influence growth and survival of *Pinus douglasiana* in Mexico

Rosario Marilu Bernaola-Paucar ^{}, Bayron Ruiz-Blandon ^b,
Eduardo Salcedo-Pérez ^b, Isidro Zapata-Hernández ^b**

*Autor por correspondencia: ^a Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, Facultad de Ingeniería, Escuela Ingeniería Forestal y Medio Ambiente, Puerto Maldonado, Perú, rosario_forest@yahoo.com

^b Universidad de Guadalajara, Centro Universitario Ciencias Biológicas y Agrarias, Posgrado BEMARENA, Zapopan, México.

SUMMARY

Pinus douglasiana is a fast-growing endemic species of Mexico, which is one of the most used in reforestation programs in western Mexico due to its importance in forest areas; however, it is one of the least documented. Therefore, the objective of this research was to evaluate the effect of container volume, supplemented fertilization and the irrigation regime in the nursery, on morphological and physiological variables and survival in the field. In the nursery, 750 12-month-old plants were selected, which were transplanted and subjected to three evaluation factors (container volume, fertilization and irrigation), having 8 treatments. In the field phase, 496 nursery-grown plants of the same treatments were established, following the completely randomized block model, with a 2³ factorial arrangement. The main factor that significantly affected most of the variables evaluated was container volume. Most of the morphological and physiological variables decreased as container volume decreased. Factor interactions have more significant effects than those presented individually. Finally, it was found that *P. douglasiana* cultivated in five-liter containers, without additional fertilization and without continuous irrigation for six months in the nursery presented the highest percentage of survival one year after their establishment in the field (88 %).

Keywords: container volume, fertilization effect, irrigation effect, plant quality.

RESUMEN

Pinus douglasiana es una especie endémica de México, de rápido crecimiento la cual es una de las más empleadas en los programas de reforestación en el occidente de México por su importancia en las áreas forestales; sin embargo, es una de las menos documentadas. Por lo que, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del volumen de contenedor, la fertilización suplementada y el régimen de riego en vivero, sobre variables morfológicas, fisiológicas y la supervivencia en campo. En vivero se seleccionaron 750 plantas de 12 meses de edad, las cuales fueron trasplantadas y sometidas a tres factores de evaluación (volumen de contenedor, fertilización y riego) teniendo 8 tratamientos. En la fase de campo se establecieron 496 plantas cultivadas en vivero de los mismos tratamientos, siguiendo el modelo en bloques completamente al azar, con arreglo factorial 2³. El principal factor que afectó significativamente a la mayoría de las variables evaluadas fue el volumen de contenedor. La mayoría de las variables morfológicas y fisiológicas disminuyeron a medida que disminuyó el volumen del contenedor. Las interacciones de factores tienen efectos más significativos que de manera individual. Finalmente se encontró que *P. douglasiana* cultivada en contenedores de cinco litros, sin fertilización adicional y sin riego continuo durante seis meses en vivero, presentó el mayor porcentaje de supervivencia a un año de su establecimiento en campo (88 %).

Palabras clave: volumen de contenedor, efecto de fertilización, efecto de riego, calidad de planta.

INTRODUCCIÓN

La reforestación constituye una alternativa prioritaria para la recuperación de la cubierta vegetal, vital para seres humanos y la cual a su vez contribuye a recuperar funcionalidad y servicios ecosistémicos de cuencas y paisajes a

través de la conservación, restauración y aprovechamiento sustentable del patrimonio natural (CONEVAL 2019). Son numerosos los esfuerzos de diversos sectores públicos y privados para reforestar. Sin embargo, no han sido suficientes para lograr los resultados esperados. En México entre los años del 2010 al 2018, se reforestaron cerca de

175 mil hectáreas por año (CONAFOR 2019), pero de acuerdo con la CONEVAL (2019), los porcentajes de supervivencia de coníferas en México son menores al 50 %. Dentro de las coníferas, el género *Pinus* es uno de los que presenta mayores problemas de manejo y adaptación para lograr una mayor supervivencia y reforestación exitosa (Céspedes y Moreno 2010, CONAFOR 2019).

La problemática antes mencionada es resultado de numerosos y diversos factores que afectan la supervivencia: 1) la calidad morfológica y fisiológica de la planta, 2) el sistema de producción y de manejo en los viveros forestales, 3) las reservas óptimas nutrimentales, 4) la hidratación y tolerancia a la sequía, 5) el manejo durante el transporte, 6) las condiciones edafoclimáticas de cada sitio, y 7) el método de plantación, seguimiento y manejo de post plantación por los primeros tres años, los cuales han sido mencionados de una u otra manera por diversos autores (Bernaola *et al.* 2015, Céspedes y Moreno 2010, Grossnickle y MacDonald 2017). Dentro de los atributos morfológicos que promueven la supervivencia de las plantas está la altura, el diámetro y desarrollo radical (Grossnickle y MacDonald 2017), así como el volumen de contenedor el cual influye de manera significativa (South *et al.* 2005, Bernaola *et al.* 2015). Por tanto, es probable que el volumen del contenedor refleje importantes cambios en la supervivencia sobre todo en sitios con condiciones ambientales poco favorables.

La etapa de preacondicionamiento en vivero consiste en el trasplante a contenedores de mayor volumen, modificar la dosis de fertilización y disminuir la cantidad de agua suministrada, lo cual permite incrementar la biomasa de la planta, y generar resistencia ante el estrés hídrico y una mayor lignificación (Salcedo *et al.* 2012), con la finalidad de mejorar la calidad de planta e incrementar el porcentaje de supervivencia en campo (Bernaola *et al.* 2015). Jeong *et al.* (2010) mencionan que el volumen del contenedor y la estimulación de la aplicación de fertilizantes presentaron un efecto significativo sobre el crecimiento morfológico de *Pinus densiflora* Siebold y Zucc y *Pinus thunbergii* Thunb, en comparación con las plántulas sin fertilización. Por otro lado, Alva *et al.* (2020), en la evaluación de tratamientos inducidos a de estrés hídrico, encontraron que este influyó negativamente en el desarrollo morfológico de las plantas.

En este sentido, al ser *Pinus douglasiana* (Martínez) una especie endémica de México y a la vez ser considerada de rápido crecimiento, es ampliamente utilizada en programas de reforestación (Céspedes y Moreno 2010). Sin embargo, presenta un porcentaje de supervivencia en campo menor al 50 % (CONEVAL 2019), esto debido a que se desconocen los efectos que se pueden presentar en las plantas y su respuesta en campo al emplear las prácticas de preacondicionamiento o de manejo en vivero tales como el volumen de contenedor, la fertilización y el riego sobre su desarrollo. Con base en lo anterior, se planteó como objetivo evaluar el efecto del volumen de contenedor, la fertilización suplementada y el régimen de riego en vivero, sobre variables morfológicas, fisiológicas y la supervivencia en

campo. A partir de la hipótesis que la calidad morfológica de las plantas y el porcentaje supervivencia en campo está dada por la interacción de los factores de manejo en vivero, más que por el efecto individual de cada factor, por lo tanto, el presente estudio es el primero que considera el efecto combinado de factores contrastantes en vivero sobre el crecimiento y supervivencia en campo de *P. douglasiana*.

MÉTODOS

Etapa de vivero. Ésta se realizó en el “Vivero Forestal Valle de Ameca S. P. R. de R.L.”, localizado a 20° 33' N y 104° 3' W, a una altitud de 1.235 m s.n.m. en Ameca, Jalisco, México. Presenta un clima semi cálido sub-húmedo con lluvias en verano de humedad media, temperatura anual de 20,7 °C y una precipitación anual de 924 mm (IIEG 2018).

Se utilizaron plántulas de *P. douglasiana* de 12 meses de edad producidas en charolas de poliestireno de 60 cavidades (0,165 L por cavidad). Las plantas fueron cultivadas siguiendo los protocolos establecidos en vivero para esta especie, bajo condiciones de sombra malla del 50 %, la fórmula de fertilización (N-P-K) en la fase de crecimiento inicial fue 7-40-17 (primeros 5 meses), en desarrollo se utilizó la 20-7-19 (4 meses siguientes), y una para finalizar 4-25-35 (últimos 3 meses). Al término de estos doce meses las plantas presentaron las características que se muestran en el cuadro 1.

Posteriormente, dichas plántulas fueron trasplantadas y sometidas a tres factores de estudio durante la fase de preparación en el mismo vivero antes de salir a campo: volumen de contenedor, fertilización y régimen de riego. Todas las plantas recibieron manejo, pero solo algunas fueron sometidas al preacondicionamiento (sin fertilización y sin riego continuo).

Factor 1: volumen de contenedor de 1 y 5 (L). Se utilizaron 750 plántulas de 12 meses, las cuales fueron trasplantadas a contenedores de uno y cinco litros seleccionadas de manera aleatoria. Las características de los contenedores son: material de polipropileno de color negro de dos volúmenes contrastantes (1 y 5 L), el de 1 L tiene una altura de 18,5 cm, 10,7 cm de diámetro superior y 8,2 cm de diámetro inferior (C1), el contenedor de 5 L mide 45 cm de alto, 17,8 cm de diámetro superior y 14,5 cm de diámetro inferior (C5).

El sustrato empleado para el trasplante en los contenedores consistió en una mezcla de turba de musgo (30 %), corteza de pino (70 %) y Multicote™ 24-12-6-(4) (6 kg m⁻³), el cual presentó una porosidad total de 89 %, porosidad de aireación de 11 %, capacidad de retención de agua del 78 %, tamaño de partícula (diámetro medio ponderado) de 2 a 3,36 mm y una densidad aparente de 0,18 g cm⁻³. La caracterización química del mismo se presenta en el cuadro 2. De manera preventiva, al sustrato se le aplicó un fungicida de amplio espectro (BUSAN 30 WB, TCMTB-tiacinometiltio-benzotrazol), con la finalidad de prevenir daños por patógenos.

Factor 2: fertilización adicional (F) y sin fertilización adicional (SF). El efecto de la fertilización se evaluó partiendo de que todas las plantas trasplantadas ya contenían una carga nutrimental otorgada por el Multicote™ 24-12-6-(4) (6 kg m⁻³) incluido en la mezcla del sustrato. El efecto de la fertilización se evaluó en dos tratamientos en contenedores de 1 y 5 L.

El primer tratamiento con fertilización adicional (F), consistió en la aplicación de una solución compuesta por nitrato de magnesio (40 g), nitrato de calcio (40 g), fosfato monopotásico (50 g), nitrato de potasio (50 g), urea (40 g) y 40 g de Gro-green® (20-30-10 + EM), estos fueron disueltos en 25 L de agua y se aplicaron en 527 m² dos veces por semana y durante cinco meses. Adicionalmente, al sustrato de cada planta se le aplicó 10 g de Multi-micro Haifa® una vez por semana durante cuatro meses. Las plantas del segundo tratamiento no recibieron ningún fertilizante adicional (SF) y solo se les aplicó riegos continuos.

Factor 3 frecuencias de riego: Diario (R) y riego cada 10 días (SR). Para evaluar el efecto del riego, se utilizaron dos tratamientos: el primero consistió en un riego continuo (R) de manera manual, uniforme y localizada hasta el punto de saturación del sustrato (1,16 L seg⁻¹ por una hora), en el segundo tratamiento se aplicó un riego cada diez días

con la misma cantidad de agua suministrada por evento en el diario (R), denominado “Sin riego continuo” (SR). Se determinó el contenido gravimétrico del agua en el sustrato (CH). Para las plantas “SR” se determinó un valor promedio de CH del 44 %, mientras que las plantas “R”, presentaron un promedio de 306 % de CH del 306 %. La temperatura y humedad relativa prevaecientes alcanzaron un promedio de 21°C y 74 %, respectivamente.

Diseño experimental y tratamientos en etapa de vivero. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño experimental completamente al azar, con un arreglo factorial 2³ (volumen de contenedor, fertilización y riego); se obtuvieron ocho tratamientos con 12 repeticiones (12 plantas por cada tratamiento).

La primera evaluación se realizó a los 18 meses de edad, donde se evaluaron variables morfológicas, contenido mineral foliar (acículas) e índices de calidad. Para ello se colectaron 12 plantas al azar por tratamiento, considerando 96 plantas en total para esta etapa. Se evaluó, la altura desde la base del tallo hasta su ápice (cm), diámetro de tallo al nivel del cuello de la raíz (mm), así como biomasa aérea y radical, volumen aéreo y radical (cm³), índice de tallo raíz (ITR) e índice de contenedor raíz (ICR) (Harrington *et al.* 1994, Bernaola *et al.* 2015). Las muestras de la parte aérea y

Cuadro 1. Variables morfológicas y concentración mineral foliar de las plantas antes del trasplante a contenedores individuales.

Morphological variables and foliar mineral concentration of the plants before transplanting to individual containers.

Características morfológicas					
Altura (cm)	Diámetro (mm)	Volumen aéreo (cm ³)	Peso aéreo (g)	Volumen radical (cm ³)	Peso radical (g)
35,31 ± 1,21	5,01 ± 0,39	14,51 ± 1,14	5,34 ± 0,81	2,57 ± 0,88	1,12 ± 0,43
Concentración nutrimental foliar					
Nitrógeno (%)	Fósforo (mg kg ⁻¹)	Potasio (mg kg ⁻¹)	Magnesio (mg kg ⁻¹)	Azufre (mg kg ⁻¹)	Hierro (mg kg ⁻¹)
0,28 ± 0,03	2,059 ± 12,30	3,088 ± 10,74	1,129 ± 18,78	834 ± 9,43	62 ± 3,80

* Los valores corresponden a promedios (±) desviación estándar n = 15.

Cuadro 2. Caracterización química del sustrato a base de turba de musgo y corteza de pino (30:70 + multicote), utilizado para trasplante en todos los tratamientos.

Chemical characterization of the substrate based on peat moss and pine bark (30:70 + multicote), used for transplanting in all treatments.

pH	CE (dS m ⁻¹)	CIC (cmol kg ⁻¹)	MO (%)	Nitrógeno total (%)	Fósforo (mg kg ⁻¹)	Potasio (cmol kg ⁻¹)
4,05	0,45	165,33	54,82	0,45	0,14	0,41
Magnesio (meq L ⁻¹)	Calcio (meq L ⁻¹)	Sodio (meq L ⁻¹)	Cobre (mg kg ⁻¹)	Hierro (mg kg ⁻¹)	Manganeso (mg kg ⁻¹)	Zinc (mg kg ⁻¹)
6,50	19,83	0,12	66,13	388,00	159,16	25,22

CE: conductividad eléctrica; CIC: capacidad de intercambio catiónico; MO: materia orgánica.

radical se colocaron independientemente en bolsas de papel y se secaron en una cámara de secado rústico a 70 °C por 72 h hasta peso constante. El peso seco aéreo (g) y el peso seco radical (g) se determinó en una balanza analítica (Sartorius, mod. MP6). Las muestras de las acículas secas y molidas (Molino Retsch modelo SK100) se utilizaron para el análisis mineral y contenido de prolina. El nitrógeno total fue determinado por el método Kjeldahl, previa digestión ácida de las muestras. La determinación de fósforo, potasio, azufre, sodio y manganeso se realizó en dos etapas, primero una digestión húmeda. Posteriormente, en un equipo de espectrofotometría de inducción con plasma acoplado ICP-AES VarianTM, Liberty II, se determinó la concentración de los extractos. La concentración de prolina se determinó mediante el método descrito por Bates *et al.* (1973), para el cual, se pesó 0,1 g de cada muestra por tratamiento.

Etapa de campo. Posterior a la fase de vivero, las plantas fueron trasladadas para ser establecidas en campo, 496 plantas (62 plantas por tratamiento) fueron plantadas en un predio forestal ubicado en la comunidad de “Las Trojes”, Municipio de Jocotepec, Jalisco, México, situado a una altitud de 1.840 m.s.n.m., geográficamente ubicado en las coordenadas 20°19' N y 103°19' O. El clima predominante, que es semi-seco y semi-cálido, presentó una temperatura media anual de 20,7 °C (32,9 °C a 8,5 °C), precipitación media de 924 mm, el suelo representativo de esta zona es de tipo Vertisol, la vegetación está conformada por bosque de encino y bosque tropical caducifolio (IIEG 2018) y recientemente áreas por vegetación secundaria.

Antes de establecer las plantas en campo, se preparó el terreno mediante la limpieza de maleza y se delimitó las parcelas con alambrado de púas. Las plantaciones se establecieron en bloques al azar a un distanciamiento de 4 x 4 m en tres bolillos, un bloque en la parte alta del predio y otro en la parte baja del mismo para considerar el efecto de la pendiente. El suelo donde se llevó a cabo la plantación presentó las siguientes características físicas: porcentaje de porosidad total de 61 %, densidad real y aparente de 2,5 y 1,0 g cm⁻³ respectivamente, índice de compactación de 1,5, presenta textura arcillosa. Los parámetros químicos del mismo se presentan en el cuadro 3.

Diseño experimental y tratamientos en etapa de campo. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño experimental de bloques completos al azar, con un arreglo factorial 2³ (volumen de contenedor, fertilización y riego). Al igual que en la etapa de vivero en campo, se evaluaron los mismos ocho tratamientos y se consideraron dos repeticiones por cada tratamiento (2 sub-bloques por cada tratamiento).

La evaluación en campo se llevó a cabo a los 12 meses de la plantación (30 meses de edad de las plantas), mediante un muestreo sistemático al 100 %, se evaluaron todas las plantas establecidas, la altura, el diámetro y el porcentaje de supervivencia. También se realizó un muestreo destructivo, se colectaron 3 árboles para evaluar el porcentaje de ectomicorrización y la lignificación del tallo, de tal manera que el efecto del manejo en vivero y del preacondicionamiento de algunas plantas se refleje en campo sobre estos parámetros, la micorrización se realizó mediante un estereoscopio, modelo SMZ-140 y el porcentaje del área de lignificación en tallo mediante la técnica de Zavaleta y Engleman (1991).

Análisis estadístico. Los datos se organizaron en el programa Excel de Microsoft office 2007 y se les aplicó una prueba de normalidad (Chi-cuadrada y Estadístico W de Shapiro-Wilk). Posteriormente los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) siguiendo el modelo factorial 2³ en el software R, versión 3.6.3 ($P \leq 0,05$).

RESULTADOS

Evaluación en vivero. En el cuadro 4, los principales factores que presentaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) fueron volumen de contenedor (C) y fertilización (F), encontrando que el riego continuó (R) afectó significativamente al diámetro, peso aéreo, peso radical y el índice de tallo raíz (ITR). Sin embargo, las interacciones dobles entre el volumen de contenedor y fertilización (Cx F) fue significativa en biomasa e índice de contenedor raíz (ICR), la interacción entre el volumen de contenedor y riego (CxR) fue significativa para diámetro, peso seco radical y el ITR.

Cuadro 3. Análisis químico del suelo de la plantación en la comunidad “Las Trojes”.

Chemical analysis of the soil in the community of “Las Trojes”.

pH	CE (dS m ⁻¹)	CIC (cmol kg ⁻¹)	MO (%)	Nitrógeno total (%)	Fósforo (mg kg ⁻¹)	Potasio (cmol kg ⁻¹)
5,96	0,12	17,63	5,70	0,21	0,00	0,63
Magnesio (meq L ⁻¹)	Calcio (meq L ⁻¹)	Sodio (meq L ⁻¹)	Cobre (mg kg ⁻¹)	Hierro (mg kg ⁻¹)	Manganeso (mg kg ⁻¹)	Zinc (mg kg ⁻¹)
5,00	7,80	0,10	1,02	24,82	66,38	2,45

CE: conductividad eléctrica; CIC: capacidad de intercambio catiónico; MO: materia orgánica.

Se presentó un mayor desarrollo del diámetro por efecto del mayor volumen de contenedor y el riego continuo (13,04 mm) (figura 1). El volumen y peso seco de la masa foliar se desarrolla en mayor proporción por efecto del mayor volumen de contenedor y sin fertilización adicional (43,35 cm³ y 119,16 g respectivamente). El volumen de la biomasa radical presentó un mayor incremento en contenedores de mayor volumen con fertilización adicional (75,08 cm³). El peso seco de la masa radical es mayor en contenedores de mayor volumen, con fertilización adicional y con suministro de riego continuo (22,92 g).

El mayor índice tallo raíz (ITR) se presentó en el tratamiento donde las plantas fueron producidas en contenedores de menor volumen, sin fertilización adicional y con riego continuo (4,14). El mayor el índice de contenedor raíz (ICR) en el tratamiento cuyas plantas fueron producidas en contenedores de mayor volumen, sin la aplicación de una fertilización adicional e independientemente del

efecto del riego (con riego continuo: 100,28 y sin riego continuo: 89,53) (figura 2).

De acuerdo con el análisis de varianza, el volumen de contenedor presentó diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en todas las variables evaluadas con excepción del fósforo (cuadro 5). El tratamiento con fertilizante adicional (F) presentó efecto significativo en la concentración de prolina y el riego continuo (R) en todas las variables evaluadas, con excepción del manganeso. Las interacciones dobles (CxF, CxR y FxR) mostraron un efecto significativo en la concentración de nitrógeno y prolina; mientras, las interacciones triples presentaron efecto significativo en todas las variables evaluadas.

Se presentó una mayor concentración de nitrógeno en las plantas producidas en contenedores de mayor volumen, con fertilización adicional y sin riego continuo (1,19 %), la mayor concentración de fósforo y manganeso ocurrió en las plantas cultivadas en contenedores de cinco litros, sin

Cuadro 4. Valores p del ANOVA de las variables morfológicas y calidad de planta del *P. douglasiana* en vivero por efecto de tres factores de preacondicionamiento.

p values of the ANOVA of the morphological variables and plant quality of *P. douglasiana* in the nursery due to the effect of three preconditioning factors.

Factores	Diámetro	Volumen Aéreo	Peso aéreo	Volumen radical	Peso radical	ITR	ICR
Volumen contenedor (C)	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*
Fertilización (F)	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,01*
Riego (R)	0,03*	0,42	0,01*	0,32	0,05*	0,04*	0,41
CxF	0,59	0,00*	0,01*	0,00*	0,01*	0,87	0,05*
CxR	0,05*	0,92	0,69	0,29	0,03*	0,00*	0,08
FxR	0,73	0,57	0,46	0,73	0,10	0,13	0,49
CxFxR	0,08	0,89	0,40	0,45	0,41	0,93	0,55

(*) Significancia con un nivel de confianza del 95,0 %. ITR: índice de tallo raíz, ICR: índice de contenedor raíz, n = 12.

Cuadro 5. Valores p del ANOVA de la concentración nutrimental de las acículas en vivero del *P. douglasiana* bajo tres factores de preacondicionamiento.

p values of the ANOVA of the nutritional content of the needles in the *P. douglasiana* nursery under three preconditioning factors.

Factores	Nitrógeno	Fósforo	Azufre	Sodio	Manganeso	Prolina
Volumen de contenedor (C)	0,00*	0,320	0,01*	0,00*	0,00*	0,00*
Fertilización (F)	0,750	0,770	0,920	0,830	0,070	0,00*
Riego (R)	0,05*	0,00*	0,00*	0,01*	0,060	0,00*
CxF	0,00*	0,05*	0,230	0,910	0,02*	0,00*
CxR	0,00*	0,03*	0,100	0,02*	0,120	0,00*
FxR	0,00*	0,110	0,03*	0,830	0,150	0,00*
CxFxR	0,03*	0,05*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*

(*) Significancia con un nivel de confianza del 95,0 %. n = 2.

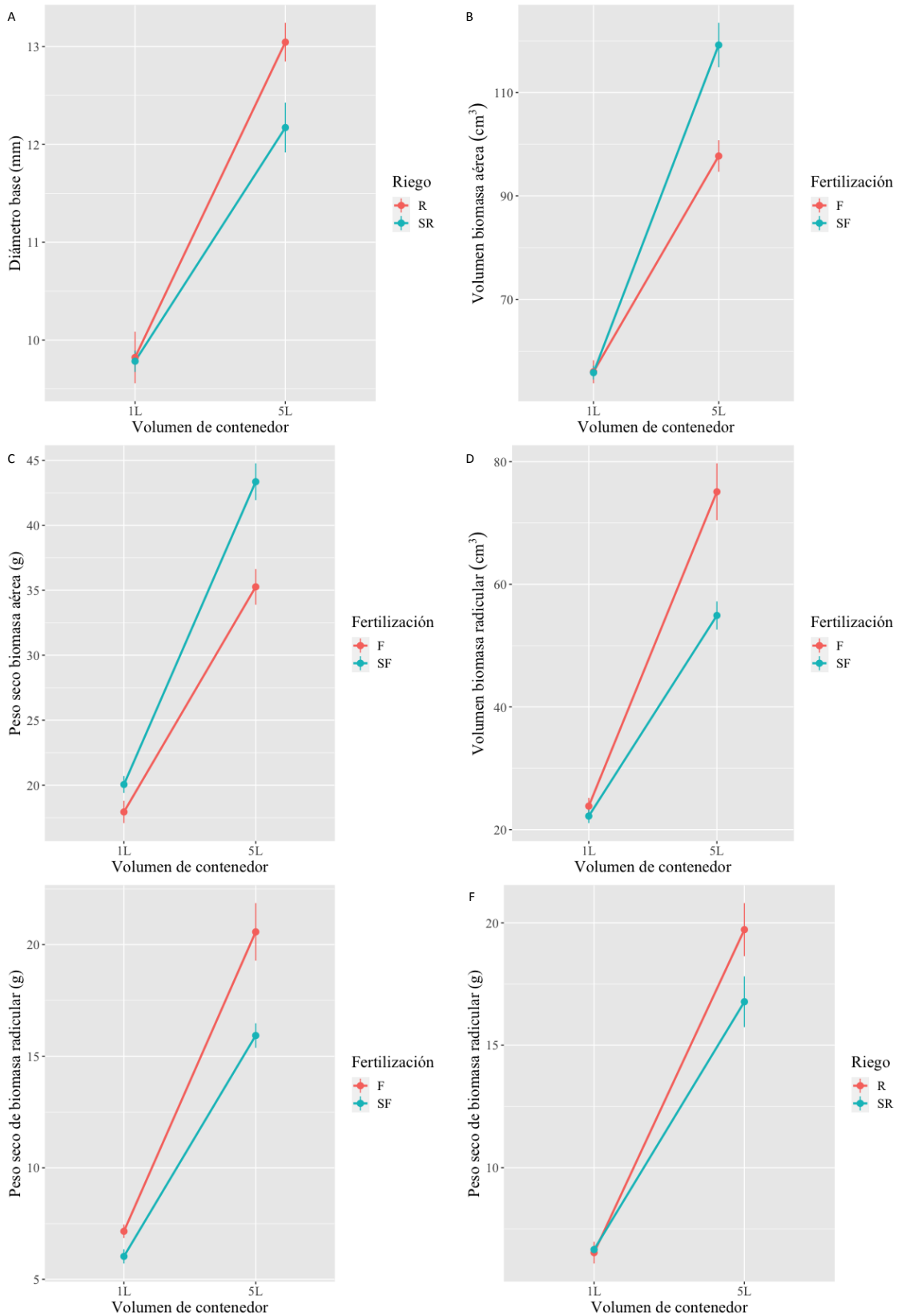


Figura 1. Efecto de las interacciones dobles del volumen de contenedor y fertilización (CxF) y contenedor y riego (CxR), en las variables morfológicas evaluados en el precondicionamiento del *P. douglasiana* en vivero. n = 12, $P \leq 0,05$, LSD (promedio \pm SD).

Effect of the double interactions of the container volume and fertilization (CxF) and container and irrigation (CxR) in the morphological variables evaluated in the preconditioning of *P. douglasiana* in the nursery. n = 12, $P \leq 0.05$, LSD (mean \pm SD).

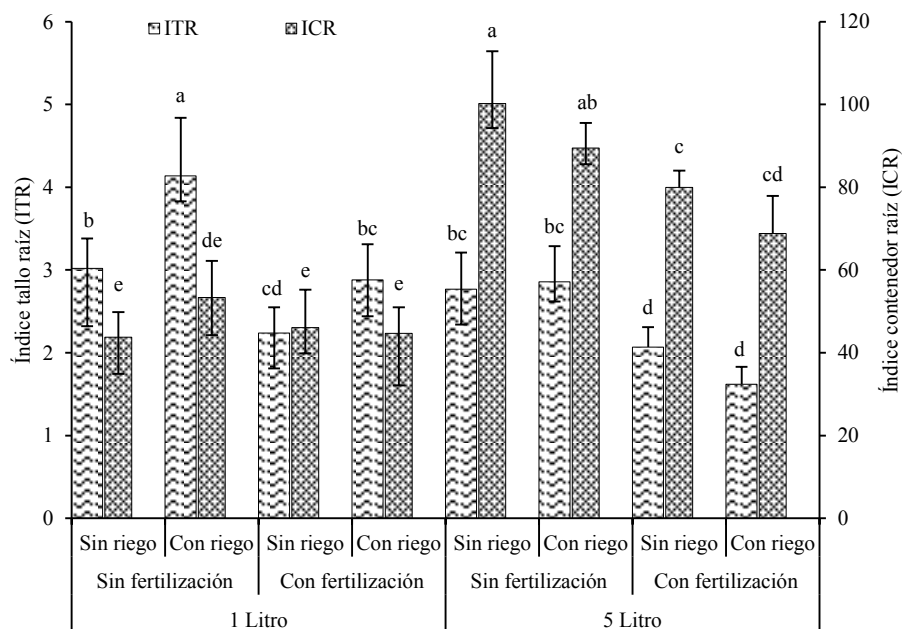


Figura 2. Valor promedio del índice tallo raíz (ITR) e índice de contenedor raíz (ICR) en el preacondicionamiento del *P. douglasiana* en vivero por efecto del volumen de contenedor, fertilización y riego. $n = 12$, $P \leq 0,05$, LSD (promedio \pm SD).

Average value of the root stem index (ITR) and root container index (ICR) in the preconditioning of *P. douglasiana* in the nursery by effect of container volume, fertilization and irrigation. $n = 12$, $P \leq 0.05$, LSD (mean \pm SD).

fertilización adicional y sin riego continuo (1.659 mg kg^{-1} y 355 mg kg^{-1} , respectivamente) (figura 3). En el caso del azufre y sodio, la mayor concentración de estos nutrimentos tuvo lugar en las plantas producidas en contenedores de menor volumen, con fertilización adicional y con restricción de riego (1.413 mg kg^{-1} y 1.300 mg kg^{-1} , respectivamente). Finalmente, la mayor concentración de prolina se dio en plantas producidas en contenedores de 5 litros, sin riego continuo e independientemente de la fertilización (sin fertilización: 99,33 y con fertilización: 99,66).

Etapa en campo. El volumen del contenedor (C) presentó efecto significativo ($P \leq 0,05$) sobre la altura, diámetro y porcentaje de supervivencia (cuadro 6). Así mismo, la fertilización adicional (F) mostró diferencias significativas en el porcentaje del área de lignificación, ectomicorrización y supervivencia. El riego (R) presentó efecto significativo sobre la altura, diámetro y porcentaje del área de lignificación. Mientras, la triple interacción (CxFxR), presentó significancia en el porcentaje de ectomicorrización y supervivencia (cuadro 6).

Se presentó un mayor incremento de la altura en campo en plantas que fueron cultivadas en contenedores de mayor volumen expuestas a un riego continuo (57,9 cm). También, se evidenció un incremento de la altura por efecto del estrés hídrico y volumen de contenedor (1 L 56 cm y 5 L 54 cm), la fertilización (SF 53 cm y F 57 cm) (figura 4). El mayor diámetro de la base del tallo en campo se presentó

en las plantas que fueron cultivadas en contenedores de menor volumen, sin fertilización adicional y expuestas a un riego continuo (55 mm). La mayor área de lignificación se presentó en las plantas cultivadas en contenedores de mayor volumen, con fertilización adicional y sin tener un riego continuo (60 %). Finalmente, el mayor porcentaje de ectomicorrización en campo se presentó en las plantas que fueron cultivadas en contenedores de 1 L, independientemente de la fertilización (SF 65 % y con F 58 %) y del riego (SR 65 % y con R 58 %) (figura 4).

En la figura 5 se muestra que el mayor porcentaje de supervivencia (88 %) a un año de establecer los tratamientos en campo, se presentó en plantas cultivadas en contenedores de cinco litros, sin fertilización adicional suplementada y sometidos a estrés hídrico en vivero. Por otro lado, las plantas que se mantuvieron en contenedor de un litro, con fertilización adicional y riego continuo, la supervivencia fue mucho menor (solo 20 %). Lo anterior evidencia que un preacondicionamiento en vivero con el manejo de estos tres factores en *Pinus douglasiana* es ideal para un mayor éxito en reforestaciones, sobre todo en sitios con fuerte exposición solar y sometidos a estrés hídrico por más de 8 meses al año, ya que las plantas expuestas a condiciones limitadas (riego y fertilización) generaron resistencia antes de ser llevadas a campo, mientras que las plantas bajo condiciones favorables no presentaron resistencia a factores adversos y cuando fueron llevadas a campo su adaptación fue menor.

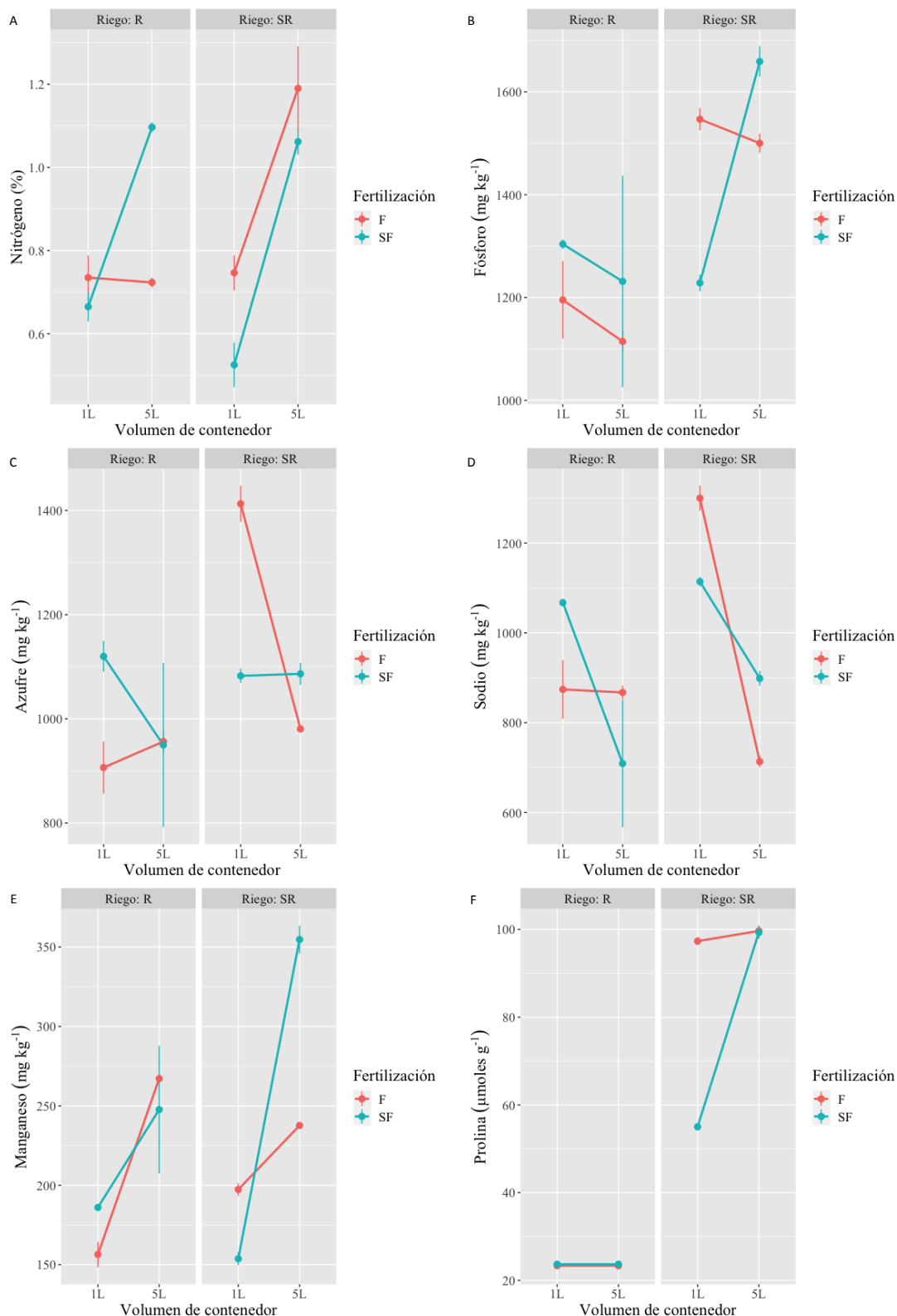


Figura 3. Efecto de la interacción triple entre el volumen del contenedor, fertilización y riego (CxFxR), sobre la concentración del nitrógeno (A), fósforo (B), azufre (C), sodio (D), manganeso (E) y prolina (F) de *P. douglasiana* en vivero. SF: sin fertilización adicional y F: con fertilización adicional. n = 3, $P \leq 0,05$, LSD (promedio \pm SD).

Effect of the triple interaction between the volume of the container, fertilization and irrigation (CxFxR) on the content of nitrogen (A), phosphorus (B), sulfur (C), sodium (D), manganese (E) and proline (F) of *P. douglasiana* in a nursery. SF: without additional fertilization and F: with additional fertilization. n = 3, $P \leq 0.05$, LSD (mean \pm SD).

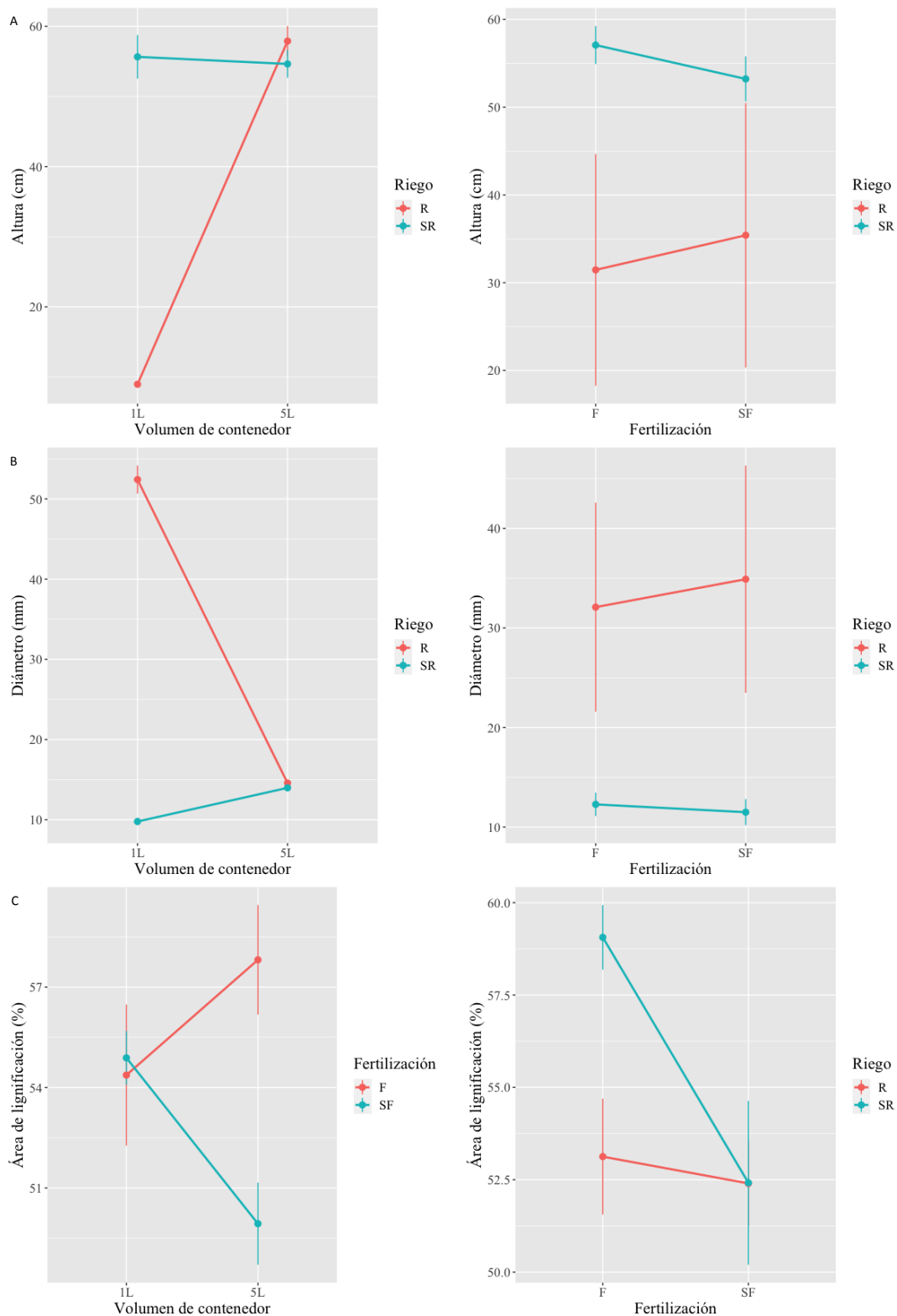


Figura 4. Efecto de las interacciones dobles entre el volumen del contenedor y fertilización (CxF), volumen de contenedor y el riego (CxR), la fertilización y el riego (FxR), en la altura (A), diámetro (B), área de lignificación (C) y ectomicorrización (D) del *P. douglasiana* en campo. SF: sin fertilización adicional, F: con fertilización adicional, SR: sin riego continuo y R: con riego continuo. $n = 2$, $P \leq 0,05$, LSD (promedio \pm SD).

Effect of double interactions between container volume and fertilization (CxF), container volume and irrigation (CxR), fertilization and irrigation (FxR) on height (A), diameter (B), lignification area (C) and ectomycorrhization (D) of *P. douglasiana* in the field. SF: without additional fertilization, F: with additional fertilization, SR: without continuous irrigation and R: with continuous irrigation. $n = 2$, $P \leq 0.05$, LSD (mean \pm SD).

Cuadro 6. Valores *p* del ANOVA para altura, diámetro, lignificación, ectomicorrizas y porcentaje de supervivencia de *P. douglasiana*, a los doce meses de ser establecidos en campo.

p value of the ANOVA for height, diameter, lignification, ectomycorrhizas and survival rate of *P. douglasiana*, at twelve months after field establishment.

Factores	Altura	Diámetro	Porcentaje del área de lignificación	Porcentaje de ectomicorrización	Porcentaje de supervivencia
Volumen contenedor (C)	0,00*	0,00*	0,470	0,120	0,00*
Fertilización (F)	0,980	0,220	0,00*	0,01*	0,00*
Riego (R)	0,00*	0,00*	0,01*	0,420	0,510
CxF	0,060	0,350	0,00*	0,710	0,05*
CxR	0,00*	0,00*	0,110	0,120	0,00*
FxR	0,05*	0,05*	0,01*	0,880	0,00*
CxFxR	0,730	0,250	0,360	0,02*	0,00*

(*) Significancia con un nivel de confianza del 95,0 %. n = 2.

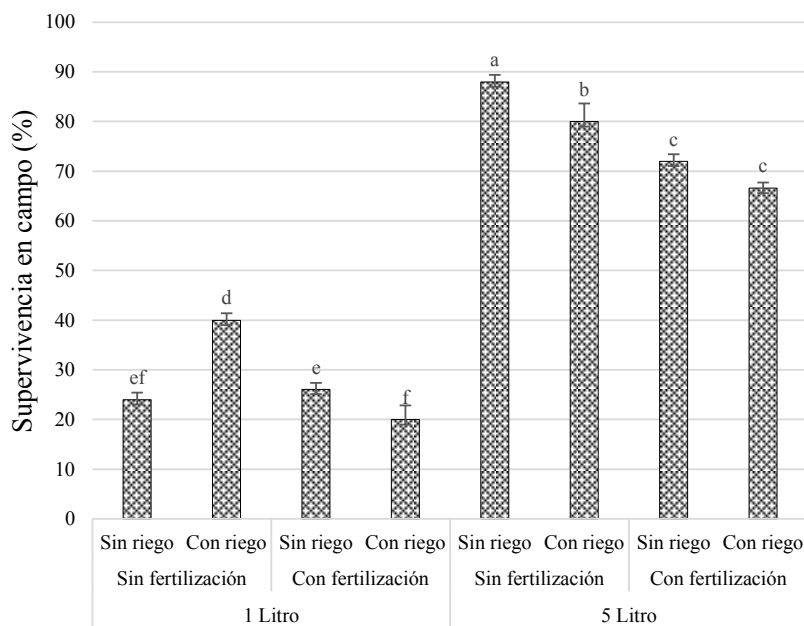


Figura 5. Valor promedio del porcentaje de supervivencia a los doce meses en campo por los ocho tratamientos establecidos en el experimento de preacondicionamiento del *P. douglasiana* por efecto del volumen de contenedor, fertilización y riego. n = 2, $P \leq 0,05$, LSD (promedio \pm SD).

Average value of the survival percentage at twelve months in the field for the eight treatments established in the preconditioning of *P. douglasiana* due to the effect of container volume, fertilization and irrigation. n = 2, $P \leq 0.05$, LSD (mean \pm SD).

DISCUSIÓN

Etapa de vivero. En la figura 1, los resultados obtenidos demuestran que el volumen del contenedor ha tenido un efecto significativo en todas las variables morfológicas evaluadas, debido a que se utilizó contenedores de volúmenes trascendentales (1.000 y 5.000 cm³). Al respecto algunos estudios mencionan que, en la etapa de vivero, las plantas cultivadas

en contenedores de mayor volumen presentan un mejor crecimiento; esto debido a que, los contenedores están relacionados directamente con una mayor disponibilidad de agua, nutrientes y un mayor espacio, lo que permite un mejor desarrollo radical (Dominguez-Lerena *et al.* 2006, Gasparin *et al.* 2017). Esto puede deberse a que, al presentar un espacio mayor para el desarrollo radical, las especies de rápido crecimiento como esta pueden desarrollar más biomasa radical.

Sin embargo, otras investigaciones mencionan que el tamaño de contenedor no siempre tiene efecto significativo de manera directa en todas las variables relacionadas con el crecimiento de las especies forestales. Incluso, algunos trabajos reportan mejores resultados de contenedores de menor tamaño sobre las variables de crecimiento. Así por ejemplo, Domínguez-Lerena *et al.* (2006) al evaluar 16 diferentes tamaños, tipos y formas de los contenedores sobre el comportamiento de *Pinus pinea* L., reportaron un mayor desarrollo aéreo en plántulas que germinaron y crecieron en contenedores de menor tamaño que en los de mayor tamaño. Aunque este efecto fue positivo, cabe señalar que las variables morfológicas de calidad de planta en vivero, como la altura la cual aporta poca información, puesto que no existe una correlación (Grossnickle 2017) y puede ser negativa en la supervivencia en campo (Prieto *et al.* 2007). Esta respuesta de las plantas puede ser debido a un efecto no solo del volumen, sino de la forma del contenedor y al periodo del preacondicionamiento en el que las plantas se mantienen en dicho contenedor, ya que el volumen del contenedor no limitó al desarrollo de la parte radical en volumen y peso de raíz, por lo tanto, las plantas no crecieron en altura, pero sí se favoreció el volumen y peso aéreo por una buena formación de acículas y diámetro del tallo. Por lo que es importante para futuros trabajos, elegir el volumen y diseño del contenedor de acuerdo al comportamiento morfológico de cada especie y al tiempo que se mantendrán las plantas en vivero.

García *et al.* (2015), al evaluar el efecto de la condición ambiental y la fertilización en el preacondicionamiento en vivero durante dos meses de *Pinus engelmannii* Carr., no encontraron diferencias significativas en el diámetro, volumen de raíz, biomasa aérea y radical entre plantas mantenidas en la intemperie sin fertilización y las plantas mantenidas en la intemperie con fertilización. Por el contrario, en este trabajo al igual que Vázquez-Cisneros *et al.* (2018) la fertilización empleada en vivero favorece todas las variables de crecimiento en comparación con las que no recibieron fertilización adicional.

Por otro lado, Jeong *et al.* (2010) mencionan que en las plantas de *Pinus densiflora* Siebold y Zucc y *Pinus thunbergii* Thunb. desarrolladas en contenedores de 250, 350 y 500 cm³, no muestran un efecto significativo en términos de altura debido al volumen del contenedor, al igual que en esta investigación para *Pinus douglasiana*. Pero por otro lado, estos mismos autores reportan un efecto significativo en la interacción entre el volumen del contenedor y la fertilización (Cx_F), encontrando mejores valores en plantas establecidas en contenedores de mayor volumen y fertilizadas. Esto parcialmente coincide con los resultados reportados, debido a que en este estudio las plantas con fertilizante adicional y trasplantadas a contenedores de cinco litros solo presenta efecto sobre la biomasa radical (figura 1D y 1E). Esto debido a que, el volumen del contenedor es una de las variables con mayor impacto en el desarrollo de la planta en vivero, de forma particular en la estructura

del sistema radical, así como en la supervivencia en campo (Grossnickle 2017). La biomasa aérea fue mejor en cinco litros, pero sin fertilización adicional (figura 1B y 1C). Este comportamiento puede deberse a que las plantas generan reservas de nutrientes en la biomasa aérea, específicamente en el tallo, debido a las bajas concentraciones en los contenedores. Esto concuerda con lo evaluado por Madrid *et al.* (2021) donde las plantas producidas en el contenedor de mayor volumen (volumen y profundidad: 380 mL y 20,5 cm) facilitan la circulación y absorción de nutrientes, al presentar un mayor espacio interno, ya que por el contrario, con fertilizante adicional se favorece al desarrollo de la raíz al no verse limitada en espacio ni en nutrientes. Esto significa que esta especie presenta requerimientos nutrimentales menores a los suministrados con la fertilización adicional.

Respecto a los resultados encontrados por efecto de la interacción entre el volumen de contenedor y riego (Cx_R), las plantas de *P. douglasiana* sometidas a riego continuo (sin estrés hídrico) presentan un mayor crecimiento en diámetro y peso seco radical que las que estuvieron sin riego continuo (con estrés hídrico). A pesar de ello, no se reflejó el efecto del riego sobre la supervivencia en campo (figura 1A y 1F). Ávila *et al.* (2014) describen un comportamiento similar encontrado en el presente estudio al evaluar tres frecuencias de riego: 48, 96 y 192 h en el preacondicionamiento de plántulas de *Pinus engelmannii* durante 40 días en vivero. Los autores encontraron que las plantas menos estresadas, registraron mayores valores en diámetro y biomasa total. También, Salle *et al.* (2008) han reportado que el estrés hídrico (sin riego continuo) estimula el crecimiento de la raíz siempre y cuando la parte aérea tenga una tasa fotosintética adecuada. Sin embargo, en *P. douglasiana* se presentó un efecto contrario (figura 1F), lo cual puede deberse a un menor periodo de estrés lo cual se vio reflejado en un menor crecimiento, al que reportan dichos autores.

El índice de contenedor raíz (ICR) presenta un mayor valor en el tratamiento de cinco litros sin fertilización adicional e independientemente del riego (figura 2) dichos tratamientos presentan los mayores porcentajes de supervivencia en campo. Por ello, con los valores obtenidos en la evaluación de este índice y en comparación con el porcentaje de supervivencia obtenido en campo, es posible establecer que ICR resulta ser un adecuado indicador de la calidad de planta que será llevada a campo. Al respecto, en un estudio con *Pinus hartwegii* L. realizado por Bernaola *et al.* (2015), en condiciones de vivero, los autores señalan que cuanto más alto sea el valor del ICR (27,5 y 125,0), mayor será el porcentaje de supervivencia después de dos años del establecimiento en campo (13 % y 94 % respectivamente). Sin embargo, el índice de tallo raíz (ITR), en la evaluación de la presente especie no presentó una relación con el porcentaje de supervivencia en campo.

El mayor volumen de contenedor y la aplicación de una fertilización adicional presenta efecto favorable para la asimilación del nitrógeno (figura 3A), debido al mayor desarrollo de la biomasa radical para *P. douglasiana*. Re-

sultado contrario reporta Jeong *et al.* (2010) para *P. densiflora* y *P. thunbergii*, donde en tamaño de contenedor no presentó un efecto significativo. Sin embargo, emplear contenedores de mayor volumen propiciarán una mejor fertilización, la cual tendrá un efecto positivo en el crecimiento y el estado del nitrógeno en las plantas. Por su parte Domínguez-Lerena *et al.* (2006), reportan un efecto favorable en la concentración de nitrógeno, fósforo y potasio en *Pinus pinea* debido a la fertilización aplicada y no por el volumen de contenedor, dado que los niveles adecuados de nitrógeno generan un mejor crecimiento de las plantas. Por otro lado, South *et al.* (2005) en plantas de *Pinus palustris* Mill., reportan un efecto significativo por el tipo y tamaño de contenedor sobre la concentración de fósforo, contrario con este estudio, ya que solamente el factor riego presentó diferencias significativas en la concentración de fósforo. García *et al.* (2015), mencionan que la aplicación de una fertilización adicional en *Pinus engelmanni* genera una mayor concentración de nitrógeno, fósforo y potasio en plantas durante la etapa de preacondicionamiento (dos meses) sin protección de malla sombra. En este estudio la restricción del volumen de contenedor fue favorable para la acumulación del azufre y sodio (figuras 3C y 3D). Por otro lado, las plantas con riego restringido generaron menor biomasa por el limitado contenido de humedad en el sustrato, lo cual tuvo un efecto negativo en la absorción de nutrientes y en el crecimiento de las mismas, debido a que el principal factor para el adecuado crecimiento y formación de tejidos vegetales (biomasa) está dado por el fácil acceso a agua y nutrimentos disueltos en la misma. Por lo tanto, las plantas con suministro limitado de agua y con mínima cantidad de nutrimentos, no crecieron. Las discrepancias observadas entre los resultados del presente estudio con respecto a los reportes de otros trabajos se deben a las diferencias en las condiciones de los experimentos, a la especie en estudio, la dosis de fertilización empleada y a las condiciones ambientales de cada trabajo, pero sobre todo, al volumen de contenedor evaluado. Mientras que en este trabajo se consideran de 1.000 y 5.000 cm³, la mayoría de los trabajos mencionados utilizan entre 93 a 350 cm³ y solo algunos utilizan como máximo 500 cm³. Esto significa que para *P. douglasiana*, la fertilización adicional no es relevante para la absorción de minerales cuando se desarrollan en volúmenes mayores a 1.000 cm³. También bajo condiciones de estrés (sin riego continuo), se deben utilizar contenedores de mayor volumen para lograr una mejor absorción de fósforo y manganeso (figuras 3B y 3E). Independientemente del volumen de contenedor y la fertilización utilizada, se aprecia una diferencia altamente significativa en la concentración de prolina por efecto del factor riego observándose una mayor concentración de prolina en las plantas sin riego continuo (87,83 $\mu\text{moles g}^{-1}$) que en las plantas expuestas con riego continuo (23,50 $\mu\text{moles g}^{-1}$) (figura 3F). Este hallazgo, es un resultado esperado por los autores en la acumulación de prolina, el cual tiene una relación con un descenso en el potencial hídrico del sue-

lo. Una tendencia similar a la observada en este estudio, pero con diferentes valores en la concentración de prolina fue reportada por Ortiz (2006) en *Pinus greggi* E. y *Pinus patula* Schl., quienes registraron incrementos de prolina de 23,3 - 49,3 y de 20,0 - 55,6 $\mu\text{moles g}^{-1}$ a medida que disminuyó el potencial hídrico del suelo de -0,01 MPa a -1,5 MPa. El mayor contenido de prolina podría favorecer un mejor establecimiento en campo. Al respecto algunos autores han señalado que el estrés hídrico en la fase de preacondicionamiento ha sido frecuentemente relacionado con una mayor supervivencia y crecimiento de las plantas en campo (Cochard *et al.* 2009).

Etapa en campo. El mayor incremento de la altura se da principalmente como resultado del efecto del mayor volumen de contenedor e independientemente del riego (figura 4A). Dicho incremento propiciado por el volumen de contenedor fue favorable para la supervivencia de las plantas en campo. Por otro lado, el diámetro alcanza un mayor desarrollo en los contenedores de un litro cultivadas bajo riego continuo e independiente de la fertilización (figura 4B). Esto puede deberse a que la planta al no crecer en altura incrementa su diámetro, al verse afectada por la competencia de crecimiento de las malezas en campo y se refleja en su bajo crecimiento y menor porcentaje de supervivencia de estos tratamientos. Por lo mencionado, se reporta que el control químico de las malezas en *Prosopis alba* contribuye a mejorar significativamente el crecimiento del diámetro y en altura total las plantas (Atanasio *et al.* 2021).

En este estudio la figura 4C, muestra que las plantas cultivadas en contenedores de mayor volumen, con fertilización adicional y sin tener un riego continuo influyeron de manera significativa en el área de lignificación. Sin embargo, el mayor porcentaje del área de lignificación no se relacionó con el mayor porcentaje de supervivencia en campo, lo que no concuerda con lo que ha sido reportado en otros trabajos que aseguran que una mayor área de lignificación favorece e incrementa la supervivencia de las plantas en campo (Prieto *et al.* 2007). En este sentido es importante aclarar que el porcentaje del área de lignificación registrada en el presente trabajo, no necesariamente es relativo al concepto del índice de lignificación empleado de manera convencional.

Se presentó un alto porcentaje de ectomicorrización en plantas cultivadas en contenedores de un litro sin fertilización y sin riego (figura 4D), ya que estas tienden a desarrollarse en las raíces cortas y absorbentes del sistema radical. Esto se vio reflejado en una mayor proporción en las plantas en contenedores de 1 L. Así mismo, algunas investigaciones indican que altas concentraciones de nitrógeno en el sustrato inhiben el desarrollo de ectomicorrizas (Honrubia *et al.* 1997), lo cual también se presentó en el presente trabajo, menor presencia de ectomicorriza en plantas fertilizadas, excepto cuando el riego era continuo. Por otro lado, se observó que cuando las plantas están con un mayor volumen de contenedor, el porcentaje de ectomicorrización en campo

es menor, ya que esta asociación es precisamente para que las plantas con limitado crecimiento de su raíz y en condiciones de estrés, favorezcan o propicien la colonización y presencia de estos organismos con la finalidad de tener una mayor y mejor exploración de su raíz en el suelo o sustrato. En cambio, en condiciones donde no se limita su raíz, no requieren de una gran colonización de las ectomicorizas.

Los resultados mostraron que la mayor supervivencia después de doce meses en campo fue para el volumen de contenedor de cinco litros, sin fertilización adicional independientemente del riego (figura 5). Estos resultados concuerdan con los de Vásquez-Cisneros *et al.* (2018), quienes tampoco encontraron influencia de los tratamientos con aplicación de fertilización sobre la supervivencia. En este sentido, aunque el manejo y las condiciones durante el preacondicionamiento fueron diferentes al estudio de Prieto *et al.* (2007), donde no encontraron diferencias significativas en la supervivencia en campo de *Pinus cooperi*, ya que el utilizar contenedores de mayor volumen les genera un mayor desarrollo radical, y de esta forma les confiere una mayor probabilidad de sobrevivir en campo, ya que disminuye el riesgo al estrés hídrico (Grossnickle 2017). Por el contrario, South *et al.* (2005) en coincidencia con este estudio reportaron un efecto positivo del volumen de contenedor sobre la supervivencia en campo de *Pinus palustris*, aunque las diferencias observadas por estos investigadores fueron atribuidas a la profundidad del contenedor y no al volumen. Respecto al efecto del riego sobre la supervivencia, Prieto *et al.* (2007), evaluaron plantas de *Pinus cooperi* trasplantadas en campo después de haber sido sometidas a diferentes frecuencias de riego (48, 96 y 168 horas) durante preacondicionamiento en vivero durante 45 días, y sus resultados no mostraron diferencias significativas en la supervivencia. Sin embargo, algunos autores señalan que el estrés hídrico (sin riego continuo) en la fase de preacondicionamiento ha sido frecuentemente relacionado con una mayor supervivencia y crecimiento de las plantas en campo, debido a un incremento potencial en la formación de raíces (Hölttä *et al.* 2012).

Finalmente es importante considerar la importancia de la interacción de los factores de manejo en plantas del género *Pinus* en vivero, sobre todo cuando se espera aplicar algunas técnicas de preacondicionamiento para lograr una mejor adaptación de estos en campo y resistencia a los factores de estrés en campo. Por el contrario, Buendía Velázquez *et al.* (2016), encontraron que los factores tipo de sustrato y suministro de nutrimentos fueron más significativos sobre las variables morfológicas y fisiológicas, más que su interacción. Pero ellos evaluaron plántulas de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. & Cham, en comparación con el presente estudio que evaluó los factores sobre plantas mayores a un año de edad cuando se iniciaron con los tratamientos de manejo y las técnicas de preacondicionamiento (estrés hídrico y falta de fertilización). Por ello, es de esperarse que plantas de esta edad, requieran un mayor volumen de contenedor y siendo los contenedores de 1 L

un volumen insuficiente, lo que explica que el mayor volumen de contenedor permitió los mejores resultados. Sin embargo, el costo de adquisición de los contenedores de 5 L y del sustrato es mayor que de 1 L, lo cual incrementa su costo de producción, pero también se reporta que la relación: costo / beneficio también debe ser considerada en la producción de plantas del género *Pinus* ya que su inversión en vivero se compensa con los excelentes resultados en campo (Salcedo *et al.* 2012).

CONCLUSIONES

En etapa de vivero, los contenedores de cinco litros al igual que la fertilización adicional, generaron incremento en todas las variables morfológicas y una mejor absorción de nutrimentos por el *Pinus douglasiana*, mientras que contenedores de un litro solo favorecen el diámetro. El riego no continuo limitó su crecimiento y el riego continuo mostró efecto positivo en el diámetro y peso seco de la biomasa aérea y de raíz. La fertilización adicional, al igual que el contenedor de mayor volumen, favoreció el crecimiento de las plantas. A un año de la plantación, en la evaluación de campo el volumen de contenedor y el riego continuo fueron los factores que más efecto positivo significativo tuvieron sobre el crecimiento y el porcentaje de supervivencia. Por el contrario, la mayor lignificación y ectomicorización se presentaron en las plantas de un litro y sin fertilización. Por lo tanto, la magnitud de este trabajo permite retroalimentar las diferentes opciones de producir *P. douglasiana* de mayor calidad en vivero. Es importante considerar el uso de contenedores de mayor volumen puesto que, la especie mejora significativamente su crecimiento y supervivencia en campo. El éxito en la repoblación de áreas perturbadas con *P. douglasiana* en sitios afines dependerá principalmente de la vigorosidad de las plantas adquirida con el manejo en vivero y algunas medidas de preacondicionamiento como es limitar el suministro de fertilizantes.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Guadalajara, al CONACYT y al vivero forestal Valle de Ameca S. P. R. de R.L. por el apoyo durante la investigación.

REFERENCIAS

- Alva-Rodríguez S, J López-Upton, J Vargas-Hernández, I Ruiz-Posadas. 2020. Biomass and growth of *Pinus cembroides* Zucc. and *Pinus orizabensis* D. K. Bayley and Hawksworth in response to water deficit. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 26(1): 71-83. DOI: <https://doi.org/10.5154/r.chscfa.2019.02.015>
- Atanasio M, L Pernochi, B Burdyn, G Guevara. 2021. Efectos del control inicial de malezas sobre el crecimiento de *Prosopis alba* Griseb. en el departamento Comandante Fernández, Chaco Argentina. *Revista de investigaciones agropecuarias* 47(1):

- 110-115. Consultado sept. 2020. Disponible en <http://www.scielo.org.ar/pdf/ria/v47n1/0325-8718-RIA-47-01-00110>.
- Ávila-Flores I, J Prieto-Ruiz, J Hernández-Díaz, C Wehenkel, J Corral-Rivas. 2014. Preacondicionamiento de *Pinus engelmannii* Carr. mediante déficit de riego en vivero. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 20(3): 237-245. DOI: <https://doi.org/10.5154/r.rchsc-fa.2014.02.004>
- Bates L, R Waldren, I Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* 39: 205-207. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Bernaola-Paucar R, E Pimienta, P Gutiérrez, V Ordaz, G Alejo, E Salcedo. 2015. Volumen del contenedor en calidad y supervivencia de *Pinus hartwegii* Lindl en sistema doble-trasplante. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 6(28): 174-187. Consultado sept. 2020. Disponible en https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11322015000200012.
- Buendía M, M López, V Cetina, L Diakite. 2016. Substrates and nutrient addition rates affect morphology and physiology of *Pinus leiophylla* seedlings in the nursery stage. *iForest* 10: 115-120. DOI: <https://doi.org/10.3832/ifor1982-009>
- Céspedes-Flores S, E Moreno-Sánchez. 2010. Estimación del valor de la pérdida de recurso forestal y su relación con la reforestación en las entidades federativas de México. *Investigación Ambiental* 2(2): 5-10. Consultado sept. 2020. Disponible en <https://uiimseminario.files.wordpress.com/2014/05/estimacion.pdf>.
- Cochard H, T Hölttä, S Herbet, S Delzon, M Mencuccini. 2009. New insights into the mechanisms of water-stress-induced cavitation in conifers. *Plant Physiology* 151(2): 949-954. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.109.138305>
- CONAFOR (Comisión Nacional Forestal, MX). 2019. Consulta temática. Gerencia de reforestación, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Consultado sept. 2020. Disponible en http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/ibi_apps/WFServlet?IBIF_ex=D3_RFOR-ESTA09_06&IBIC_user=dgeia_mce&IBIC_pass=dgeia_mce&NOMBREENTIDAD=* &NOMBREANIO=*.
- CONEVAL (Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social, MX). 2019. Fichas de Monitoreo y Evaluación 2017-2018 de los Programas y las Acciones Federales de Desarrollo Social, CONEVAL. Ciudad de México, 2018. Consultado sept. 2020. Disponible en <https://www.coneval.org.mx/Evaluacion/IEPSM/Documents/Fichas-Monitoreo-y-Evaluacion-2017-2018.pdf>.
- Domínguez-Lerena S, N Herrero, I Carrasco, L Ocaña, J Peñuelas, J Mexal. 2006. Container characteristics influence *Pinus pinea* seedling development in the nursery and field. *Forest ecology and management* 221(1): 63-71. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2005.08.031>
- García-Pérez J, A Aldrete, J López-Upton, J Vargas-Hernández, J Prieto-Ruiz. 2015. Efecto de la condición ambiental y la fertilización en el preacondicionamiento de *Pinus engelmannii* Carr. en vivero. *Revista Fitotecnia Mexicana* 38(3): 297-304. DOI: <https://doi.org/10.35196/rfm.2015.3.297>.
- Gasparin E, M Machado, T Claudino, S Carpenedo, E Benítez, A Pasquetti. 2017. Supervivencia y crecimiento inicial de *Parapiptadenia rigida* en campo. *Revista Floresta* 47(4): 533-541. DOI: <https://doi.org/10.5380/rf.v47i4.54234>.
- Grossnickle S, JE MacDonald. 2017. Why seedlings grow: influence of plant attributes. *New Forests* 49(1): 1-34. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11056-017-9606-4>
- Harrington J, J Mexal, J Fisher. 1994. Volume displacement provides a quick and accurate way to quantify new root production. *Tree Planters Notes* (3): 121-124. Consultado sept. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/268431929_Volume_Displacement_Provides_a_Quick_and_Accurate_Way_To_Quantify_New_Root_Production.
- Hölttä T, E Juurola, L Lindfors, A Porcar-Castell. 2012. Cavitation induced by a surfactant leads to a transient release of water stress and subsequent run away embolism in Scots pine (*Pinus sylvestris*) seedlings. *Journal of Experimental Botany* 63(2): 1057-1067. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/err349>.
- Honrubia M, C Carrillo, J Peñuelas, S Domínguez, P Villar, L Ocaña. 1997. Influencia de la fertirrigación en la micorrización controlada de *Pinus halepensis* en vivero. II Congreso Forestal Español. I Congreso Forestal Hispano Luso. Pamplona junio de 1997. Libro de Actas Tomo III. p. 307-311. Consultado sept. 2020. Disponible en <http://www3.uah.es/pedro-villar/PDF/Honrubia%20et%20al%201998.pdf>.
- IEEG (Instituto de Información Estadística y Geografía, MX). 2018. Diagnóstico del municipio de Ameca, Ameca, Jalisco, México, 34p. Consultado sept. 2020. Disponible en <https://ieeg.gob.mx/contenido/Municipios/Ameca.pdf>.
- Jeong J, P Jun-Ho, K Jong-Ik, L Jong-Taek, L Sang-Rai, K Choonsig. 2010. Effects of container volumes and fertilization on red (*Pinus densiflora*) and black pine (*Pinus thunbergii*) seedlings growth. *Forest science and technology* 6(2): 80-86. DOI: <https://doi.org/10.1080/21580103.2010.9671975>
- Madrid-Aispuro R, Á Prieto-Ruiz, J Hernández-Díaz, A Aldrete, C Wehenkel, J Chávez-Simental. 2021. Crecimiento de *Pinus cembroides* Zucc. en vivero y campo producido en diferente tipo de contenedor. *Revista Fitotecnia Mexicana* 44(3): 435-442.
- Ortiz M. 2006. Respuesta fisiológicas y bioquímicas de dos especies de pino en condiciones limitantes de humedad. Tesis. Pachuca de Soto, México. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 58 p. Consultado sept. 2020. Disponible en https://www.uaeh.edu.mx/nuestro_alumnado/icap/licenciatura/documentos/Respuestas%20fisiologicas%20y%20bioquimicas.pdf.
- Prieto J, P Domínguez, E Cornejo, J Nívar. 2007. Efecto del envaso y del riego en viveros en el establecimiento de *Pinus cooperi* Blanco en dos condiciones de sitio. *Madera y Bosques* 13(1): 79-97. DOI: <https://doi.org/10.21829/myb.2007.1311237>
- Salcedo E, R Bernaola-Paucar, E Hernández, F López-Dellamary, J Villa. 2012. Propuesta metodológica para la reforestación de áreas con condiciones edafoclimáticas especiales. Estudio de caso *Pinus hartwegii* Lindl en el Nevado de Colima. In Salcedo PE, E Hernández, JA Vázquez G, T Escoto, N Díaz eds. Recursos Forestales en el Occidente de México. Diversidad, manejo, producción, aprovechamiento y conservación. Tomo I. Jalisco, México. Amaya ediciones S. de R.L. de C.V. p. 226-243.
- Salle A, H Ye, A Yart, F Lieutier. 2008. Seasonal water stress and the resistance of *Pinus yunnanensis* to a barkbeetle-associated fungus. *Tree physiology* 28(5): 679-687. DOI: <https://doi.org/10.1093/treephys/28.5.679>.

- South B, W Harris, P Barnett, J Hains, H Gjerstad. 2005. Effect of container type and seedling size on survival and early height growth of *Pinus palustris* seedlings in Alabama, USA. *Forest Ecology Management* 204(2-3): 385-398. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.09.016>.
- Vázquez-Cisneros I, J Prieto-Ruiz, M López-López, C Wehenkel, P Domínguez-Calleros, F Muñoz-Sáez. 2018. Growth and survival of a plantation of *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. var. *greggii* under different fertilization treatments. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 24(2): 251-264. DOI: <https://doi.org/10.5154/r.rchsc-fa.2017.05.036>
- Zavaleta-Mancera H, E Engleman. 1991. Anatomía de la semilla de *Casimiroa edulis* (Rutaceae) “zapote blanco”, durante su desarrollo. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 51: 53-65. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.1398>

Recibido: 17.09.20

Aceptado: 16.06.22

Efecto de biocidas y consistencia del medio de cultivo para el establecimiento *in vitro* de *Guadua angustifolia*

Viability of biocides and consistency of the culture medium on the *in vitro* establishment of *Guadua angustifolia*

José J. Tejada-Alvarado ^a, Jegnes B. Meléndez-Mori ^{**}, Nuri C. Vilca-Valqui ^a, Eyner Huaman-Huaman ^a, Segundo M. Oliva-Cruz ^a

*Autor de correspondencia: ^a Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza (UNTRM), Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva (INDES-CES), Chachapoyas, Perú, jbenjamin@indes-ces.edu.pe

SUMMARY

The efficient establishment of nodal segments during the micropropagation of *Guadua angustifolia* is limited by factors such as the high percentage of microbial contamination and necrosis due to the exudation of phenols. Therefore, this study aimed at evaluating the effect of different concentrations of two broad-spectrum biocides (Germon and PPMTM) and the consistency of the culture medium (liquid and semi-solid) on the response to the *in vitro* establishment of *G. angustifolia*. The experiment was established under a completely randomized design (DCA) with factorial arrangement. Data were subjected to an analysis of variance and Duncan's test ($P \leq 0.05$). Results indicate that the explants treated with 1 mL L⁻¹ of Germon 80 for 10 min had a lower percentage of oxidation, although to reduce microbial contamination it is necessary to increase the disinfection time and the concentration of the disinfectant agent. On the other hand, the addition of 2 mL L⁻¹ of Plant Preservative Mixture (PPMTM) to the culture medium allowed improving the control of endophytic contaminants, favoring the efficient development and elongation of axillary shoots. Regarding the culture media, it can be mentioned that the use of liquid medium generally led to better responses in the *in vitro* establishment of the explants.

Keywords: di quaternary ammonium, plant preservative mixture, *Guadua angustifolia*, organogenesis.

RESUMEN

El establecimiento eficiente de segmentos nodales durante la micropropagación de *Guadua angustifolia*, está limitado por factores como el elevado porcentaje de contaminación microbiana y la necrosis, producto de la exudación de fenoles. Por ello, el estudio tuvo por objetivo evaluar el efecto conjunto de dos biocidas - los explantes fueron pretratados con diferentes concentraciones Germon 80 (amonio cuaternario) durante dos tiempos de inmersión, y luego se cultivaron en medio de cultivo (líquido y semisólido) con diferentes dosis de mezcla conservante de plantas (PPMTM) - sobre la respuesta al establecimiento *in vitro* de *G. angustifolia*. El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial y los datos se sometieron a un análisis de varianza y la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$). Los resultados indican que los explantes tratados con 1 mL L⁻¹ de Germon 80 durante 10 min presentaron menor porcentaje de oxidación, pero para reducir la contaminación microbiana es necesario incrementar el tiempo de desinfección y la concentración del agente desinfectante. La adición de 2 mL L⁻¹ de PPMTM al medio de cultivo permitió reducirlos contaminantes endófitos, favoreciendo el eficiente desarrollo y elongación de brotes axilares. El uso de medio líquido condujo a mejores respuestas en el establecimiento *in vitro* de los explantes.

Palabras clave: amonio cuaternario, mezcla conservante de plantas, *Guadua angustifolia*, organogénesis.

INTRODUCCIÓN

Los bambúes que pertenecen a la subfamilia Bambusoideae exhiben gran diversidad genética distribuida alrededor del mundo, excepto en la Antártida y Europa (Clark *et al.* 2015). El bambú representa a las especies leñosas con mayor impacto económico, social, ecológico y ambiental a nivel global (Clark *et al.* 2015, Thapa *et al.* 2018). En el Perú se desarrollan distintas especies de bambú, tanto nativas como introducidas (Olivier 2008), siendo *Guadua*

angustifolia Kunth. la especie introducida con mayor realce económico para la sostenibilidad del nororiente peruano (Landauro *et al.* 2016, Móstiga *et al.* 2019). Sin embargo, la expansión y cultivo comercial del bambú se ha limitado por el precario sistema de propagación (rizomas y culmos), así como por el prolongado tiempo que la semilla botánica requiere para su desarrollo (Casanova *et al.* 2019).

Para superar las limitantes de la propagación y producción masiva de plantas élite, es ineludible el aporte del cultivo de tejidos vegetales, debido a que permite ob-

tener plantas mediante la regeneración *in vitro*. La propagación vía organogénesis asegura estándares de sanidad y calidad, permitiendo, además, la producción masiva de plántulas en corto tiempo. Sin embargo, el cultivo *in vitro* de bambúes es un proceso poco explorado (Ribeiro *et al.* 2016), por lo tanto, se tiene diversos factores que influyen en los resultados. La consistencia del medio de cultivo se ha estudiado para el establecimiento *in vitro* de diversas especies de bambú puesto que es un factor que puede influir en la asimilación de nutrientes, la oxidación y contaminación del explante (García-Ramírez *et al.* 2010, Santos *et al.* 2019).

Por otro lado, la micropropagación del bambú *G. angustifolia* Kunth está condicionada por la prevalencia de hongos y bacterias endófitos que originan la contaminación superficial del explante (Nadha *et al.* 2012, Ray y Ali 2016, Sandhu *et al.* 2017, Furlan *et al.* 2018). Esta problemática ha derivado en el desarrollo de diversos protocolos de esterilización superficial con desinfectantes, antibióticos y fungicidas comunes que no son totalmente eficientes (Ray y Ali 2016). Al mismo tiempo, diversos investigadores (Bakshi *et al.* 2015, Saini *et al.* 2016, Nogueira *et al.* 2019) informan que las soluciones a base de cloruro de mercurio (HgCl_2) son eficientes en los protocolos de esterilización. Sin embargo, el uso descontrolado e inadecuada manipulación de este producto pueden traer graves consecuencias debido a su alta toxicidad (Branco *et al.* 2017), además de elevar los riesgos de contaminación ambiental producto de los residuos químicos generados en el cultivo *in vitro* (Ornellas *et al.* 2019).

La dificultad para obtener un desarrollo organogénico a partir de segmentos nodales con yemas axilares latentes es aún un reto mayor (Furlan *et al.* 2018). La importancia de controlar el desarrollo de agentes contaminantes en el medio de cultivo abre una alternativa, hacia la evaluación de productos biocidas de amplio espectro (Santos *et al.* 2019), los cuales podrían permitir el establecimiento aséptico de segmentos nodales. Asimismo, es necesario profundizar los estudios relacionados con la influencia de las variaciones en el medio de cultivo sobre el desarrollo de explantes del género *Guadua*. En ese contexto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto conjunto de dos biocidas en el control de microorganismos epifitos o endófitos durante el establecimiento *in vitro* de *Guadua angustifolia*. Para ello, los explantes fueron pretratados con diferentes concentraciones de Germon 80 (amonio cuaternario) durante dos tiempos de inmersión, y luego se cultivaron en un medio de consistencia líquida o semisólida, suplementado con diferentes dosis de Plant Preservative Mixture™.

MÉTODOS

Material vegetal. Se recolectaron chusquines de *Guadua angustifolia*, procedente de un lote de guaduales ubicado en áreas reforestadas de la provincia de Bongará (Latitud

5° 54' 27" sur y Longitud 77° 58' 17" oeste), noreste del Perú. El material vegetal colectado tenía buen desarrollo morfológico y fisiológico y ausencia de patógenos, y fue trasladado a la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza, donde se sembró en bolsas de polietileno que contenían 10 kg de una mezcla de tierra agrícola y arena (1:1), previamente se aplicó ácido indol butírico a concentración de 2.000 mg L⁻¹. Las plantas se mantuvieron durante 6 meses en un microtúnel, a una temperatura de 24 ± 2 °C y Humedad relativa de 80 ± 2 % (Datalogger Elitech Rc-4hc). Durante este periodo, se realizó el control de la carga patogénica con aplicaciones de Carbendazim (1 mL L⁻¹), y se estimuló la actividad fisiológica con Enzyprom (2 mL L⁻¹).

Establecimiento *in vitro* de segmentos nodales. Se recolectaron ramas primarias y se extrajeron segmentos nodales (1,5 cm a ambos polos del nudo) de la parte media y basal para ser usados como explantes. Cada explante contenía una yema cubierta por la hoja caulinar (verde - amarilla). En el laboratorio se retiró la hoja caulinar y dejó reposar por 15 min en agua corriente, luego se limpiaron con solución de detergente comercial (24 g L⁻¹), seguido se sumergieron en benomil (1 g L⁻¹) durante 25 min. Se realizaron tres enjuagues con agua destilada estéril.

En condiciones asépticas, los explantes se sumergieron en alcohol isopropílico al 70 % por 1 min, seguido de hipoclorito de sodio al 1 % más 1 gota (por cada 50 mL de solución) de Tween-20 durante 10 min. A continuación, y como etapa previa a su introducción *in vitro*, los explantes se sometieron a un pretratamiento por inmersión en distintas dosis (1, 1,5 y 2 mL L⁻¹) del biocida Germon 80 y se mantuvieron en agitación constante durante dos tiempos de inmersión (10 y 20 min).

Durante la esterilización superficial se eliminó los extremos de los explantes y luego se sembraron en medio de cultivo MS (Murashige y Skoog 1962) suplementado con 20 g L⁻¹ de sacarosa, 50 mg L⁻¹ de ácido ascórbico, 0,5 mg L⁻¹ ácido nicotínico, 100 mg L⁻¹ myo-inositol, 50 mg L⁻¹ sulfato de gentamicina (Pasqualini *et al.* 2019a, Nogueira *et al.* 2019); adicionalmente contenían distintas concentraciones del biocida Plant Preservative Mixture (1, 2 y 4 mL L⁻¹ PPM™). El pH fue ajustado (NaOH y / o HCl) a 5,7 y, para el medio de cultivo semisólido se agregó 6 g L⁻¹ de agar, luego se esterilizó en autoclave a 120 °C (~1 kgf cm⁻²) por 20 min. Los explantes se subcultivaron a intervalos de 7 días y se incubaron en una sala de crecimiento a temperatura de 25 ± 2 °C, con fotoperiodo de 16 h de luz y una intensidad luminosa de 3.000 lux proporcionado por barras fluorescentes blancas.

El experimento se condujo bajo un diseño completamente al azar con 36 tratamientos y 10 repeticiones cada una (1 explante por unidad experimental). Los tratamientos se obtuvieron de la combinación factorial de tres concentraciones de Germon 80 (amonio cuaternario), dos tiempos de inmersión (10 y 20 minutos), tres dosis de PPM™ y dos

consistencias del medio de cultivo (líquido o semisólido). Después de 30 días de cultivo se evaluó el porcentaje de oxidación (supervivencia a la desinfección), porcentaje de contaminación (bacterias / hongos), porcentaje de viabilidad (explantes vivos no contaminados), número de brotes por explante y longitud del brote. Los datos en porcentaje se transformaron con $\sqrt{x/100}$ y las demás variables con $\text{LN}(x + 1)$. El análisis estadístico se realizó con la librería agricolae del Software R (R CoreTeam 2020). Las medias se compararon con la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$).

RESULTADOS

Sobrevivencia de explantes. Todos los segmentos nodales iniciaron el desarrollo de brotes durante los primeros siete días de cultivo. Sin embargo, durante este periodo, los explantes liberaron fenoles que ocasionaron el pardeamiento y oscurecimiento del medio de cultivo (figura 1A), independientemente de su consistencia. Este suceso afectó la viabilidad de los brotes y ocasionó la muerte progresiva de estos. Para contrarrestar este efecto negativo fue necesario realizar subcultivos a intervalos de siete días (figura 1B).

Los resultados mostraron que el nivel más alto de oxidación (100 %) se registró en los explantes que se desinfectaron con 2 mL L^{-1} de Germon 80 durante 20 min y luego se cultivaron en medio (tanto al medio líquido como semisólido) suplementado con 4 mL L^{-1} de PPMTM. En cuanto a la contaminación, los resultados mostraron que, entre los 36 tratamientos evaluados, 21 inhibieron exitosamente el desarrollo de microorganismos contaminantes, pero provocaron que el nivel de oxidación se registrara entre 40 % y 100 % (cuadro 1).

El tratamiento de los explantes con $1,5 \text{ mL L}^{-1}$ de Germon 80 durante 10 min, seguido de su introducción en un

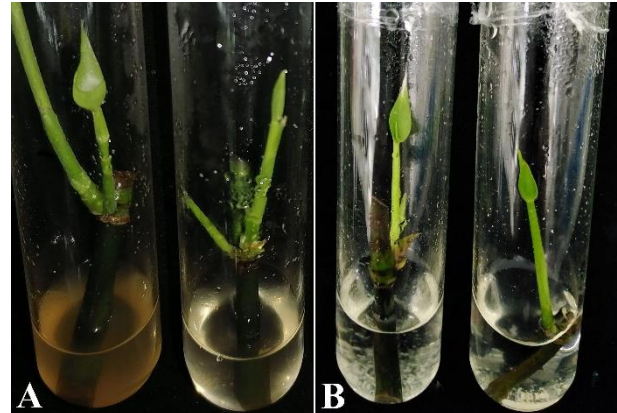


Figura 1. Fenolización del medio sin subcultivo (A) y con subcultivo de explantes (B).

Phenolization of the medium without subculture (A) and with subculture of explants (B).

medio líquido suplementado con 4 mL L^{-1} de PPMTM mostró una alta eficiencia para lograr la mayor tasa de viabilidad (80 %). El efecto de las diferentes concentraciones y tiempo inmersión en los biocidas, y la consistencia del medio de cultivo durante el establecimiento de segmentos nodales, se detallan en el cuadro 1.

Número y longitud de brote. Los explantes introducidos (figura 2C) desarrollaron exitosamente nuevos brotes sin la necesidad de agregar reguladores de crecimiento al medio de cultivo (figura 2D). El número promedio de brotes formados en explantes cultivados en medio líquido suplementado con 2 mL L^{-1} de PPMTM varió de 2,1 a 2,5 brotes, y no hubo diferencia estadística entre estos tratamientos (cuadro 1).



Figura 2. Propagación *in vitro* de *Guadua angustifolia*. Planta donadora de explantes (A), segmento del tercio medio con presencia de la hoja caulinar (B), yemas axilares en el entrenudo (C), y proliferación de brote asépticos en medio líquido (D).

Organogenesis of *Guadua angustifolia*. Plant donor of explants (A), segment of the middle third with presence of the caulinar leaf (B), axillary buds in the internode (C), and aseptic shoot proliferation in liquid medium (D).

Cuadro 1. Influencia de dos biocidas y la consistencia del medio de cultivo en la sobrevivencia de explantes y el desarrollo de brotes durante el establecimiento *in vitro* de *Guadua angustifolia*.

Influence of biocides and the consistency of the culture medium on the survival of explants during the *in vitro* establishment of *Guadua angustifolia*.

FACTORES				Oxidación (%)	Contaminación (%)	Viabilidad (%)	Número de brotes	Longitud del brote (cm)
Germon 80 (mL L ⁻¹)	Tiempo de inmersión (min)	Consistencia del medio	PPM TM (mL L ⁻¹)					
1,0	10	líquido	1,0	0k	70a	30e	1,9a	5,87a
1,0	20	líquido	1,0	0k	60b	40d	1,9a	5,82a
1,5	10	líquido	1,0	10j	30e	60b	2,4a	5,36a
1,5	20	líquido	1,0	40g	30e	30e	1,5b	6,08a
2,0	10	líquido	1,0	40g	10g	50c	1,5b	5,96a
2,0	20	líquido	1,0	50f	0h	50c	1,3b	6,26a
1,0	10	líquido	2,0	30h	10g	60b	2,1a	5,91a
1,0	20	líquido	2,0	50f	0h	50c	2,2a	5,49a
1,5	10	líquido	2,0	10j	10g	80a	2,5a	6,19a
1,5	20	líquido	2,0	40g	0h	60b	2,2a	5,72a
2,0	10	líquido	2,0	60e	0h	40d	2,2a	6,00a
2,0	20	líquido	2,0	80c	0h	20f	2,2a	5,77a
1,0	10	líquido	4,0	40g	0h	60b	1,7a	6,02a
1,0	20	líquido	4,0	50f	0h	50c	1,6b	6,00a
1,5	10	líquido	4,0	70d	0h	30e	1,8a	5,64a
1,5	20	líquido	4,0	80c	0h	20f	1,4b	5,75a
2,0	10	líquido	4,0	90b	0h	10g	1,5b	5,50a
2,0	20	líquido	4,0	100a	0h	0h	0,0c	0,00c
1,0	10	semisólido	1,0	20i	60b	20f	1,4b	3,89b
1,0	20	semisólido	1,0	20i	50c	30e	1,1b	4,15b
1,5	10	semisólido	1,0	20i	40d	40d	1,2b	4,36b
1,5	20	semisólido	1,0	50f	30e	20f	1,1b	4,47b
2,0	10	semisólido	1,0	40g	20f	40d	1,2b	3,91b
2,0	20	semisólido	1,0	60e	10g	30e	1,1b	4,25b
1,0	10	semisólido	2,0	40g	10g	50c	1,2b	3,82b
1,0	20	semisólido	2,0	60e	0h	40d	1,4b	3,94b
1,5	10	semisólido	2,0	40g	0h	60b	1,4b	4,68b
1,5	20	semisólido	2,0	60e	0h	40d	1,0b	4,52b
2,0	10	semisólido	2,0	50f	20f	30e	1,3b	3,98b
2,0	20	semisólido	2,0	80c	0h	20f	1,0b	4,51b
1,0	10	semisólido	4,0	60e	0h	40d	1,0b	4,48b
1,0	20	semisólido	4,0	90b	0h	10g	1,0b	4,13b
1,5	10	semisólido	4,0	60e	0h	40d	1,0b	3,52b
1,5	20	semisólido	4,0	90b	0h	10g	1,0b	3,69b
2,0	10	semisólido	4,0	100a	0h	0h	0,0c	0,00c
2,0	20	semisólido	4,0	100a	0h	0h	0,0c	0,00c

Las medias dentro de una columna seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes según la prueba Duncan a $P \leq 0,05$.

El crecimiento de los nuevos brotes mostró una mejor respuesta en explantes cultivados en medio líquido, y su longitud fue mayor a 5 cm, y significativamente ($P \leq 0,05$) superior que la respuesta observada en explantes cultivados en medio semisólido (cuadro 1).

DISCUSIÓN

El uso de biocidas en la micropropagación de bambú para reducir la contaminación microbiana es relativamente nuevo; aunque existe evidencia reciente de que se utiliza como complemento en el medio de cultivo (Santos *et al.* 2019), aún existen pocos estudios sobre su efecto en el pretratamiento por inmersión de los segmentos nodales (Torres *et al.* 2016).

En este estudio, los explantes que se trataron con 1,5 mL L⁻¹ de Germon 80 durante 10 min y luego se cultivaron en un medio suplementado con una concentración de PPMTM de menos de 4 mL L⁻¹, presentaron una tasa de viabilidad (explantes vivos no contaminados) entre 40 % y 80 %. Este resultado es mejor que la esterilización de explantes de *Gadua chacoensis* (Rojas Londoño y P.M. Peterson utilizando una solución de NaClO al 4 % (sin adición de ningún biocida), ya que solo el 22 % de los explantes se desarrolló sin contaminación (Ornellas *et al.* 2019). Según Casanova *et al.* (2019), el mejor tratamiento para reducir la contaminación de explantes de *Guadua weberbaueri* Pilg. fue el uso de NaClO al 2,5 % por 10 min seguido de una segunda desinfección con NaClO al 1,5 % por 3 minutos, lo que llevó a un porcentaje de contaminación del 33 % y una tasa de sobrevivencia del 50 %. Por otro lado, Correa *et al.* (2014) reportaron que el tratamiento con NaClO al 2 % llevó a un 32 % de asepsia en explantes de *G. angustifolia*. Los resultados tan variables, indican que, es fundamental probar y perfeccionar las condiciones de cultivo *in vitro* para cada especie / género de bambú (Jiménez y Guevara 2007).

Diversos estudios han descrito a la esterilización de segmentos nodales de bambú como una labor compleja, porque la esterilización superficial por sí sola no logra controlar la contaminación del explante. Por lo tanto, y con base en los resultados alcanzados, se puede mencionar que el uso de Germon 80 es una alternativa atractiva al uso de antibióticos y fungicidas convencionales para el control de contaminantes epífitos en explantes de *G. angustifolia*, por tratarse de un desinfectante a base de dos amonios cuaternarios, que actúan de forma sinérgica provocando la lisis celular que le confiere amplio espectro de acción.

Este estudio muestra que el medio suplementado con 4 mL L⁻¹ de PPMTM logró un control efectivo de la contaminación microbiana. Según resultados similares de Pasqualini *et al.* (2019a), la adición de PPMTM (4 mL L⁻¹) permitió reducir el desarrollo de microorganismos en el establecimiento *in vitro* de *Bambusa oldhamii* Munro, registrando una tasa de contaminación microbiana total de 4 % en medio líquido y 13 % medio semisólido. Además, para Santos

et al. (2019), la adición de PPMTM (2 mL L⁻¹ o 4 mL L⁻¹) demostró ser eficaz para el establecimiento *in vitro* de *Berberis vulgaris* L., *Phyllostachys bambusoides* f. shouzhui Yi y *Dendrocalamus asper* B. PPMTM se considera un microbiciocida eficaz contra bacterias y hongos, y está compuesto de dos isotiazolonas, 5-cloro-2-metil-3(2H)-isotiazolona y 2 metil-3(2H)-isotiazolona (Guri y Patel 1998), que pueden penetrar la pared celular microbiana e inhiben diversas enzimas clave del ciclo de Krebs y de la cadena de transporte de electrones (Plant Cell Technologies 2017). Cabe mencionar que, en este estudio, si bien la adición de 4 mL L⁻¹ de PPMTM redujo la contaminación, este provocó mayores signos de oxidación; lo que podría estar relacionado con un posible efecto de fitotóxico por ser un compuesto ácido y, por lo tanto, es necesario evaluar el efecto de diferentes concentraciones (Thomas *et al.* 2017).

De acuerdo con lo planteado por Santos *et al.* (2019), el efecto del biocida varía según su concentración y la especie de bambú; esto último debido a las características fisiológicas y genéticas específicas de los explantes (según el genotipo) que influyen directamente durante el desarrollo *in vitro* (Polesi *et al.* 2019). Además, la dificultad para desinfectar los tejidos del bambú puede explicarse por el tipo de explante, ya que los segmentos nodales contienen alta carga de microorganismos endófitos (Pasqualini *et al.* 2019b), los cuales se introducen en los espacios intercelulares generados durante el aislamiento del explante (Ray y Ali 2016). Este aspecto dificulta la desinfección de los explantes debido a que los microorganismos endófitos tienen mayor profundidad de penetración en el tejido (Pasqualini *et al.* 2019b). En ese contexto, los biocidas como PPMTM se han descrito como una alternativa para controlar el crecimiento de hongos y bacterias endófitas (Plant Cell Technologies 2017).

Por otro lado, los explantes establecidos en medio líquido mostraron mayor formación y crecimiento de brotes comparado con el desarrollo registrado en el medio semisólido. Experiencia con similar éxito se reportó en la multiplicación *in vitro* de *G. angustifolia* utilizando un sistema de inmersión temporal (Gutiérrez *et al.* 2016). Estos resultados pueden visualizarse dado que el uso de medios de cultivo libre de agente gelificante facilita la movilidad de nutrientes a través del explantes, mientras que su solidificación actúa como barrera física para la liberación y absorción de los mismos (García-Ramírez *et al.* 2010, Ribeiro *et al.* 2016). A partir de estos datos se confirman que, la proliferación de brotes en bambú está mediado por la consistencia del medio de cultivo. Cabe resaltar que, los explantes de *G. angustifolia* no registraron problemas visibles de hiperhidricidad; trastorno fisiológico que fue reportado en explantes de *Dendrocalamus* (Sandhu *et al.* 2017). En general, se puede mencionar que el establecimiento *in vitro* de *G. angustifolia* utilizando medio líquido tiene efectos positivos sobre la inducción y crecimiento de brotes; variables que tienen relación directa con el coeficiente de multiplicación, dado que es posible obtener mayor número

de plantas para ser transferidos a las fases de enraizamiento y aclimatación (García-Ramírez *et al.* 2010).

CONCLUSIONES

Este estudio muestra que el efecto conjunto del biocida Germon 80 (utilizado para el pretratamiento de explantes por inmersión) y PPM™ (agregado al medio de cultivo) presenta diferentes respuestas dependiendo de la concentración del biocida. Se ha observado que la adición de 2 mL L⁻¹ o 4 mL L⁻¹ de PPM™ redujo el desarrollo de microorganismos contaminantes, sin embargo, a estas concentraciones, la tasa de viabilidad (explantes vivos no contaminados) se ve afectada por el aumento en la tasa de oxidación. Además, el medio sin agente gelificante demostró ser beneficioso para la formación y elongación de brotes.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen el financiamiento realizado a través del proyecto CUI N° 2252878 (SNIP N° 312252) “Creación del Servicio de un Laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas”, ejecutado por el Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva.

REFERENCIAS

- Bakshi M, C Tiwari, S Razvi. 2015. Conservation of an important montane bamboo *Thamnochalamus falconeri* Hook.f. ex Munro through axillary bud proliferation. *Journal of Forestry Research* 26(1): 179-185. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11676-015-0022-3>
- Branco V, S Caito, M Farina, J Rocha, M Aschner, C Carvalho. 2017. Biomarkers of mercury toxicity: Past, present, and future trends. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part B* 20(3): 119-154. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/10937404.2017.1289834>
- Casanova FE, G Domínguez, ML Tapia. 2019. Determinación de medios de cultivo para el establecimiento *in vitro* de bambú (*Guadua weberbaueri*). *Anales Científicos* 80(1): 160-167. DOI: <http://dx.doi.org/10.21704/ac.v80i1.1380>
- Clark L, X Londoño, E Ruiz-Sanchez. 2015. Bamboo taxonomy and habitat. In Liese W, M Köhl eds. Springer International Publishing. Switzerland. *Bamboo* 10: 1-30. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-14133-6_1
- Correa LA, JE Moreno, NE González. 2014. Evaluation of the effect of disinfection treatments with sodium hypochlorite over nodal segments present in *Guadua angustifolia* Kunth for the establishment of the *in vitro* culture. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* 5(1): 155-169.
- Furlan FC, NH Gavilan, AZ Zorz, LS Oliveira, ER Konzen, GE Brondani. 2018. Active chlorine and charcoal affect the *in vitro* culture of *Bambusa vulgaris*. *Bosque* 39(1): 61-70. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002018000100006>
- García-Ramírez Y, M Freire-Seijo, BR Perez, O Hurtado. 2010. Efecto del estado físico del medio de cultivo y el número de subcultivos en la fase de multiplicación *in vitro* de plantas de *Bambusa vulgaris* var. *vulgaris*. *Schrad. ex Wendl. Biotecnología Vegetal* 10(2): 113-119.
- Guri AZ, KN Patel. 1998. Compositions and methods to prevent microbial contamination of plant tissue culture media. *United States Patent* 5(750): 402.
- Gutiérrez LG, R López-Franco, T Morales-Pinzón. 2016. Micropropagation of *Guadua angustifolia* Kunth (Poaceae) using a temporary immersion system RITA. *African Journal of Biotechnology* 15(28): 1503-1510. DOI: <http://dx.doi.org/10.5897/AJB2016.15390>
- Jiménez VM, E Guevara. 2007. Micropropagation of bamboo species through axillary shoot proliferation. In Jain M, H Haggman eds. *Protocols for micropropagation of woody trees and fruits*. Amsterdam, Netherlands. Springer. p. 465-467. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4020-6352-7_43
- Landauro DA, M Araujo, F Trujillo. 2016. Características de preservación por el método de inmersión del culmo de *Guadua angustifolia* Kunth (bambú), proveniente del distrito de La Florida, Cajamarca. *Revista Forestal Del Perú* 31(2): 47-57. DOI: <http://dx.doi.org/10.21704/rfp.v31i2.1026>
- Móstiga RC, BG Cano, LR Quispe, MJ Móstiga. 2019. Análisis morfológico y molecular de especies de bambú del género *Guadua* (Poaceae: Bambusoideae) procedentes de las regiones San Martín y Cajamarca, Perú. *Revista de Investigación Agroproducción Sustentable* 3(1): 83-91. DOI: <http://dx.doi.org/10.25127/aps.20191.486>
- Murashige T, F Skoog. 1962. Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15(3): 473-497.
- Nadha HK, R Salwan, RC Kasana, M Anand, A Sood. 2012. Identification and elimination of bacterial contamination during *in vitro* propagation of *Guadua angustifolia* Kunth. *Pharmacognosy Magazine* 8(30): 93-97. DOI: <http://dx.doi.org/10.4103/0973-1296.96547>
- Nogueira JS, HT Gomes, JE Scherwinski-Pereira. 2019. Micropropagation, plantlets production estimation and ISSR marker-based genetic fidelity analysis of *Guadua magna* and *G. angustifolia* L. *Pesquisa Agropecuaria Tropical* 49: e53743. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-40632019v4953743>
- Olivier J. 2008. Gramíneas (Poaceae) bambusiformes del río de los amigos, Madre de Dios, Perú. *Revista Peruana de Biología* 15(1): 121-126.
- Ornellas TS, CK Marchetti, GH Oliveira, Y Fritsche, MP Gueirra. 2019. Micropropagation of *Guadua chacoensis* (Rojas) Londoño & PM Peterson. *Pesquisa Agropecuaria Tropical* 49: e55450. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-40632019v4955450>
- Pasqualini APdA, MC Santos, BF Sant, A Santos, HPDF Fraga, M Quoirin. 2019b. *In vitro* culture and diversity of endophytic fungi in *Bambusa oldhamii*. *Pesquisa Agropecuaria Tropical* 49: e53760. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-40632019v4953760>
- Pasqualini APdA, GX Schneider, HPF Fraga, LA Biasi, M Quoirin. 2019a. *In vitro* establishment of *Bambusa oldhamii* Munro from fieldgrown matrices and molecular identification of endophytic bacteria. *Pesquisa Agropecuaria Tropical* 49: e53673. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-40632019v4953673>
- Plant Cell Technologies. 2017. PPM™-Plant Preservative Mixture Product Information. Consultado 18 nov. 2020. Dispo-

- nible en <http://www.plantcelltechnology.com/ppmproduct-information>.
- Polesi LG, HP Fraga, LN Vieira, AS Heringer, TS Ornellas, HP Santos, MP Guerra, R Pescador. 2019. Chloroplast ultrastructure and hormone endogenous levels are differently affected under light and dark conditions during *in vitro* culture of *Guadua chacoensis* (Rojas) Londoño & PM Peterson. *Acta Physiologiae Plantarum* 41(1): 10. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11738-018-2804-7>
- Ray SS, N Ali. 2016. Biotic contamination and possible ways of sterilization: a review with reference to bamboo micropropagation. *Brazilian archives of biology and technology* 59: e16160485. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2016160485>
- R Core Team. R. 2020. a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.
- Ribeiro AS, GE Brondani, GCR Tormen, AJR Figueiredo. 2016. Cultivo *in vitro* de bambu em diferentes sistemas de propagação. *Nativa* 4(1): 15-18. DOI: <http://dx.doi.org/10.14583/2318-7670.v04n01a04>
- Saini H, ID Arya, S Arya, R Sharma. 2016. *In vitro* Micropropagation of Himalayan Weeping Bamboo, *Drepanostachyum falcatum*. *American Journal of Plant Sciences* 7(9): 1317-1324. DOI: <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2016.79126>
- Sandhu M, SH Wani, VM Jiménez. 2017. *In vitro* propagation of bamboo species through axillary shoot proliferation: a review. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 132: 27-53. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-017-1325-1>
- Santos DWRd, TP Rocker, TS Ornellas, MP Guerra. 2019. Effects of a commercial biocide, kasugamycin and consistency of the culture medium on the *in vitro* establishment of bamboo. *Pesquisa Agropecuaria Tropical* 49: e55435. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-40632019v4955435>
- Thapa P, A Bhattacharya, P Sood, K Devi, A Sood. 2018. Advances in bamboo biotechnology: Present status and future perspective. *Biotechnologies of Crop Improvement* 1: 243-265. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-78283-6_7
- Thomas P, M Agrawal, CB Bharathkumar. 2017. Use of Plant Preservative Mixture for establishing *in vitro* cultures from field plants: Experience with papaya reveals several PPM™ tolerant endophytic bacteria. *Plant Cell Reports* 36(11): 1717-1730. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00299-017-2185-1>
- Torres GRC, LM Houllou, RA Souza. 2016. Control of contaminants during introduction and establishment of *Bambusa vulgaris in vitro*. *Research in Biotechnology* 7(1): 58-67.

Recibido: 20.12.20

Aceptado: 16.06.22

Respiración de CO₂ desde el suelo en bosques templados del Parque Nacional Iztaccihuatl-Popocatepetl, centro de México

Respiration of CO₂ from the soil of temperate forests in the Iztaccihuatl-Popocatepetl National Park, Mexico

Yadihra Cruz-Sánchez ^a, Leticia C. López-Teloxa ^b,
Jesús D. Gómez-Díaz ^c, Alejandro I. Monterroso-Rivas ^{c*}

^aUniversidad Autónoma Chapingo, División de Ciencias Forestales, km 38,5 Carretera México Texcoco, Chapingo, México 56230.

^bUniversidad Autónoma Chapingo, Departamento de Fitotecnia, km 38,5 Carretera México Texcoco, Chapingo, México 56230.

*Autor de correspondencia: ^c Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Suelos, km 38,5 Carretera México Texcoco, Chapingo, México 56230, aimrivas@correo.chapingo.mx

SUMMARY

In temperate forests, climatic and plant species diversity lead to important changes in soil respiration. The objective of this study was to analyze the respiration of the soil from changes in carbon dioxide emitted in a temperate forest in central Mexico to know its spatial and temporal variation. To do this, emissions were measured with a LI-COR continuous flow chamber (LI8100A), in winter and spring and in three forest communities: pine forest; mixed pine, oyamel and aile forest; as well as mixed pine and oyamel forest. Its relationship with vegetation cover, temperature and humidity, both environmental and soil, was explored. Statistical tests were applied to find correlations among variables, ecosystems and soil respiration. Results show that soil respiration varied both seasonally and among the different forest covers evaluated. The winter season was from 1.07 to 2.10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, higher for the pine forest and lower for the association of pine and oyamel. In the spring it was 1.28 to 5.15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, higher for the association of pine and oyamel and lower for the pine, oyamel and aile forests. Soil respiration was found to be influenced by vegetation cover, soil temperature and moisture, and weather conditions depending on the season of the year. The information will allow estimating emissions by soil respiration in temperate forests of the country.

Keywords: soil humidity, soil temperature, pine, sacred fir, mexican alder.

RESUMEN

En bosques templados la diversidad climática y de especies vegetales propician cambios importantes en la respiración del suelo. El objetivo de este estudio es analizar la respiración del suelo a partir de cambios en el dióxido de carbono emitido en un bosque templado del centro de México a fin de conocer su variación espacial y temporal. Para ello, la respiración se midió con una cámara de flujo continuo LI-COR (LI8100A), en invierno y primavera y en tres comunidades de bosque: bosque de pino; bosque mixto de pino, oyamel y aile; así como bosque mixto de pino y oyamel. Se exploró su relación con la cobertura vegetal, temperatura y humedad tanto ambiental como edáfica. Se aplicaron pruebas estadísticas para encontrar correlaciones entre variables, ecosistemas y respiración del suelo. Los resultados muestran que la respiración del suelo varió tanto estacionalmente como entre las diferentes coberturas de bosque evaluadas. Para la temporada invernal fue desde 1,07 hasta 2,10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, mayor para el bosque de pino y menor para la asociación de pino y oyamel; en primavera fue de 1,28 a 5,15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, mayor para la asociación de pino y oyamel y menor para el bosque de pino, oyamel y aile. Se encontró que la respiración edáfica está influenciada la cobertura vegetal, la temperatura y humedad del suelo, y las condiciones climáticas dependiendo de la temporada del año. La información permitirá estimar las emisiones por respiración del suelo en bosques templados del país.

Palabras clave: humedad suelo, temperatura suelo, pino, oyamel, aile.

INTRODUCCIÓN

La respiración del suelo desempeña un papel importante en la regulación de la concentración atmosférica de dióxido de carbono (CO₂), el equilibrio global de carbono

y a la retroalimentación asociada al cambio climático (Yan *et al.* 2019). Está relacionada con características bióticas como el metabolismo de las plantas, la fotosíntesis y la materia orgánica presente en la capa superficial del suelo (Ryan y Law 2005). También se relaciona con atributos

abióticos como temperatura del suelo, humedad del suelo y otras condiciones ambientales menores. Así pues, la respiración del suelo se define como la producción total de CO₂, por unidad de área y de tiempo, en suelos intactos debido a la respiración de organismos edáficos, raíces, hifas micorrízicas, y, en menor extensión, por la oxidación química de los compuestos de carbono (Raich & Schlesinger 1992). Las superficies cubiertas con bosques son particularmente interesantes para estudiar cómo se presentan los balances en las emisiones de gases efecto invernadero, como el bióxido de carbono.

Las tierras cubiertas de árboles, incluidas las tierras forestales, cubren aproximadamente el 28 % de la superficie terrestre (Oertel *et al.* 2016). En conjunto con la agricultura y otros usos del suelo son el segundo mayor emisor de gases de efecto invernadero (GEI) que representa 24 % del total de emisiones globales (Waheed *et al.* 2018). Sin embargo, al perturbar los ecosistemas forestales, mediante la deforestación y degradación para usos agrícolas, la extracción de madera y la expansión de asentamientos humanos, entonces se suman 17 % a las emisiones mundiales de CO₂ (Santini *et al.* 2019). Las comunidades forestales son participantes activos de las dinámicas globales climáticas. Sin embargo, las altas fluctuaciones espaciales, temporales e interanuales de la respiración del suelo hacen que sea difícil determinar las emisiones de CO₂ en diferentes entornos.

Los métodos directos, como las mediciones realizadas con apoyo de cámaras dinámicas de intercambio gaseoso abiertas o cerradas entre el suelo y la atmósfera, proporcionan información esencial sobre la respiración del suelo cuantificando la concentración CO₂ durante un período de tiempo definido (Yadav y Wang 2017). A pesar de que se ha criticado el uso de cámaras para la medición de la respiración del suelo ya que pueden ser afectadas por la temperatura, la radiación solar y las condiciones de viento, son sumamente útiles para separar los componentes de la respiración. Estas mediciones de CO₂ representan la suma de una variedad de procesos donde se incluyen la respiración de la raíz, la oxidación heterotrófica de los organismos de la materia orgánica del suelo y de la parte aérea de la vegetación (López Santos y Gil Marín 2008).

México ha impulsado desde hace algunos años políticas nacionales para desarrollar estrategias y acciones para afrontar los efectos del cambio climático, como es el caso del Plan Nacional de Desarrollo 2013-2018, que estableció las bases de las acciones a seguir complementadas con el Programa Especial y los Programas Estatales de Cambio Climático (ENCC 2013). El país avanza en el cumplimiento de compromisos relacionados con inventarios de emisiones de gases de efecto invernadero (INECC 2018) Las emisiones totales del país, de acuerdo con el Inventario Nacional de Emisiones de Gases y Compuestos de Efecto Invernadero 2017 (INECC 2019), se situaron en 734 millones de toneladas de CO₂e, lo que representa un aumento del 65 % con respecto a 1990. El principal motor del

crecimiento de las emisiones es el consumo de combustibles fósiles para transporte y la generación de electricidad, seguido de actividades como la ganadería y la industria del petróleo y el gas. Sin embargo, de acuerdo con la Ley General de Cambio Climático (LGCC), los porcentajes de reducción de emisiones a lograr por sector para 2030 son: 18 % en transporte, 31 % en producción de energía eléctrica y calor, 8 % en agricultura y ganadería, 5 % en procesos industriales y uso de productos, 28 % en residuos, 14 % en petróleo y gas natural y 18 % en residencial y comercial (DOF 2021).

Según el Inventario Nacional de Emisiones de Gases y Compuestos de Efecto Invernadero en los bosques nacionales las absorciones de CO₂ se deben principalmente a procesos de captación de la vegetación durante la fotosíntesis. Por otra parte, la producción de CO₂ en los bosques, sin considerar su degradación (donde se libera hacia la atmósfera el carbono que alguna vez fue almacenado), se origina por la respiración del suelo principalmente, no considerada por el Panel Intergubernamental del Cambio Climático. Se incluyen en este inventario, las emisiones y absorciones de CO₂ debidas a cambios en la biomasa, en la materia orgánica, pero no se incluye el proceso de respiración del suelo en este u otros tipos de ecosistemas.

En el presente estudio se reporta un acercamiento a la cuantificación de las emisiones de CO₂ provenientes del suelo en un ecosistema forestal, que pueden ser consideradas para fundamentar líneas de base para propuestas en el cálculo y estimación del sector forestal en el inventario nacional de emisiones. Los bosques mexicanos observan tasas de deforestación elevadas comparadas con cifras mundiales, estimadas a un ritmo de 500.000 ha durante la década de los años noventa (Covaleda *et al.* 2009) y las emisiones de CO₂ a causa del cambio de uso de suelo ya han sido estudiados. Por ejemplo, Báez *et al.* (2006) estudiaron las tasas de emisión de CO₂ en suelos volcánicos en ecosistemas naturales y suelos degradados (tepetates) habilitados para la producción agrícola; reportan que la tasa de emisión decreció desde los meses con mayor precipitación a los meses más secos, las zonas degradadas presentaron las tasas de emisión más bajas, sin embargo, aumentaron paulatinamente con los años de cultivo y fue mayor la tasa de emisión en los sistemas agrícolas. Por su parte, Campos (2014) sugiere que el cambio de uso de suelo para tierras de cultivos tiene potencial de modificar las tasas de respiración del suelo, al igual que la temperatura y el agua del suelo, al influir en el microclima del suelo y la entrada de sustrato orgánico al suelo. Cueva *et al.* (2016) realizan un valioso ejercicio de estudios de respiración en México, donde se observa que dominan aquellos realizados en sistemas agrícolas y forestales tropicales sobre los realizados en bosques templados conservados.

La diversidad de especies vegetales en sitios conservados y la variación de las condiciones climáticas, da como resultado cambios importantes en las tasas de respiración del suelo; para esta contribución se reportan las primeras

mediciones de respiración del suelo realizadas dentro de la Estación Forestal Experimental Zoquiapan a lo largo de las principales coberturas vegetales presentes. Así, el objetivo de este estudio es analizar la respiración del suelo a partir de cambios en el dióxido de carbono emitido en un bosque templado de México ubicado dentro del Parque Nacional Iztaccihuatl-Popocatepetl, a fin de conocer su variación espacial y temporal.

A razón de ello, los objetivos particulares del trabajo son: a) comparar las tasas de respiración del suelo de un bosque templado en tres clases de cobertura vegetal (comparación espacial): 1) bosque de pino, 2) bosque de pino, oyamel y aile y 3) bosque de pino y oyamel. b) Analizar la respiración en dos temporadas del año (estudio temporal): primavera e invierno y finalmente c) analizar la correlación de la respiración del suelo con la temperatura y la humedad edáfica, así como variables ambientales (temperatura ambiental, humedad ambiental y radiación solar).

Las hipótesis son: a) la respiración del suelo es mayor en coberturas vegetales mixtas en comparación de masas puras; y b) la respiración del suelo será mayor durante la temporada más calurosa (primavera) en comparación con la temporada más fría (invernal). Con lo anterior, se tendrá información detallada sobre emisiones de CO₂ en suelos forestales de climas templados y del centro de México, que permita contar con más información sobre los ecosistemas, así como ser más específicos en los factores de cálculo nacionales del Inventario Nacional de Emisiones de Gases y Compuestos de Efecto Invernadero, así como mejores prácticas de manejo y conservación forestal.

MÉTODOS

Área de estudio. El estudio se realizó en el centro de México, en la Estación Forestal Experimental Zoquiapan que se localiza en los municipios de Ixtapaluca y Chalco del Estado de México. Su centroide se encuentra en las coordenadas 19° 15' 29" N y 98° 37' 45" W (Chávez-Salcedo *et al.* 2018) y ocupa un área de 1.640 ha. Los climas dominantes son, en las partes más altas semifríos [C(E)(w2)(w)] y circunscribiendo a estos, el clima es templado del tipo C(w2)(w), según la clasificación de Koeppen modificada por García (1988). La precipitación media anual va de 800 hasta 1.200 mm mientras que la temperatura promedio anual va de 6 °C en las zonas más altas hasta los 14 °C (Lomas-Barrié *et al.* 2005). La vegetación característica es de bosques templados, siendo el bosque de pino el de mayor extensión (Lomas-Barrié *et al.* 2005). Sin embargo, también se puede encontrar *Abies religiosa* (Kunth) Schltdl. *et* Cham (oyamel), *Quercus* spp. (encino) (Chávez-Salcedo *et al.* 2018), *Alnus firmifolia* Fernald (aile) (Paredes-Gonzalez *et al.* 2018), *Pinus hartwegii* Lindl. (pino de las alturas) y *Pinus montezumae* Lam (ocote), principalmente (Chávez-Salcedo *et al.* 2018). La textura del suelo es clasificada como Franco-arenosa (Matías Ramos *et al.* 2020). El origen volcánico es dominante, con clase ígnea

extrusiva que derivan en suelos profundos de tipo andosol (Paredes-Gonzalez *et al.* 2018).

Bosque y cubierta vegetal estudiadas. Se analizó la respiración del suelo de tres tipos de cobertura durante invierno y primavera. Las tres coberturas seleccionadas son los tipos de vegetación más abundantes en la Estación Forestal de acuerdo con el Uso del suelo y vegetación, escala 1:250.000, serie VI del INEGI (INEGI 2017) además de que las condiciones climáticas son contrastantes en los dos periodos:

Bosque de pino (BP): El sitio se encuentra a una altura promedio de 3.283 m s.n.m. La especie arbórea dominante es *Pinus hartwegii*, en el sotobosque prolifera el zacatón (*Muhlenbergia macroura* (H.B.K.) Hitchc.) (Chávez-Salcedo *et al.* 2018), que cubren cerca del 95 % de la superficie del suelo. Presenta alta regeneración natural y abundantes residuos de acículas, por lo que la cantidad de materia orgánica en descomposición en los primeros 10 cm del suelo es abundante. Existe gran cantidad de raíces del estrato herbáceo hasta aproximadamente los 30 cm de profundidad del suelo. Los suelos en este sitio son profundos (Paredes-Gonzalez *et al.* 2018), con buen drenaje y aireación, además conservan un alto porcentaje de humedad edáfica, razón por la cual prolifera la actividad microbiana. Debido a la presencia de estratos de porte bajo, no se observan problemas de erosión.

Bosque de pino, oyamel y aile (BPOA): El sitio se caracteriza por la asociación de *Pinus hartwegii*, *Abies religiosa* y *Alnus firmifolia* (Paredes-Gonzalez *et al.* 2018). En el estrato arbustivo, la especie dominante es *Larrea* spp. (jarilla), mientras que en el estrato herbáceo dominan diferentes especies de pastos y musgo, cubriendo cerca del 80 % del suelo forestal. Está ubicado a una altitud de 3.305 m s.n.m. El suelo cuenta con una gran cantidad de materia orgánica en descomposición, además se observan gran cantidad de pastos. Son suelos profundos de color café oscuro con gran cantidad de raíces presentes en los primeros horizontes.

Bosque pino y oyamel (BPO): Aquí se caracteriza por asociación entre *Pinus hartwegii* y *Abies religiosa*. La vegetación herbácea está dominada principalmente por musgo. Está ubicado a una altitud de 3.337 m s.n.m. Los suelos son profundos de color café oscuro, ricos en materia orgánica y muy húmedos. Dentro de los primeros 30 cm de profundidad se pueden encontrar gran cantidad de raíces de la vegetación herbácea presente.

Respiración de suelo. La respiración del suelo se midió con una cámara de flujo continuo modelo LI-8100A (LI-COR Inc., Lincoln, Nebraska, USA), misma que se colocó encima de un collar de PVC insertado en el suelo previamente a una profundidad de cinco centímetros aproximadamente (López *et al.* 2020). El aire acumulado en el interior de la cámara es enviado a un analizador (conectado a la cámara) integrado con espectroscopía de absorción óptica en la re-

gión infrarroja (IRGA) donde el CO₂ se detecta y es cuantificado. Además, en la cámara se incluyen dos sensores que registraron la información de temperatura y humedad del suelo al mismo tiempo que se cuantificó el CO₂, modelo Soil Temperature Probe y Theta Soil Moisture Probe, respectivamente. Se instalaron los collares con 24 horas de anticipación en cada rodal medido para evitar mediciones de la respiración del suelo incorrectas por alteraciones en el suelo (Cueva-Rodríguez *et al.* 2012).

El CO₂ atmosférico acumulado en la cámara se midió como CO₂ μmol m⁻² s⁻¹ de aire seco. Todas las mediciones se tomaron a cada media hora durante 90 segundos con 30 segundos de banda muerta, una pre-purga de 60 segundos y la pos-purga de 30 segundos. Dentro de la cámara se genera una línea de concentración de CO₂ cuya pendiente se usa para calcular la tasa de respiración del suelo con base en la ecuación 1.

$$F_c = \frac{10VP_0 \left(1 - \frac{W_0}{1000}\right) \partial C'}{RS(T_0 + 273.15)} \frac{\partial C'}{\partial t} \quad [1]$$

donde F_c es la tasa de flujo de CO₂ del suelo (μmol m⁻² s⁻¹), V es el volumen de la cámara (cm³), P_0 es la presión inicial (k Pa), W_0 es la fracción de mol de vapor de agua inicial (m mol mol⁻¹), R es la constante de gas (8,314 Pa m³ K⁻¹ mol⁻¹), S es el área de la superficie del suelo (cm²), T_0 es la temperatura inicial del aire (°C) y $\partial C'/\partial t$ es la tasa de cambio inicial en la fracción molar de CO₂ corregida en agua (μmol mol⁻¹).

Diseño experimental. Los datos de respiración, temperatura y humedad del suelo se tomaron a partir de las 09:00 horas y hasta las 17:00 horas en cada una de las diferentes coberturas para la temporada de invierno (17-19 de febrero del 2019). Para la temporada de primavera (22-24 de mayo del 2019) la información se registró a partir de las 11:00 hasta las 17:00 horas. De esta forma se tomaron un total de 270 registros de respiración, temperatura y humedad del suelo: para la temporada de invierno 51 registros de estas variables (cada uno) y 39 registros de cada una para primavera.

Paralelamente datos meteorológicos diarios fueron obtenidos mediante una estación meteorológica que se ubica dentro de la Estación Forestal Experimental Zoquiapan aproximadamente a 500 m de los sitios estudiados (17-19 de febrero y 22-24 de mayo del 2019). Las variables consideradas fueron temperatura ambiente, humedad relativa y radiación solar. Cabe mencionar que durante los periodos de medición no se presentaron eventos de precipitación, por lo que esta condición meteorológica no se tomó en cuenta. De modo que la información meteorológica consistió en 270 datos, 51 para invierno y 39 para primavera divididos en las tres variables mencionadas anteriormente y se organizó en una base de datos emparejada con las mismas horas que las mediciones de respiración del suelo tomadas por la cámara.

Análisis estadístico. Se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor y su correspondiente análisis Tukey HSD para probar las diferencias entre las variables (respiración, temperatura y humedad del suelo), coberturas vegetales y temporadas del año. Además, se aplicó el “Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test” para comprobar la normalidad de los datos, después se procedió a aplicar la correlación de Spearman para conocer la influencia de la temperatura y humedad del suelo sobre el comportamiento de respiración edáfica para cada una de las temporadas del año. Todos los análisis estadísticos se realizaron con un nivel de significancia de 0,05 y con el *software* R (versión 3.4.0).

RESULTADOS

Variabilidad espacial y temporal de las tasas de respiración del suelo. La respiración del suelo en el bosque templado en la Estación Forestal Experimental Zoquiapan varió tanto temporal como espacialmente entre las coberturas vegetales (figura 1). Las variaciones se presentan en el cuadro 1 de acuerdo con la temporada del año y la cobertura vegetal medida. Se puede observar que el bosque mixto de pino y oyamel presentó el valor más elevado de respiración del suelo en primavera y el bosque pino el mayor en invierno, mientras que en esta misma temporada el bosque mixto de pino y oyamel mostró el valor más bajo; en primavera el valor menor de respiración del suelo lo presentó el bosque mixto de pino oyamel y aile.

Durante el periodo invernal (febrero) el promedio de respiración edáfica fue de 1,85 μmol m⁻² s⁻¹ para el bosque de pino, 1,55 μmol m⁻² s⁻¹ para el bosque de pino, oyamel y aile y 1,20 μmol m⁻² s⁻¹ para el bosque de pino y oyamel, con un coeficiente de variación (CV) entre coberturas de 19 %. En el periodo de primavera (mayo) la media de la respiración del suelo fue de 3,85, 2,25 y 4,34 μmol m⁻² s⁻¹ para el bosque de pino, pino, oyamel y aile, y pino y oyamel, respectivamente, con un CV de 28 % (cuadro 2). Estos valores exhibieron una fuerte estacionalidad, al observar en promedio 1,53 ± 0,29 y 3,47 ± 0,99 μmol m⁻² s⁻¹ de emisión para la temporada de invierno y primavera. En este caso, el CV entre primavera e invierno fue de 50 %.

Cuadro 1. Rango de valores de respiración del suelo en μmol m⁻² s⁻¹ por temporada y cobertura vegetal.

Range of soil respiration values in μmol m⁻² s⁻¹ per season and vegetal cover.

Temporada/ Cobertura vegetal	BP	BPOA	BPO
Invierno	1,63 - 2,10	1,21 - 1,85	1,07 - 1,32
Primavera	3,05 - 4,49	1,28 - 3,05	3,63 - 5,15

BP: bosque de pino; BPOA: bosque de pino, oyamel y aile; BPO: bosque de pino y oyamel.

En las dos temporadas del año, la respiración del suelo fue estadísticamente diferente ($P < 0,05^*$) al igual que por cobertura vegetal. Los valores para la temporada invernal fueron desde 1,07 hasta 2,10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, mientras que, en primavera se encuentran entre 1,28 y 5,15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las tasas de respiración del suelo en la temporada invernal fueron mayores para el bosque de pino y menores para la asociación de pino y oyamel, mientras que, en la temporada de primavera este bosque (BPO) fue el que presentó la mayor respiración del suelo y el bosque de pino, oyamel y aile la menor.

Respiración, temperatura y humedad. Se detectaron diferencias significativas ($P < 0,05^*$) en la temperatura y humedad del suelo a una profundidad de 10 cm tanto en diferentes coberturas como entre las dos temporadas del

año. En invierno la temperatura del suelo registró valores medios de 6,64 °C, 6,65 °C y 5,91 °C para bosque de pino, bosque de pino, oyamel y aile y bosque de pino y oyamel, respectivamente, mientras que para la temporada de primavera los valores medios fueron 10,12 °C, 10,90 °C y 10,57 °C para bosque de pino, bosque de pino, oyamel y aile y bosque de pino y oyamel, respectivamente. Por su parte, los valores medios de humedad edáfica oscilaron entre 0,11 y 0,21 $\text{m}^3 \text{m}^{-3}$ (cuadro 2).

Los resultados mostraron que la variación de la respiración edáfica se debió a los efectos de temperatura y humedad del suelo, estos efectos son más notorios comparados entre las temporadas del año, es decir, se observó que mientras la humedad es estable y la temperatura incrementa la respiración aumenta notoriamente (figura 2). Las variaciones en la respiración del suelo estuvieron dominadas

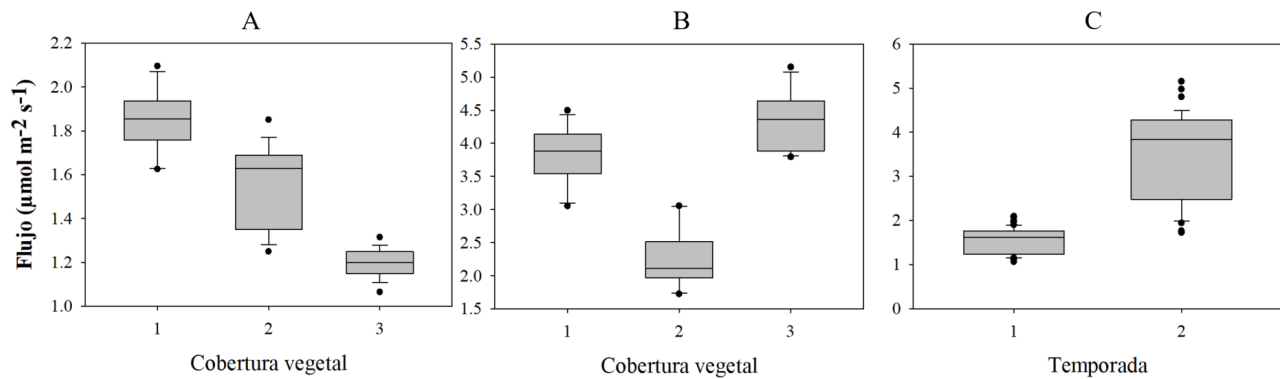


Figura 1. Diagramas de caja de variabilidad de la respiración del suelo por cobertura vegetal [(1) bosque de pino, (2) bosque de pino, oyamel y aile (3) en el eje X] para la temporada de invierno (A), $n = 51$, CV: 19,53 %, primavera (B), $n = 39$, CV: 28,67 % y por temporada del año [invierno (1) y primavera (2) en el eje X] (C), $n = 90$, CV: 50,08 %.

Box diagrams of soil respiration variability by plant cover [(1) pine forest, (2) pine, fir, and alder forest and, (3) pine and fir forest on the X axis] for the winter season (A), $n = 51$, CV: 19.53 %, spring season (B), $n = 39$, CV: 28.67 %, and both seasons [winter (1) and spring (2) on the X axis] (C), $n = 90$, CV: 50.08 %.

Cuadro 2. Respiración del suelo (Rs), temperatura del suelo (Ts) y humedad del suelo (Hs) según la cobertura vegetal y época del año.

Soil respiration (Rs), soil temperature (Ts) and soil humidity (Hs) by soil cover and season.

Temporada	Cobertura vegetal	Rs ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Ts (°C)	Hs ($\text{m}^3 \text{m}^{-3}$)
		Valor medio	Valor medio	Valor medio
Invierno	BP	1,85 ± 0,13 a	6,64 ± 0,48 a	0,13 ± 0,003 b
	BPOA	1,55 ± 0,18 b	6,65 ± 0,09 a	0,11 ± 0,002 c
	BPO	1,20 ± 0,06 c	5,91 ± 0,22 b	0,21 ± 0,003 a
Primavera	BP	3,84 ± 0,43 b	10,12 ± 0,23 b	0,14 ± 0,002 c
	BPOA	2,25 ± 0,43 c	10,90 ± 1,02 a	0,23 ± 0,002 a
	BPO	4,34 ± 0,44 a	10,57 ± 0,09 ab	0,21 ± 0,003 b

Nota: Para cada variable los valores medios con diferente letra son estadísticamente significativos para la prueba de Tukey ($P = 0,05$). BP: bosque de pino; BPOA: bosque de pino, oyamel y aile; BPO: bosque de pino y oyamel.

principalmente por la humedad, seguido de la temperatura o incluso por la combinación de ambas variables.

De acuerdo con Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) normality test se rechazó el supuesto de que los datos son normales ($P < 0,05^*$). Como ya se mencionó, la respiración edáfica está controlada por la temperatura y hume-

dad del suelo, sin embargo, la prueba de correlación de Spearman mostró que para el caso de la estación primavera la correlación entre respiración y temperatura edáfica es baja, a diferencia de la estación invierno donde esta correlación es alta (cuadro 3). Esta prueba también reveló que las condiciones ambientales como la temperatura y

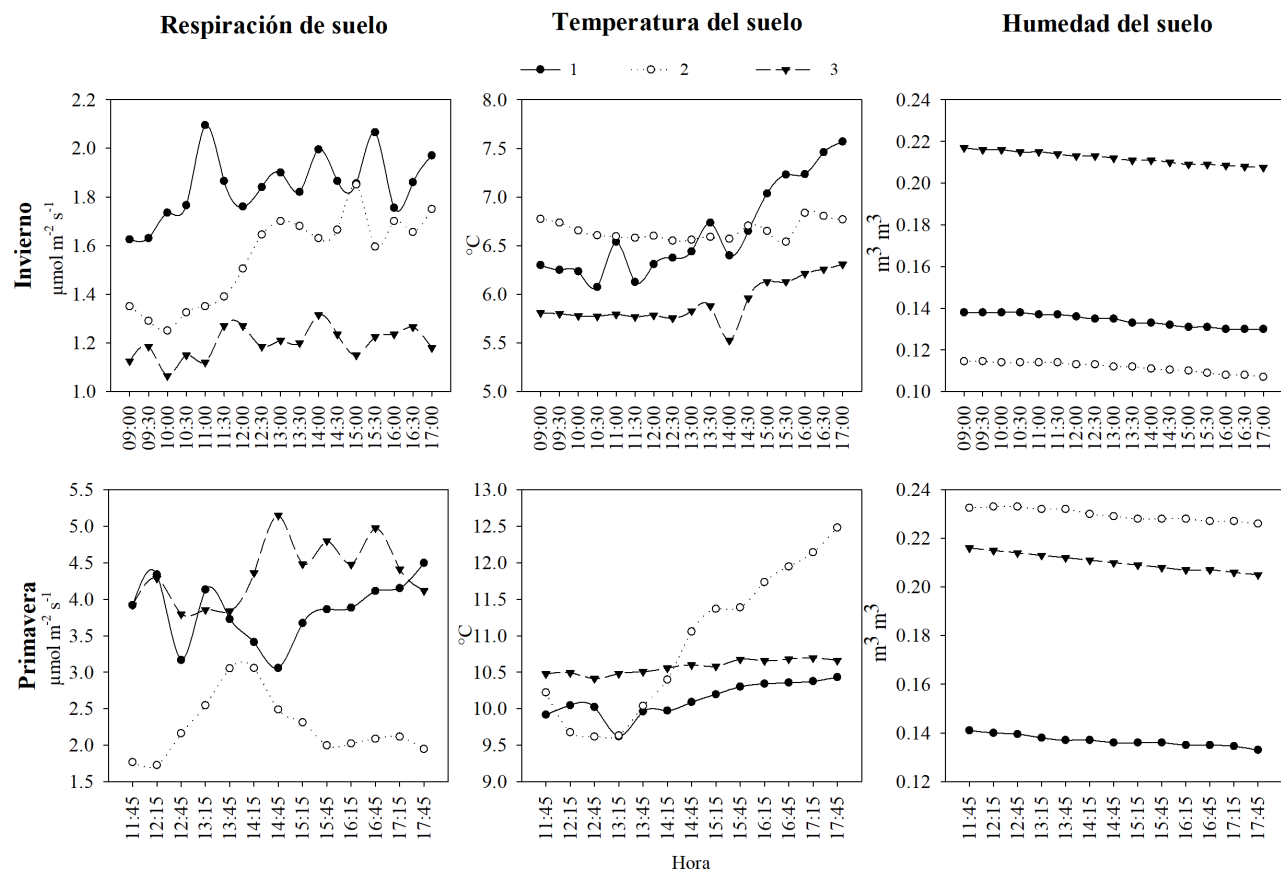


Figura 2. Variación de la respiración, la temperatura y la humedad del suelo por temporada y cobertura vegetal (bosque de pino (1), bosque de pino, oyamel y aile (2) y bosque de pino y oyamel (3)).

Variation of soil respiration, temperature and humidity per season and plant cover (pine forest (1), pine, fir, and alder forest (2) and, pine and fir forest (3)).

Cuadro 3. Coeficientes de correlación de Spearman para seis variables y temporada estudiada.

Spearman correlation coefficients from six variables and season.

Variable	Invierno	Primavera
	Flujo ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	
Temperatura del suelo a 10 cm de profundidad	0,62	-0,10
Humedad del suelo a 10 cm de profundidad	-0,55	-0,68
Temperatura ambiente	0,63	-0,57
Humedad ambiental	0,60	0,60
Radiación solar	-0,10	-0,32

n = 540 valores

humedad ambiental están altamente correlacionadas con la respiración del suelo, lo que muestra que la influencia es alta a diferencia de la radiación solar, que se ha previsto que altera la medición de la respiración del suelo con el uso de cámaras.

DISCUSIÓN

Comparación espacial y temporal de la respiración del suelo. Los resultados de la presente investigación arrojaron valores más elevados de la respiración del suelo en la temporada de primavera a comparación del invierno. Lo anterior se debe a la mayor disponibilidad de agua y aumento en la temperatura del suelo, la cual a su vez aumenta la actividad microbiana (Yan *et al.* 2019). En la época de invierno la respiración edáfica ejerce un papel relativamente pequeño en la dinámica temporal en estos ecosistemas, lo que se relaciona con la disminución de procesos biológicos como la fotosíntesis de las plantas, la actividad microbiana y el crecimiento de raíces y micorrizas que cambian de manera coherente con la dinámica estacional de la temperatura (Oertel *et al.* 2016).

Estas variaciones concuerdan con otros estudios, en ecosistemas similares (Oertel *et al.* 2016) y diferentes (Campos 2014), que mencionan variación sustancial en la respiración del suelo dentro y entre sitios, así como por estaciones, respondiendo a las condiciones ambientales específicas del sitio (Bosque nuboso de montaña tropical y de coníferas en el volcán Cofre de Perote, México).

El flujo promedio de la respiración del suelo en la temporada invernal en ecosistemas similares a los estudiados en la presente investigación oscila entre 0,32 y 0,71 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a temperaturas debajo de los 0 °C con presencia de capas de nieve de hasta 20 cm (Gao *et al.* 2018). En los resultados obtenidos se observó valores más elevados (1,07 - 2,10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Lo anterior debido a que existe una relación directa con la temperatura del suelo que oscila entre los 5 y 7 °C. Por su parte, Cueva-Rodríguez *et al.* (2012) detallan que en un matorral xerófilo del estado de Sonora la respiración edáfica puede variar de 4 a 9 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durante los periodos húmedos, mientras que en periodos secos es menor a 0,5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Así mismo, Oertel *et al.* (2016) establecen que los datos promedio para climas templados durante la estación de crecimiento varían en un rango de 0,45 a 8,2 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Similar a lo encontrado en este estudio durante la temporada de primavera donde oscila de 1,28 a 5,15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Lo anterior concuerda también con lo reportado por Han *et al.* (2018) durante cinco años de medición (2011 - 2015), quienes encontraron que la respiración del suelo media anual varía de 1,40 hasta 2,44 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y Arch-Miller y Samuelson (2016), quienes mencionan una variación de 1,18 a 5,94 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, ambos en ecosistemas similares al del presente estudio.

Así pues, la variación en la respiración edáfica en bosques templados se puede explicar en respuesta a factores

bióticos y abióticos como el tipo de vegetación, edad de las plantas, el tipo de suelo y las condiciones climáticas. Además, el cambio de uso de suelo es uno de los principales factores que provocan aumentos considerables (Don *et al.* 2011) como demostrado por Hu *et al.* (2018) al estudiar el aumento en las emisiones de CO₂ en la conversión de un bosque natural a plantaciones de Bambú, efecto que se debió principalmente a la mineralización y consecuente disminución en secuestro de carbono al suelo.

De este modo, la influencia de la vegetación es un factor importante en la variación de la respiración edáfica, aunado con la interacción del tipo de bosque y la edad (Oertel *et al.* 2016). Lo anterior por la variabilidad en la fenología de los árboles y sus características fisiológicas (Han *et al.* 2018), resultado en diferencia en la cantidad de materia orgánica acumulada en la superficie del suelo, que al someterse a los aumentos de temperatura, inicia el proceso de oxidación aumentando la respiración del suelo (Buchmann 2000), al mismo tiempo que aumenta la actividad enzimática, lo que intensifica los procesos fisiológicos (como la respiración) de los organismos del suelo. El mismo autor reporta que la respiración microbiana domina en el flujo total de CO₂ del suelo en más del 70 %. Por otro lado, Gao *et al.* (2018) mencionan que las diferencias en las tasas de respiración edáfica son explicadas por la variabilidad en los microbios presentes en el suelo que varían de acuerdo con el tipo de vegetación presente.

Correlación entre respiración, temperatura y humedad del suelo. La temperatura y humedad del suelo varían significativamente con la profundidad del suelo y depende de varias características del sitio, por ejemplo, la exposición a la radiación y luz, la sombra o el viento (Oertel *et al.* 2016). La variación de la respiración del suelo puede deberse a la rehumectación de suelos secos, que provoca la desgasificación del suelo en donde el agua va sustituyendo al aire que se encuentra en los micro y macro poros (Cueva *et al.* 2012, Oertel *et al.* 2016).

Así pues, los resultados de esta investigación refuerzan que la temperatura y humedad del suelo tienen efecto con el comportamiento de la respiración del mismo, al igual que las diversas condiciones ambientales; coincidiendo con Arch-Miller y Samuelson (2016), Han *et al.* (2018). Se observó que la respiración edáfica en los diferentes rodales siguió la tendencia estacional positiva de la temperatura del suelo y aumentó exponencialmente con el aumento de esta. De acuerdo con Han *et al.* (2018) la humedad edáfica presenta un fuerte impacto en la respiración del suelo durante las sequías, lo que explica la correlación negativa entre estos dos factores para ambas temporadas en este estudio ya que no se observó gran variación estacional en los datos de esta variable.

Las condiciones climáticas durante la temporada de crecimiento latente o temprana podrían determinar las tasas anuales de respiración del suelo en los ecosistemas de bosques templados (Oertel *et al.* 2016).

CONCLUSIONES

El comportamiento de la respiración del suelo de las diferentes coberturas vegetales medidas es variable de acuerdo con la temporada del año. Sin embargo, se observa que la respiración del suelo es mayor durante la temporada más calurosa (primavera) en comparación con la temporada más fría (invernal). Por lo que se asume una variabilidad estacional y espacial en los tres ecosistemas templados estudiados. En la temporada invernal el bosque de pino tiene la tasa más alta de respiración edáfica y el bosque de pino y oyamel la menor. En primavera, el bosque de pino y oyamel es el que presentó mayor respiración edáfica mientras que el bosque de pino, oyamel y aile resultó con la menor. Por otro lado, los resultados muestran que la variación en las tasas de respiración del suelo está influenciada principalmente por la combinación de temperatura y humedad del suelo, además de la influencia de la temperatura y humedad ambiental.

De acuerdo con los resultados presentados, los objetivos planteados para la investigación fueron cumplidos de manera integral, mientras que la hipótesis “a) la respiración del suelo es mayor en coberturas vegetales mixtas en comparación de masas puras” se rechaza, debido a que esto depende enteramente de la temporada del año en la que los datos fueron tomados ; mientras que la hipótesis “b) la respiración del suelo será mayor durante la temporada más calurosa (primavera) en comparación con la temporada más fría (invernal)” se acepta, ya que los valores de respiración del suelo mayores fueron los obtenidos durante la época más calurosa, como se expone en el párrafo anterior.

Con los resultados presentados en la presente investigación es posible contar una línea base para estimar las tasas de emisiones de CO₂ por año según los tipos de ecosistemas forestales. De modo que se puede considerar como un primer acercamiento para incluir estas emisiones de CO₂ a la cuantificación total nacional y con ello, se permita ser más específicos en los factores de cálculo de las emisiones. Sin embargo, también es necesario continuar estudiando las dinámicas de respiración en comunidades vegetales a largo plazo para contar con resultados más estables y precisos.

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT por la beca otorgada en el programa de Maestría en Ciencias en Ciencias Forestales. A la Universidad Autónoma Chapingo, la División de Ciencias Forestales y al Departamento de Suelos. Así mismo, a los revisores anónimos cuyos comentarios ayudaron a mejorar el manuscrito.

REFERENCIAS

ArchMiller A, LJ Samuelson. 2016. Intra-annual variation of soil respiration across four heterogeneous longleaf pine forests in the southeastern United States. *Forest Ecology and Man-*

agement 359: 370-380. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2015.05.016>

Báez A, S Pajares, JD Etchevers, JF Gallardo. 2006. Emisión de CO₂ en sustratos volcánicos del estado de México y Tlaxcala. 9 p.

Buchmann N. 2000. Biotic and abiotic factors controlling soil respiration rates in *Picea abies* stands. *Soil Biology & Biochemistry* 32: 1625-1635. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00077-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00077-8)

Campbell JL, BE Law. 2005. Forest soil respiration across three climatically distinct chronosequences in Oregon. *Biogeochemistry* 73(1): 109-125. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10533-004-5165-9>

Campos CA. 2014. Trends in soil respiration on the eastern slope of the Cofre de Perote Volcano (Mexico): Environmental contributions. *Catena* 114: 59-66. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.catena.2013.10.010>

Chávez-Salcedo LF, ME Queijeiro-Bolaños, V López-Gómez, Z Cano-Santana, BE Mejía-Recamier, A Mojica-Guzmán. 2018. Contrasting arthropod communities associated with dwarf mistletoes *Arceuthobium globosum* and *A. vaginatum* and their host *Pinus hartwegii*. *Journal of Forestry Research* 29(5): 1351-1364. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11676-017-0544-y>

Covalada S, C Prat, F Garcia-Oliva, JD Etchevers, JF Gallardo, F Paz. 2009. Flujos de CO₂ edáfico en un transecto de bosques de pino-encino afectados por actividad antrópica en la microcuena de Atecuaro (Michoacan, Mejico). In Gallardo Lancho JF, J Campo Alves, ME Conti eds. Emisiones de gases con efecto invernadero en ecosistemas iberoamericanos: Red Iberoamericana de Física y Química Ambiental. Salamanca, España. Consultado ene. 2021. Disponible en <http://www.documentation.ird.fr/hor/fdi:010049867>.

Cueva-Rodríguez A, EA Yépez, J Garatuzza-Payán, CI Watts, JC Rodríguez. 2012. Diseño y uso de un sistema portátil para medir la respiración de suelo en ecosistemas. *Terra Latinoamericana* 30(4): 327-336.

Don A, J Schumacher, A Freibauer. 2011. Impact of tropical land-use change on soil organic carbon stocks - a meta-analysis. *Global Change Biology* 17(4): 1658-1670. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02336.x>

Gao D, B Peng, Z Fan, G Pei, E Bai. 2018. Different winter soil respiration between two mid-temperate plantation forests. *Forest Ecology and Management* 409(72): 390-398. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.11.029>

Han M, B Shi, G Jin. 2018. Conversion of primary mixed forest into secondary broadleaved forest and coniferous plantations: Effects on temporal dynamics of soil CO₂ efflux. *Catena* 162(2012): 157-165. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.catena.2017.12.004>

Hu S, Y Li, SX Chang, Y Li, W Yang, W Fu, J Liu, P Jiang, Z Lin. 2018. Soil autotrophic and heterotrophic respiration respond differently to land-use change and variations in environmental factors. *Agricultural and Forest Meteorology* 250-251: 290-298. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2018.01.003>

Lomas-Barrié CT, S Terrazas-Domínguez, H Tchikoué-Maga. 2007. Propuesta de ordenamiento ecológico territorial para el Parque Nacional Zoquiapan y Anexas. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente* 11(1): 57-71. DOI: <https://chapingo.mx/revistas/forestales>

- López Santos A, JA Gil Marín. 2008. Flujos de CO₂ y le medidos con cámaras de intercambio de gas y sensores de ir bajo condiciones de cielo abierto. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas* 7: 1-5.
- Oertel C, J Matschullat, K Zurba, F Zimmermann, S Erasmí. 2016. Greenhouse gas emissions from soils - A review. *Chemie Der Erde - Geochemistry* 76(3): 327-352. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemer.2016.04.002>
- Paredes-Gonzalez A, AI Monterroso-Rivas, LJ Rodríguez-Esparza, FJ Zamudio-Sánchez. 2018. Projection and probability of land use change in Zoquiapan, Mexico: considerations for forest management. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente* 24(1): 59-71. DOI: <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2017.07.041>
- Raich JW, W Schlesinger. 1992. The global carbon dioxide flux in soil respiration and its relationship to vegetation and climate. *Tellus* 44 B(2): 81-99.
- Ramos M, JD Díaz Gómez, AI Monterroso Rivas, M Uribe Gómez, BDJ Villar Hernández, P Ruiz García, C Asencio. 2020. Factores que influyen en la erosión hídrica del suelo en un bosque templado. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 11(59). DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.29298/rmcf.v11i59.673>
- Ryan MG, BE Law. 2005. Interpreting, measuring, and modeling soil respiration. *Biogeochemistry* 73(1): 3-27. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10533-004-5167-7>
- Santini NS, MF Adame, RH Nolan, Y Miquelajauregui, D Piñero, A Mastretta-Yanes, AP Cuervo-Robayo, D Eamus D. 2019. Storage of organic carbon in the soils of Mexican temperate forests. *Forest Ecology and Management* 446: 115-125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.05.029>
- Waheed R, D Chang, S Sarwar, W Chen. 2018. Forest, agriculture, renewable energy, and CO₂ emission. *Journal of Cleaner Production* 172: 4231-4238. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.287>
- Wang C, Y Han, J Chen, X Wang, Q Zhang, B Bond-Lamberty. 2013. Seasonality of soil CO₂ efflux in a temperate forest: Biophysical effects of snowpack and spring freeze-thaw cycles. *Agricultural and Forest Meteorology* 177: 83-92. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2013.04.008>
- Yadav D, J Wang. 2017. Modelling carbon dioxide emissions from agricultural soils in Canada. *Environmental Pollution* 230: 1040-1049. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.066>
- Yan T, H Song, Z Wang, M Teramoto, J Wang, N Liang, C Ma, Z Sun, Y Xi, L Li, S Peng. 2019. Sensitivity of soil respiration across multiple time scales in a temperate plantation forest. *688(5): 479-485*. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.318>

Recibido: 25.01.21
Aceptado: 16.06.22

Vegetative rescue and *in vitro* propagation of *Persea willdenovii*

Rescate vegetativo y propagación *in vitro* de *Persea willdenovii*

Aline Meneguzzi ^a, Marcio Carlos Navroski ^{**}, Samila Silva Camargo ^a,
Mariane de Oliveira Pereira ^a, Ramon Silveira de Andrade ^a

*Corresponding author: ^a Universidade do Estado de Santa Catarina, Av. Luís de Camões, 2090, Lages, Santa Catarina, Brasil, marcio.navroski@udesc.br

SUMMARY

Persea willdenovii is a native species popularly known for its high potential for medicinal use. Due to problems in low seed production and germination, vegetative propagation appears promising. Thus, we seek with this work to evaluate techniques of vegetative rescue and the potential use of shoots obtained in tissue culture. Adult trees of the species were used to apply total and partial girdling treatments and obtain pruned branches as vegetative rescue techniques. Shoot production was monitored over time (90 to 240 days). Sprouts were used for *in vitro* propagation, and disinfection treatments were carried out using biocides such as NaClO and Plant Preservative Mixture™ (PPM™), changing the time and concentrations of the products. Multiplication was also tested using doses of 6-benzylaminopurine (BAP) and media and the potential for callogenesis under combinations of BAP and Naphthalene Acetic Acid (ANA). The vegetative rescue by complete or semi-girdling has the potential to produce shoots, though pruned branches proved to be one of the best techniques for rescue. In the micropropagation, the use of biocides such NaOCl for a long period of time (2 % for 20 min) with PPM™ added to the culture medium shows a potential for disinfection in the *in vitro* establishment. For *in vitro* multiplication, the usage of WPM and BAP (2 a 4 g L⁻¹) promotes higher shoot length, shoot number and leaf number. For indirect organogenesis by leaf segments, the cultivation with BAP and ANA was not responsive to the induction of callogenesis.

Keywords: vegetative propagation, girdling, pruned branches, micropropagation.

RESUMEN

Persea willdenovii es una especie nativa popularmente conocida por su uso medicinal. Debido a problemas en la baja producción y germinación de semillas, la propagación vegetativa parece promisoría. Consecuentemente, en este trabajo se evaluaron técnicas de rescate vegetativo y el uso potencial de brotes obtenidos en cultivo de tejidos. Se usaron árboles adultos de la especie para realizar tratamientos de anillo total y parcial, y obtener ramas podadas como técnicas de rescate vegetativo. La producción de brotes se controló a lo largo del tiempo (90 a 240 días). Se utilizaron brotes para la propagación *in vitro*, y los tratamientos de desinfección se llevaron a cabo utilizando biocidas como NaClO y Mezcla Conservante de Plantas (PPM™), cambiando el tiempo y las concentraciones de los productos. La multiplicación también se probó utilizando dosis de BAP y medios y el potencial de calogénesis en combinaciones de 6-Bencilaminopurina (BAP) y ácido naftalenacético (ANA). El rescate vegetativo mediante anillo completo o parcial tiene el potencial de producir brotes, pero las ramas podadas demostraron ser una de las mejores técnicas. En la micropropagación, el uso de biocidas como el NaOCl durante un período prolongado (2 % durante 20 min) con PPM™ añadido al medio de cultivo muestra un potencial de desinfección en el establecimiento *in vitro*. Para la multiplicación *in vitro*, el uso de WPM y BAP (2 a 4 g L⁻¹) promueve una mayor longitud y número de brotes, y número de hojas. Para la organogénesis indirecta por segmentos de hojas, el cultivo con BAP y ANA no respondieron a la inducción de calogénesis.

Palabras clave: propagación vegetativa, anillo, ramas podadas, micropropagación.

INTRODUCTION

Persea willdenovii Kosterm, popularly known as bush avocado, maçaranduba, pink cinnamon or pau de Andrade belongs to the Lauraceae family. The species is known for its diversity of uses in urban forestry, civil building, and medical properties (Batista *et al.* 2010). The local population uses the bark of this species to make tea as treatment of gastric ulcers and wound healing. These claims were

supported by pharmaceutical and phytochemical studies due to the presence of mucilaginous structures that are related to protective action on inflamed mucous (Rosa *et al.* 2017).

Despite its high potential, *Persea willdenovii* is present in several endangered species lists and is considered critically endangered in the Red List of Rio Grande do Sul state's flora (CNCFlora 2020), mainly due to the exploratory use in popular medicine through removal of the bark

with the consequential death of individuals in the forests. In addition to this problem, the species has an irregular fruit maturation which can compromise the quality of seeds and storage potential, making the species more vulnerable to human actions and therefore more susceptible to the extinction process. The vegetative propagation of species that present low seed germination and / or recalcitrant seeds, such as *Persea willdenovii*, can ensure the preservation of the species in addition to multiplying individuals with desirable traits for commercial purposes (Fior *et al.* 2007).

Studies conducted on aspects of propagation of *Persea willdenovii* by Fior *et al.* (2007) presented limitations, mainly related to restriction in the morphogenic potential, presence of endogenous contamination and high tissue oxidation. There are many factors influencing the success of the propagation such as genotype, maturation, type of explant, age and size of the explant, and extrinsic factors such as plant regulators and culture medium (Lee and Pijut 2017, Silva *et al.* 2020).

Few species are easily propagated using mature (old material) propagules. In the case of tree species, this difficulty is directly linked to the process of maturation, because the older the plant, the more reduced the cell division rates and regenerative capacity (Nascimento *et al.* 2018), necessary to rejuvenate the mother plant before starting any propagation work. In addition, there is an increase of inhibitors (anatomical barriers, lignification, gibberellins, phenols) and consequently decrease of rooting as the age of the plant increases (Bisognin *et al.* 2015). In woody forest species the gradient of youth grows towards the base of the tree. The basal region of the tree is younger in the ontogenetic age and this is due to the later formation of the apical meristems (terminal regions) in relation to the basal meristems in a tree. It is important to know this ontogenetic behavior of the different parts of the tree, since, depending on the location of the removal of vegetative material (part of the plant), it will certainly interfere in the rooting potential of the propagule and consequently in the production of seedlings (Stuepp *et al.* 2018).

The *in vitro* culture may be an important strategy in solving problems not only in propagation but also in genetic improving and plant biotechnology, especially in perennial woody species (Warakagoda and Subasinghe 2013). The *in vitro* culture of *Persea willdenovii* is still not well explored and has potential among other techniques of asexual propagation, however, there are hindrances related to low morphogenic potential and explant contamination (Fior *et al.* 2007). According to Oliveira *et al.* (2013), high contamination of native tree species is common, since they have superior lignification, endogenous microorganisms, often adverse climatic conditions, and difficulty in carrying out preventive treatment.

Various parts of the mother plant can be used as source for the explant. The choice of material can be influenced by factors such as: availability of the material, contamina-

tion level, juvenility of the tissue, among others. The nutritional requirements can also vary, as well as the type and efficiency of the phytohormones (Cid and Teixeira 2010). However, it is important to highlight that the success of the micropropagation, regardless of the explant used, is subject to the effect of the genotype from the mother plant in response to the stimulus *in vitro* (Stein *et al.* 2009).

To identify and characterize relevant aspects in the production of plants, we conducted a series of experiments with vegetative rescue and *in vitro* propagation. We aimed at verifying if the species has the possibility of vegetative rescue by girdling or pruned branches and at assessing the potential for establishment and cultivation *in vitro*. We are looking for a new propagation alternative for the species that has problems with seed germination. Our hypothesis is that it is possible to use rescue techniques to produce juvenile shoots that will be used in *in vitro* propagation, and that in this environment the species has the possibility of establishment and multiplication, thus allowing to produce clonal plants with sanitary quality, and still seek new studies exploring the medicinal characteristics of the species.

Thus, the objectives of the study are to determine the best method for vegetative rescue in adult plants and evaluate various protocols of *in vitro* propagation of the rescue material of *Persea willdenovii*, a species with great potential popular interest, mainly in medicinal functions.

METHODS

Vegetative rescue. To conduct the study, adult plants (reproductive age) of *Persea willdenovii* located in a native area in the municipality of Urupema, Santa Catarina state, Brazil, were studied. The study area is located in the Catarinense mountain range at approximately 1,400 m a.s.l., at the coordinates of 28° 17' 38" S and 49° 55' 54" W.

This region has a humid temperate climate (Cfb), with average annual precipitation around 1,800 mm, well distributed throughout the year. The average annual temperature is 13 °C, with a very distinct winter and summer. The average temperature for these two seasons is 8 °C and 18 °C, respectively. As characteristics of the region, there may be snow and minimum temperatures of up to -14 °C (EMBRAPA, 1998). The region belongs to the altomontana mixed ombrophilous forest, characterized by the presence of the species *Araucaria angustifolia* (Bertol) Kutze (from 1,000 m a.s.l.), forming groups in association with other species.

The vegetative rescue was conducted in August 2015. The treatments were: girdling (100 %), semi-girdling at 75 % of the trunk circumference, semi-girdling at 50 % of the trunk and the induction of shoots from pruned branches. The trunk girdling and semi-girdling consisted in the removal of an approximately 2 cm wide bark ring (figure 1A) at a height of approximately 30 cm from the soil, made by sectioning two transverse rows with a machete, to break the bark without damaging the wood. A total of se-

ven trees were used in each treatment (girdling and semi-girdling). The experiment was conducted in a completely randomized system.

For the epicormic sprouts induction treatment from pruned branches, branches were removed, from five mother trees, in the lowest position of the canopy to minimize the effects of maturation and ontogenetic age. Ten branches per mother trees were cut to an approximate size of 1-meter-long and had their ends protected with plastic bags to avoid water loss (figure 1B). The material was placed in a mini-tunnel under a greenhouse (33 % of light blocking), with constant relative humidity (80 %) and an average temperature of 25 °C, in the forest nursery of the State University of Santa Catarina (city of Lages, Santa Catalina state, Brazil).

The evaluations and harvesting of the sprouts were held from the first signal of shooting onwards, at 90, 120, 150, 180, 210 and 240 days (December 2015 to May 2016) after application of vegetative rescue treatments. After each harvest, the number and size (length) of these sprouts were registered, and afterwards the percentage of sprou-

ting per harvest was calculated. For the pruned branches technique, evaluations were made in relation to the length of the branches (sprout number m^{-1}) as done by Nascimento *et al.* (2018).

In the field, diameter at breast height (cm), height (m) and the amount of incident light (lux) in the trunk base of each tree were measured (table 1). An amount of light was measured with a portable digital light meter (Minipa MLM-1011), with three measures interspersed between trees. The assessment was always carried out with a clear sky, without the sun being covered by any cloud. This reading (incident light) was repeated in all harvests (90, 120, 150, 180, 210 and 240 days).

In vitro propagation. For the *in vitro* propagation of *Persea willdenovii*, the sprouts originated from the vegetative rescue (pruned branches or girdling). Figure 2 shows a summary of the micropropagation process carried out, summarizing the experiments in each phase. During the production and harvest of sprouts, the calcium oxychloride based fungicide, bactericide and sporicide Frexus® was

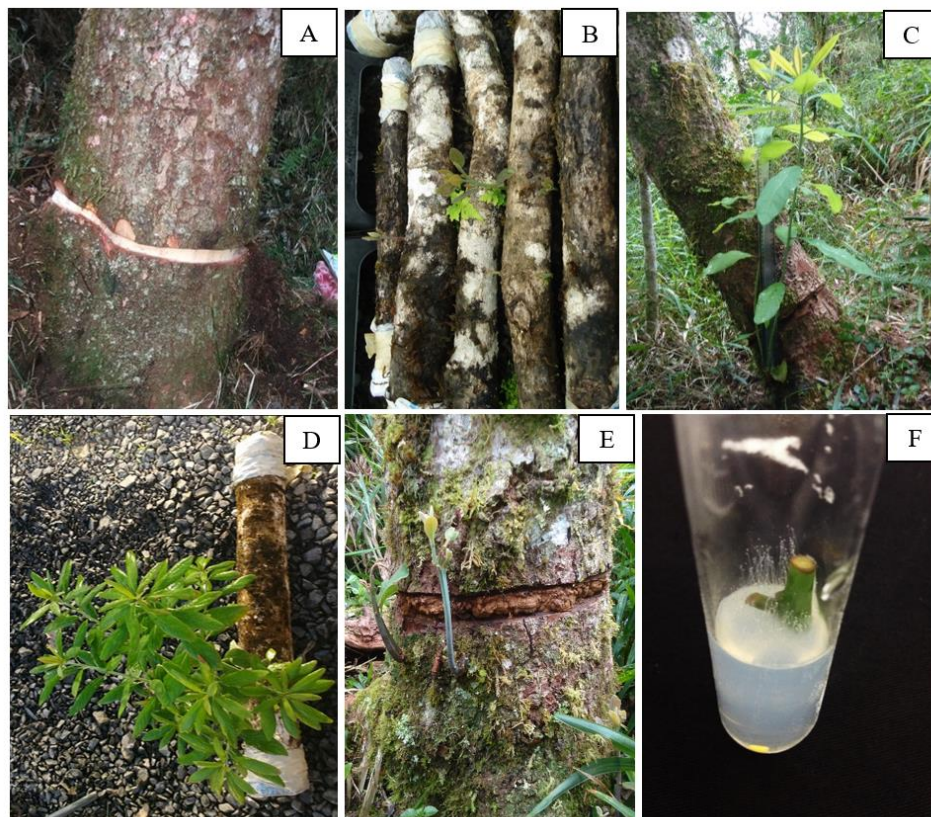


Figure 1. Vegetative rescue and *in vitro* propagation of *Persea willdenovii*. A) girdling in an adult tree in the field, B) pruned branches starting to sprout, C) sprouts in field trees submitted to girdling, D) sprouts on pruned branches, E) healing in the girdling region and F) explant *in vitro* showing contamination.

Rescate vegetativo y propagación *in vitro* de *Persea willdenovii*. A) anillo en un árbol adulto en el campo; B) ramas podadas que comienzan a brotar; C) brotes en árboles de campo sometidos a anillo; D) brotes en ramas podadas; E) curación en la región de anillo; y F) explante *in vitro* que muestra contaminación.

Table 1. List of *Persea willdenovii* trees submitted to vegetative rescue treatments with their respective values: percentage of girdling applied to the circumference of the trunk - treatment (%), tree height (m), diameter at breast height (DBH) (cm) and incident light (lux).

Árboles de *Persea willdenovii* sometidos a tratamientos de rescate vegetativo con sus respectivos valores: porcentaje de anillos aplicadas a la circunferencia del tronco - tratamiento (%); altura del árbol (m); diámetro a la altura del pecho (cm) y luz incidente (lux).

Mother plant	Treatment - % of girdling	Height (m)	DBH (cm)	Average of incident light (lux)
1	100	7.9	24.8	230 (40)*
2	50	12.3	40.7	190 (30)
3	75	13.1	32.8	166 (30)
4	100	6.7	16.5	300 (50)
5	50	6.6	20.5	250 (40)
6	100	4.5	5.7	8,500 (1,200)
7	50	4.7	18.0	250 (30)
8	75	7.8	18.5	300 (30)
9	100	6.4	20.0	360 (50)
10	100	9.3	28.5	2,800 (300)
11	75	9.5	23.7	1,900 (240)
12	50	7.5	24.5	100 (20)
13	75	12.0	29.0	300 (40)
14	50	11.5	42.0	810 (90)
15	75	13.2	31.4	900 (110)
16	100	6.8	20.5	7,030 (900)
17	50	7.1	39.0	200 (30)
18	75	8.4	28.5	245 (40)
19	50	11.6	40.0	1,700 (200)
20	75	8.8	26.6	160 (30)
21	100	10.4	18.2	542 (60)
Average	-	8.6	25.8	1,379.5

* Value in parentheses refers to the standard deviation of the evaluations performed at 90, 120, 150, 180, 210 and 240 days.

applied in the vegetative material, at 0.2 g L⁻¹ concentration. The transportation of sprouts originated from pruned branches or girdling was made inside a Styrofoam box, with ice at the bottom and covered by paper sheets moisturized with water. The transport to the material processing site did not last more than 10 minutes (pruned branches) and 40 minutes (girdling). The *in vitro* propagation experiments took place in the vegetal micropropagation laboratory at the Agroveterinary Science Center of the State University of Santa Catarina during 2016.

First, the sprouts were superficially washed using neutral detergent and immersed in running water for 15 minutes. Later the material was segmented in smaller sizes (explants) with ± 3 cm (only nodal segments) and taken to a laminar flow cabinet where the explants were disinfected. The culture medium used was the MS (Murashige and Koog 1962) with 50 % of the concentration of the original;

30 g L⁻¹ of sucrose, 0.1 g L⁻¹ of myo-inositol, 6 g L⁻¹ of agar and 1.5 g L⁻¹ of activated charcoal were also added to the medium. The recipients were tubes (150 x 25 mm) containing 15 mL of the medium. The pH of the medium was adjusted to 5.8 ± 0.1 before autoclaving at 120 °C and 1 atm for 20 minutes.

For the disinfestation, three methods for explant were tested: experiment I – concentrations of the disinfectant sodium hypochlorite (NaClO) in six concentrations: 1, 2, 2.5, 3, 4 and 5 % of active chlorine in contact with the explants for 15 minutes. Experiment II – use of PPM™ biocide in two concentrations: a) 1 mL L⁻¹ added to the medium and b) agitating the explants for four hours in contact with 5 mL L⁻¹ of the product. In the treatment with the addition of the biocide in the medium, the asepsis was carried out with NaClO 2 % (v v⁻¹) for 15 minutes. And in the treatment under agitation, there was no contact with

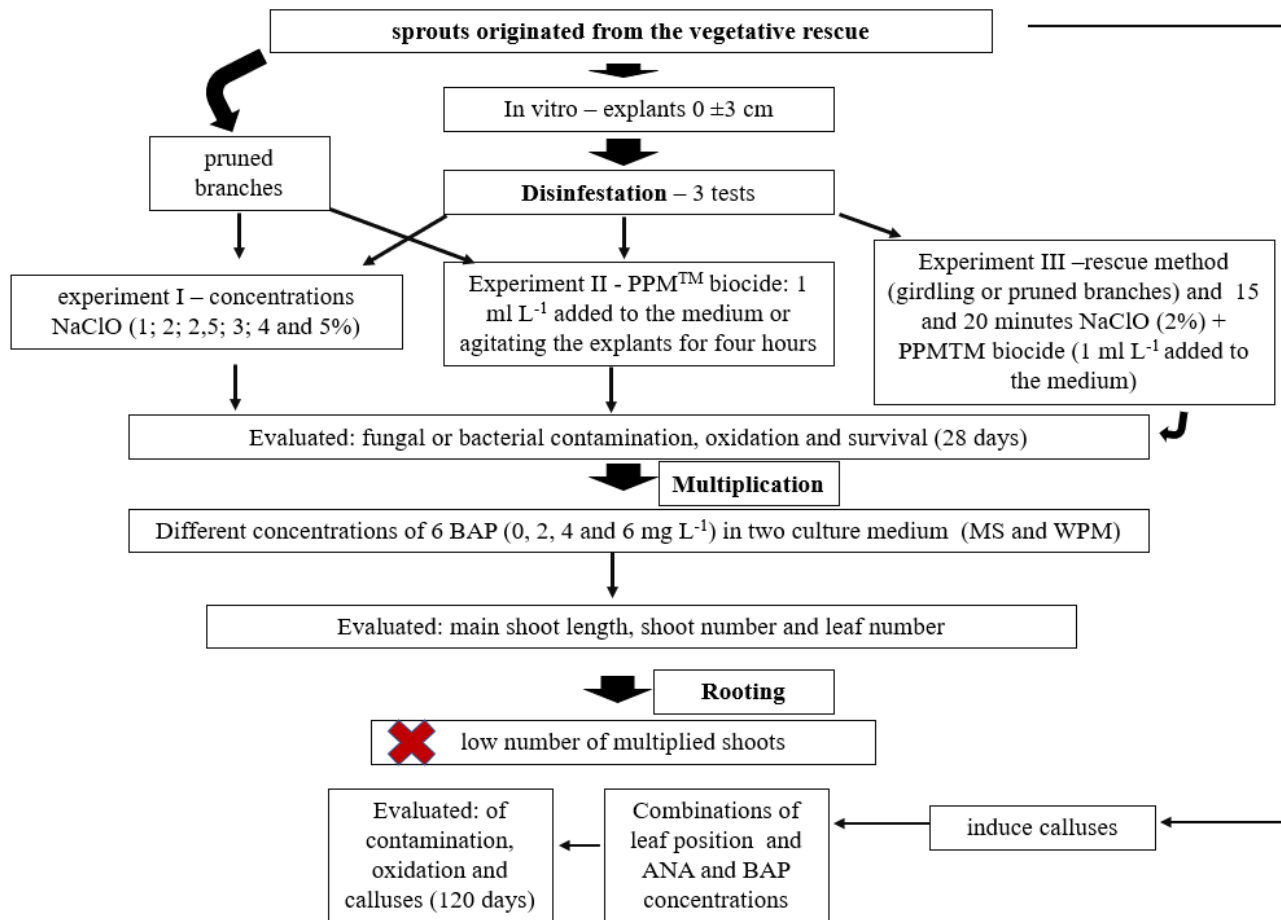


Figure 2. Scheme of the micropropagation process used in *Persea willdenovii*, showing steps from the origin of the material to the cultivation.

Esquema del proceso de micropropagación utilizado en *Persea willdenovii*, mostrando las etapas desde el origen del material hasta el cultivo.

another disinfectant; the explants were directly introduced to the medium. For experiments I and II, the vegetative material was obtained exclusively from pruned branches. Experiment III – the material was divided according to the rescue method: coming from the forest (girdling) or the mini-tunnel (pruned branches). These rescue materials were tested at different times of immersion in sodium hypochlorite (2 % active chlorine): 15 and 20 minutes of contact with the explant (%) + PPM™ biocide (1 mL L⁻¹ added to the medium). All experiments used six repetitions, containing three explants in each treatment.

The low number of repetitions and non-utilization of a control treatment was established due to the limited number of nodal segments. Despite the technique that originated the material issued a considerable number of sprouts, the space between them was relatively large, resulting in a small sample of explants. After the asepsis, in all experiments, except the agitation in PPM™ biocide, the explants were washed three times in autoclaved distilled water and incubated in the culture medium. The material was kept in the dark for seven days, and after that period

cultivated in the culture room under temperature of 25 ± 3 °C, in a 16-hour photoperiod and 20 μmol m⁻² s⁻¹ photon flux density, provided by cold white fluorescent lamps. The evaluations of all experiments were carried out in a 28-day period, in which, the incidence of fungal or bacterial contamination, oxidation and survival rate of explants were evaluated.

Shoot segments with previously established shoots *in vitro*, 3 ± 0.5 cm in size, were used for multiplication. Different concentrations of 6-benzylaminopurine (BAP) (0, 2, 4 and 6 mg L⁻¹) were analyzed in two culture media, MS and Woody Plant Media WPM (Lloyd and Mccown 1980). All media were supplemented by 30 g L⁻¹ of sucrose, 0.1 g L⁻¹ of myo-inositol and 6 g L⁻¹ of agar (Sigma Aldrich®). The experimental design was completely randomized in factorial scheme 4 x 2 (4 BAP concentrations and 2 culture medium), six repetitions containing six explants in each treatment. Later, the material was incubated in the culture room as previously described. After 60 days, the main shoot length (mm), shoot number and leaf number were evaluated.

Due to the low number of multiplied shoots, it was not possible to carry out tests involving rooting. However, it was decided to conduct an experiment to induce calluses. The leaves harvested from branches derived from the vegetative rescue were washed in running water and neutral detergent and later segmented in smaller portions (1 cm²). In a laminar flow chamber, the leaf segments were immersed in ethanol 70 % (v v⁻¹) for 1 minute and in sodium hypochlorite solution (NaClO) at 2 % active chloride for 15 minutes, finally rinsed three times in autoclaved distilled water.

The segments were later sectioned in explants of ±1 cm² containing the central leaf nerve and inoculated in abaxial and adaxial leaf positions in 100 mL flasks containing 30 mL MS medium. The mix was supplemented by 30 g L⁻¹ of sucrose, 0.1 g L⁻¹ of myo-inositol and 6 g L⁻¹ of agar and the treatments were various combinations of BAP and ANA in concentrations of 0 to 12 mg L⁻¹ (table 2). The pH of the mix was adjusted to 5.8 ± 0.1 before autoclaving at 120 °C and 1 atm for 20 minutes. The explants were kept in the dark for 10 days, and after this period, culti-

vated in the culture room. Evaluations of contamination, oxidation and calluses growth were carried out weekly until 120 days after the inoculation. The experimental design was completely randomized, in factorial scheme 2 x 10 (A x D), the factor A composed by leaf position and factor D comprised by the combinations of ANA and BAP concentrations, composed by five repetitions, with four leaf segments in each treatment.

To test the hypothesis that rescue by girdling or pruned branches are good strategies to produce rejuvenating sprouts that can be grown *in vitro*, we first checked the variables to normal distribution (Shapiro's test, *P* < 0.05) and variance homogeneity (Bartlett's test, *P* < 0.05). When necessary, the data were transformed with a boxcox test. After rechecking the data for their fit to the basic requirements, we proceeded with ANOVA (F test, *P* < 0.05), followed by Tukey's mean comparisons test (*P* < 0.05) or regression analysis. For the regression analysis, linear and second order (quadratic) models were tested. Tree height data, diameter at breast height and incident light were correlated by Pearson with the variables of vegetative rescue.

Table 2. Leaf face position and 6-benzylaminopurine (BAP) and Naphthalene Acetic Acid (ANA) concentrations tested in MS culture medium in the induction of *Persea willdenovii* callogenesis.

Posición de la cara de la hoja y concentraciones de 6-Bencilaminopurina (BAP) y ácido naftalenacético (ANA) evaluadas en el medio de cultivo MS en la inducción de la calogénesis de *Persea willdenovii*.

Treatment	Leaf face position	Phytoregulator (mg L ⁻¹)	
		BAP	ANA
1	Abaxial	0	0
2	Abaxial	4	4
3	Abaxial	8	8
4	Abaxial	12	12
5	Abaxial	0	4
6	Abaxial	0	8
7	Abaxial	0	12
8	Abaxial	4	0
9	Abaxial	8	0
10	Abaxial	12	0
11	Adaxial	0	0
12	Adaxial	4	4
13	Adaxial	8	8
14	Adaxial	12	12
15	Adaxial	0	4
16	Adaxial	0	8
17	Adaxial	0	12
18	Adaxial	4	0
19	Adaxial	8	0
20	Adaxial	12	0

RESULTS

Vegetative rescue. Despite the wide variation in dendrometric values (height and DAP) and light intensity in the trunk base, there was no significant Pearson correlation of data from the mother trees with variables evaluated (percent, number and height of sprouts). For all variables, there was an interaction between the vegetative rescue methods and harvests (days after application of the technique).

The percentage of sprouted trees (figure 3A) presented the major average in the pruned branches. This method was the only one to show sprouts (69 %) 90 days after the application of the treatment. There was sprouting in 100 % of branches in the harvests at 120, 150, 180 and 210 days; only at 240 days there was a decrease of sprouts (84 %).

The highest number of sprouts (12.2) was observed in the pruned branches technique, at 150 days (January) (figure 3B). This harvest date was also superior for girdling 50 % of the trunk (4.1). For the techniques of 100 % girdling and 75 % girdling the larger number of sprouts was observed in February after 180 days (3.5 and 4.6 respectively sprouts). After 180 days there is a reduction in the number of sprouts in all vegetative rescue techniques, and at 240 days there are practically no more shoots. It should be noted that it was decided to use the pruned branch technique in comparison to girdling to verify the production potential of the technique; however, the number of sprouts for pruned branches refers to the number per linear meter (sprout number m⁻¹), while the girdling ones refer to the amount per tree. Therefore, an average test was not used and only a regression analysis, showing a production behavior over time.

For the sprout length, in all rescue vegetative techniques, the largest size was obtained between 150 and 180 days after application of treatments (figure 3C). The treatments of complete girdling and pruned branches (figure 1D) presented the largest sizes of the sprouted branches with averages between 15 - 20 cm in height. Some individuals of the complete girdling generated sprouts of almost 50 cm (figure 1C). In the last evaluation, in addition to the absence or small number of sprouts in many trees, the size was very small. In this last evaluation, it was also possible to observe an intense healing in most trees in the girdling treatments (figure 1E).

In vitro propagation. For the *in vitro* establishment, experiments I (concentrations of the disinfectant sodium hypochlorite) and II (PPM™ biocide in two concentrations) did not have significant difference according to the Tukey test ($P < 0.05$). High contamination rate was observed during the four weeks following the removal of material from the dark room to the illuminated environment, between 80 to 92 % of explants had fungal or bacterial contamination (table 3). The oxidation varied between 18 and 33 % and the maximum survival was 20 %.

In experiment III, testing the origin of the rescue material and disinfestation treatments with different times of

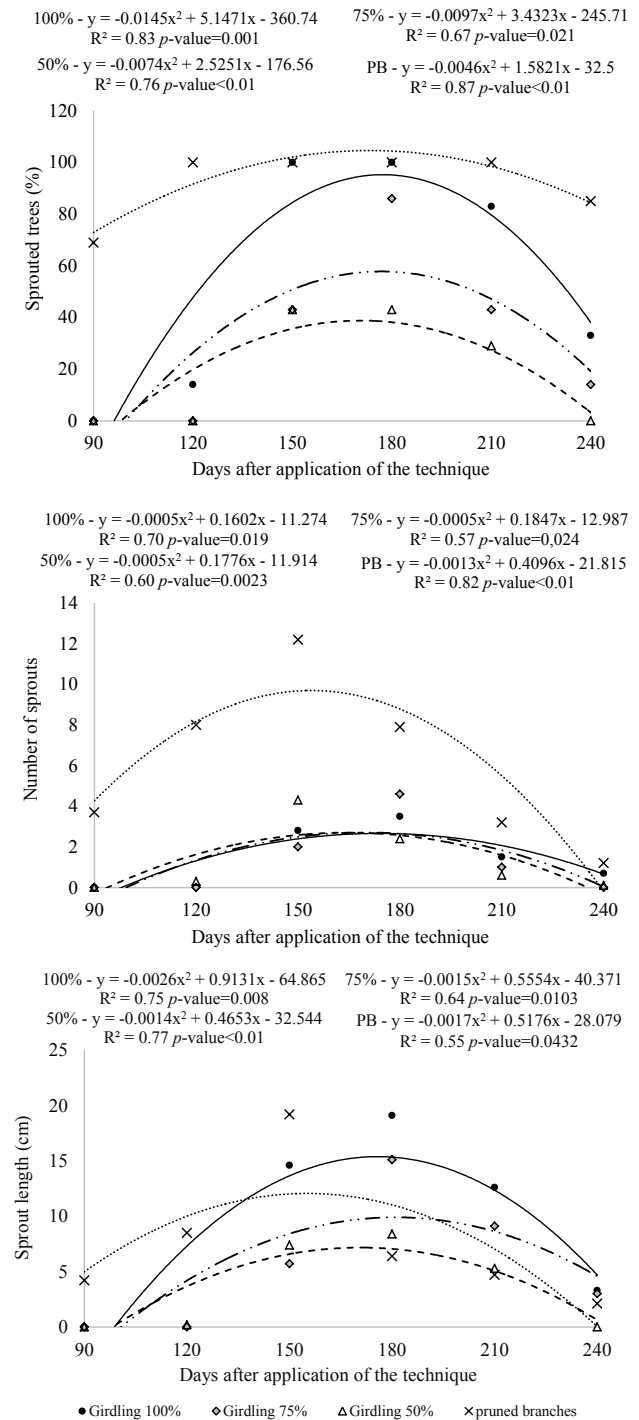


Figure 3. Percentage of sprouted trees (A), average number of sprouts (B) and length of sprouts - cm (C) in *Persea willdenovii* as a function of different vegetative rescue treatments. The days after applying the technique, at which time the assessments took place, correspond to from 90 days (December 2015) up to 240 days (May 2016).

Porcentaje de árboles brotados (A); número promedio de brotes (B) y longitud de los brotes - cm (C) en *Persea willdenovii* en función de diferentes tratamientos de rescate vegetativo. Los días posteriores a la aplicación de la técnica, momento en el que se realizaron las evaluaciones, corresponden a 90 días (diciembre 2015) hasta 240 días (mayo 2016).

NaClO supplemented with PPM™ biocide (1 mL L⁻¹), we observed a difference between treatments. The girdling material presented higher fungal/bacterial contamination (between 82 and 86 %), higher oxidation rate (between 38

and 41 %) and lower explant survival rates (39 to 45 %), regardless of the time of exposure to the NaClO (figure 4). However, the pruned branches material also showed inferior results, similar to those of girdling. The treatment with

Table 3. Fungal / bacterial contamination (%), oxidation (%) and survival (%) in *Persea willdenovii* explants grown *in vitro* after carrying out disinfection experiments.

Contaminación por hongos / bacterias (%), oxidación (%) y supervivencia (%) en explantes de *Persea willdenovii* cultivados *in vitro* después de realizar experimentos de desinfección.

Experiment	Treatment	Disinfection/variables		
		Fungal/ Bacterial contamination (%)	Oxidation (%)	Survival (%)
experiment I – concentrations NaClO	1 %	92 ^{ns} (8)	33 ^{ns} (21)	10 ^{ns} (20)
	2 %	88 (4)	24 (14)	15 (8)
	2.5 %	85 (10)	31 (17)	15 (12)
	3 %	83 (9)	26 (19)	19 (10)
	4 %	89 (10)	30 (10)	7 (8)
	CV (%) (<i>p</i> -value)	35.3 (0.843)	19.9 (0.441)	14.4 (0.093)
Experiment II - PPM™ biocide	1 mL L ⁻¹ added to the medium	80 ^{ns} (13)	18 ^{ns} (11)	20 ^{ns} (10)
	agitating with explants	82 (15)	22 (12)	18 (12)
	CV (%) (<i>p</i> -value)	26.4 (0.923)	15.3 (0.192)	16.1 (0.324)

^{ns} - not significant. Values in parentheses represent the standard deviation of the mean.

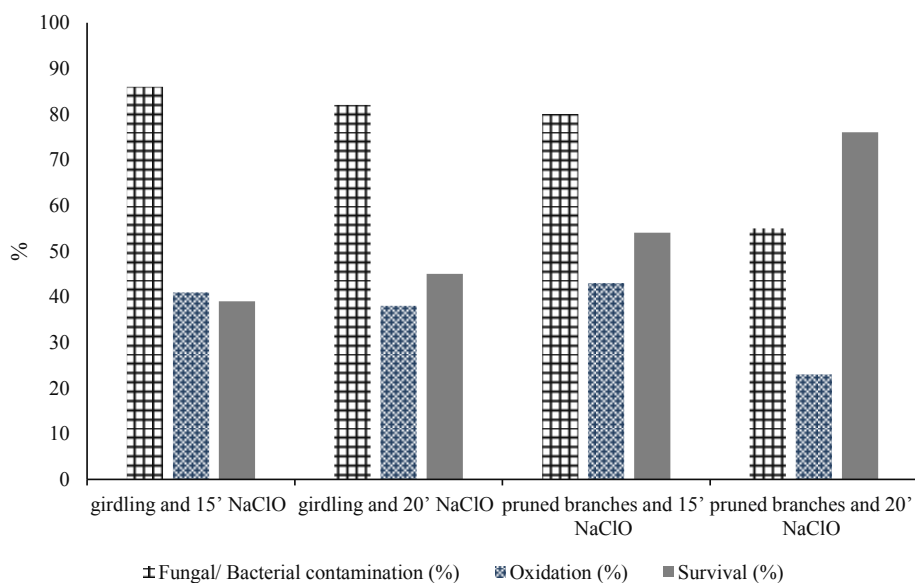


Figure 4. Percentage of fungal / bacterial contamination, oxidation and survival of *Persea willdenovii* explants depending on the rescue method (girdling or pruned branches) and 15 and 20 minutes NaClO (2 %) + PPM™ biocide (1 mL L⁻¹ added to the medium) in the *in vitro* establishment. Fungal / bacterial contamination (CV % = 21.3 and *p*-value = 0.021), oxidation (CV % = 18.4 and *p*-value = 0.042) and survival (CV % = 14.2 and *p*-value = 0.0328).

Porcentaje de contaminación fúngica / bacteriana, oxidación y supervivencia de explantes de *Persea willdenovii* en función del método de rescate (anillado o ramas podadas) y 15 y 20 minutos NaClO (2 %) + biocida PPM™ (1 mL L⁻¹ agregado al medio) en el establecimiento *in vitro*. Contaminación por hongos / bacterias (CV % = 21,3 y valor-*p* = 0,021), oxidación (CV % = 18,4 y valor-*p* = 0,042) y supervivencia (CV % = 14,2 y valor-*p* = 0,0328).

the best response was pruned branches with exposure for 20 minutes in NaClO. This treatment obtained less contamination (55 %), oxidation (23 %) and higher survival (76 %).

For the *in vitro* multiplication, there was no interaction between factors ($P < 0.05$) (culture medium and BAP concentrations) in the evaluated variables, nonetheless there was a difference between the isolated factors (table 4). For main shoot length (mm) there was a difference between the culture media, in which the WPM presented the highest average (7.5 mm). The addition of BAP showed no difference for this variable. For shoot number, the WPM medium also showed better response (0.51) compared to the MS medium (0.30). The addition of 4 mg L⁻¹ represented a larger number of shoots, not differentiating from 2 mg

L⁻¹. The absence or the highest concentration (6 mg L⁻¹) of BAP provided low number of shoots. The same behavior (higher averages) was obtained for number of leaves using the WPM medium (0.78) and the concentrations 2 and 4 mg L⁻¹ of BAP (1.02 and 0.99).

There was no formation of calluses in the leaf calluses exposed to the evaluated treatments. In general, it was observed that leaves had light green coloration up to 15 days after inoculation, becoming beige after 60 days of cultivation, and after this period, the color changed to brown. After 120 days of *in vitro* cultivation, the explant tissue died, probably due to the lack of favorable conditions for development. The data are not presented because in the evaluation of 120 days, there was no formation of callogenesis or live leaf tissues, regardless of treatment.

Table 4. Main shoot length (mm), shoot number and leaf number depending on concentrations of 6-benzylaminopurine (BAP) and culture medium in *Persea willdenovii* explants multiplied *in vitro*.

Longitud de los brotes principales (mm), número de brotes y número de hojas en función de las concentraciones de 6-bencilaminopurina (BAP) y del medio de cultivo en explantes de *Persea willdenovii* multiplicados *in vitro*.

BAP (mg L ⁻¹)	MS	WPM	Average
main shoot length (mm)			
0	5.3 (3.4)	7.1 (2.4)	6.2 ^{ns}
2	5.1 (2.9)	7.9 (2.0)	6.5
4	6.4 (3.8)	8.3 (4.2)	7.1
6	6.0 (2.5)	6.9 (3.5)	6.4
Average	5.7 B*	7.5 A	
p -value interaction = 0.0963 p -value BAP = 0.094 p -value medium = 0.023			
shoot number			
0	0.20 (0.22)	0.40 (0.26)	0.30 b
2	0.35 (0.13)	0.55 (0.27)	0.45 ab
4	0.52 (0.26)	0.73 (0.33)	0.62 a
6	0.14 (0.22)	0.36 (0.15)	0.25 b
Average	0.30 B	0.51 A	
p -value interaction = 0.122 p -value BAP = 0.006 p -value medium = 0.0162			
leaf number			
0	0.24 (0.12)	0.41 (0.20)	0.32 a
2	0.72 (0.23)	1.33 (0.37)	1.02 a
4	0.84 (0.31)	1.15 (0.34)	0.99 a
6	0.26 (0.12)	0.24 (0.21)	0.25 b
Average	0.44 B	0.78 A	
p -value interaction = 0.083 p -value BAP = 0.001 p -value medium = 0.0093			

* Means with different capital letters on the line (culture medium) and lower-case letters on the column (BAP) show a significant difference by the Tukey test at 5 % error. Values in parentheses represent the standard deviation of the mean. ^{ns} - not significant.

DISCUSSION

Vegetative rescue. There was no record of the death of trees subjected to girdling and semi-girdling treatments, meaning that the species supports the removal of a partial or complete girdling of the bark without damaging tree survival. The pruned branches also survived until the end of the evaluations (April 2016), showing a high environmental control of moisture and temperature inside the mini-tunnel, and possession of endogenous reserves, allowing the use of this technique to produce sprouts.

There was no correlation among number of shoots with diameter, height of trees and light intensity. In a work with *Toona ciliata* M. Roem., Pereira *et al.* (2015) did not find correlation between diameter of the mother trees and number of emitted sprouts through vegetative techniques, either. In the same study, dead trees were not observed after vegetative rescue treatments. In contrast, the work of Pinto *et al.* (2013) with *Pterogyne nitens* Tul. presented a positive correlation with the increase in diameter of the plant and increased number and strength of sprouts. There are few published works available to try to understand the influence of the degree of maturation in the growth in diameter and plant height and, consequently, in the production of sprouts. Studies point to some factors prevailing on the regrowth capacity and survival of strains in woody species, including age, level of allocated reserve substances, the genetics of the species and the effect of climate variations throughout the year (Wendling *et al.* 2013, Pereira *et al.* 2017, Nascimento *et al.* 2018).

In relation to climate variations, January and February are the months with a history of higher temperatures in the region (Santa Catarina) and without water deficit problems, which may have contributed to the development of new sprouts. Higher averages of shoots in *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. were also observed in the summer months by Nascimento *et al.* (2018), and this work was carried out in the same experimental area. The fifth and sixth harvests in the field, held in March and April, lowered the production of sprouts, probably the metabolic and physiological cutback of plants due to the decrease in average temperature and temperature range in these months. Another factor that may be responsible for the lower number of sprouts in these harvests was the healing of the girdling part as a response to the application of vegetative rescue (figure 2F). This healing behavior has also been reported to *Toona ciliata* in which the thickness of the bark checked in the ring line may have interfered with the emergency rate of sprouts in some trees (Pereira *et al.* 2015). According to Dias *et al.* (2012), competition for water, nutrients, light and space between sprouts over time may also be related to this reduction.

In addition to the environmental conditions the highest number of sprouts during January and February harvests may be explained by the possibility that these shoots are from gems that had remained dormant after the applica-

tion of the treatments and did not generate any sprout after the first harvest or, are the product of a morphogenesis, when a cambial cell transforms over time, mainly by the action of auxins (Zahadat *et al.* 2017). According to the same authors, one effect of auxin is to make the bundles of unspecialized stem cells, called cambium cells, which are located near the vascular tissues, transform into vessels. This is especially interesting considering the fact that limited common resources (*e.g.* water) need to be distributed among different branches of a plant via their vessels.

Physiologically, the emission of basal sprouts benefits from the partial or total rupture of apical dominance increasing the cytokinin / auxin ratio (Hartmann *et al.* 2011). Another factor that may have induced the emergence of new sprouts, is stress by girdling, because it may have produced functional disturbances in the trees, which sprouted as a survival strategy. In plants, stress happens by interrupting the transport of photosynthates and other organic metabolites from the higher to the lowest parts in the plant, which is executed by elements and riddled cells, located in the phloem (Taiz and Zeiger 2013). The cut off techniques and stem girdling also managed to induce the emission of basal sprouts in many species such as *Tectona grandis* Linn F. (Badilla *et al.* 2016), *Ilex paraguariensis* (Stuepp *et al.* 2015, Stuepp *et al.* 2016, Nascimento *et al.* 2018), *Sequoia sempervirens* (Pereira *et al.* 2017) and *Toona ciliata* (Pereira *et al.* 2015).

The sprouting ability can also be influenced by factors such as light, thickness and depth of cut (Dinh *et al.* 2018). In this work, we can see that the percentage of girdling at the tree trunk also influences the formation of sprouts, being practically directly proportional in the mother trees of *Persea willdenovii*. For *Toona ciliata* the number of sprouts by annealing is four times higher than those observed in semi-girdling (Pereira *et al.* 2015).

Similarly, vegetative rescue by pruned branches proved to be an effective technique in induction of epicormic sprouts in *Ilex paraguariensis* trees kept in the mini-tunnel (Nascimento *et al.* 2018) and *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. trees, where all the pruned branches that were in the greenhouse issued sprouts after 40 days of conditioning (Almeida *et al.* 2007). According to the authors, the induction of epicormic sprouts from pruned branches should be used carefully. Since the way the tissue samples it uses are positioned in the tree, it may mean they are physiologically mature, compromising the juvenility of the material. It is, therefore, important to collect branches of the lower portions of the plant, as these tend to give juvenile shoots. The physiological principle of the method, as well as in stem girdling, is based on shifting the balance between growth regulators (auxin / cytokinin) in support of the issuance of sprouts. Additionally, in most of the angiosperms trees, the dormant epicormic gems, which can be present since the formation of branches / trunk or be the product of morphogenesis, when a cambial cell transforms to yield the new sprouts, are present in the outer bark (Hartmann *et al.* 2011).

The environmental conditions in the mini-tunnel may have contributed to the success of the pruned branches technique. The conditioning in the greenhouse, or similar, creates a favorable microclimate for their survival. In this work, the mini-tunnel has a misting system that keeps the relative humidity at about 80 % and the temperature between 18 and 30 °C, which may have favored the early sprouting (90 days). For the present study, the meteorological variables of temperature and humidity were not constantly checked, whereas in the study by Nascimento *et al.* (2018) conducted in the same structure, it obtained relative air humidity above 90 % and average temperature between 15 °C (winter) and 26 °C (summer). The data was verified with a datalogger. The plastic cover used in greenhouses significantly changes the balance of radiation, when related to the external environment due to the attenuation of incident solar radiation, resulting in a reduction of the internal radiation balance and thus affecting temperature, humidity and evapotranspiration. Vegetative growth is very intense and the growth rate of the aerial part of the plant gradually increases in accordance with increasing temperature.

With the pass of time, after 240 days, shoot emission was reduced, which may be associated with exhaustion of reserves present in the branches. The same was observed in detached branches to induct shoots in *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze and in the experiments of Wendling *et al.* (2009) and *Ilex paraguariensis* (Nascimento *et al.* 2018). The vegetative rescue technique via pruned branches, in addition to getting the best results compared those applied in the field (girdling), has the advantages of having the harvest of material at the plant production site (nursery) and the possibility of higher phytosanitary control of these sprouts.

In vitro propagation. In our study, we found high contamination by fungi / bacteria and oxidation in the first weeks after removing the material that was in the dark at the beginning of the cultivation. Woody plant tissues are quite susceptible to *in vitro* browning, a direct result of stress and chemical reactions induced by polyphenol oxidases and other enzymes. The resulting phenol compounds react with oxygen to form quinone compounds, generally inhibitory of plant growth (Ahmad *et al.* 2013).

Between 80 and 90 % of explants showed contamination in experiment I (NaOCl concentration) and in the second study (PPM™ biocide in two concentrations). The bacterial contaminants manifested after the first week of evaluation, in the base of the explants cultivated *in vitro*, and continued to appear afterwards. In general, the vegetative material survived this bacterial contamination. However, these contaminations generated considerable limitations in the development of the explants. Fior *et al.* (2007) also reported high proportion of contamination by microorganisms of fungal and bacterial origin (74 %) and micropropagation of non-juvenile tissue of *P. willdenovii* during *in vitro* sowing. According to these authors, after

various subcultures, the endogenous contamination remained in parts of the material.

In experiment III (establishment) testing the material according to the rescue method and different times of immersion in NaOCl (2 %) + PPM™ biocide (1 mL L⁻¹ added to the medium), more promising results were obtained for *in vitro* establishment, mainly of plant material from pruned branches, which were kept in mini-tunnel and presented phytosanitary control with fungicide application. Control with fungicides in mother trees when possible is a good strategy to reduce contamination *in vitro* (Hiti-Bandaralage *et al.* 2017). Better contaminant control in this experiment (III) may also have been due to the addition of PPM™ in the culture medium. Similar results regarding the benefit of using PPM™ were observed in *Calophyllum brasiliense* Cambess., using nodal segments as starting material, where the biocide added to the culture medium reduced the contamination of explants (Silveira *et al.* 2016). According to the same authors, very high concentrations of biocides such as PPM™ and NaOCl can lead to oxidation and mortality.

The difficulties in the *in vitro* establishment of *P. willdenovii* due to contamination and oxidation of the explants continue despite the rejuvenation of the vegetative material; this is probably related to the genetics of the species. Other species of the *Persea* genus also found such obstacles in micropropagation. Studies about the avocado tree (*Persea americana* Mill.) published since 1987 with various cultivars report similar results to the ones found in this (Osorio *et al.* 2018).

As for *in vitro* multiplication, the WPM medium shows better results, with high results of main shoot length (mm), shoot number and leaf number. This may be explained by the difference in salt concentration in the medium. The WPM has fewer salts concentrations (especially nitrogen and potassium) when compared to the MS media, which has high salt concentration, the nitrate and ammonium ions specifically (Rathwell *et al.* 2016).

The use of 2 to 4 mg L⁻¹ of BAP promoted higher multiplication, with an increase in the number of sprouts and mainly of new leaves. The absence of the regulator promoted a low rate of regeneration. The same result was obtained in *Melanoxylon brauna* Schott. where the use of between 2 and 4 mg L⁻¹ of BAP provided a higher number of shoots (Silva *et al.* 2020). According to Brum *et al.* (2002), the multiplication of sprouts with the use of BAP may be related to the influence of the genetic charge from the mother plant, of the growth regulator used to help with cellular division and in the break of the dormant state of axillary shoots, until then inhibited by apical dormancy. The results obtained in the *in vitro* multiplication of *Persea willdenovii* are promising and show viability of this technique in multiplication and conservation programs of this species. However, newer work must be done aiming for the increase in number of sprouts, exploring, for example, experiments about the influence of the environment

(temperature, light, culture mix solidity, etc.) in the induction of new sprouts.

In the conditions of this work, BAP and ANA phyto-regulators and their combinations, in doses of 0 to 12 mL L⁻¹, did not contribute to the callogenesis induction of *Persea willdenovii*, other types of phyto-regulators and concentrations pending future testing. Some studies, such as Encina *et al.* (2014) in *Persea americana*, show success of the callogenesis; however, the avocado is a cultivated species, and that generally presents better results *in vitro*. Callus culture is an important technique to increase the number of secondary metabolites in medicinal species (Bansal *et al.* 2013), consequently it should receive further studies with *Persea willdenovii* considering the numerous medicinal properties that the species has.

The rooting test was not possible due to the low number of explants multiplied, owing to the loss of regenerative capacity. Thus, it is recommended to carry out further studies, primarily aimed at improving the multiplication capacity. However, in this experiment it was possible to notice good results regarding the use of cured material (mainly pruned branches), suggesting that these new works follow this methodology.

CONCLUSIONS

The vegetative rescue by complete or semi-girdling has the potential to produce shoots to be used in the vegetative propagation of *Persea willdenovii*. The technique of pruned branches proved to be one of the best techniques for rescue, because in addition to producing higher precocity and quantity of shoots, it enables higher phytosanitary control.

The micropropagation of the species presents numerous challenges, such as high fungal / bacterial contamination and oxidation. The use of biocides such NaOCl for a long period of time (2 % for 20 minutes) with PPM™ added to the culture medium shows a potential for disinfection in the *in vitro* establishment. For *in vitro* multiplication, the usage of WPM and BAP (2 to 4 g L⁻¹) promotes higher shoot length, shoot number and leaf number. For indirect organogenesis by leaf segments, the cultivation with BAP and ANA was not responsive to the induction of callogenesis.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank FAPESC for funding the research group Management of Planted and Natural Forests (PAP2019031000055).

REFERENCES

- Ahmad I, T Hussain, I Ashraf, I Nafees, RM Maryam, M Iqbal. 2013. Lethal effects of secondary metabolites on plant tissue culture. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences* 13(1): 539-547. DOI: [10.5829/ido.si.ajeaes.2013.13.04.1975](https://doi.org/10.5829/ido.si.ajeaes.2013.13.04.1975)
- Almeida FD, A Xavier, JMM Dias. 2007. Propagação vegetativa de árvores selecionadas de *Eucalyptus cloeziana* f. Muell. por estaquia. *Revista Árvore* 31(3): 445-453. DOI: [10.1590/S0100-67622007000300010](https://doi.org/10.1590/S0100-67622007000300010)
- Badilla Y, A Xavier, O Murillo. 2016. Resgate vegetativo de árvores de *Tectona grandis* Linn F. pelo enraizamento de estacas. *Nativa* 4(2): 91-96. DOI: [10.14583/2318-7670.v04n02a07](https://doi.org/10.14583/2318-7670.v04n02a07)
- Bansal S, AJ Bharati, YK Bansal. 2013. *In vitro* callogenesis and phytochemical screening of harsingar (*Nyctanthes arbor-tristis*) a multipotent medicinal tree. *International Journal of PharmTech Research* 5(4): 1786-1793.
- Batista AF, GA Santos, LD Silva, FFA Quevedo. 2015. The use of mini-tunnels and the effects of seasonality in the clonal propagation of *Eucalyptus* in a subtropical environment. *Australian Forestry* 78(1): 65-72. DOI: [10.1080/00049158.2015.1039162](https://doi.org/10.1080/00049158.2015.1039162)
- Batista ANL, JM Batista Junior, SN López, M Furlan, AJ Cavaleiro, DHS Silva, VS Bolzani. 2010. Aromatic compounds from three brazilian Lauraceae species. *Química Nova* 33(2): 321-323. DOI: [10.1590/S0100-40422010000200017](https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000200017)
- Bisognin DA, MG Bandinelli, P Kielse, H Fischer. 2015. Rooting potential of mini-cuttings for the production of potato plantlets. *American Journal of Plant Sciences* 6(2): 366-371. DOI: [10.4236/ajps.2015.62042](https://doi.org/10.4236/ajps.2015.62042)
- Brum GR, AB Silva, M Pasqual. 2002. Efeito de diferentes concentrações de BAP e ANA na propagação *in vitro* da figueira (*Ficus carica* L.). *Ciência e Agrotecnologia* 26(2): 1403-1409.
- Cid LPB, JB Teixeira. 2010. Cultura *in vitro* de plantas. Brasília, DF: Embrapa Informações Tecnológica, 303 p.
- CNCFlora. 2012. *Persea willdenovii* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 Centro Nacional de Conservação da Flora. Consultado jun. 2020. Disponível em http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Persea_willdenovii
- Dias PC, A Xavier, LS Oliveira, HN Paiva, ACG Correia. 2012. Propagação vegetativa de progênies de meios-irmãos de angico-vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan) por miniestaquia. *Revista Árvore* 36(3): 389-399. DOI: [10.1590/S0100-67622012000300001](https://doi.org/10.1590/S0100-67622012000300001)
- Dinh TT, Y Akaji, T Matsumoto, T Toribuchi, T Makimoto, M Hirobe, K Sakamoto. 2018. Sprouting capacity of *Quercus serrata* Thunb. and *Quercus acutissima* Carruth. after cutting canopy trees in an abandoned coppice forest. *Journal of Forest Research* 23(5): 287-296. DOI: [10.1080/13416979.2018.1498288](https://doi.org/10.1080/13416979.2018.1498288)
- EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, BR). Mapa Convenção cartográfica: escala 1:250.000. Rio de Janeiro. 1998. 2 p.
- Encina CL, A Parisi, C O'Brien, N Mitter. 2014. Enhancing somatic embryogenesis in avocado (*Persea americana* Mill.) using a two-step culture system and including glutamine in the culture medium. *Scientia Horticulturae* 165(1): 44-50. DOI: [10.1016/j.scienta.2013.10.019](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.10.019)
- Fior CS, LR Rodrigues, AD Nilson, C Leonhardt. 2007. Aspectos da propagação de *Persea willdenovii* Kosterm. (Lauraceae). *Rodriguésia* 58(1): 27-40. DOI: [10.1590/2175-7860200758104](https://doi.org/10.1590/2175-7860200758104)
- Hartmann HT, DE Kester, FT Davies Jr, RL Geneve. 2011. *Plant Propagation: principles and practices*. 8. ed. New Jersey. Prentice Hall. 915 p.

- Hiti-Bandaralage JCA, A HAYward, N Mitter. 2017. Micropropagation of Avocado *Persea americana* Mill. *American Journal of Plant Sciences* 8(11): 2898-2921. DOI: [10.4236/ajps.2017.811197](https://doi.org/10.4236/ajps.2017.811197)
- Lee JM, PM Pijut. 2017. Adventitious shoot regeneration from *in vitro* leaf explants of *Fraxinus nigra*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 130(2): 335-343. DOI: [10.1007/s11240-017-1228-1](https://doi.org/10.1007/s11240-017-1228-1)
- Lloyd G, B Mccown. 1980. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. Combined Proceedings, *International Plant Propagators' Society*, 30(1): 421-427.
- Murashige T, FA Skoog. 1962. Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15(1): 473-497. DOI: [10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x)
- Nascimento B, ACS Sá, LBD Lemos, DPD Rosa, MDO Pereira, MC Navroski. 2018. Three epicormic shoot techniques in *I. paraguayensis* mother trees and its cutting according to the material rejuvenation degree. *Cerne* 24(3): 240-248. DOI: [10.1590/01047760201824032584](https://doi.org/10.1590/01047760201824032584)
- Oliveira LS, PC Dias, GE Brondani. 2013. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. *Pesquisa florestal brasileira* 33(76): 439-453.
- Osorio CR, FAG Velásquez, AG Correal, JMT Bonilla, AIU Trujillo. 2018. *In vitro* propagation of avocado (*Persea americana* Mill.) cv. Hass through morphogenesis. *Acta Agronómica* 67(1): 160-167. DOI: [10.1s446/acag.v67n1.61474](https://doi.org/10.1s446/acag.v67n1.61474)
- Pereira MO, AC Ângelo, MC Navroski, M Dobner Júnior, LM Oliveira. 2017. Vegetative rescue and rooting of cuttings of different stock plants of *Sequoia sempervirens*. *Cerne* 23(4): 435-444. DOI: [10.1590/01047760201723042452](https://doi.org/10.1590/01047760201723042452)
- Pereira MO, I Wendling, AC Nogueira, AN Kalil Filho, MC Navroski. 2015. Resgate vegetativo e propagação de cedro-australiano por estaquia. *Pesquisa agropecuária brasileira*. 50(4): 282-289. DOI: [10.1590/S0100-204X2015000400003](https://doi.org/10.1590/S0100-204X2015000400003)
- Pinto HCA, PAB Barreto, AR Amaral, FGRB Oliveira. 2013. Rebrotas de cepas de árvores adultas de madeira nova (*Pterogyne nitens* Tull). *Enciclopédia Biosfera* 9(17): 2287-2296.
- Rathwell R, MR Shukla, AMP Jones, PK Saxena. 2016. *In vitro* propagation of cherry birch (*Betula lenta* L). *Canadian Journal of Plant Science* 96(1): 571-578. DOI: [10.1139/cjps-2015-0331](https://doi.org/10.1139/cjps-2015-0331)
- Reinhold-Hurek B, T Hurek. 2011. Living inside plants: bacterial endophytes. *Current Opinion in Plant Biology* 14(4): 435-443. DOI: [10.1016/j.pbi.2011.04.004](https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.04.004)
- Rosa SS, FO Santos, HG Lima, IMA Reis, DSA Cassiano, I Vieira, R Braz-Filho, R Uzêda, MB Botura, A Branco, MJM Batatinha. 2017. *In vitro* anthelmintic and cytotoxic activities of extracts of *Persea willdenovii* Kosterm (Lauraceae). *Journal of Helminthology* 92(6): 1-7. DOI: [10.1017/S0022149X17000979](https://doi.org/10.1017/S0022149X17000979)
- Silva ER, IM Simões, JO Baptista, ER Schmildt, JC Lopes, EO Gonçalves, MVW Caldeira, RS Alexandre. 2020. *In vitro* of *Melanoxylon brauna* Schott. morphogenesis: responsiveness of explants to permanent and temporary immersion growth regulators. *Cerne* 26(1): 26-36. DOI: [10.1590/01047760202026012709](https://doi.org/10.1590/01047760202026012709)
- Silveira SS, R Cordeiro-Silva, J Degenhardt-Goldbach, M Quoirin. 2016. Micropropagation of *Calophyllum brasiliense* (Cambess.) from nodal segments. *Brazilian Journal of Biology* 76(3): 656-663. DOI: [10.1590/1519-6984.23714](https://doi.org/10.1590/1519-6984.23714)
- Stein VC, VL Bobrowski, DP Vargas, G Heiden, JRV Iganc. 2009. Efeito do genótipo na propagação *in vitro* de *Planta-go* spp. *Revista Verde* 4(2): 68-75.
- Stuepp CA, J Bitencourt, I Wendling, HS Koehler, KC Zuffellato-Ribas. 2015. Propagação de erva-mate utilizando brotações de anelamento e decape em matrizes de duas idades. *Cerne* 21(4): 519-526. DOI: [10.1590/01047760201521041864](https://doi.org/10.1590/01047760201521041864)
- Stuepp CA, J Bitencourt, I Wendling, HS Koehler, KC Zuffellato-Ribas. 2016. Indução de brotações epicórmicas por meio de anelamento e decape em erva-mate. *Ciência Florestal* 26(3): 1009-1022. DOI: [10.5902/1980509824230](https://doi.org/10.5902/1980509824230)
- Stuepp CA, I Wendling, A Xavier, KC Zuffellato-Ribas. 2018. Vegetative propagation and application of clonal forestry in Brazilian native tree species. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 53(9): 985-1002. DOI: [10.1590/s0100-204x2018000900002](https://doi.org/10.1590/s0100-204x2018000900002)
- Taiz L, E Zeiger. 2013. Fisiologia Vegetal. Porto Alegre, Brasil, 918 p.
- Warakagoda PS, S Subasinghe. 2013. *In vitro* propagation of *Pterocarpus santalinus* L. (Red Sandalwood) through tissue culture. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka* 41(1): 53-63. DOI: [10.4038/jnsf.v41i1.5325](https://doi.org/10.4038/jnsf.v41i1.5325)
- Wendling I, GE Brondani, A Biassio, LF Dutra. 2013. Vegetative propagation of adult *Ilex paraguayensis* trees through epicormic shoots. *Acta Scientiarum* 35(1): 117-125. DOI: [10.4025/actasciagron.v35i1.15958](https://doi.org/10.4025/actasciagron.v35i1.15958)
- Wendling I, LF Dutra, HA Hoffmann, G Bettio, F Hansel. 2009. Indução de brotações epicórmicas ortotrópicas para a propagação vegetativa de árvores adultas de *Araucaria angustifolia*. *Agronomia Costarricense* 33(2): 309-319.
- Zahadat P, DC Hofstadler, T Schmickl. 2017. Vascular morphogenesis controller: a generative model for developing morphology of artificial structures. *Gecco* 17(1): 15-19. DOI: [10.1145/3071178.3071247](https://doi.org/10.1145/3071178.3071247)

Recibido: 28.04.21
Aceptado: 16.06.22

Características morfométricas del fruto y dasometría del avellano chileno (*Gevuina avellana*) que impactan la producción bajo arboricultura de calidad

Fruit morphometry and dasometry of *Gevuina avellana* affecting seed production under quality arboriculture

Verónica Loewe Muñoz ^{a,b*}, Claudia Delard R ^a,
Rodrigo del Río ^{a,b}, Mónica Balzarini ^c

*Autor de Correspondencia: ^a Instituto Forestal (INFOR), Sede Metropolitana, Sucre 2397, Santiago, Chile, tel.: +56 2 23667111, vloewe@infor.cl

^b Pontificia Universidad Católica de Chile, Centro Nacional de Excelencia para la Industria de la Madera (CENAMAD), Vicuña Mackenna 4860, Santiago, Chile.

^c Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Agropecuarias, CONICET, Unidad de Biometría, Córdoba, Argentina.

SUMMARY

The Chilean hazelnut (*Gevuina avellana*) produces valuable timber and edible fruit in high demand. However, the development of the crop is scarce in Chile, where the production is usually harvested from native forests. In plantations, quality arboriculture practices are mainly aimed at increasing the value of timber, though their impact on fruiting is unknown. The objective of this work was to evaluate the shape and size of trees in relation to fruit production, and fruit morphometry traits in relation to kernel yield in cultivated trees. A 21-year-old plantation was evaluated, established with plants from two origins in the Araucanía region, managed with quality arboriculture techniques. Dasometric variables, production and morphometry of fruits and kernel yield in relation to the in-shell seed were measured in 1,000 hazelnuts. Differences were found among origins for tree height though none for fruit morphometric variables. On average, 20 kg of seeds were harvested per tree, with a kernel yield of 35 %, varying among seeds from 12 to 74 %. The trees with the highest seed production had diameters over 18.2 cm and balanced shape (H / DBH ratio less than 0.413). The highest kernel yields were obtained in lightweight in-shell seeds (less than 1.33 g) and with lengths under 18.5 mm. *Gevuina avellana* in managed plantations far exceeds the seed production harvested in native forests, with higher kernel yield in smaller seeds.

Keywords: Chilean hazelnut, gevuin, native species plantation, fruit-forest management, fruiting.

RESUMEN

El avellano chileno (*Gevuina avellana*) produce madera y frutos comestibles, recolectándose la producción principalmente desde bosques nativos. Para determinar si el manejo mejora la productividad frutal, el presente trabajo evaluó la forma y tamaño de árboles, la producción de avellanas y su morfometría, y el rendimiento de semilla sin cáscara en una plantación de avellanos de 21 años provenientes de dos orígenes de la Araucanía, la cual es manejada con técnicas de arboricultura de calidad orientada a incrementar el valor de la madera. Se midieron variables dasométricas, producción y morfometría de frutos, y el rendimiento de pepa en relación al fruto con cáscara en 1.000 avellanas. Se encontraron diferencias entre orígenes para la altura de los árboles, pero no para la morfometría del fruto. Se obtuvieron en promedio 20 kg de fruto por árbol, con un rendimiento en semilla sin cáscara del 35 %, variando entre avellanas del 12 % al 74 %. Los árboles más productivos tenían diámetros sobre 18,2 cm y forma equilibrada (relación H / DAP menor a 0,413). Los mayores rendimientos se obtuvieron en frutos con cáscara de peso liviano (menores a 1,33 g) y con largos bajo 18,5 mm. El avellano chileno en plantaciones manejadas supera ampliamente la producción de avellanas recolectada en bosques, con rendimientos de semilla sin cáscara superiores en frutos de menor tamaño.

Palabras clave: avellana chilena, gevuin, plantación de especie nativa, manejo fruto-forestal, fructificación.

INTRODUCCIÓN

El avellano chileno (*Gevuina avellana* Mol.) es conocido localmente como *gevuin*, y en el extranjero como *Chilean hazel*, *Chilean nut*, *Chilean wildnut* y *gevuina*

nut. Tiene un área de distribución amplia, entre los 34 y 43 grados de Latitud Sur, desde el nivel del mar hasta 700 m s.n.m. (Medel 2001), en zonas de clima templado mediterráneo en el norte y templado húmedo o lluvioso en el sur de su distribución, con precipitaciones anuales que

varían entre 500 mm en el norte, y hasta 4.000 mm en el sur. Se adapta a diferentes condiciones de luminosidad, pudiendo comportarse como especie intolerante o semi tolerante a la sombra, asociándose en bosques nativos principalmente a roble (*Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oerst), raulí (*Nothofagus alpina* (Poepp. et Endl.) Oerst) y coigüe (*Nothofagus dombevi* (Mirb.) Oerst); raramente crece en formaciones puras.

La especie posee varios usos no madereros (frutal, medicinal, ornamental, melífera) (Nahuelhual *et al.* 2008), y madereros, siendo su madera de excelente calidad y gran belleza, lo que la constituye en una alternativa productiva de particular interés por la posibilidad de producir en forma simultánea fruta y madera (Loewe *et al.* 2017). Su fruto es una semilla comestible globosa o levemente ovalada, con ápice más o menos protuberantes, de color verde, rojo o negro-violáceo según el grado de madurez. Se consume principalmente tostado y salado como snack, y como harina. Su aceite se exportó en pequeñas cantidades los años 2016 y 2017, con precios de hasta USD 20.647 por tonelada (INFOR 2020). La cáscara leñosa rica en taninos puede emplearse como combustible, con un poder calorífico entre 3.900 y 4.700 Kcal kg⁻¹ según el contenido de humedad (INTEC 1982).

El ciclo de fructificación de la especie dura dos años (Donoso *et al.* 1993), ocurriendo la floración cuando aún están madurando los frutos del año anterior (desde enero a mayo). En bosques nativos, la semilla del avellano está compuesta por un 65 % de cáscara leñosa, un 29 % de cotiledones, y un 6 % de cutícula (INTEC 1982). Las semillas sin cáscara tienen un elevado valor energético, proteico, lipídico y de carbohidratos. Entre los lípidos predominan los ácidos grasos insaturados (93 %), siendo el ácido palmitoleico el más importante, poco común en aceites vegetales, importante para usos cosméticos. La avellana aporta siete de los ocho aminoácidos esenciales, siendo el triptófano la excepción. También posee cantidades significativas de tocotrienol (vitamina E, 130 mg kg⁻¹), con propiedades anticoagulantes, anticancerígenas y antiinflamatorias, y su aceite absorbe la radiación ultravioleta, actuando como filtro con un factor de protección equivalente a 10 (Arriagada 2003). Se considera una fuente de compuestos que benefician la salud (Pino-Ramos *et al.* 2019), lo que cobra importancia frente al creciente interés por nuevos alimentos, sobre todo si tienen un valor agregado para la salud (Halloy *et al.* 1996).

La avellana chilena es un fruto seco de alto potencial comercial, no solo en Chile, sino que también en otros países con características similares, como Nueva Zelanda (Holt y Murphy 2018), cuyo cultivo aún no se ha desarrollado, y que compite con otros frutos secos más desarrollados productiva y comercialmente. Por ello, es deseable pasar de la recolección del fruto silvestre en bosques nativos, a la producción en plantaciones o huertos que permitan obtener fruta de calidad en un volumen elevado y constante. Existen avances en relación al mejoramiento genético y manejo del cultivo, identificándose algunos cultivares y clones aptos productiva y comercialmente en ciertas condiciones edafoclimáticas (Medel y Medel 2000).

Actualmente existe un vacío legal que regule la recolección de avellanas, lo que ha permitido una extracción controlada del recurso (Álvarez *et al.* 2019), evidenciando la conveniencia de establecer huertos productivos que contribuyan a disminuir la presión sobre el recurso nativo y consolidar la oferta de avellanas. No obstante, en Chile existen pocas plantaciones de avellano chileno, menos aún con doble objetivo productivo, existiendo escasa información productiva sobre las mismas. En ellas, el manejo reportado para incrementar tanto el crecimiento como la producción frutal es prácticamente inexistente (Medel 2001, Doll *et al.* 2005), lo que evidencia la necesidad de desarrollar conocimiento que permita mejorar la productividad de madera y fruta de la especie bajo cultivo. La arboricultura de calidad busca producir, en períodos lo más breves posibles, madera con características dimensionales, estéticas y tecnológicas que permitan su colocación en segmentos altos del mercado. Se trabaja a nivel de árbol individual debido a que el valor final depende de la calidad de cada uno. Normalmente incluye técnicas intensivas de establecimiento, que puede ser en plantación pura o mixta, como fertilización, podas y raleos. Este manejo se ha aplicado en dos plantaciones de avellano chileno (Loewe *et al.* 2017), con resultados interesantes en relación con su crecimiento.

Si bien las plantaciones también se hacen para obtener madera, su objetivo principal es la producción de avellanas. Los programas de mejoramiento genético orientados al desarrollo de nuevas variedades comerciales consideran la selección por características de importancia para el manejo y la productividad, como el crecimiento vegetativo compacto o semi-compacto, y un elevado rendimiento de semilla sin cáscara. Dado que se ha reportado en nogal común (*Juglans regia* L.) una fuerte correlación entre la forma de los árboles y su producción (Bayazit 2012), así como entre las características de la nuez y de la semilla sin cáscara (Khadivi-Khub y Ebrahimi 2015), el objetivo de este trabajo es evaluar el impacto de la forma y tamaño del árbol sobre la producción de avellanas y de la morfometría del fruto en el rendimiento de semilla sin cáscara en un huerto con manejo semi intensivo en condiciones de secano. Postulamos que el manejo de la arboricultura en plantaciones especializadas puede inducir una forma de los árboles que favorezca la productividad frutal, y que es factible identificar características morfométricas del fruto que permitan seleccionar variedades de elevado rendimiento en semilla sin cáscara.

MÉTODOS

Material y área de estudio. El año 1998 en la comuna de Villarrica, (UTM 18 H 752.078 m E, 5.642.671 m S), a 348 m s.n.m., se estableció un ensayo con 600 plantas de avellano de dos orígenes (Villarrica y Temuco), siguiendo un diseño en bloques al azar con tres repeticiones y dos parcelas de 64 árboles cada una por bloque, con un distanciamiento de 3 x 3 m entre árboles. Todas las parcelas

contaron perimetralmente con una hilera de borde. El sitio del ensayo es caracterizado por una precipitación anual histórica de 2.361 mm y una temperatura media anual de 11,1 °C; el suelo es un trumao típico.

Las plantas de 1 año de edad, una altura media de 53 cm y diámetro al cuello de 1,04 cm, se establecieron en agosto. El sitio se preparó mediante casillas de 50 x 50 x 50 cm, y la plantación se realizó manualmente. Se manejó usando criterios de arboricultura de calidad (Pelleri *et al.* 2008) con intensidad media, para producir una troza de madera de calidad al final de la rotación y fruta anualmente. La arboricultura incluyó control de malezas (1, 2 y 3 años de edad), fertilización (ácido fosfórico 41,4 g planta⁻¹, potasio 27 g planta⁻¹ y boro 1,7 g planta⁻¹, en la plantación y 1, 2 y 3 años de edad); podas de formación (selección apical, y poda de balance en árboles inclinados a los 1, 3, 5 y 14 años de edad); podas de levante (6 y 7 años), control de brotes basales (cada año) y raleo a los 17 años, cuando se extrajo el 21 % de los individuos y el 14 % del área basal. En la figura 1 se pueden visualizar aspectos del árbol a los 21 años de edad.

Evaluaciones. Para caracterizar la producción, morfometría y rendimiento del fruto del avellano chileno, se seleccionaron al azar tres a cuatro árboles desde cada bloque y origen, totalizando 20 árboles. De cada árbol, se cosechó manualmente toda la producción de frutos (en el árbol y caídos) en marzo del año 2019. De la producción de cada árbol se seleccionó una muestra aleatoria de 50 avellanas con cáscara, sobre las que se midieron las características morfométricas. Considerando la variabilidad del peso seco de la avellana con cáscara (característica de mayor varianza), este tamaño muestral se asocia con una potencia del 90 % para detectar diferencias entre árboles.

Las avellanas cosechadas se mantuvieron a temperatura ambiente durante los primeros tres meses desde la cosecha, monitoreando la pérdida de humedad hasta obtener un

peso constante. Estas 1.000 avellanas se pesaron y midieron (diámetro y largo), tanto con como sin cáscara. La relación entre el diámetro ecuatorial con cáscara (DCC) y el largo con cáscara (LCC) se usó como medida de la esfericidad del fruto (Medel y Medel 2000). El rendimiento de semilla sin cáscara (RP) se determinó usando la siguiente ecuación [1]:

$$RP (\%) = \frac{\text{(peso seco de la semilla sin cáscara)}}{\text{(peso seco de la semilla con cáscara)}} \times 100 \quad [1]$$

Dos años después del raleo, se realizó una medición del diámetro a 1,3 m de altura (DAP) con huincha diamétrica, y altura total (H) con hipsómetro, de cada árbol.

Análisis estadísticos. Se realizó un ANOVA para evaluar el efecto del origen sobre la morfometría del fruto, rendimiento de semilla sin cáscara, DAP y H a los 19 años ($P < 0,05$). Se analizó la correlación entre las variables medidas usando análisis de sendero (Johnson y Wichern 2007). El análisis de sendero (path coefficient analysis) permite descomponer las correlaciones entre dos variables (X e Y) en una suma del efecto directo de X sobre Y, y los efectos indirectos de X sobre Y vía otras variables independientes en un sistema de correlaciones, identificando posibles explicaciones causales de las correlaciones observadas entre una variable respuesta (dependiente, en este estudio producción total por árbol y rendimiento de semilla sin cáscara) y una serie de variables predictoras (independientes, en este estudio dasométricas y morfométricas). Se usaron árboles de regresión (Breiman 2001) para identificar las variables dasométricas que discriminan conjuntos de árboles con diferencia estadísticamente significativa en la producción total de frutos, así como variables morfométricas que impactan el rendimiento de semilla sin cáscara. Los análisis estadísticos se realizaron con el software InfoStat y su interface con el software R.

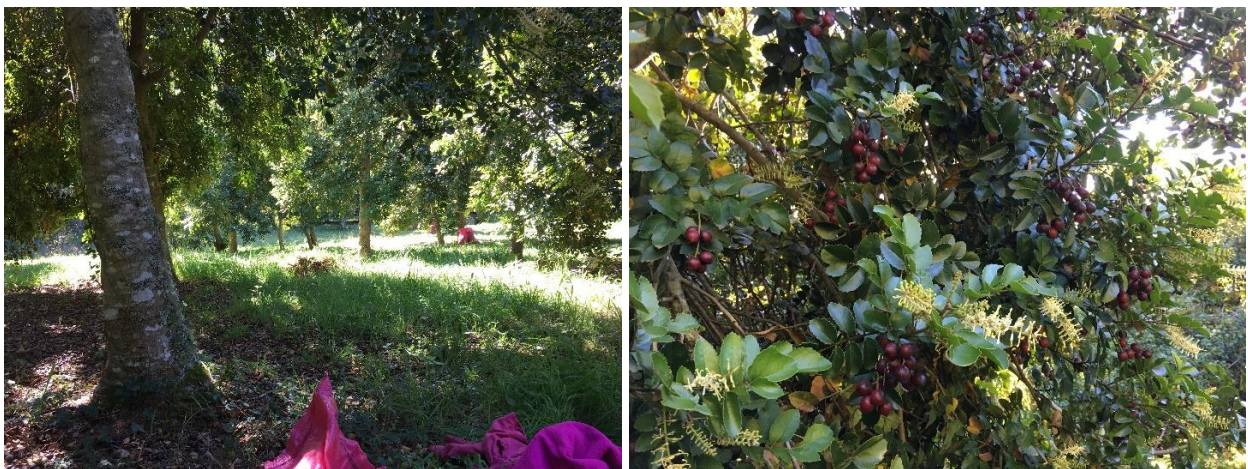


Figura 1. Plantación de avellano chileno a los 21 años, Villarrica, región de La Araucanía.

Chilean hazelnut plantation at age 21, Villarrica, Araucanía region.

RESULTADOS

La producción media de frutos fue de 19,6 kg árbol⁻¹, sin diferencias entre ambos orígenes de plantas (cuadro 1). Independientemente del origen, se observó una elevada variabilidad de la producción de frutos al momento de cosecha entre árboles, con mínimos de 3,8 y máximos de 55,9 kg árbol⁻¹. Los frutos con cáscara colectados y mantenidos a temperatura ambiente perdieron más del 40 % del contenido de humedad durante el primer mes después de efectuada la cosecha.

No se observaron diferencias estadísticas entre orígenes ($P > 0,05$) en ninguna de las variables morfométricas medidas, excepto en el peso de las avellanas sin cáscara, con valores inferiores en plantas del origen Villarrica. La semilla cosechada midió en promedio 14,5 mm de diámetro, 18,4 mm de largo y pesó 1,2 g, con 840 unidades por kilogramo. Las avellanas sin cáscara presentaron valores medios de peso de 0,4 g, de diámetro de 8,3 mm y largo de 10,1 mm, siendo estadísticamente más pesadas las del origen Temuco (0,44 vs 0,38 g) (cuadro 1). El rendimiento medio de semilla sin cáscara en relación al peso con cáscara alcanzó 34,5 %.

Se observaron diferencias significativas entre orígenes de plantas a los 19 años de edad sólo para la altura ($H = 6,7 \pm 0,5$ para Temuco y $8,2 \pm 0,4$ para Villarrica, $P = 0,0194$), con un DAP medio = $18,1 \pm 0,8$ cm, siendo el 95 % de los árboles vigorosos.

El análisis de sendero indicó que la producción total de avellanas por árbol presenta una correlación positiva con el DAP ($R^2 = 0,46$, $P = 0,0415$) y con la relación H / DAP ($R^2 = -0,69$, $P \leq 0,001$) (cuadro 2); y una correlación negativa significativa entre el rendimiento de semilla sin cáscara y dos variables morfométricas de las avellanas con cáscara, peso ($R^2 = -0,5376$, $P = 0,0145$) y largo ($R^2 = -0,5971$, $P = 0,0054$) (cuadro 3).

El rendimiento de semilla sin cáscara, como indicado, fue afectado por el peso con cáscara en forma directa y negativa, y en forma indirecta por dos vías, positiva por el diámetro con cáscara y peso sin cáscara, y negativa por el largo con cáscara y por la relación H / DAP . El rendimiento de semilla sin cáscara también fue afectado por el largo con cáscara en forma directa y negativa, y en forma indirecta por dos vías, positiva por el diámetro con cáscara y peso sin cáscara, y negativa por el peso con cáscara y también por la relación H / DAP (cuadro 3).

Las variables dasométricas que impactan la producción y las morfométricas que impactan el rendimiento de semilla sin cáscara, determinados mediante árboles de regresión, fueron congruentes con el análisis de sendero. En efecto, para árboles con DAP mayor y menor a 18,2 cm se observaron valores promedio de producción total por árbol significativamente diferentes (28,1 versus 12,7 kg árbol⁻¹) ($P = 0,0049$) (figura 2A). De igual forma, para árboles con relación H / DAP mayor y menor a 0,413 los

Cuadro 1. Producción de fruto, características morfométricas de frutos y dasométricas de avellano chileno cosechados en plantación adulta establecida en Villarrica, Chile, con dos orígenes de plantas.

Fruit production, fruit morphometry and dasometry of *Gevuina avellana* harvested in an adult plantation established in Villarrica, Chile, with two plant origins.

Variable	Unidad	Origen de las plantas		Valor <i>p</i>	Media
		Temuco	Villarrica		
Producción (PTOT)	kg árbol ⁻¹	21,3±4,7 a	17,9±3,7 a	ns	19,6
Semilla con cáscara					
Peso (PCC)	g	1,26±0,06 a	1,15±0,05 a	ns	1,19
Diámetro (DCC)	mm	14,9±0,3 a	14,2±0,2 a	ns	14,5
Largo (LCC)	mm	18,6±0,3 a	18,4±0,3 a	ns	18,4
Calibre	número kg ⁻¹	781	862		840
Semilla sin cáscara					
Peso (PSC)	g	0,44±0,02 a	0,38±0,02 b	***	0,40
Diámetro (DSC)	mm	8,5±0,2 a	8,1±0,2 a	ns	8,3
Largo (LSC)	mm	10,3±0,2 a	10,0±0,1 a	ns	10,1
Rendimiento (RP)	%	35,6±1,2 a	33,5±1,0 a	ns	34,5

PTOT: producción total de la temporada de cada árbol estudiado; PCC: peso de avellana con cáscara; DCC: diámetro ecuatorial de avellana con cáscara; LCC: largo o diámetro polar de avellana con cáscara; PSC: peso de avellana sin cáscara; DSC: diámetro ecuatorial de avellana sin cáscara; LSC: largo o diámetro polar de avellana sin cáscara; RP: rendimiento de semilla sin cáscara en relación a la semilla con cáscara. Para cada variable, valores medios con diferentes letras indican diferencias significativas entre orígenes. Media ± error estándar. *** = $P < 0,001$. ns: no significativo.

valores promedio de producción total fueron estadísticamente diferentes (12,1 versus 27,1 kg árbol⁻¹) ($P = 0,0061$) (figura 2B).

En relación con el rendimiento de semilla sin cáscara, avellanas con peso mayor y menor a 1,33 g presentaron valores significativamente diferentes (31,7 % versus 35,6 %) ($P < 0,001$) (figura 3A). Asimismo, las avellanas de largo menor y mayor a 18,5 mm presentaron rendimientos de semilla sin cáscara estadísticamente diferentes (36,1 % versus 32,9 %) ($P < 0,001$) (figura 3B).

DISCUSIÓN

En la plantación estudiada se observó alta variabilidad en la producción entre árboles, hecho reportado también en plantaciones por Donoso y Soto (1979) y en bosques nativos por Donoso *et al.* (1993) en la Región de los Ríos, y en bosques de la Región del Maule por Doll *et al.* (2005). Se observó abundante fructificación a partir de la edad de 10 años, en concordancia con el inicio temprano de la producción frutal reportado por Donoso (1978).

Arriagada (2003) obtuvo una producción media de 15,7 kg árbol⁻¹ con una densidad de 625 árboles ha⁻¹, equivalente a 9,8 Mg ha⁻¹. En este estudio, la producción media de 19,6 kg árbol⁻¹ con la densidad de 554 árboles ha⁻¹ representa 10,7 Mg ha⁻¹, más de 20 veces superior a la producción media obtenida en bosques nativos dominados por avellano (480 kg ha⁻¹, Pognat 2001).

Cuadro 2. Variables dasométricas que inciden significativamente en la producción de frutos de árboles de *G. avellana*, según análisis de sendero.

Dasometric variables that significantly affect fruit production of *G. avellana* trees, according to path analysis.

Efecto	Vía	Coefficiente
DAP	Directa	2,27
DAP	PCC	-0,01
DAP	H	-1,05
DAP	H / DAP	-0,72
DAP	DCC / LCC	-0,02
H/DAP	Directa	1,26
H/DAP	PCC	-0,04
H/DAP	H	-0,62
H/DAP	DAP	-1,31
H/DAP	DCC / LCC	0,02

DAP: diámetro del árbol a 1,3 m; H: altura total del árbol; PCC: peso de avellana con cáscara; DCC: diámetro ecuatorial de avellana con cáscara; LCC: largo o diámetro polar de avellana con cáscara.

El análisis de sendero indicó que la producción por árbol es afectada directa y positivamente por el DAP, lo que ha sido reportado por varios autores en bosques, como Doll *et al.* (2005) en la Región del Maule, y Donoso y Soto (1979) en la Región de La Araucanía. En efecto, los individuos más gruesos mostraron una producción 2,2 veces superior (28,1 kg árbol⁻¹) que los más delgados (12,7 kg árbol⁻¹). El análisis de sendero también indicó que la producción por árbol es afectada directa y positivamente por la relación H / DAP, siendo la producción más del doble en árboles gruesos y bajos, de forma esférica o globosa (H / DAP menor a 0,413) que aquellos alargados y delgados.

La producción de frutos también depende del tamaño de la copa del árbol, determinada por el distanciamiento

Cuadro 3. Variables morfométricas de frutos de *G. avellana* que inciden significativamente en el rendimiento de semilla sin cáscara, según análisis de sendero.

Morphometry of *G. avellana* fruits that significantly affect kernel yield, according to the path analysis.

Efecto	Vía	Coefficiente
PCC	Directa	-0,8553
PCC	DCC	0,7341
PCC	LCC	-0,8738
PCC	DSC	-0,0026
PCC	LSC	-0,0083
PCC	DCC / LCC	-0,1966
PCC	PTOT	0,0194
PCC	H / DAP	-0,0398
PCC	PSC	0,6852
LCC	Directa	-1,0974
LCC	PCC	-0,6810
LCC	DCC	0,4744
LCC	DSC	-0,0010
LCC	LSC	-0,0088
LCC	DCC / LCC	0,3088
LCC	PTOT	0,0100
LCC	H / DAP	-0,0146
LCC	PSC	0,4125

PCC: peso de avellana con cáscara; LCC: largo o diámetro polar de avellana con cáscara; DCC: diámetro ecuatorial de avellana con cáscara; PSC: peso de avellana sin cáscara; DSC: diámetro ecuatorial de avellana sin cáscara; LSC: largo o diámetro polar de avellana sin cáscara; PTOT: producción total de la temporada de cada árbol estudiado; DAP: diámetro del árbol a 1,3 m; H: altura total del árbol.

entre árboles. Medel y Medel (2000) indican que un distanciamiento de 4 x 6 m incrementa significativamente la producción de avellanas, y que altas densidades como las usadas en plantaciones para producir madera (2 x 2 m, 2.500 árboles ha⁻¹) reducen la producción frutal. Para la producción combinada de madera y avellanas se usó un distanciamiento inicial de 3 x 3 m (1.111 árboles ha⁻¹), usada frecuentemente en plantaciones forestales. Posteriormente, mediante un raleo la densidad media se redujo a 554 árboles ha⁻¹, obteniéndose una producción equivalente a la reportada por Medel (2001) con plantaciones a baja densidad (6 x 6 m, 278 árboles ha⁻¹), que dichos autores proponen para incentivar la producción frutal a edades

tempranas. En relación con la productividad en función de la superficie de la copa, Doll *et al.* (2005) reportaron mayor producción de avellanas en árboles de copa grande, lo que se explicaría por una mayor intercepción de radiación solar. Por ello, el cultivo combinado de fruta y madera en condiciones de semi sombra resultaría restrictivo para la fructificación.

La avellana cosechada presentó un tamaño relativamente pequeño, ya que el número de frutos por kilo alcanzado fue superior al reportado por Medel y Medel (2000) y Medel (2001) en Valdivia, y por Donoso (1978) en la Región de la Araucanía. Si bien existen trabajos que caracterizan los frutos del avellano (Doll *et al.* 2005, Medel

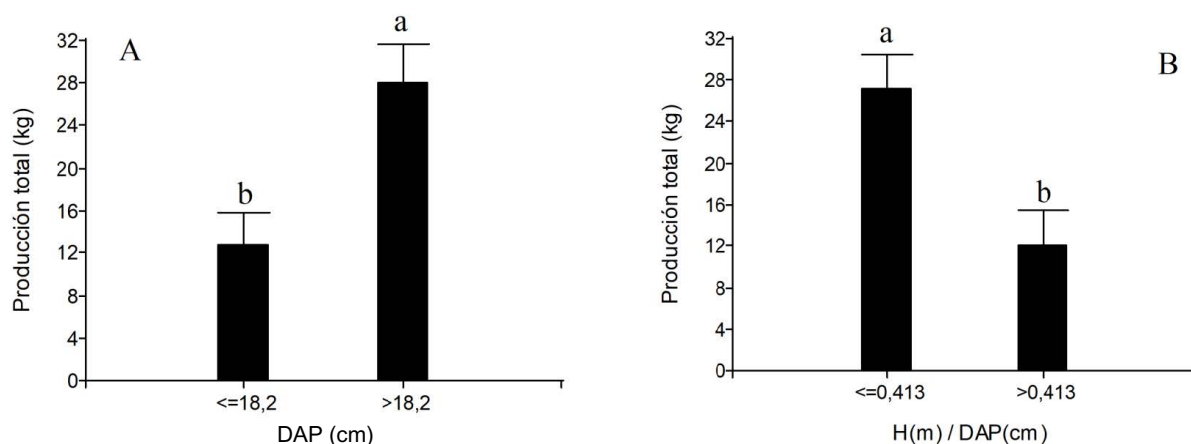


Figura 2. Variables dasométricas que afectan la producción total de avellanas por árbol. Cada umbral fue detectado mediante el algoritmo de árbol de regresión (Breiman 2001) usando datos de los 20 árboles cosechados sin el condicionamiento de otras variables. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$).

Dasometric variables affecting the total seed production per tree. Each threshold was detected using the regression tree algorithm (Breiman 2001) using data from the 20 trees harvested without the conditioning of other variables. Different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

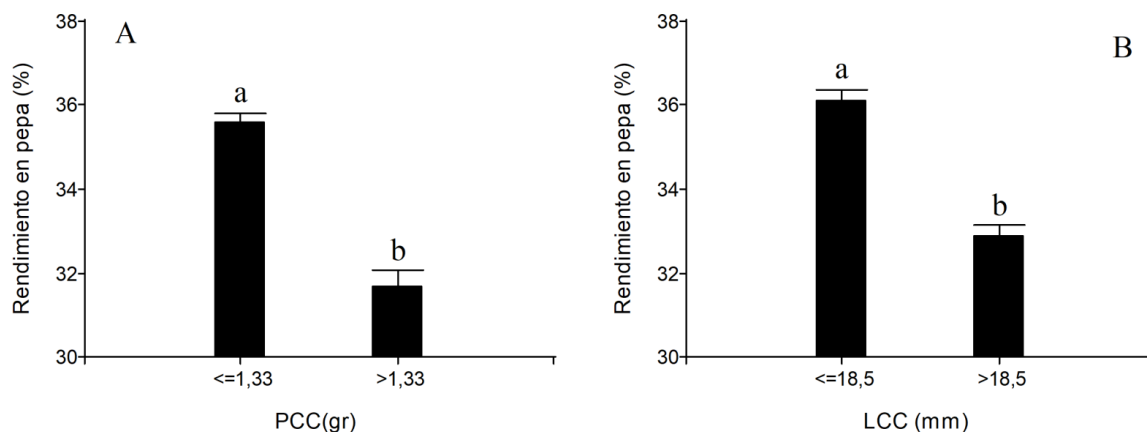


Figura 3. Variables morfométricas del fruto que afectan el rendimiento de semilla sin cáscara. Cada umbral fue detectado mediante el algoritmo de árbol de regresión (Breiman 2001) usando datos de los 20 árboles cosechados sin el condicionamiento de otras variables. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,001$).

Fruit morphometric variables affecting kernel yield. Each threshold was detected using the regression tree algorithm (Breiman 2001) using data from the 20 trees harvested without the conditioning of other variables. Different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.001$).

y Medel 2000, Medel 2001, Arriagada 2003), ninguno de ellos relaciona el impacto de la morfometría sobre el rendimiento de semilla sin cáscara. En este trabajo observamos una correlación negativa entre dicho rendimiento y el peso y el largo de las avellanas con cáscara - el aumento de ambas variables no se traduce en un aumento del contenido de semilla pelada sino que de la cáscara -, las avellanas con cáscara más pesadas (peso mayor a 1,3 g) y largas (mayores a 18,5 mm) presentaron rendimientos inferiores a 32 %. Consecuentemente, estas variables debieran ser consideradas en la selección de variedades / clones para optimizar la producción en huertos.

A base de los resultados obtenidos, se acepta la hipótesis planteada, relevándose la importancia de estos caracteres en el rendimiento de semilla sin cáscara, lo que lleva a proponer que futuras líneas de investigación genética orientada a incrementarlo realicen selección inversa de frutos grandes, pesados y con ápices protuberantes, y que el manejo aplicado se oriente a la formación de árboles equilibrados. Adicionalmente, dado que el riego es esencial para la mayoría de los frutales cultivados (Xyloannis 2014), recomendamos establecer ensayos que incluyan esta técnica para evaluar su efecto en la producción de avellanas en el corto, mediano y largo plazo.

Finalmente, dado que esta evaluación se realizó solo en un año, y que se ha reportado la incidencia del clima para una abundante fructificación (Murua y González 1985), es necesaria la cuantificación de la producción en forma periódica para evaluar la variabilidad interanual de la producción, incorporando su relación con variables climáticas e intervenciones culturales, ya que, en general, las plantaciones existentes no se podan ni fertilizan, aun cuando el manejo agronómico intensivo las incluye, con potenciales ventajas productivas también en esta especie.

CONCLUSIONES

El avellano chileno en plantaciones manejadas mediante arboricultura de calidad supera ampliamente la producción de frutos recolectada en bosques. Dado que el DAP y la relación H / DAP son buenos indicadores de la producción de avellanas por árbol, se confirma que el manejo de la arboricultura en plantaciones especializadas permite inducir una forma de los árboles que favorece la productividad frutal. Asimismo, las características morfológicas del fruto permitirían seleccionar variedades de elevado rendimiento en semilla sin cáscara, ya que avellanas más pesadas y largas presentan un menor rendimiento de semilla sin cáscara, siendo la forma del fruto marcadamente apiculada un carácter indeseable.

AGRADECIMIENTOS

El presente estudio se enmarca en el programa permanente “Desarrollo y aportes para la utilización de especies forestales y fruto-forestales de alto valor para Chile”, finan-

ciado por el Contrato de Desempeño del Instituto Forestal financiado por el Ministerio de Agricultura y por ANID BASAL FB210015 (CENAMAD). El establecimiento del ensayo se realizó en el marco del proyecto “Silvicultura de especies no tradicionales, una mayor diversidad productiva” financiado por FIA y por el sector privado. Agradecemos al propietario de la plantación, Juan Cristóbal Edwards, por ceder el terreno y velar por ella durante más de dos décadas.

REFERENCIAS

- Álvarez A, M García, M Aguilera, E García, O Larraín, G Valdebenito, M Hormazabal. 2019. Manual de Buenas Prácticas Tradicionales de Recolección Sustentable de Frutos y Follajes de Avellano Chileno (*Gevuina avellana* Mol.). Instituto Forestal, Chile. 67 p. (Manual N° 52).
- Arriagada CR. 2003. Determinar y evaluar indicadores de calidad del fruto de avellano chileno (*Gevuina avellana* Mol.), en distintos sectores de la IX región. Tesis. Temuco, Chile. Universidad Católica de Temuco. 101 p.
- Bayazit S. 2012. Determination of relationships among kernel percentage and yield characteristics in some Turkish walnut genotypes by correlation and path analysis. *Journal of Animal and Plant Sciences* 22(2): 513-517.
- Breiman L. 2001. Random forests. *Machine Learning* 45(1): 5-32. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1010933404324>
- Doll U, J San Martín, C Ravanal, S Cifuentes, M Muñoz. 2005. Evaluación de la producción potencial de frutos de *Gevuina avellana*, durante una temporada (1999-2000) en el secano costero de la VII Región. *Bosque* 26(3): 87-96.
- Donoso C. 1978. Antecedentes sobre producción de avellanas. *Bosque* 2(2): 105-108.
- Donoso C, M Hernández, C Navarro. 1993. Valores de producción de semillas y hojarasca de diferentes especies del tipo forestal siempre verde de la Cordillera de la Costa de Valdivia obtenidos durante un período de 10 años. *Bosque* 14(2): 65-84.
- Donoso C, L Soto. 1979. Antecedentes sobre producción de avellanas. *Bosque* 3(1): 69-70.
- Halloy S, A Grau, B McKenzie. 1996. Gevuina nut (*Gevuina avellana*, Proteaceae), a cool climate alternative to macadamia. *Economic Botany* 50(2): 224-235.
- Holt L, G Murphy. 2018. The economic potential of *Gevuina avellana* in New Zealand planted forests. *Agroforestry Systems* 92(5): 1287-1300. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10457-017-0072-y>
- INFOR (Instituto Forestal, CL). 2020. Productos Forestales no madereros. 9 p. Boletín N° 35. Consultado 4 ago. 2020. Disponible en: <https://wef.infor.cl/publicaciones/pfnm/2020/03/PFNM202003.pdf>
- INTEC (Instituto de Investigaciones Tecnológicas, CL). 1982. Recolección e Industrialización de avellana chilena. Informe final. Santiago, Chile. Oficina de Planificación Agrícola e Instituto de Investigaciones Tecnológicas. 87 p. Consultado 4 ago. 2020. Disponible en: <http://bibliotecadigital.fia.cl/handle/20.500.11944/145113>
- Johnson RA, DW Wichern. 2007. Applied Multivariate Statistical Analysis, 6th ed. Harlow, Essex, Inglaterra. Pearson. 770 p.
- Khadivi-Khub A, A Ebrahimi. 2015. The variability in walnut (*Juglans regia* L.) germplasm from different regions in

- Iran. *Acta Physiologiae Plantarum* 37: 57. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1806-y>
- Loewe V, C Delard, A Álvarez. 2017. Plantaciones de Avellano chileno (*Gevuina avellana* Mol.) una alternativa para producir madera de alto valor en Chile. *Ciencia e Investigación Forestal* 23(1): 49-68.
- Medel F. 2001. *Gevuina avellana*: potential for commercial nut clones. *Acta Horticulturae* 556: 521-528.
- Medel F, R Medel. 2000. *Gevuina avellana* Mol. Características y mejoramiento genético de un frutal de nuez nativo para el mercado internacional. *Revista Frutícola* 21(2): 37-46.
- Murua R, L González. 1985. Producción de especies arbóreas en la pluviselva valdiviana. *Bosque* 6(1): 15-23.
- Nahuelhual L, J Palma, M Gonzalez, K Ortiz. 2008. Potential for greenery from degraded temperate forests to increase income of indigenous women in Chile. *Agroforestry Systems* 74: 97-109. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10457-008-9151-4>
- Pelleri F, S Ravagni, E Buresti. 2008. Confronto tra metodi di diradamento in un impianto puro di farnia (*Quercus robur* L.). *Annals of Silvicultural Research* 35: 101-114.
- Pino-Ramos L, F Jiménez-Aspee, C Theoduloz, A Burgos-Edward, R Domínguez-Perles, C Oger, T Durand, A Gil-Izquierdo, L Bustamante, C Mardones, K Márquez, D Contreras, G Schmeda-Hirschmann. 2019. Phenolic, oxylipin and fatty acid profiles of the Chilean hazelnut (*Gevuina avellana*): antioxidant activity and inhibition of pro-inflammatory and metabolic syndrome-associated enzymes. *Food Chemistry* 298:125026. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125026>
- Pognat C. 2001. Productos Forestales No Madereros. Producción Sustentable. Estudio de la comercialización de los productos forestales no madereros en la zona de amortiguación de la Reserva Nacional Malleco y propuestas de alternativas por su manejo. Memoria para optar al Título Profesional de Master en Agro-Silvo-Pecuario. Universidad de Paris XII - Val de Marne. Proyecto Conaf IX Región - FFEM - Office National des Forêts. 70 p.
- Xyloyannis C. 2014. L'acqua e gli apporti irrigui. In Sansavini S, G Costa, R Gucci, P Inglese, A Ramina, C Xyloyannis eds. *Arboricoltura generale*. Bolonia, Italia. Patron. p 399-424.

Recibido: 29.04.21
Aceptado: 16.06.22

Land use/land cover change as a major driver of current landscape flammability in Eastern Mediterranean region: A case study in Southwestern Turkey

El uso del suelo/cambio en la cobertura del suelo como un factor importante de la inflamabilidad del paisaje actual en la región del Mediterráneo oriental: un estudio de caso en el suroeste de Turquía

Kadir Alperen Coskuner **

* Corresponding author: ^a Karadeniz Technical University, Faculty of Forestry, 61080, Trabzon, Turkey, tel.: +90 4623773244, kacoscuner@ktu.edu.tr

SUMMARY

Land use/land cover (LULC) change has been one of the main drivers of landscape changes in the Mediterranean region where there has been an increase in the forested lands. LULC change in the region has not only changed forest stand structure and composition but also resulted in increase in the available combustible fuels. There have been few studies on fuel accumulation in relation to LULC, however, no study explaining quantitatively the relationship between LULC change and canopy fuel load in the Mediterranean region. The objective of this study is to evaluate the effects of LULC changes on overall crown fire hazard through examining stand structure, composition, and canopy fuel loads in Eastern Mediterranean forests for 35 years. Forest stand type maps generated from the stereo interpretation of aerial photographs and field survey data were used for the analyses. The results of the study showed significant changes in LULC during the period of 1977-2012. There was a 16.6 % decrease in agricultural areas, 144.5 % increase in settlement areas and 6.8 % increase in pine forests. As for the structural and compositional changes in forested lands, open pine stands that included Mediterranean shrub communities decreased (77.2 %); nonetheless, closed pure pine stands increased (49.9 %), resulting in an increase in the total canopy fuel load in pine stands (86.4 %). Results indicated that landscapes tended to become more homogeneous, fully closed pine stands, resulting in an increase in the continuity and the buildup of fuels available for combustion.

Keywords: forest fires, agricultural abandonment, landscape changes, canopy fuel load, fire management.

RESUMEN

El cambio en el uso del suelo/cobertura del suelo (LULC) ha sido uno de los principales impulsores de los cambios en el paisaje en la región mediterránea, donde ha habido un aumento de las tierras forestales. El cambio de LULC en la región no solo ha cambiado la estructura y composición de los rodales forestales, sino que también ha resultado en un aumento de los combustibles disponibles. Ha habido pocos estudios sobre la acumulación de combustible en relación con LULC, sin embargo, ningún estudio explica cuantitativamente la relación entre el cambio de LULC y la carga de combustible del dosel en la región mediterránea. El objetivo de este estudio es evaluar los efectos de los cambios de LULC en el riesgo general de incendios de copas mediante el examen de la estructura, la composición y las cargas de combustible del dosel de los rodales en los bosques del Mediterráneo oriental durante 35 años. Para los análisis se utilizaron mapas de tipos de masas forestales generados a partir de la interpretación estereoscópica de fotografías aéreas y datos de estudios de campo. Los resultados del estudio mostraron cambios significativos en LULC durante el período 1977-2012. Hubo una disminución del 16,6 % en las áreas agrícolas, un aumento del 144,5 % en las áreas de asentamiento y un aumento del 6,8 % en los bosques de pino. En cuanto a los cambios estructurales y composicionales de los terrenos forestales, disminuyeron los rodales abiertos de pino que incluían comunidades de matorral mediterráneo (77,2 %), pero aumentaron los rodales cerrados de pino puro (49,9 %), lo que se tradujo en un aumento de la carga total de combustible del dosel en los rodales de pino (86,4 %). Los resultados indicaron que los paisajes tendían a volverse más homogéneos, pinares completamente cerrados, lo que resultó en un aumento en la continuidad y la acumulación de combustibles disponibles para la combustión.

Palabras clave: incendios forestales, abandono agrícola, cambios en el paisaje, carga de combustible del dosel, manejo de incendios.

INTRODUCTION

Land use/land cover (LULC) change is one of the main drivers of global change and has many effects on landscape structure in the Mediterranean Region (Viedma *et al.* 2006). The decrease in firewood demand and grazing, and an increa-

se in land abandonment have changed LULC patterns (Moreira *et al.* 2011, Pérez *et al.* 2003), significantly affecting the structure and composition of forested lands (Falcucci *et al.* 2007). Stand structure and composition have also been affected by large scale afforestation efforts using pine species (Moreno *et al.* 1998, Pausas *et al.* 2004) and transformation of

some open pine/broadleaved mixed stands into more closed, productive pure pine stands through management activities in the region. As a result, landscapes tended to become more homogeneous (Pérez *et al.* 2003, Viedma *et al.* 2006) with large continuous patches of even aged and fully closed pine stands, thus resulting in an increase in the buildup of fuels available for combustion (Moreira *et al.* 2001, Moreno *et al.* 1998). This exacerbates the problem of forest fires and extreme fire behavior over large areas in the Mediterranean Region.

Mediterranean forests have always been subjected to forest fires, and fires are the most important disturbance agents in forested lands. Changes in stand structure, composition and canopy fuel load directly affect fire hazard (Mitsopoulos and Dimitrakopoulos 2007), fire behavior and vulnerability of stands to intense and severe crown fires (Cruz *et al.* 2003). However, little information exists on the relationship between LULC change and canopy fuel loads in pine stands in the Mediterranean Region.

Many studies have analyzed LULC changes in different parts of the Mediterranean Region for different time periods (Ales *et al.* 1992, Debussche *et al.* 1999, Falcucci *et al.* 2007). Studies have clearly indicated a dependency of biodiversity (Falcucci *et al.* 2007), soil conservation and forest fire hazard and occurrence (Viedma *et al.* 2006) on LULC change. There have been few studies on fuel accumulation regarding land use/land cover change (Moreira *et al.* 2001), and no study explaining quantitatively the relationship between LULC change and canopy fuel load in the Mediterranean Region.

The objective of this study is to evaluate the effects of LULC changes on overall crown fire hazard through examining stand structure, composition, and canopy fuel loads in Eastern Mediterranean forests for 35 years. The hypothesis of this study is: LULC has no major effect on the flammability of the stands in the Eastern Mediterranean Region. The results obtained from this study may be invaluable in the understanding of the dynamics of Mediterranean forest lands and developing genuine management strategies to reduce crown fire hazard in the future.

METHODS

Study site. The study site is located at Karabortlen State Forest Enterprise in Mugla, southwestern Turkey. The site is located at 37° 01' 32" N, 28° 25' 16" E and at sea level with an average slope of 5 - 10° (figure 1). The site is characterized by typical Mediterranean climate with long hot summers and mild short winters. Mean annual temperature is 15.1 °C and annual rainfall on the site is 1,214.8 mm with precipitation being mainly from December to May. The fire season in Mugla Region generally lasts from late May until mid-September. Turkish red pine (*Pinus brutia* Ten.) stands dominate the forest canopy throughout the study area. Also included in the canopy is Stone pine (*Pinus pinea* L.) accompanied by such broadleaved species as *Liquidambar orientalis* L. and *Eucalyptus camaldulensis*

Dehn. Common understory woody species are *Quercus coccifera* L., *Pistacia terebinthus* L., *Laurus nobilis* L., *Arbutus andrachne* L., *Myrtus communis* L. and *Cistus* spp. Soil type is brown forest soil.

The land area of the study site is 14,640 ha of which nearly 60 % is covered by Turkish red-pine dominated stands. Turkish red pine is the most widely distributed forest conifer species in fire prone areas in Turkey. Most fires occur in pure or mixed Turkish red pine stands. The study site is near the Gulf of Gokova (figure 1), a major destination for summer tourism in the summer. The human population peaks in the area during summer months (May to September) contribute to human caused fires. Almost all fires originate from human activities, resulting in a 1 % area burn on average in the study area. There are 14 settlements located within the borders of the study area with a local population of 6,966 according to population census in 2007.

Data acquisition and processing. Geographic information system (GIS) and remote sensing technologies were used to acquire, build, and manage spatial database for the study area. The stand type maps of the study area were used to assess spatiotemporal land use/land cover, stand structure and crown fuel load changes. Stand type maps were obtained from forest management plans of Karabortlen State Forest Enterprise. The stand type maps, used as ground data, were originally generated from both the stereo interpretation of aerial photographs with an average 1:25,000 scale and ground measurements with 300 × 300 m sampling points for 1977, 1990, 2000 and 2012. This intensive data gathering process was part of forest inventory conducted by the Turkish Forest Service.

Coarse level stand structure and fuel load classification approach was used in the study area. The coarse level approach refers to a broad classification of vegetation covers in relation to major land use types such as agricultural and settlement areas and stand types described by species composition, development stages and canopy closure. The stand volume (m³), number of trees and stand volume increment (m³) were acquired from forest inventory data for the years 1977, 1990, 2000 and 2012.

Stand type maps were first scanned and later georeferenced using 1:25,000 scaled topographical maps with UTM projection (ED50 UTM Zone 35 N Datum) using first order nearest neighbor rules with a maximum root mean square (RMS) error under 10 m in a GIS software (ArcGIS 10.2). Rectified forest stand type maps were digitized with a 1:3,000 to 1:5,000 screen view scale. Afterwards, associated attribute data were entered into the computer to create a spatial database for the study area.

Classification of land use/land cover, stand structure and composition. The landscape was divided into four major land use categories (Gregorio and Jansen 2000) to monitor LULC change for the study period. Categories included: *i*) forest, *ii*) agricultural areas, *iii*) settlements

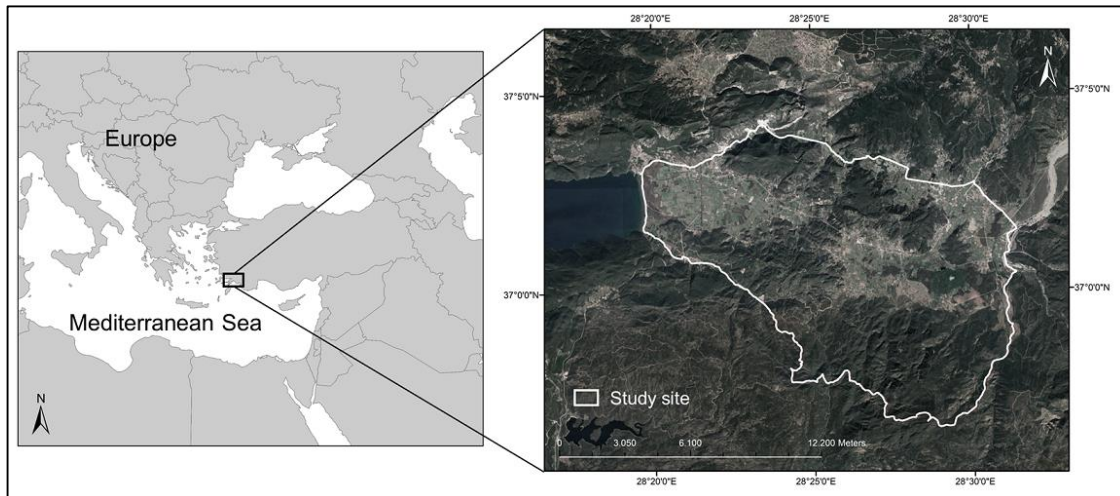


Figure 1. Geographic location of the study site near the Mediterranean Sea (Mugla, Turkey).

Ubicación geográfica del sitio de estudio cerca del mar Mediterráneo (Mugla, Turquía).

and iv) open areas (some swamp areas, dune fields and other non-forested areas). The stand structure was classified according to the canopy closure of the stands. Stands with canopy closure under 10 % were classified as “Open stands” and the rest as “Closed stands” (figure 2A, B). The open stands were mainly covered by Turkish red pine (*Pinus brutia* Ten.) with Mediterranean shrub plant communities (i.e. *Quercus coccifera* L., *Pistacia terebinthus* L., *Arbutus andrachne* L., *Myrtus communis* L., *Cistus* spp.) in the understory (figure 2A). The stand composition was classified into two major groups; i) pine stands dominated by *Pinus brutia* Ten. and ii) eucalyptus stands *Eucalyptus camaldulensis* Dehn.) and iii) broadleaved (*Liquidambar orientalis* L.) and mixed stands (figure 2C, D, E).

Quantitative stand characteristics such as the number of trees (trees ha⁻¹), stand volume (m³ ha⁻¹) and stand volume increment (m³ ha⁻¹) were analyzed only in the closed (productive) pine stands with an average diameter at breast height (DBH) larger than 8 cm, as the inventory data were only available for these stands. The quantitative stand characteristics of some eucalyptus, broadleaved and mixed stands, for which no or little inventory data were available, were not considered. To monitor temporal changes in the quantitative stand characteristics, pine stands were classified into three groups regarding developmental stages as; i) young (DBH = 8 - 19.9 cm), ii) mature (DBH = 20 - 35.9 cm) and iii) over mature (DBH > 36 cm).

Evaluation and prediction of canopy fuel load. Within the present study, the term ‘crown’ is used to describe aerial fuels at tree level and ‘canopy’ at stand level in line with literature (Cruz *et al.* 2003). The canopy fuel load in pine stands was classified according to the standard fuel size classes (Scott and Reinhardt 2002). Total canopy fuel load

(CFL, kg m⁻²) means the oven-dry mass of the canopy fuels (needles, branches < 0.3 cm (very fine branch), 0.3 - 0.6 cm (fine branch), 0.6 - 1 cm (medium branch) and 1 - 2.5 cm (thick branch) in diameter) per unit ground area (figure 3). However, it is known that only the fine fuels involving needles and fine branches smaller than 0.6 cm in diameter are considered available canopy fuel (Fernández-Alonso *et al.* 2013, Mitsopoulos and Dimitrakopoulos 2007) consumed in a crown fire (Scott and Reinhardt 2002, Stocks *et al.* 2004). Canopy fuels were assessed in pine stands as available and total CFL in this study.

There are some models available in literature for the estimation of crown fuel load for Turkish red pine using tree (Gungoroglu *et al.* 2018, Kucuk and Bilgili 2008, Kucuk *et al.* 2008) and stand characteristics. The models developed by Gungoroglu *et al.* (2018) were used to predict crown fuel load of Turkish red pine. Limitations of the inventory data allowed the use of Gungoroglu *et al.* (2018) models only. Crown fuel loads (kg) were determined on a tree basis using mean diameter at breast height at 1.30 m (DBH). Available and total CFL for the stand were calculated using stand density (trees ha⁻¹). The calculated CFL (kg) were then converted into kg m⁻² with the area (m²) of each stand. The CFL calculations were made only for the pine stands with an average DBH larger than 8 cm, as there is no inventory data available for younger stands in the management plans.

RESULTS

The change in LULC, stand structure and composition between 1977 and 2012. The landscape was dominated by forest (56.7 - 60.6 %), followed by agricultural land (34.2 - 41.1 %), settlement (1.2 - 2.9 %) and open areas (1.0 - 2.2 %) (table 1, figure 4A). Results indicated an increase

in forest, settlement, and open areas in the study area between 1977 and 2012 (figure 4A, table 1). Increases were 6.8 % (567.7 ha), 144.5 % (255.1), 117.8 % (174.7 ha) in forest, settlement, and open areas, respectively. However, there was a 16.6 % (997.5 ha) decrease in agricultural land area between 1977 and 2012 (figure 4A, 5A). There was a gradual increase in human population in the study area

from 5,194 to 6,966 during the study period. The mean population of the study area was 6,022 with a 34.1 % increase (table 1).

Results indicated a 49.9 % increase in the closed and a 77.2 % decrease in open stands between 1977 and 2012 (figure 4B, 5B, table 1 and 2). Most increases in the closed stands were accounted for by the decrease in open stands

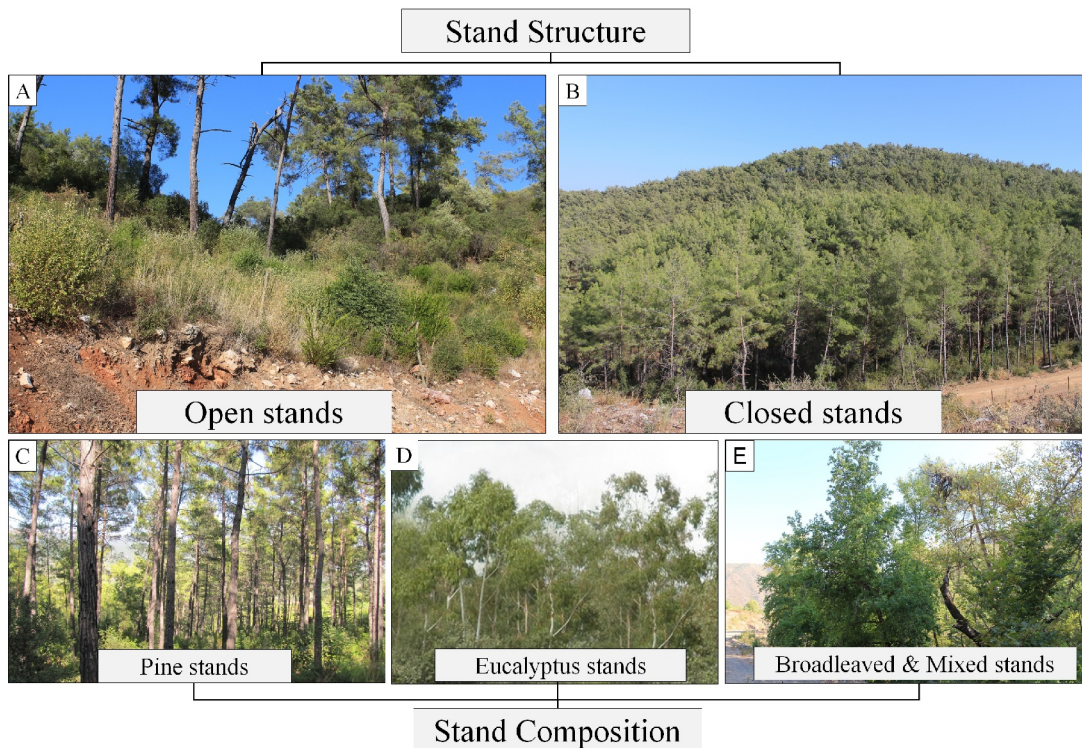


Figure 2. Classification of stand structure (A, B) and composition (C, D, E) in the study area.

Clasificación de la estructura del stand (A, B) y composición (C, D, E) del área de estudio.



Figure 3. Classification of crown fuel load of Turkish red pine according to the standard fuel size classes.

Clasificación de la carga de combustible de corona de pino rojo de Turquía según las clases de tamaño de combustible estándar.

(2,080.7 ha), followed by agricultural land area (933,1 ha) between 1977 and 2012 (table 2, figure 4B and 5B). There was a decrease in agricultural land area., Decreases in these lands were accounted for by the increase in settlement areas (335,3 ha) between 1977 and 2012 (table 2, figure 4A).

The stands were dominated by pine (*Pinus brutia* Ten.) (52.8 - 55.3 %), eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis* Dehn.) (2.1 - 2.6 %) and broadleaved and pine - broadleaved mixed stands (B&M) (1.3 - 3.3 %) from 1977 to 2012. Results indicated an increase in both pure pine and broadleaved-mixed stands, and the decrease in eucalyptus stands (figure 4C, 5C and table 1). The total area of pine stands increased by 4.7 % (365.7 ha), broadleaved-mixed stands by 148.3 % (284.2 ha) and the total area of eucalyptus

stands decreased by 21.4 % (82.2 ha) between 1977 and 2012 (table 1, figure 5C).

The change in stand characteristics between 1977 and 2012. Results indicated significant changes in stand characteristics throughout the study period. The number of trees (trees ha⁻¹) increased by 141.8 % (244) from 1977 to 2012 (figure 5D). The increase in the number of trees per hectare was more pronounced in young stands (1,513.1 % (194)) as compared to mature stands (58.2 % (66)). However, there was a decrease of 35.6 % (16) in over mature stands.

Similar trends were observed in stand volume and volume increment (figure 5D, F). The increase in stand volume was 1086.8 % (22.5 m³ ha⁻¹) in young, and 64.9 %

Table 1. Evolution of LULC, stand structure, composition, and human population in the study area from 1977 to 2012.

Evolución de LULC, estructura del rodal, composición y población humana en el área de estudio de 1977 a 2012.

LULC	1977		1990		2000		2012		Change (1977 - 2012)	
	ha	%	ha	%	ha	%	ha	%	ha	%
Forest	8,305.0	56.7	8,497.2	58.0	8,907.5	60.8	8,872.7	60.6	567.7	6.8
Agriculture	6,010.2	41.1	5,560.7	38.0	5,225.2	35.7	5,012.7	34.2	-997.5	-16.6
Settlement	176.5	1.2	256.1	1.7	298.4	2.0	431.6	2.9	255.1	144.5
Open Areas	148.3	1.0	325.9	2.2	208.9	1.4	322.9	2.2	174.7	117.8
Total	14,640	100	14,640	100	14,640	100	14,640	100	0	
Year	1977		1990		2000		2012		Change (1977 - 2012)	
Structure	ha	%	ha	%	ha	%	ha	%	ha	%
Closed stands	5,490.3	37.5	6,778.2	46.3	7,057.8	48.2	8,231.3	56.2	2,740.9	49.9
Open stands	2,814.7	19.2	1,719.0	11.7	1,849.7	12.6	641.5	4.4	-2,173.2	-77.2
Other	6,335.0	43.3	6,142.8	42.0	5,732.5	39.2	5,767.3	39.4	-567.7	-9.0
Total	14640	100	14640	100	14640	100	14640	100	0	
Year	1977		1990		2000		2012		Change (1977 - 2012)	
Composition	ha	%	ha	%	ha	%	ha	%	ha	%
Pine	7,728.5	52.8	7,959.8	54.4	7,821.5	53.4	8,094.2	55.3	365.7	4.7
Eucalyptus Stands	384.9	2.6	327.2	2.2	312.5	2.1	302.7	2.1	-82.2	-21.4
B&M Stands ¹	191.6	1.3	210.3	1.4	773.5	5.3	475.9	3.3	284.2	148.3
Non-Forest	6,335.0	43.3	6,142.8	42.0	5,732.5	39.2	5,767.3	39.4	-567.7	-9.0
Total	14,640	100	14,640	100	14,640	100	14,640	100	0	
Year	1977		1990		2000		2012		Change (1977 - 2012)	
Population	No.	PD ³	No.	PD	No.	PD	No.	PD	No.	PD
	5,194	35.5	5,600	38.3	6,330	43.2	6,966	47.6	1,772	34.1

¹B&M = Broadleaved and Pine - Broadleaved mixed stands. ²The percent values indicate area distribution in each year in the study area. ³PD = Population density (inhabitants km²).

(27.7 m³ ha⁻¹) in mature stands. However, there was an 18.5 % (7.3 m³ ha⁻¹) decrease in over mature stands. Total change in stand volume was 42.9 m³ ha⁻¹ (50.9 %) between 1977 and 2012 (figure 5E). The trend in stand volume increment was similar to that of stand volume. There was an

increase in both young 1,171.1 % (1.16 m³ ha⁻¹) and mature stands 81.5 % (1.09 m³ ha⁻¹). However, there was a 6.0 % (0.05 m³ ha⁻¹) decrease in over mature stands. Total change in stand volume increment was 2.21 m³ ha⁻¹ (100.5 %) between 1977 and 2012 (figure 5F).

Table 2. Transition matrix of land use/land cover change in the study area from 1977 to 2012.

Matriz de transición de cambio de uso de suelo/cobertura de suelo en el área de estudio de 1977 a 2012.

Land Cover	2012					Total (ha)	Change (%)
	CS (ha)	OS (ha)	A (ha)	S (ha)	O (ha)		
Closed Stands (DS)	5,142.7	107.7	147.8	15.5	76.6	5,490.3	49.9
Open Stands (OS)	2,080.7	467.2	223.9	15.2	27.7	2,814.7	-77.2
Agriculture (A)	933.1	65.7	4,544.2	335.3	131.8	6,010.2	-16.6
Settlement (S)	19.7	0.9	91.0	64.8	0.0	176.5	144.6
Open Areas (O)	55.0	0.0	5.8	0.7	86.7	148.3	117.8
Total (ha)	8,231.3	641.5	5,012.7	431.6	322.9	14,640.0	0.0

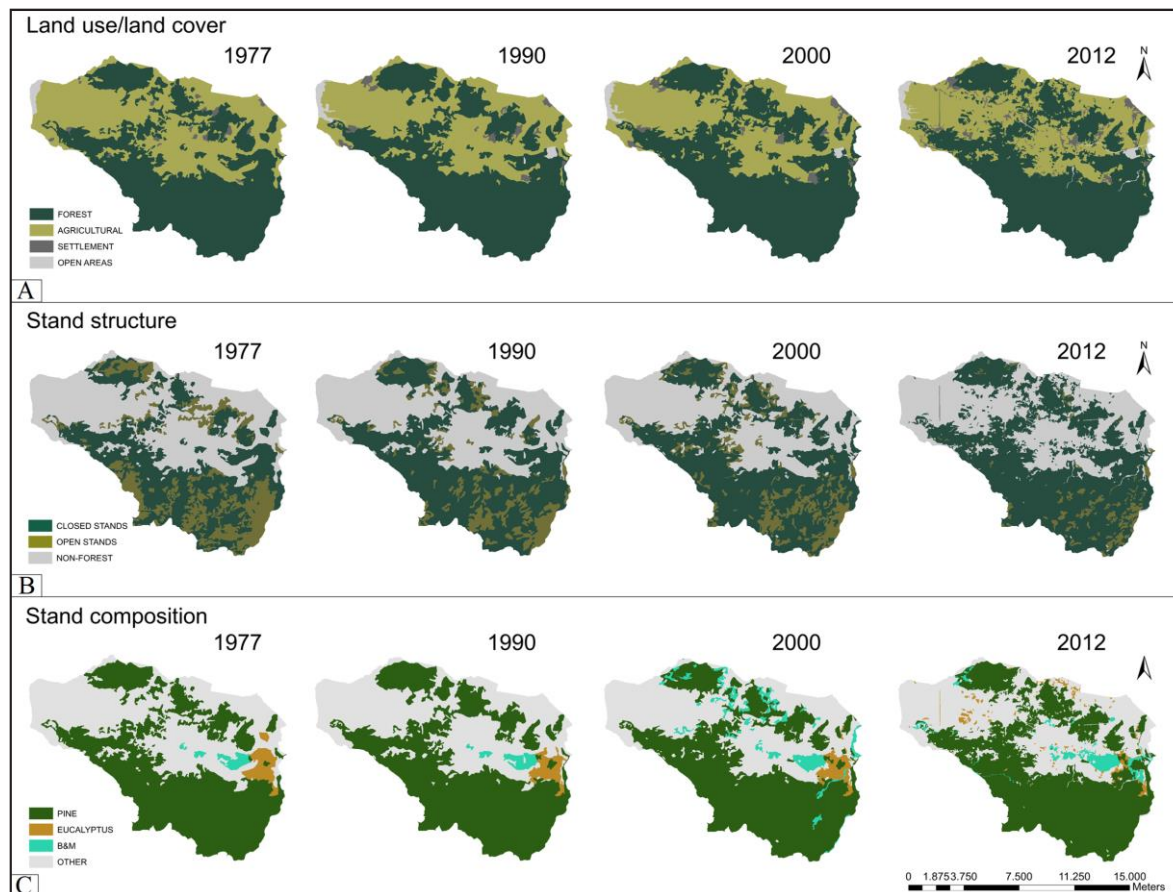


Figure 4. Spatial distribution and transition maps of land use/land cover (A), stand structure (B) and composition (C) of Karabortlen State Forest Enterprise in 1977, 1990, 2000 and 2012.

Mapas de distribución espacial y transición del uso de la tierra / cobertura del suelo (A), estructura (B) y composición (C) del rodal de Karabortlen State Forest Enterprise en 1977, 1990, 2000 y 2012.

The change in canopy fuel load between 1977 and 2012. Results indicated an increase in the canopy fuel load (CFL) in pine stands between 1977 and 2012 (figure 6). While the increase was more pronounced between 1977 and 2000, the rate of increase in the available and total CFL (kg m^{-2}) diminished after 2000 (figure 6A). The increase in the available CFL (needle and branches $< 0.6 \text{ cm}$) was 90.8 % (0.27 kg m^{-2}) and the total CFL was 86.4 % (0.51 kg m^{-2}) between 1977 and 2012 (figure 6A). There was also an increase in total available CFL and total CFL

(tons) (figure 6B). Increases were 177.3 % (24,738.5 tons) in available CFL and 171.0 % (46,438.5 tons) in total CFL from 1977 to 2012 (figure 6B).

DISCUSSION

Change in Land use/land cover: Results showed a gradual increase in forest, settlement, and open areas from 1977 to 2012 in the study area. However, there was a 16.6 % decrease in agricultural land area from 1977 to 2012 (table 1,

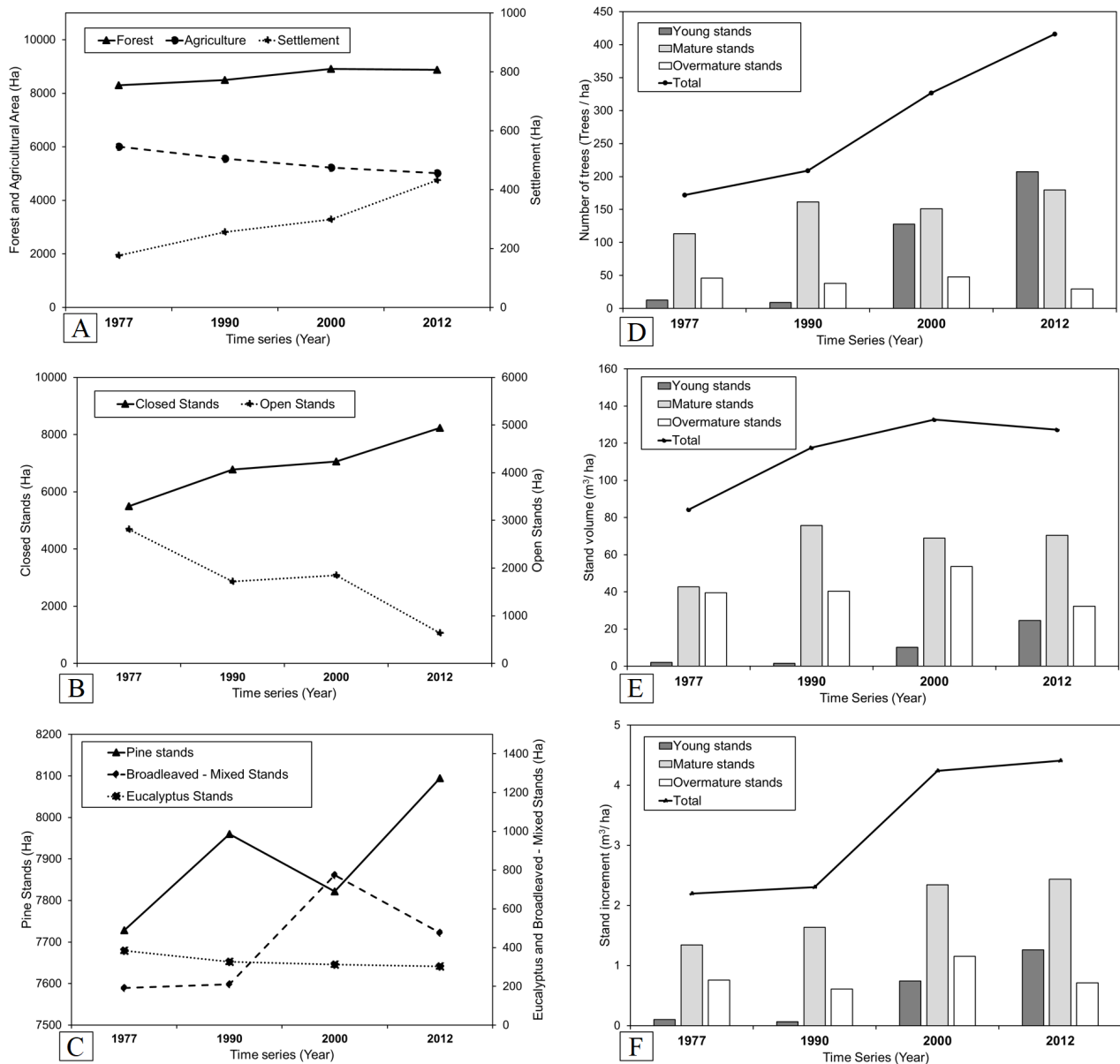


Figure 5. State of land use/land cover (A), stand structure (B), stand composition (C) and stand characteristics: number of trees (trees ha^{-1}) (D), stand volume ($\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$) (E), and stand volume increment ($\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$) (F) in pine stands (DBH > 8 cm) in 1977, 1990, 2000 and 2012.

Estado del uso del suelo / cobertura del suelo (A), estructura del rodal (B), composición del rodal (C) y características del rodal: número de árboles (árboles ha^{-1}) (D), volumen del rodal ($\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$) (E), e incremento de volumen del rodal ($\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$) (F) en rodales de pino (DAP > 8 cm) en 1977, 1990, 2000 y 2012.

figure 5A). Similar findings were reported in the case studies from the Mediterranean Region (Ales *et al.* 1992, Moreira *et al.* 2001). The decline was reported as 29 % from 1958 to 1995 and the possible reasons of decline were attributed to the land abandonment and depopulation of rural areas. The decline in the population and in the number of farmers in the case area was accompanied by a sharp reduction in the farming activities (Moreira *et al.* 2001).

The decline in agricultural lands is correlated with the increased job opportunities brought about by tourism in the study area. The site is near the Gulf of Gokova which is famous for its nature, beaches, and bays (figure 1). The population of the region has significantly increased since the 70s. The population increase was 34.1 % in the study area from 1977 to 2012 (table 1). Moreover, parallel to the population increase, settlement areas also increased in the zone by 144.5 % from 1977 to 2012 (table 1). The transition matrix showed that most of the increase in settlement areas was accounted for the decrease in agricultural land area (335.3 ha) between 1977 and 2012 (table 2). The increase in the spatial distribution of settlement areas was more pronounced after 2000 (figure 4A).

There was a 6.8 % increase in forest areas from 1977 to 2012 in the study area (table 1). Similar results were reported in the Mediterranean Region (Debussche *et al.* 1999), with up to 74 % increases in forest cover in some areas (Falcucci *et al.* 2007). The increase in forested lands could be attributed to the abandonment of agricultural areas and a reduction in farming activities in the study area (table 2). Inhabitants, particularly young generations, prefer working at touristic places rather than considering traditional sources of incomes such as grazing, wood harvesting and farming. This results in the abandonment of

agricultural lands which in turn reduces social pressure on forestlands.

The increase in the settlement areas accompanied by a population growth near forestlands and the expansion of forest areas may increase forest fire risk and hazard (Moreira *et al.* 2011). Fires are strongly related to human activity in the Mediterranean Region (Chergui *et al.* 2018). In Turkey, nearly 90 % of forest fires are caused by human activities. The trend in the land use/land cover change pattern may contribute to the increase in fire problem in this region.

Recent observations made in the study area clearly indicated a population influx into the region as a result of the COVID-19 pandemic in 2020. People prefer living in a separate house preferably far from city centers and apartment complexes. This may further exacerbate fire problem. The trend may help to understand possible increases in forest fire occurrences, particularly in wildland/urban interface, in the future.

Change in stand structure, composition, and characteristics.

The forest areas in the study area are dominated by pine (*Pinus brutia* Ten.) (52.8 - 55.3 %), eucalyptus stands (2.1 - 2.6 %) and broadleaved and pine - broadleaved mixed stands (B&M) (1.3 - 3.3 %) (table 1). All stand types, except eucalyptus stands, increased in area during the study period (table 1, figure 4C, 5C). The increase percentages in pine and B&M were 4.7 and 148.3, respectively. The forest management plans indicated that the increase in broadleaved stands resulted from plantations of broadleaved species for essential oil production. Some areas were also acquired through draining some swamp areas and planting for pulp production. New Turkish sweetgum (*Liquidambar orientalis* L.) stands were established to increa-

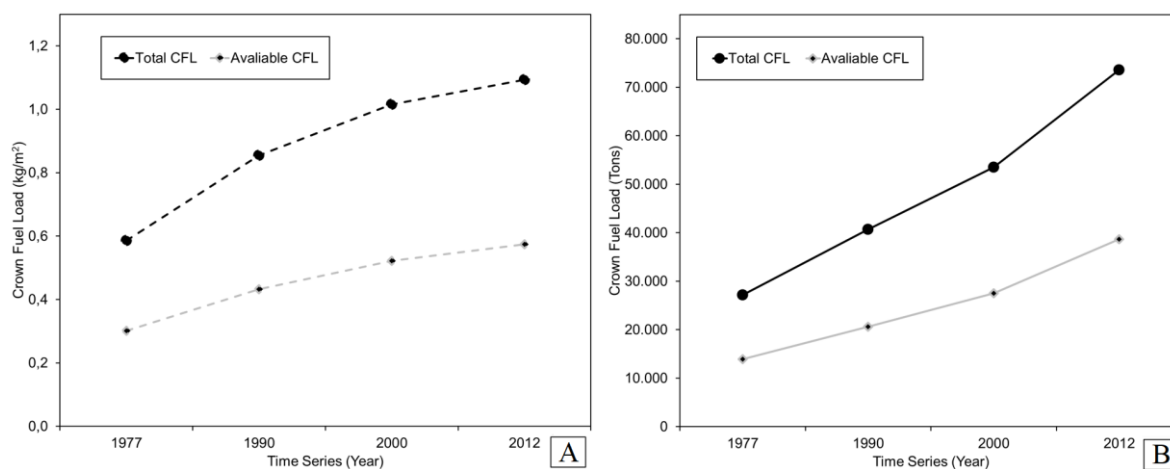


Figure 6. Changes in crown fuel load of pine stands over the study period (1977, 1990, 2000 and 2012). The dashed lines indicate available crown and total crown fuel load (kg m^{-2}) and solid lines indicate available and total crown fuel load of pine stands (tons).

Cambios en la carga de combustible de la copa de los rodales de pino durante el período de estudio (1977, 1990, 2000 y 2012). Las líneas discontinuas indican la corona disponible y la carga total de combustible de la corona (kg m^{-2}) y las líneas continuas indican la carga de combustible disponible y la corona total de los rodales de pino (toneladas).

se essential oil (crude levant storax) production in the study area particularly in the 70 - 80s. In addition, *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. was used in afforestation activities to drain some swamp areas and maximize wood pulp production. Results indicated that there was a gradual decrease in the land area of eucalyptus stands (figure 5C, table 1). This may be a positive contribution to the decrease of the flammability of the stands in the study area. As eucalyptus is an extremely flammable species (Dimitrakopoulos and Papaioannou 2001) containing excessive amounts of essential oils. Although *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. may be a preferred plantation species for timber, it should be kept in mind that it may significantly contribute to the flammability of the stands in the study area.

Results showed a 49.9 % increase in closed and 77.2 % decrease in open stands between 1977 and 2012 (Table 1, 2). The open stands were mainly composed of Turkish red pine (*Pinus brutia* Ten.) with Mediterranean shrub plant communities (Maquis) (*i.e.* *Quercus coccifera* L., *Pistacia terebinthus* L., *Arbutus andrachne* L., *Myrtus communis* L., *Cistus* spp.) in the understory. The possible reasons of decline in open stands could be ascribed to the land use/land cover (LULC) and socioeconomic changes in the study area:

- i) The availability of alternative energy sources (*i.e.* natural gas) decreased the demand for fuelwood traditionally acquired from the forested lands.
- ii) The decline in grazing might have contributed to the reduction in open (degraded) stands. Overgrazing was one of the main causes of forest degradation in the 70 - 80s in the Eastern Mediterranean Region (Arianoutsou 1985). However, subsequent reduction in grazing probably resulted in less pressure on pine forests in the study area.
- iii) Afforestation / reforestation efforts may have contributed to the reduction in open stands. Open stands have a priority for afforestation/rehabilitation activities in Turkish forestry practices (GDF 2008) in managed forests. Therefore, the open stands were subjected to rehabilitation programs using Turkish red pine with an overall increase in stand density and productivity in the region. The increase in stand productivity can be easily seen in quantitative stand characteristics from 1977 to 2012 (figure 5). The number of trees (figure 5D), stand volume (figure 5E) and stand volume raise (figure 5F) increased during the study periods. The increase in the number of trees was almost linear in mature (DBH = 20 - 35.9 cm) stands and exponential in young (DBH = 8 - 19.9 cm) stands. This increase was more pronounced between 2000 and 2012 (figure 5D). Similar trends were seen in stand volume (figure 5D) and stand volume increment (figure 5E) in pine stands between 1977 and 2012.

Large scale pine plantations promoted in the Mediterranean Region have resulted in large, continuous, and homogeneous areas composed of even-aged pine stands supporting

flammability (Pausas *et al.* 2004) and fire hazard (Moreira *et al.* 2011). Fire hazard is associated with fuel condition. Fully closed young pine stands with lower crown base constitute high fire hazard areas (Ruiz-González and Álvarez-González 2011) and are more vulnerable to crown fire risk than are mature pine stands (Mitsopoulos and Dimitrakopoulos 2007). The increase in young pine stands may, therefore, contribute to the increased crown fire risk in the region.

Change in canopy fuel load of pine stands. Assessment of canopy fuels is essential for fire management. Canopy fuels are the main fuel layer supporting crown fire spread. Crown fuel load is essential for predicting crown fire intensity, fuel consumption (Stocks *et al.* 2004) and fire effects on ecosystems as well as carbon emission to atmosphere (Amiro 2001). Results showed an increase in available crown fuel load (CFL) (90.8 %) and total CFL (86.4 %) from 1977 to 2012. The increase was more pronounced between 1977 and 2000; however, the rate of increase in available and total CFL (kg m^{-2}) decreased after 2000 (figure 6A). The rate of decrease in available and total CFL can be related to the changes in the quantitative stand characteristics in mature and over mature pine stands. As can be seen from figure 5E, the stand volume of mature pine stands was nearly stable, although there was a decrease in stand volume in over mature stands between 2000 and 2012. Similarly, the number of trees in mature pine stands increased slightly, whereas over mature pine stands decreased after 2000 (figure 5D). The crown fuel load of pines is linearly correlated with tree characteristics such as diameter at breast height, tree height, crown length and width (Gungoroglu *et al.* 2018, Kucuk *et al.* 2008). Moreover, an increase in stand basal area and tree density results in an increase in CFL because of the higher fraction of available crown fuel load (Cruz *et al.* 2003, Mitsopoulos and Dimitrakopoulos 2007).

Total available CFL (needle and branches < 0.6 cm) and total CFL increased in pine stands during 1977 - 2021 (figure 6B). This was related to the increase in both density and land area of pine stands in the study area during the study period (table 1). Results clearly indicated that pine stands would become more vulnerable to crown fires in the region, and increase in crown fuel loads would foster large, intense, and catastrophic forest fires (Ferry *et al.* 1995) in the future. Therefore, the hypothesis of this study "LULC has no major effect on the flammability of the stands in the Eastern Mediterranean Region" was rejected.

In this study, canopy fuel load (kg/m^2) was only used to evaluate crown fire potential in pine stands because of the limited dataset for the stands. Indeed, Canopy bulk density (kg m^{-3}) is also an important factor to assess and compare crown fuel flammability and fire spread (Cruz *et al.* 2003) among vegetation types, between and, even within, the same forest species. Therefore, new studies are needed to assess temporal changes in crown fire potential in Mediterranean forests. Moreover, forest fires generally

start in the surface fuels (*i.e.* fine dead fuels) and depending on the surface fuel load, properties and environmental conditions, grow in size and intensity and develop into crown fires (Mitsopoulos and Dimitrakopoulos 2007). Consequently, surface fuel load should be addressed along with canopy fuels for the assessment of crown fire hazard. In this study, due to the lack of the surface fuel load prediction models for Turkish red pine stands, the effects of LULC change on the surface fuel load of pine stands in the study period were not evaluated. Thus, further studies are necessary to assess crown fire hazard in pine stands with all combustible fuels from surface to crown in the Eastern Mediterranean Region.

CONCLUSIONS

Land use and land cover change has been one of the main drivers shaping landscape in the Eastern Mediterranean Region during the last decades. Abandonment of agricultural lands, decreased grazing, decreased fuelwood utilization, increased reforestation / afforestation efforts and increased human activities constitute the underlying reasons for the landscape dynamics in the region. Results revealed that landscape tends to become more homogeneous resulting in large and homogeneous areas covered with fully closed and productive pine stands. This will probably exacerbate forest fire problem and extreme fire behavior over large areas in the Eastern Mediterranean Region. An appreciation of the emerging trends in land use/land cover change in the dynamics of forest lands from a social, economic, and ecological perspective in the Eastern Mediterranean Region could help managers make sound decisions concerning the sustainable management of forest resources. Information derived from this study may be useful in developing genuine management strategies to reduce crown fire hazard in the future.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author would like to extend his appreciation and thanks to Mugla Regional Forest Directorate and Mr. Murat Bozturk for making available database for the present study.

REFERENCES

Ales RF, A Martin, F Ortega, EE Ales. 1992. Recent changes in landscape structure and function in a mediterranean region of SW Spain (1950–1984). *Landscape Ecology* 7(1): 3-18. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02573953>

Amiro BD. 2001. Paired-tower measurements of carbon and energy fluxes following disturbance in the boreal forest. *Global Change Biology* 7(3): 253-268. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2486.2001.00398.x>

Arianoutsou M. 1985. Desertification by overgrazing in Greece: the case of Lesvos island. *Journal of Arid Environments* 9: 237-242.

Chergui B, S Fahd, X Santos, JG Pausas. 2018. Socioeconomic Factors Drive Fire-Regime Variability in the Mediterranean Basin. *Ecosystems* 21(4): 619-628. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10021-017-0172-6>

Cruz MG, ME Alexander, RH Wakimoto. 2003. Assessing canopy fuel stratum characteristics in crown fire prone fuel types of western North America. *International Journal of Wildland Fire* 12(1): 39-50. DOI: <https://doi.org/10.1071/WF02024>

Debussche M, J Lepart, A Dervieux. 1999. Mediterranean landscape changes: evidence from old postcards. *Global Ecology and Biogeography* 8(1): 3-15. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.1999.00316.x>

Dimitrakopoulos AP, KK Papaioannou. 2001. Flammability Assessment of Mediterranean Forest Fuels. *Fire Technology* 37(2): 143-152. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1011641601076>

Faluccci A, L Maiorano, L Boitani. 2007. Changes in land-use/land-cover patterns in Italy and their implications for biodiversity conservation. *Landscape Ecology* 22(4): 617-631. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10980-006-9056-4>

Fernández-Alonso JM, I Alberdi, JG Álvarez-González, JA Vega, I Cañellas, AD Ruiz-González. 2013. Canopy fuel characteristics in relation to crown fire potential in pine stands: analysis, modelling and classification. *European Journal of Forest Research* 132(2): 363-377. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10342-012-0680-z>

Ferry GW, RG Clark, RE Montgomery, RW Mutch, WP Leenhouts, GT Zimmerman. 1995. Altered fire regimes within fire-adapted ecosystems. 'Our Living Resources: a report to the nation on the distribution, abundance, and health of U.S. plants animals, and ecosystems'. Washington, DC, USA. p. 222-224.

GDF (General Directorate of Forestry, TR). 2008. Forest Management Regulations in Turkey. Ankara, Turkey. 52 p.

Gregorio AD, LJM Jansen. 2000. Land cover classification System (LCCS): Classification concepts. Food and Agriculture Organization (FAO, IT). Rome, Italy.

Gungoroglu C, CO Guney, A Sari, A Serttas. 2018. Predicting crown fuel biomass of Turkish Red Pine (*Pinus brutia* Ten.) for the Mediterranean Regions of Turkey. *Sumarski List* 142(11-12): 601-610. DOI: <https://doi.org/10.31298/sl.142.11-12.4>

Kucuk O, E Bilgili. 2008. Crown fuel characteristics and fuel load estimates in young Calabrian pine (*Pinus brutia* Ten.) stands in Northwestern Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin* 17(12b): 2226-2231.

Kucuk O, E Bilgili, B Saglam. 2008. Estimating crown fuel loading for Calabrian pine and Anatolian black pine. *International Journal Wildland Fire* 17(1): 147-154. DOI: <https://doi.org/10.1071/WF06092>

Mitsopoulos ID, AP Dimitrakopoulos. 2007. Canopy fuel characteristics and potential crown fire behavior in Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) forests. *Annals of Forest Science* 64(3): 287-299. DOI: <https://doi.org/10.1051/forest:2007006>

Moreira F, FC Rego, PG Ferreira. 2001. Temporal (1958–1995) pattern of change in a cultural landscape of northwestern Portugal: implications for fire occurrence. *Landscape Ecology* 16(6): 557-567. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1013130528470>

Moreira F, O Viedma, M Arianoutsou, T Curt, N Koutsias, E Rigolof, A Barbat, P Corona, P Vaz, G Xanthopoulos, F Moui-

- Ilot, E Bilgili. 2011. Landscape - wildfire interactions in southern Europe: Implications for landscape management. *Journal of Environmental Management* 92(10): 2389-2402 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.06.028>
- Moreno JM, A Vázquez, R Vélez. 1998. Recent history of forest fires in Spain. In Moreno JM ed. Large forest fires. Leiden, Netherlands. Backhuys Publishers. p. 159-185.
- Pausas JG, C Bladé, A Valdecantos, JP Seva, D Fuentes, JA Alloza, A Vilagrosa, S Bautista, J Cortina, R Vallejo. 2004. Pines and oaks in the restoration of Mediterranean landscapes of Spain: New perspectives for an old practice - a review. *Plant Ecology* 171(1): 209-220. DOI: <https://doi.org/10.1023/B:VEGE.0000029381.63336.20>
- Pérez B, A Cruz, F Fernández-González, JM Moreno. 2003. Effects of the recent land-use history on the postfire vegetation of uplands in Central Spain. *Forest Ecology and Management* 182(1): 273-283. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(03\)00069-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(03)00069-0)
- Ruiz-González AD, JG Álvarez-González. 2011. Canopy bulk density and canopy base height equations for assessing crown fire hazard in *Pinus radiata* plantations. *Canadian Journal of Forest Research* 41(4): 839-850. DOI: <https://doi.org/10.1139/x10-237>
- Scott JH, ED Reinhardt. 2002. Estimating canopy fuels in conifer forests. *Fire Management Today* 62: 45-50.
- Stocks BJ, ME Alexander, BM Wotton, CN Steffner, MD Flannigan, SW Taylor, N Lavoie, JA Mason, GR Hartley, ME Maffey, GN Dalrymple, TW Blake, MG Cruz, RA Lanoville. 2004. Crown fire behaviour in a northern jack pine and black spruce forest. *Canadian Journal of Forest Research* 34(8): 1548-1560. DOI: <https://doi.org/10.1139/x04-054>
- Viedma O, JM Moreno, I Rieiro. 2006. Interactions between land use/land cover change, forest fires and landscape structure in Sierra de Gredos (Central Spain). *Environmental Conservation* 33(3): 212-222. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0376892906003122>

Recibido: 28.04.21
Aceptado: 16.06.22

Emission of epicormic shoots and *in vitro* establishment of *Cordia trichotoma* selected adult trees

Emisión de brotes epicórmicos y establecimiento *in vitro* de *Cordia trichotoma* árboles adultos seleccionados

Douglas Santos Gonçalves ^a, Giovanna Carla Teixeira ^a, Denys Matheus Santana Costa Souza ^a,
Júlio César Tannure Faria ^a, Letícia Vaz Molinari ^b, Gilvano Ebling Brondani ^{c*}

^a Federal University of Lavras, Graduate Program in Forestry Engineering, Lavras, Minas Gerais, Brazil.

^b Federal University of Lavras, Graduate Program in Agronomy and Phytopathology, Lavras, Minas Gerais, Brazil.

^c Federal University of Lavras, Department of Forestry Sciences, Lavras, Minas Gerais, Brazil, +55 35 3829 4678, gilvano.brondani@ufla.br

SUMMARY

Cordia trichotoma, popularly known in Brazil as ‘louro-pardo’, has numerous environmental and timber-related applications. This species is naturally propagated by seeds; however, this form of propagation results in restricted seedling production due to high genetic variability associated with a low degree of forest improvement. Thus, the cloning of selected adult trees is an alternative for producing high-quality plants. The aims of this work were to evaluate the emission of epicormic shoots from pruned branches and to define a protocol for the *in vitro* establishment of *C. trichotoma* selected adult trees. Propagules used in these experiments were derived from the selection of four *C. trichotoma* adult trees. The branches were placed in a greenhouse to induce epicormic shoots. Number of shoots according to the climatic season (autumn and spring) and shoot collection time were evaluated. Three sodium hypochlorite concentrations were evaluated for five minutes ($C_1 = 0.58\%$ active chlorine, $C_2 = 1.12\%$ active chlorine, and $C_3 = 2.12\%$ active chlorine) for *in vitro* establishment. Results indicated that the epicormic shoot technique could be considered viable for shoot emission of *C. trichotoma*, regardless of the climatic season (autumn or spring). Sodium hypochlorite solution applied for 5 minutes (1.12 % of active chlorine) was effective for the *in vitro* establishment of nodal segments from epicormic shoots, resulting in 61.3 % of established explants. These results are promising for the cloning of adult trees during the mature stage of development in the field without the need to cut the selected tree.

Keywords: louro-pardo, *in vitro* cultivation, plant propagation, plant cloning.

RESUMEN

Cordia trichotoma, conocida popularmente en Brasil como “louro-pardo”, tiene numerosas aplicaciones ambientales y madereras. Esta especie se propaga naturalmente por semillas; sin embargo, esta forma de propagación resulta en una producción restringida de plántulas por la alta variabilidad genética asociada con un bajo grado de mejoramiento forestal. La clonación de árboles adultos seleccionados es una alternativa para producir plantas de alta calidad. El objetivo de este trabajo fue evaluar la emisión de brotes epicórmicos de ramas podadas y definir un protocolo para el establecimiento *in vitro* de árboles adultos seleccionados. Los propágulos utilizados se derivaron de la selección de cuatro árboles adultos y las ramas se colocaron en un invernadero para inducir brotes epicórmicos. Se evaluó el número de brotes según la época climática (otoño y primavera), el tiempo de recolección de los brotes, y tres concentraciones de hipoclorito de sodio durante cinco minutos ($C_1 = 0,58\%$ de cloro activo, $C_2 = 1,12\%$ de cloro activo y $C_3 = 2,12\%$ de cloro activo) para el establecimiento *in vitro*. Los resultados indicaron que la técnica de brotes epicórmicos podría considerarse viable para la emisión de brotes independientemente de la estación climática. La solución de hipoclorito de sodio (1,12 % de cloro activo) fue eficaz para el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de brotes epicórmicos, resultando en un 61,3 % de explantes establecidos. Los resultados son prometedores para la clonación de laureles durante la etapa madura de desarrollo en el campo sin necesidad de cortar el árbol seleccionado.

Palabras clave: louro-pardo, cultivo *in vitro*, propagación de plantas, clonación de plantas.

INTRODUCTION

Having little knowledge on the potential use of native tree species and associated technologies, whether for pro-

ductive or environmental purposes, has been one of the factors preventing the development of propagation techniques, especially regarding the cloning of superior individuals (*i.e.* selected plants in the field). This includes not only the

propagation process but also the appropriate selection of genetic material with sufficient quality and genetic variability levels to fulfil silvicultural needs (Stuepp *et al.* 2018).

Among the native species with great potential for afforestation is *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud., in the family Boraginaceae, which is popularly known in Brazil as ‘louro-pardo’ or ‘freijó’. This species occurs naturally from Ceará to Rio Grande do Sul in the semi-deciduous Atlantic rainforest and the Cerrado, and it is considered important for environmental restoration and noble timber production (Berghetti *et al.* 2015).

Cordia trichotoma reproduces naturally by seed; however, this form of propagation results in specific restrictions in seedling production due to the high unevenness at the seed germination stage and the fact that sexual propagation confers high genetic variability to new generations, hampering commercial plantations, in which homogeneity is highly important (Tambarussi *et al.* 2017, Bisognin *et al.* 2020).

The rescue of selected adult trees in the field may be an alternative for vegetative propagation, in which the selection of trees is based on phenotypic traits of interest towards increasing forest productivity and improving the quality of timber as raw material (Tambarussi *et al.* 2017, Bisognin *et al.* 2020, Abiri *et al.* 2020). Among the various existing techniques, the vegetative rescue method based on epicormic shoots is an alternative for the cloning of adult trees and is considered an excellent tool for vegetative propagation without the need to cut the selected tree (Baccarin *et al.* 2015, Trueman *et al.* 2018, Avelar *et al.* 2020).

Studies that seek to improve large-scale vegetative propagation techniques of native species for use in homogeneous plantations, degraded area recovery, genetic improvement and germplasm conservation have become fundamental from a strategic point of view, considering the increased exploitation of natural resources (Avelar *et al.* 2020).

Micropropagation technique is considered an *in vitro* vegetative propagation (*e.g.* microcutting technique), and compared to other techniques, such as cutting and mini-cutting, it has advantages in terms of tissue rejuvenation and propagule rooting (Hartmann *et al.* 2011). Micropropagation consists of different stages, and *in vitro* establishment is the most critical for most woody plants (Souza *et al.* 2020, Molinari *et al.* 2020) considering the high losses of materials due to microorganism contamination (*e.g.* fungal and/or bacterial contamination) or tissue oxidation. These losses justify the need for studies seeking to minimize these obstacles during native species propagation.

Considering the above context, the aims of the work were to evaluate the epicormic shoot emission, and to define a protocol for the *in vitro* establishment of nodal segments from *C. trichotoma* selected adult trees.

METHODS

Study site and experimental material. The experiments were conducted at the Forest Nursery and the Laboratory

of *in vitro* Culture of Forest Species, both located in the Department of Forestry Sciences of the Federal University of Lavras (Universidade Federal de Lavras – UFLA) in the municipality of Lavras, Minas Gerais, Brazil (21° 14’ 43” S and 44° 59’ 59” W).

The experimental material used to conduct the tests was derived from the selection of four *C. trichotoma* adult trees, which were selected according to their trunk shape (straight), diameter at breast height (21.4 to 23.9 cm) and health (absence of diseases and pest attacks), that originated from a commercial stand belonging to the company “Symbiosis Investimentos e Participações S.A.” in Tranco, Distrito de Porto Seguro, Bahia, Brazil. The trees were identified as tree A, B, C and D. Branch collection was realized considering two seasons, autumn (06/08/2017) and spring (10/10/2017).

Pruned branches were transported to the city of Lavras, Minas Gerais, and standardized to a length of 45 cm without the presence of shoots (*i.e.* axillary or apical shoot) and leaves. The branches were placed in a greenhouse with controlled temperature ($T < 35\text{ }^{\circ}\text{C}$) and relative humidity ($\text{RH} > 80\%$), maintained by an intermittent mist system with high-pressure, low flow rate nozzles and automatically controlled by a humidistat and thermostat. The branches were placed vertically in polyethylene pots (5 L) containing washed medium sand according to Baccarin *et al.* (2015) (figure 1 A – D).

The branches remained in the greenhouse for 50 days during the experimental period. The mean temperature was 16.4 °C in the autumn, and 21.9 °C in the spring. Mean cumulative rainfall levels were 29 mm and 227.4 mm in the autumn and spring, respectively. Climatological data were obtained from the website of the National Institute of Meteorology (Instituto Nacional de Meteorologia – INMET) according to the meteorological station OMM: 83687 located in Lavras, Minas Gerais, Brazil.

Epicormic shoot emission: genotype vs climatic season. The experiment was set up in a completely randomized factorial design (2×4), with two climatic seasons (autumn and spring) and four selected trees (trees A, B, C and D). The experiment consisted of eight treatments with 12 replicates, in which each pot was considered an experimental unit. At 20 days after the start of the experiment, the percentage of emitted epicormic shoots and the number of shoots were evaluated.

Epicormic shoot emission: climatic season vs shoot collection time. The experiment was organized in a completely randomized factorial design (2×4), which addressed the climatic season (*i.e.* autumn and spring) and the shoot collection time (20, 30, 40 and 50 days). The experiment consisted of eight treatments with 36 replicates, in which each pot was considered one experimental unit. The percentage of epicormic shoot emission and the number of shoots were evaluated at 20, 30, 40 and 50 days after the start of the experiment.



Figure 1. Detail for *Cordia trichotoma* branches under greenhouse conditions. A – transport of branches in a plastic bag, B – standardization of pruned branches to 45 cm, C – filling of pots with sand, and D – placement of pruned branches vertically in pots with medium sand, 48 hours after the branch collection. Bar = 10 cm.

Detalle de las ramas de *Cordia trichotoma* en condiciones de invernadero. A – transporte de ramas en bolsa plástica, B – estandarización de ramas podadas a 45 cm, C – llenado de macetas con arena, y D – colocación de ramas podadas verticalmente en macetas con arena media, 48 horas después de la recolección de ramas. Bar = 10 cm.

In vitro establishment. The epicormic shoots of pruned branches from four *C. trichotoma* individuals were used to obtain explants. Prior to collection (72, 48 and 24 hours), a dimethyl 4,4'-(*o*-phenylene) bis(3-thioallophanate) fungicide was applied at a concentration of 0.5 g L⁻¹. Shoots measuring 3 to 5 cm in length were collected after 30 days in the greenhouse, stored in plastic bags moistened with autoclaved water and transported to the laboratory.

Prior to *in vitro* inoculation, the explants (*i.e.* nodal segments) were standardized to contain two axillary buds and no leaves and washed in running water for 10 minutes. Next, the aseptic procedure was started, during which the explants were washed in a 70 % (v / v) hydroalcoholic solution in a horizontal laminar flow chamber. Subsequently, disinfection was initiated by immersion in a sodium hypochlorite (NaClO) solution for five minutes at three different concentrations; namely C₁ = 0.58 % active chlorine, C₂ = 1.12 % active chlorine and C₃ = 2.12 % active chlorine, followed by triple washing with deionized and autoclaved water.

The explants were inoculated vertically, under aseptic conditions, in 2 × 10 cm test tubes containing 10 mL of MS culture medium (Murashige and Skoog 1962). The tubes were sealed with polyvinyl chloride (PVC) - based plastic film and placed in a growth room at 24 °C (± 1 °C) for a 16 - hour photoperiod and 40 μmol m⁻² s⁻¹ irradiance. During the entire process, the equipment was disinfected with 70 % hydroalcoholic solution. The culture medium was supplemented with 30 g L⁻¹ of sucrose and 6 g L⁻¹ of

agar and prepared in deionized water, and the pH value of solution was adjusted to 5.8 (± 0.05) with NaOH (0.1 M) and HCl (0.1 M). The culture medium was autoclaved at 127 °C and 1.5 kgf cm⁻² pressure for 20 minutes.

Twenty-eight days after the *in vitro* inoculation of the explants, the percentage of fungal and bacterial contamination, tissue oxidation and establishment were evaluated. The experiment was conducted in a completely randomized design, with three treatments (*i.e.* active chlorine concentration: C₁, C₂ and C₃), 50 replicates and one explant per replicate.

Data analyses. Data collected during the experiments were analyzed for the homoscedasticity and normality of the residual distribution using the Hartley ($P > 0.05$) and Shapiro-Wilk ($P > 0.05$) tests, respectively. When non-parametric, the data were Box-Cox transformed and subjected to an analysis of variance (ANOVA, $P < 0.05$). The quantitative data were subjected to a polynomial regression analysis ($P < 0.05$), and the qualitative data were compared using Tukey's test ($P < 0.05$). The analyses were performed in R (R Core Team, 2018) using the ExpDes package, version 1.1.2 (Ferreira *et al.* 2013).

RESULTS

Epicormic shoot emission: genotype vs climatic season. There was effect of the selected plant and climatic seasons

on the shoot emission and the number of shoots on the pruned branches. The highest mean shoot emission values in the autumn were observed in tree A (100.0 %) and D (91.7 %). In the spring, the highest means were observed for tree C (66.7 %) and D (83.3 %); in contrast, tree B did not produce shoots during the evaluated seasons (figure 2A). This result demonstrates that the shoot emission is also genotype-dependent and related to the season.

Considering tree A, the highest mean shoot emission occurred in the autumn (100.0 %), and for B, there was no shoot emission (0.0 %). Tree C had the highest mean during the spring (66.7 %), and D showed no effect from the interaction at the different evaluated seasons. The observed means were 91.7 % in autumn, and 83.3 % in spring. The highest mean number of shoots emitted in the autumn were found in tree A (11.3 shoots per branch) and D (8.3 shoots per branch). In the spring, the highest mean was observed in tree D (12.8 shoots per branch) (figure 2B). For the interaction between seasons and selected adult plants, in tree A, the highest mean number of emitted epicormic shoots was observed in the autumn (11.3 shoots per branch). For trees C and D, the highest means were

observed in the spring, with mean values of 6.5 and 12.8 shoots per branch, respectively (figure 2B). The epicormic shoots emitted in autumn and spring in trees A, C and D were considered viable at 20 days after the start of the experiment (figures 3A - F).

Epicormic shoot emission: climatic season vs shoot collection time. The percentage of shoot emission (53.3 %) and the number of shoots (9.6 shoots) throughout the evaluation time were highest at 20 days of evaluation (figures 4A - B).

The best time interval for collecting the shoots was 20 days after setting up the experiment in a greenhouse, considering that the highest shoot emission and number of shoots were recorded during this period. There was a reduction in the percent shoot emission and number of shoots over time and no viable shoots, and at the 50-day evaluation, there was no emission of viable shoots for the *in vitro* introduction.

In vitro establishment. Active chlorine treatments significantly influenced the *in vitro* establishment of *Cordia trichotoma* nodal segments at 28 days after inoculation

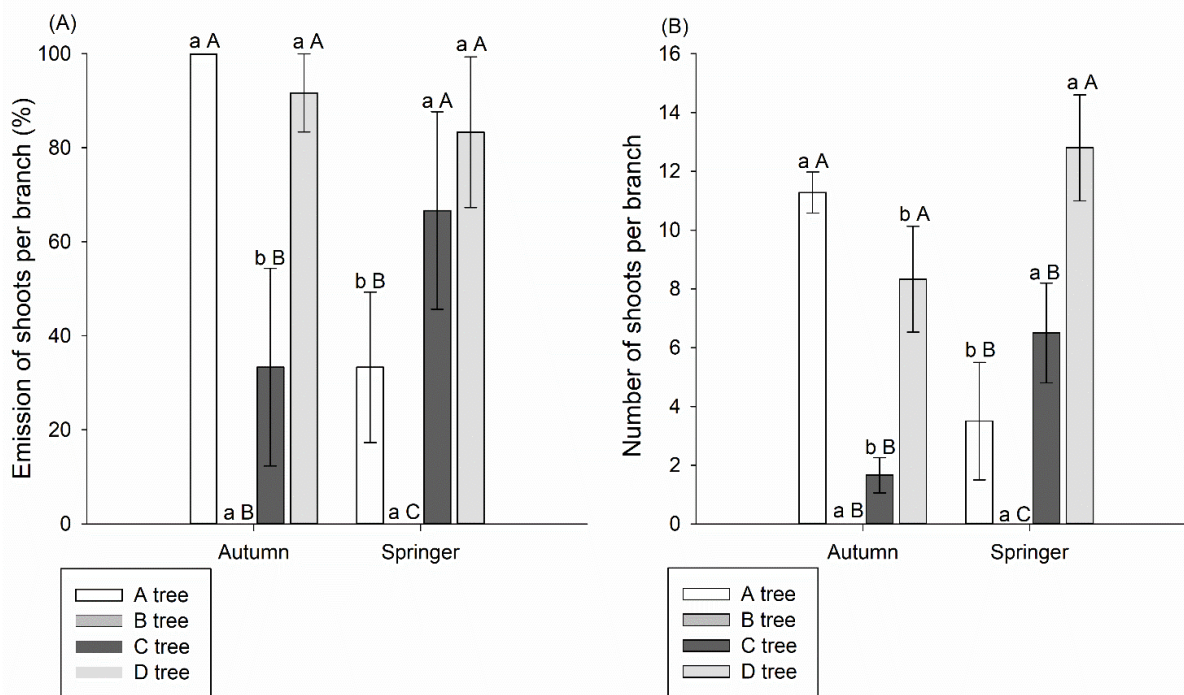


Figure 2. Percentage of epicormic shoot emission and number of shoots from pruned branches of *Cordia trichotoma* at 20 days. A – Percentage of shoot emission observed as a function of the selected plant and climatic season, and B – Number of shoots observed as a function of the climatic season and selected plant. Means followed by the same uppercase letter show no effect of the interaction of seasons and means followed by the same lowercase letters show no effect of the interaction of selected plant. The data are presented as the means \pm standard error.

Porcentaje de emisión de brotes epicórmicos y número de brotes de ramas podadas de *Cordia trichotoma* a los 20 días. A - Porcentaje de emisión de brotes observados en función de la planta seleccionada y estación climática, y B - Número de brotes observados en función de la estación climática y planta seleccionada. Las medias seguidas de la misma letra mayúscula no muestran ningún efecto de la interacción de las estaciones y las medias seguidas de las mismas letras minúsculas no muestran ningún efecto de la interacción de la planta seleccionada. Los datos se presentan como la media \pm error estándar.

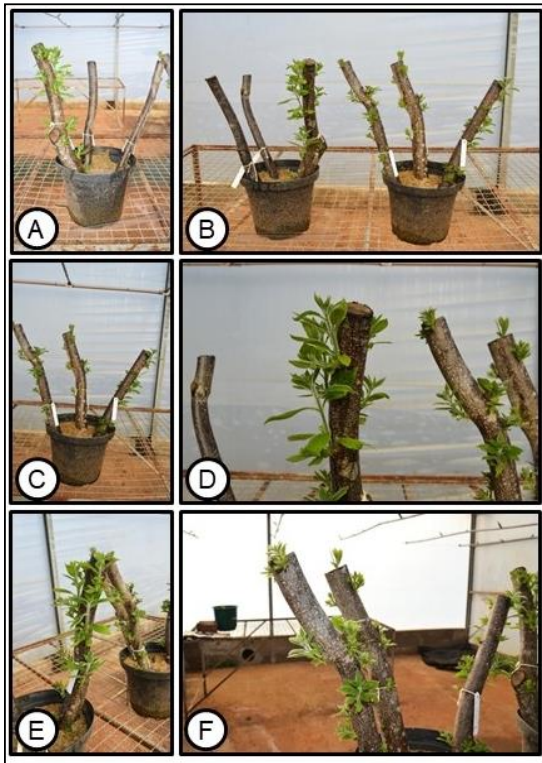


Figure 3. Detail on the shoot emission in pruned *Cordia trichotoma* branches at 20 days after placement in a greenhouse. A - C – branch of tree A, C and D in the fall, and D - F – branch of trees A, C and D in the spring. Bar = 10 cm.

Detalle de la emisión de brotes en ramas de *Cordia trichotoma* podadas a los 20 días de su colocación en invernadero. A - C - rama de un árbol, C y D en el otoño, y D - F - rama de los árboles A, C y D en la primavera. Bar = 10 cm.

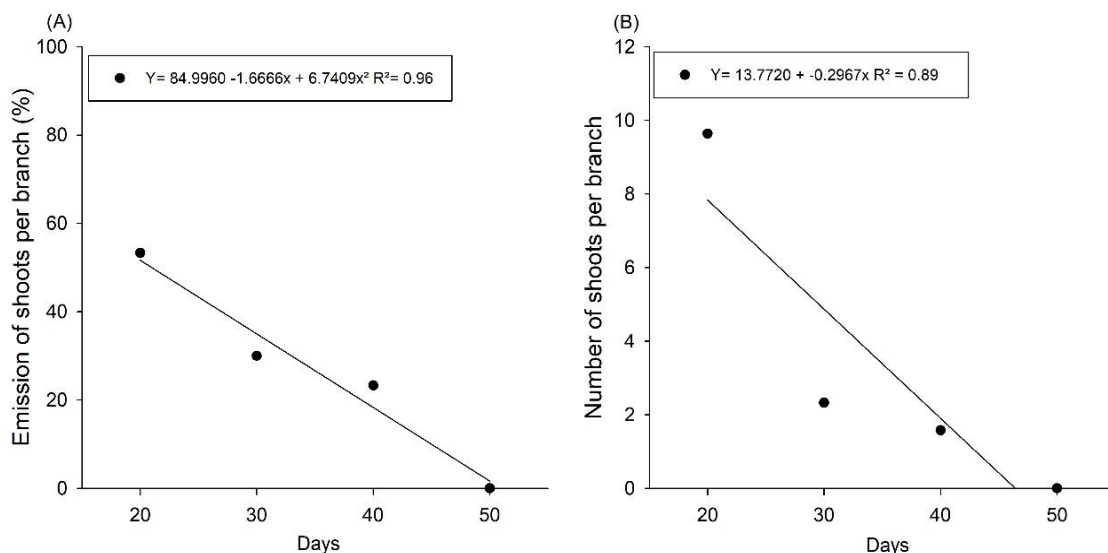


Figure 4. Percentage of shoot emission and number of shoots in *Cordia trichotoma* branches over time. A – Percentage of shoot emission over time, and B – Number of shoots over time.

Porcentaje de emisión de brotes y número de brotes en ramas de *Cordia trichotoma* a lo largo del tiempo. A – Porcentaje de emisión de brotes a lo largo del tiempo y B – Número de brotes a lo largo del tiempo.

($C_1 = 0.58\%$ active chlorine, $C_2 = 1.12\%$ and $C_3 = 2.12\%$) (figure 5A - D).

The highest fungal contamination was 55.1 %, as observed in treatment C_1 with 0.58 % active chlorine. In contrast, the lowest mean values were observed in treatments C_2 and C_3 at active chlorine concentrations of 1.12 % and 2.12 %, respectively, which did not differ significantly (figure 5A). Regarding bacterial contamination, as shown in figure 5B, the lowest means were found in treatments of 1.12 % to 2.12 % active chlorine (C_2 and C_3); the lowest mean for this variable was observed in treatment C_1 (0.58 % active chlorine). The pattern of tissue oxidation for the explants (figure 5C), a direct relationship between active chlorine concentration and percent oxidation is observed. The highest value for this variable was 96.8 %, with a concentration of 2.12 % active chlorine. The highest percentage of *in vitro* establishment (61.3 %) occurred in the treatment in which 1.12 % active chlorine was used (figure 5D), resulting in the emission of viable shoots to be used for the other micropropagation stages (figures 6A - 6D).

DISCUSSION

Epicormic shoot emission. The results of the present study suggest that epicormic shoots from the pruned branch propagation technique was efficient regarding the shoot emission and number of shoots for *C. trichotoma*. By definition, epicormic shoots are branches that sprout from dormant buds, which elongated over a previous growth period (Andrew *et al.* 2012). These shoots can be used for the vegetative propagation of forest species, to rescue

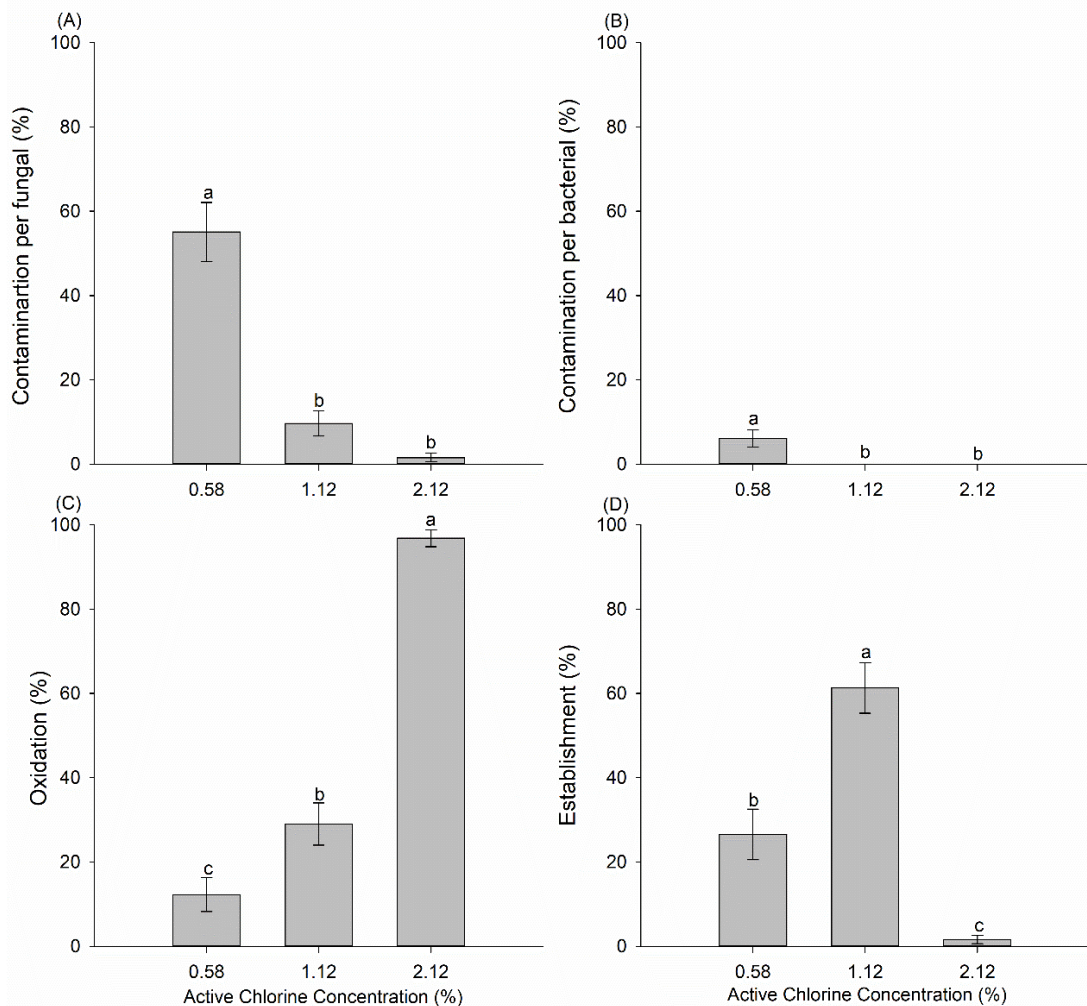


Figure 5. Variables evaluated during the *in vitro* establishment of *Cordia trichotoma* at 28 days. A - Percentage of fungal contamination, B - Percentage of bacterial contamination, C - Percentage of tissue oxidation and D - Percentage of *in vitro* establishment. Means followed by the same letter do not differ significantly according to Tukey's test. Data are presented as the means \pm standard error.

Variables evaluadas durante el establecimiento *in vitro* de *Cordia trichotoma* a los 28 días. A - Porcentaje de contaminación por hongos; B - Porcentaje de contaminación bacteriana; C - Porcentaje de oxidación tisular; y D - Porcentaje de establecimiento *in vitro*. Las medias seguidas de la misma letra no difieren significativamente según la prueba de Tukey. Los datos se presentan como la media \pm error estándar.

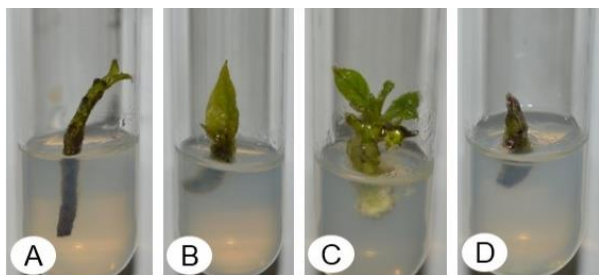


Figure 6. Details of matrix A of *Cordia trichotoma* explants subjected to 1.12% active chlorine, considered *in vitro* established. A - D - nodal segments established at 28 days. Bar = 1.0 cm.

Detalles de la matriz A de explantes de *Cordia trichotoma* sometidos a cloro activo al 1,12 %, considerados establecidos *in vitro*. A - D: segmentos ganglionares establecidos a los 28 días. Bar = 1,0 cm.

the adult individuals selected in the field. This mechanism was important for the study species *C. trichotoma*, which is considered a species with high commercial potential, given that during the seedling production stage, the use of seeds results in certain restrictions, primarily because sexual propagation confers high genetic variability to new generations (Kielse *et al.* 2015).

Several similar studies have indicated the efficiency of this vegetative rescue method using epicormic shoots, such as in *Ilex paraguariensis* (Wendling *et al.* 2013), *Eucalyptus benthamii* (Baccarin *et al.* 2015), *E. cloeziana* (Oliveira *et al.* 2015) and *E. pilularis* (Avelar *et al.* 2020). According to Kuppusamy *et al.* (2019) and Esposito-Polesi *et al.* (2020), the use of this technique is especially important for germplasm conservation and

the selection of superior individuals, in which a vegetative rescue is typically performed at the adult stage and propagation may be limited due to the ontogenetic age. Kratz *et al.* (2016) reported that in situations in which vegetative rescues are performed in plants with high genetic value, the application of this method is indicated, considering the low interference of branch collection from the selected plant and ensuring the highest possible survival of the selected individuals.

However, the physiological principle for bud induction in epicormic shoots is related to changes in the balance of the plant growth regulation (auxin / cytokinin), favoring shoot emergence (Trueman *et al.* 2018, Abiri *et al.* 2020). The vegetative propagation of adult trees may be facilitated by epicormic shoot induction to obtain shoots with a higher degree of juvenility, usually with good propagation potential (Oliveira *et al.* 2015, Souza *et al.* 2020). These changes may vary with the genotype, resulting in considerable shoot emergence by favoring rejuvenation opposite to the base of the shoot from the shoot collected from the tree branches. In the present study on *C. trichotoma*, the selected tree directly influenced the emission of epicormic shoots, and it is important to account for the genotype factor of the selected plants, which may influence the success of this technique.

The use of branches to obtain epicormic shoots has also been employed as a source of explants for the micropropagation of *E. benthamii* (Baccarin *et al.* 2015), *Ilex paraguariensis* (Wendling *et al.* 2013), *E. cloeziana* (Oliveira *et al.* 2015) and *E. pilularis* (Avelar *et al.* 2020). According to Abiri *et al.* (2020), there are many gaps in our knowledge of epicormic shoots; therefore, developing a larger understanding of the physiological, ontogenetic and environmental factors that support the development of these shoots is still necessary. However, for *C. trichotoma*, regardless of the climatic season (autumn or spring) in which the pruned branches were collected, it is possible to obtain epicormic shoots, which can be used in propagation techniques such as grafting, cutting and micropropagation. In addition, it is possible to use this method to rescue other native species without the need to fell the selected tree, although the genotype factor must be considered because it can also influence the technique success.

In vitro establishment. The use of branches to obtain epicormic shoots has been employed as a source of explants for the micropropagation of several forest species, such as, *E. benthamii* (Baccarin *et al.* 2015), *E. cloeziana* (Oliveira *et al.* 2015) and *E. pilularis* (Avelar *et al.* 2020). For *C. trichotoma*, this technique has also been shown to be efficient for the preparation and establishment of explants and is recommended as an alternative for the *in vitro* production of *C. trichotoma* propagules.

As previously reported, *C. trichotoma* showed appropriate behavior in terms of *in vitro* establishment; howe-

ver, it is necessary to develop adequate measures for the use of chemicals during disinfection, defining the factors, time and ideal concentration for better success in obtaining established explants (Salles *et al.* 2017, Zorz *et al.* 2020), especially when the sources of explants originate from adult selected plants, selected in the field due to the high percentage of contamination under these conditions (Postemsky and Curvetto 2016).

The use of active chlorine in micropropagation is an inexpensive and effective method for the disinfection of explants and its use is widespread in several species, such as *E. cloeziana* (Oliveira *et al.* 2015), *Cochlospermum regium* (Gavilan *et al.* 2018) and *E. grandis* × *E. urophylla* (Miranda *et al.* 2020). In the present study, the lowest percentages of fungal and bacterial contamination occurred with the use of active chlorine at concentrations of 1.12 % and 2.12 %, showing the effectiveness of using this disinfection agent for the successful initial *in vitro* establishment of *C. trichotoma* from epicormic shoots.

For micropropagation to be successful, it is necessary for only a few explants to emit shoots free of contamination, because the start of *in vitro* propagation is the primary limiting stage (Trueman *et al.* 2018). In addition, the metabolic pathway of microorganisms may be subject to regulation by the genotype through differential genetic expression, in carotenoid biosynthesis and hyphal aggregation (Abiri *et al.* 2020).

Phenolic oxidation has been a problem that is associated with the micropropagation of woody species. In the present study on *C. trichotoma*, the oxidation percentage increased directly in relation to the use of sodium hypochlorite; the higher the concentration of the disinfecting agent, the higher the percentage of oxidation, thus indicating that the tissues of this species exhibited high sensitivity to chemical treatment. Similar results have been reported in studies on *E. cloeziana* (Oliveira *et al.* 2015), *E. benthamii* (Baccarin *et al.* 2015), *Corymbia citriodora* × *C. torelliana* and *C. torelliana* × *C. citriodora* (Souza *et al.* 2018), and *E. grandis* × *E. urophylla* (Molinari *et al.* 2020).

The highest *in vitro* establishment percentage (61.3 %) at 28 days was observed when 1.12 % active chlorine was used, which was considered an adequate value denoting the importance of high rates of shoot induction. Different results are found in literature, in which the response varied according to plant material (genotype) and culture conditions. In *E. cloeziana*, Oliveira *et al.* (2015) obtained, on average, 51.2 % of established explants *in vitro* with the use of sodium hypochlorite. Souza (2020) studied the *in vitro* establishment of *Eucalyptus grandis* × *E. urophylla* and achieved 95.0 % establishment by this method. The results obtained here provide a source of information for future research on *C. trichotoma* for continuing on to the other micropropagation stages, including bud multiplication, shoot elongation and adventitious rooting.

CONCLUSIONS

The vegetative propagation technique of using epicormic shoots in pruned branches was considered viable for *C. trichotoma*, regarding the percent emission and number of shoots, regardless of the collection season (autumn or spring); however, the genotype factor should be considered because it may influence the success of this technique. The use of active chlorine at a concentration of 1.12 % for five minutes was effective for *in vitro* establishment of nodal segments derived from epicormic shoots of *C. trichotoma*, resulting in 61.3 % establishment at 28 days.

ACKNOWLEDGEMENTS

The present study was conducted with the support of the Brazilian Federal Agency for the Support and Evaluation of Graduate Education (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES) - Funding Code 001; National Council for Scientific and Technological Development (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq) and the Minas Gerais Research Support Foundation (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG). We are thankful to our laboratory technician, Dr. Ana Luiza Oliveira Timbó, for assistance in conducting the experiments and to Dr. Renato Moraes de Jesus, Dr. Felipe Garbelini Marques and Dr. Bruno Mariani for the financial support and acquisition of the genotypes from Symbiosis Investimentos e Participações S.A.

REFERENCES

- Abiri R, N Atabaki, HA Hamid, R Sanusi, NAA Shukor, NA Shaharuddin, SA Ahmad, S Malik. 2020. The Prospect of Physiological Events Associated with the Micropropagation of *Eucalyptus* spp. *Forests* 11(11): 1-29. DOI: <https://doi.org/10.3390/f11111211>
- Avelar MLM, DMSC Souza, EH Macedo, LV Molinari, GE Brondani. 2020. *In vitro* establishment of *Eucalyptus* and *Corymbia* species from epicormic shoots. *Revista Árvore* 44(3): 1-11. DOI: <https://doi.org/10.1590/1806-908820200000027>
- Baccarin FJB, GE Brondani, LV Almeida, IG Vieira, LSD Oliveira, M Almeida, M. 2015. Vegetative rescue and cloning of *Eucalyptus benthamii* selected adult trees. *New Forests* 46(4): 465-483. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11056-015-9472-x>
- Berghetti ALP, MM Araujo, TDAS Tonetto, SC Aimi, MC Narvoski, F Turchetto, TC Zavistanovicz. 2015. Growth of *Cordia trichotoma* seedlings in different sizes of recipients and doses of fertilizer. *African Journal of Agricultural Research* 11(28): 2450-2455. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJAR2016.10883>
- Bisognin DA, P Kielse, KH Lencina, US Mello. 2020. Vegetative propagation of *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steub. by cuttings from shoots and roots. *Cerne* 26: 265-271. DOI: <https://doi.org/10.1590/01047760202026022732>
- Esposito-Polesi NP, LS Oliveira, FJB Baccarin, CV De Almeida, M De Almeida. 2020. Different culture conditions applied to *in vitro* shoot multiplication of two *Eucalyptus benthamii* explant sources. *Journal Forestry Research* 31(3): 857-869. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11676-018-0816->
- Ferreira EB, PP Cavalcanti, DA Nogueira. 2013. ExpDes: *Experimental Designs package*. R package version 1.1.2. 2013.
- Gavilan NH, FC Furlan, AZ Zorz, LSD Oliveira, WF Campos, GE Brondani. 2018. Chemical sterilization of culture medium for *in vitro* multiplication of *Cochlospermum regium*. *Ciência Rural* 48(9): 1-7. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20170581>
- Hartmann HT, DE Kester, JR Davies, RL Geneve. 2011. Plant propagation: principles and practices. 8th Prentice Hall ed. São Paulo, Brazil. 915 p.
- Kepek K. 2019. Photosynthetic effects of light-emitting diode (LED) on *in vitro*-derived strawberry (*Fragaria × Ananassa* cv. Festival) plants under *in vitro* conditions. *Erwerbs-Obstbau* 61(2): 179-187. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10341-018-00414-0>
- Kielse P, DA Bisognin, KL Haygert, US Mello, NR Pimentel, A Marcelo. 2015. Production and rooting of *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud. mini-cuttings collected from ministumps of asexual and seminal origin. *Ciência Rural* 45: 1164-1166. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20131011>
- Kratz D, I Wendling, C Stuepp, A Kalil Filho. 2016. Epicormic shoots induction and rooting cuttings of *Calophyllum brasiliense*. *Cerne* 22(4): 365-372. DOI: <https://doi.org/10.1590/0101047760201622042167>
- Miranda NA, A Xavier, WC Otoni, R Gallo, KC Gatti, LC Moura, DMSC Souza, JH Maggione, SSO Santos. 2020. Quality and intensity of light in the *in vitro* development of microstumps of *Eucalyptus urophylla* in a photoautotrophic system. *Forest Science* 66(1): 1-7. DOI: <https://doi.org/10.1093/forsci/fxaa027>
- Molinari LV, DMSC Souza, MLM Avelar, SB Fernandes, DS Gonçalves, JCT Faria, DC Carvalho, GE Brondani. 2020. Effects of chemical sterilization of the culture media, porous membranes and luminosity on *in vitro* culture of *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus urophylla*. *Journal Forestry Research* 31(5): 1-12. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11676-020-01240-5>
- Murashige T, F Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15(1): 473-497.
- Oliveira LS, GE Brondani, KD Batagin-Piotto, R Calsavara, NA Gonçalves, M Almeida. 2015. Micropropagation of *Eucalyptus cloeziana* mature trees. *Australian Forestry* 78(4): 219-231. DOI: <https://doi.org/10.1080/00049158.2015.1073211>
- R core team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*. Vienna, Austria, 2018.
- Salles E, G Alcantara, M Quoirin, A Gonçalves, A Higa. 2017. Desinfestação e introdução *in vitro* de segmentos nodais de *Acacia mearnsii*. *Pesquisa Florestal Brasileira* 37(92): 485-491. DOI: <https://doi.org/10.4336/2017.pfb.37.92.1392>
- Souza DMSC, SB Fernandes, MLM Avelar, SRP Frade, LV Molinari, DS Gonçalves, JEBP Pinto, GE Brondani. 2020. Light quality in micropropagation of *Eucalyptus grandis*

- × *Eucalyptus urophylla*. *Scientia Forestalis* 48(127): 1-10. DOI: <https://doi.org/10.18671/scifor.v48n127.03>
- Souza DMSC, A Xavier, NA Miranda, R Gallo, WC Otoni. 2020. Light quality, 6-benzyladenine and number of subcultures for *in vitro* multiplication of hybrid clones of *Corymbia*. *Scientia Forestalis* 48(1): 1-10. DOI: <https://doi.org/10.18671/scifor.v48n128.03>
- Souza DMSC, A Xavier, NA Miranda, R Gallo, WC Otoni, JH Maggioni. 2018. Light quality in the *in vitro* introduction of *Corymbia* hybrid clones. *Revista Árvore* 42(6): 1-9. DOI: <https://doi.org/10.1590/1806-90882018000600004>
- Stuepp CA, I Wendling, A Xavier, KC Zuffellato-Ribas. 2018. Vegetative propagation and application of clonal forestry in Brazilian native tree species. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 53(9): 985-1002. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2018000900002>
- Tambarussi EV, FB Pereira, PHM Silva, D Lee, D Bush. 2018. Are tree breeders properly predicting genetic gain? A case study involving *Corymbia* species. *Euphytica* 214(1): 1-11. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10681-018-2229-9>
- Trueman SJ, CD Hung, I Wendling. 2018. Tissue culture of *Corymbia* and *Eucalyptus*. *Forests* 9(2): 1-42. DOI: <https://doi.org/10.3390/f9020084>
- Zorz AZ, JCT Faria, DMSC Souza, DS Gonçalves, LS Oliveira, ALL Silva, WF Campos, GE Brondani. 2020. Microplants production of *Eucalyptus cloeziana* from indirect organogenesis. *Bosque* 41(2): 113-124. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0717-92002020000200113>

Recibido: 08.05.21

Aceptado: 10.03.22

Estructura y patrón de distribución horizontal de *Bursera linanoe* en dos subprovincia bióticas en México

Structure and pattern of horizontal distribution of *Bursera linanoe* in two biotic subprovinces in Mexico

Iris Jacaranda Cruz-Larios ^a, Carlos Ramírez-Herrera ^{a*}, Juan Ignacio Valdez-Hernández ^a, Mario Valerio Velasco-García ^b, Víctor Manuel Cetina-Alcalá ^a, Jesús Jasso-Mata ^a

*Autor de correspondencia: ^aColegio de Postgraduados, Posgrado en Ciencias Forestales km 36,5 Carretera México-Texcoco, CP56230, Estado de México, México, tel.: +52 595 952 0200 y +52 557 378 6568, kmcramcolpos@gmail.com.

^bCENID-COMEF, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Delegación Coyoacán, Ciudad de México, México.

SUMMARY

The fruits of linaloe (*Bursera linanoe*) are collected to extract an aromatic oil and trees are cut to make crafts in the tropical region of Mexico. Structural values of natural populations are unknown, therefore the objectives of this study were to evaluate the population structure and to assess their horizontal distribution. In two biotic subprovinces twenty-four sampling units were established; in each subprovince two altitudinal ranges were determined. In each sample unit, dasometric variables were measured and density, crown area, index of structural value (IVE), indexes of Morisita (Is) and Ripley (L(t)) were calculated. In Balsasana on range < 900 m a.s.l. the density and height of non-reproductive individuals were 560 individual ha⁻¹ and 0.103 m, in > 900 m a.s.l. were 300 individuals ha⁻¹ and 1.212 m. In the subprovince Cañadiana range < 900 m a.s.l., it was 33 individual ha⁻¹ and 0.213 m, while in the range > 900 m a.s.l. it was 260 individual ha⁻¹ and 0.755 m in the lowest range. We recorded 313 reproductive individual ha⁻¹, with 6.59 m of height, 0.247 m diameter and 205 m² ha⁻¹ crown area, while in the range > 900 m a.s.l., 320 individual ha⁻¹ were recorded with 3.44 m, 0.061 m and 52 m² ha⁻¹ respectively. Based on I_s = 69.56 % and L_(t) = 62.50 %, the common horizontal distribution pattern was aggregated. The aggregate pattern dominates in Balsasana subprovince while the random pattern is present in the Cañadiana subprovince.

Keywords: categories, altitudinal ranges, population, ripley, morisita.

RESUMEN

Los frutos de lináloe (*Bursera linanoe*) se recolectan para obtener un aceite aromático y los árboles se cortan para elaborar artesanías en el sur de México. Se desconocen valores estructurales de sus poblaciones naturales, por lo que los objetivos de este estudio fueron describir la estructura poblacional y conocer el patrón de distribución horizontal. En dos subprovincias bióticas se establecieron veinticuatro unidades de muestreo (UM), en cada subprovincia se consideraron dos intervalos altitudinales. En cada UM se midieron variables dasométricas y se calcularon densidad, área de copa, índice de valor estructural (IVE), índices de Morisita (Is) y de Ripley (L(t)). En Balsasana intervalo < 900 m s.n.m. la densidad y altura de los individuos no reproductivos fue 560 individuos ha⁻¹ y 0,103 m, en > 900 m s.n.m. fueron 300 individuos ha⁻¹ y 1,212 m. En la subprovincia Cañadiana intervalo < 900 m s.n.m. fueron 33 individuos ha⁻¹ y 0,213 m, mientras que en el intervalo > 900 m s.n.m. fue de 260 individuos ha⁻¹ y 0,755 m. En Balsasana se registraron 313 individuos reproductivos ha⁻¹, con 6,59 m de altura, 0,247 m diámetro y 205 m² ha⁻¹ de cobertura de copa, mientras en el intervalo > 900 m s.n.m. se registraron 320 individuos ha⁻¹, con 3,44 m, 0,061 m y 52 m² ha⁻¹ respectivamente. Con base en I_s = 69,56 % y L (t) = 62,50 %, el patrón de distribución horizontal común fue el agregado. El patrón agrupado domina en las subprovincia Balsasana mientras que el patrón aleatorio está presente en la subprovincia Cañadiana.

Palabras clave: categorías de tamaño, intervalos altitudinales, poblaciones, ripley, morisita.

INTRODUCCIÓN

Es nula la información sobre estructura vertical y patrón de dispersión espacial para *Bursera linanoe* (La Llave) Rzedowski, Calderón y Medina ('lináloe'), una especie endémica del bosque tropical caducifolio que se usa

para la elaboración de esencias, jabones y artesanías en México (Rzedowski *et al.* 2004). Las poblaciones de esta especie están en declive debido al aprovechamiento indiscriminado y el sobrepastoreo (Andrés y Espinosa 2002). Los planes de manejo de la especie son pocos así como la información que describa las características con las que

cuentan las poblaciones. De forma general el estudio de la estructura vertical permite conocer las características y distribución de las dimensiones de un conjunto de individuos de una especie en una comunidad vegetal (Gadow *et al.* 2007).

El patrón de distribución espacial indica las posiciones de los árboles dentro del área que ocupa una especie en el ecosistema (Ettema y Wardle 2002). El patrón de dispersión espacial depende del sistema de reproducción, tipo de dispersión de semillas, tolerancia, tipos de perturbaciones, competencia, mutualismo y mortalidad (Griffith y Peres-Neto 2006). Los árboles de una especie pueden distribuirse en un patrón aleatorio, uniforme o agregados.

A través del estudio de la estructura vertical y patrón de distribución espacial se puede inferir el éxito reproductivo de una especie y posible permanencia en el ecosistema a largo plazo, por lo que la información sobre la estructura vertical y el patrón de distribución espacial es importante para planear las actividades de manejo forestal o implementar medidas de conservación que promuevan la sustentabilidad de una especie (Velasco *et al.* 2017).

Por consiguiente en el presente estudio se plantearon los objetivos siguientes: determinar las características estructurales y patrón de distribución horizontal de *B. li-*

nanoe en dos subprovincias bióticas y en dos intervalos altitudinales. Se establecieron las siguientes hipótesis: 1) la estructura de las poblaciones de *B. linanoe* difiere entre subprovincias bióticas e intervalos altitudinales debido principalmente a las condiciones ambientales; 2) el patrón de distribución horizontal de *B. linanoe* es similar entre subprovincias bióticas e intervalos altitudinales.

MÉTODOS

Área de estudio y muestreo. Considerando la distribución natural de *B. linanoe* en México se eligieron las principales áreas donde se ha reportado la presencia de la especie. El estudio se realizó en la subprovincia biótica Balsasana en los estados de Guerrero y Morelos, y en la subprovincia biótica Cañadiana en el estado de Oaxaca. La especie crece en un intervalo altitudinal entre 600 y 1.200 m s.n.m. (Rzedowski *et al.* 2004), los intervalos que se consideraron en este estudio fueron menor a 900 m s.n.m. y mayor a 900 m s.n.m. En 2018 se establecieron doce unidades de muestreo en dos intervalos altitudinales en la subprovincia Balsasana. Otras doce unidades de muestreo se ubicaron en dos intervalos altitudinales en la subprovincia Cañadiana (figura 1 y cuadro 1).

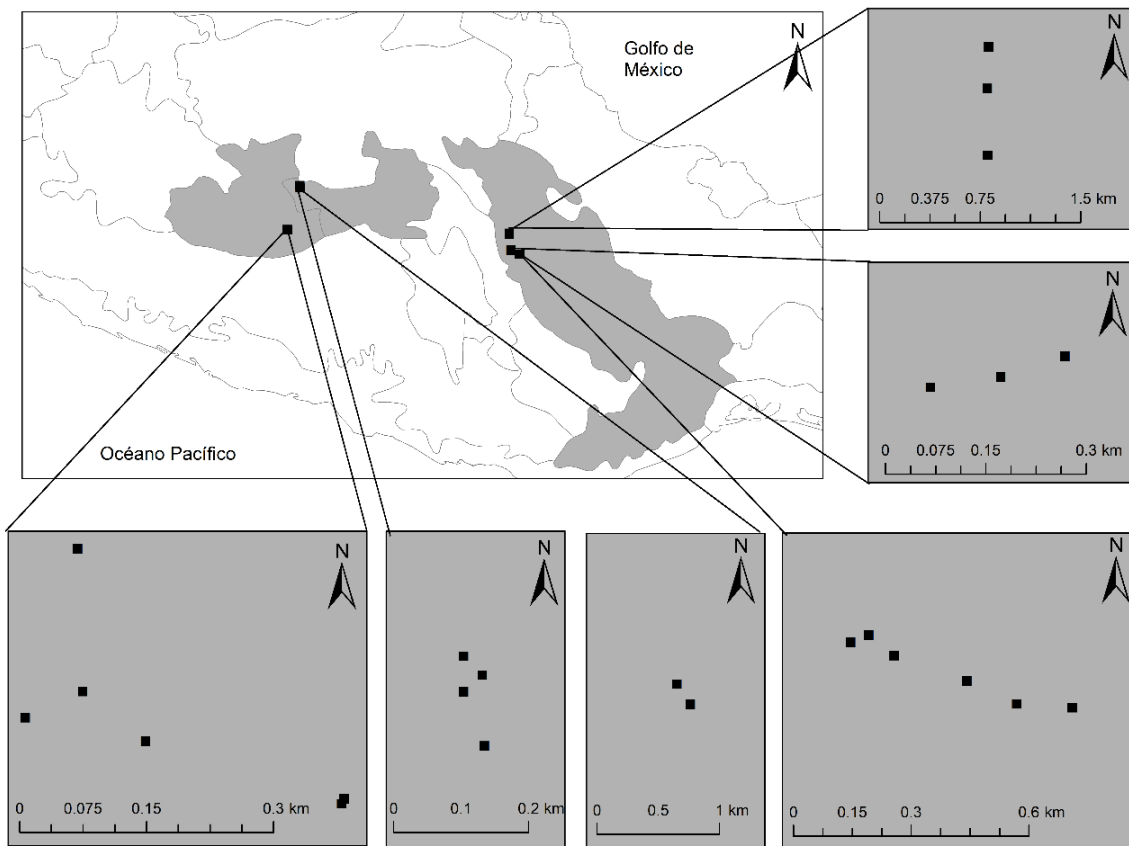


Figura 1. Localización geográfica de las unidades muestrales (■) en dos subprovincias bióticas y en dos intervalos altitudinales.
Geographical location of samplings units (■) in two biotic subprovinces and two altitudinal ranges.

Muestreo y medición de variables. El tamaño de cada una de las 24 unidades de muestreo (UM) fue 10 x 25 m (250 m²). Estas se delimitaron con distancias compensadas de acuerdo con la pendiente del terreno. En cada unidad de muestreo, se contó el número de individuos de la especie y la altura total de cada planta se midió con estadal topográfico. El diámetro normal (DN) de los individuos con altura mayor a 1,30 m se midió con cinta diamétrica. El diámetro mayor y menor de la copa se obtuvo con longímetro de 30 m. El área de copa se calculó con el diámetro promedio del diámetro mayor y menor de cada individuo con la fórmula del círculo.

Análisis de la estructura poblacional. La distribución de los datos de cada variable se verificó para comprobar los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas con las pruebas de Shapiro-Wilks y la prueba de Bartlett, respectivamente. Un análisis de varianza y comparación de medias de Tukey se realizó para diámetro normal, variable que presentó datos con distribución normal. La altura total y diámetro promedio de copa no cumplieron con el supuesto de normalidad, por tanto, se sometieron a una prueba no paramétrica de varianza y comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis. La comparación de medias entre intervalos altitudinales se hizo dentro de cada subprovincia.

De acuerdo con lo observado en campo, los individuos se clasificaron como no reproductivos y reproductivos. Un individuo no reproductivo es aquel carente de estructuras reproductivas y con una altura hasta de dos metros. Los individuos no reproductivos se ubicaron en dos categorías con base en la altura: individuos menores de 30 cm (categoría 1) e individuos entre 30 cm y 2 m (categoría 2). Los individuos reproductivos se ubicaron en cuatro categorías (también considerando su altura): mayores de 2 y hasta 4 m (categoría 3), mayores de 4 m y hasta 6 m (categoría 4), mayores de 6 m y hasta 8 m (categoría 5) e individuos mayores de 8 m (categoría 6).

Para cada una de las seis categorías anteriores se obtuvo el índice de valor estructural (IVE), el cual se basa en los índices de valor forestal y el índice de valor de importancia. El índice de valor estructural (IVE) de las categorías de tamaño se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{IVE} = \text{Densidad relativa} + \text{Frecuencia relativa} + \text{Altura relativa} \quad [1]$$

La densidad relativa se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Densidad relativa} = \frac{\text{Densidad absoluta de la categoría de tamaño}}{\text{Densidad de todas las categorías}} \times 100 \quad [2]$$

donde,

$$\text{Densidad} = \frac{\text{Número de individuos de una categoría}}{\text{Área muestreada}} \quad [3]$$

La frecuencia relativa se calculó:

$$\text{Frecuencia relativa} = \frac{\text{Frecuencia por categoría}}{\text{Frecuencia de todas las categorías}} \times 100 \quad [4]$$

donde,

$$\text{Frecuencia} = \frac{\text{Número de cuadros en los que se presenta esa categoría}}{\text{Número total de cuadros muestreados}} \quad [5]$$

La altura relativa se calculó:

$$\text{Frecuencia relativa} = \frac{\text{sumatoria de altura de cada categoría de tamaño}}{\text{sumatoria de altura absoluta de todas las categorías}} \times 100 \quad [6]$$

donde,

Cuadro 1. Descripción de las unidades de muestreo en dos subprovincias bióticas y dos intervalos altitudinales.

Description of samples unites in two biotic subprovinces and two altitudinal ranges

Características	Balsasana		Cañadiana		Referencia
Int. altitudinal (m s.n.m.)	< 900	> 900	< 900	> 900	
Clima	Aw ₀ (g)	Aw ₀ (g)	BS ₀ w(g)	BS ₀ w(g)	García, 2004
Precip. (mm)	764,3	832,0	457,0	457,0	SMN, 2010
°T media	27,4	22,4	24,1	24,1	SMN, 2010
°T máxima	36,3	31,9	32,0	32,0	SMN, 2010
°T mínima	18,4	16,7	16,9	16,9	SMN, 2010
Tipo de suelo	RC	FH	RC	RC	García y Ortiz, 2010
Tipo de vegetación					Bosque tropical caducifolio

RC = regosol calcárico, FH = feozem háplico.

$$\text{Altura absoluta} = \frac{\text{sumatoria de altura de una categoría}}{\text{Área muestreada}} \quad [7]$$

Los supuestos estadísticos de normalidad y homogeneidad de varianzas se verificaron con la prueba de Shapiro-Wilks. Estos datos fueron paramétricos por lo que se realizó un análisis de varianza y comparación de medias por categoría de tamaño entre intervalos altitudinales dentro de subprovincias y entre subprovincias. El porcentaje de individuos se obtuvo para cada categoría de tamaño elaborando curvas de estructura poblacional por subprovincia e intervalos altitudinales dentro de subprovincias.

Análisis del patrón de distribución horizontal. Se ubicaron todos los individuos de *Bursera linanoe* en un plano cartesiano (x, y). Cada unidad de muestreo se dividió en subunidades de 5 x 5 m, y se midió la distancia y el ángulo interno entre el vértice y el individuo más cercano. Esta información sirvió para calcular las coordenadas cartesianas de cada individuo mediante funciones trigonométricas. El patrón de dispersión espacial se determinó con base en los índices de Morisita (Iδ y K de Ripley para cada unidad de muestreo. El índice de K de Ripley se determinó usando la transformación de L(t) de la función K(t). Las diferencias en el patrón de dispersión se determinaron con la función L(t) con simulaciones de Monte Carlo (Ripley 1977). El análisis de patrón de dispersión espacial se complementó con el índice de Morisita (Morisita 1959).

RESULTADOS

Estructura poblacional. Un total de 327 individuos de *Bursera linanoe* se encontraron en las 24 unidades de muestreo. En general, los individuos no reproductivos representaron el 58 % y 50 % en la subprovincia Balsasana y Cañadiana respectivamente. La densidad absoluta de individuos no reproductivos fue 60 % superior en la subprovincia Balsasana con respecto a la densidad de este tipo

de individuos en la subprovincia Cañadiana (cuadro 2). En la subprovincia Balsasana, el mayor porcentaje de individuos no reproductivos se encontró en la altitud menor a los 900 m s.n.m., mientras que el menor porcentaje de este tipo de individuos se encontró en la altitud mayor a 900 m s.n.m. (figura 2).

En la subprovincia Balsasana la densidad de individuos no reproductivos fue 54 % mayor en el intervalo menor a 900 m s.n.m con respecto a la altitud mayor. En la subprovincia Cañadiana, el mayor porcentaje de individuos no reproductivos se registró en el intervalo altitudinal > 900 m s.n.m, mientras que el menor porcentaje se halló en la altitud menor. En esta subprovincia la mayor densidad se encontró en el intervalo altitudinal mayor a 900 m s.n.m.

La prueba de Kruskal Wallis indicó diferencias ($P < 0,001$) entre subprovincias bióticas y entre intervalos altitudinales dentro de subprovincias para la altura de individuos no reproductivos. La altura fue 25 % superior en la subprovincia Cañadiana con respecto a la subprovincia Balsasana para estos individuos. En ambas subprovincias las mayores alturas de individuos no reproductivos se registraron en el intervalo altitudinal mayor a 900 m s.n.m (cuadro 2).

La densidad de individuos reproductivos fue 61 % mayor en la subprovincia Balsasana que en la subprovincia Cañadiana. En la subprovincia Balsasana una mayor densidad se presentó en el intervalo altitudinal mayor a 900 m s.n.m, mientras que en la subprovincia Cañadiana la mayor densidad de estos individuos se encontró en el intervalo menor a 900 m s.n.m.

La prueba de Kruskal Wallis indicó diferencias entre subprovincias para altura ($P < 0,001$) pero no para diámetro normal y área de copa ($P > 0,05$). Los mayores valores de altura y diámetro normal de individuos reproductivos se encontraron en la subprovincia Balsasana (cuadro 2).

En la subprovincia Balsasana, se encontraron diferencias entre intervalos altitudinales para altura ($P < 0,001$), diámetro normal ($P < 0,001$) y diámetro de copa ($P < 0,002$) de individuos reproductivos. Los mayores valores

Cuadro 2. Comparación de medias de las variables evaluadas en individuos no reproductivos de *Bursera linanoe* por subprovincia biótica e intervalo altitudinal.

Comparison of means of the evaluated variables in non-reproductive individuals of *Bursera linanoe* by biotic subprovinces and altitudinal range.

Subprovincia biótica	Intervalo altitudinal (m s.n.m)	Densidad (individuos ha ⁻¹)	Altura (m)
Balsasana	< 900	560	0,103 a
	> 900	300	1,212 b
	Media	430	0,490
Cañadiana	< 900	33	0,213 a
	> 900	260	0,755 b
	Media	147	0,655

Medias con distintas letras representan diferencias a una $P \leq 0,05$.

en estos tres atributos estructurales se encontraron en el intervalo altitudinal menor a 900 m s.n.m (cuadro 3).

En la subprovincia Cañadiana se encontraron diferencias entre intervalos altitudinales para altura ($P < 0,07$); sin embargo, no existieron diferencias a la $P > 0,05$ para diámetro normal y área de copa de individuos reproductivos. En la subprovincia Cañadiana la altura fue 30 % superior en el intervalo altitudinal menor a 900 m s.n.m.

En la subprovincia Balsasana los mayores valores estructurales (IVE) se encontraron en las categorías 1 y 5 (altitudes menores a 900 m s.n.m), en contraste con la subprovincia Cañadiana donde los mayores valores de IVE se registraron en las categorías 4 (altitud menor a 900 m s.n.m) y 2 (altitud mayor a 900 m s.n.m) (cuadro 4).

En general, en la subprovincia Balsasana se presentó una curva tipo IV de acuerdo a Velasco *et al.* (2017), en la altitud menor a 900 m s.n.m se presentó una curva de estructura poblacional tipo II (*e.g.* Bongers *et al.* 1988), caracterizada por un mayor porcentaje de individuos en las

categorías 1 y 5. En el intervalo menor a 900 m s.n.m de la subprovincia Cañadiana, se presentó una curva tipo IIB (Velasco *et al.* 2017) caracterizada por un bajo porcentaje de individuos en las dos categorías más pequeñas y un alto porcentaje en las dos categorías intermedias. En el intervalo altitudinal mayor a 900 m s.n.m de ambas subprovincias, se encontraron curvas poblacionales tipo III (*e.g.* Martínez y Álvarez 1995) representadas por bajos porcentajes de individuos tanto en las categorías más pequeñas como en las más grandes (figura 3).

Patrón de distribución horizontal. En la subprovincia Balsasana el patrón de distribución agrupado se presentó en el 75 % de las UM y el porcentaje restante presentó distribución regular de acuerdo al índice de Ripley, en contraste con el índice de Morisita el 17 % de las UM presentó distribución regular y el 8 % aleatoria. Dentro de esta subprovincia en la altitud menor a 900 m s.n.m. se encontró un patrón agrupado (83 %) y regular (17 %) con el índice

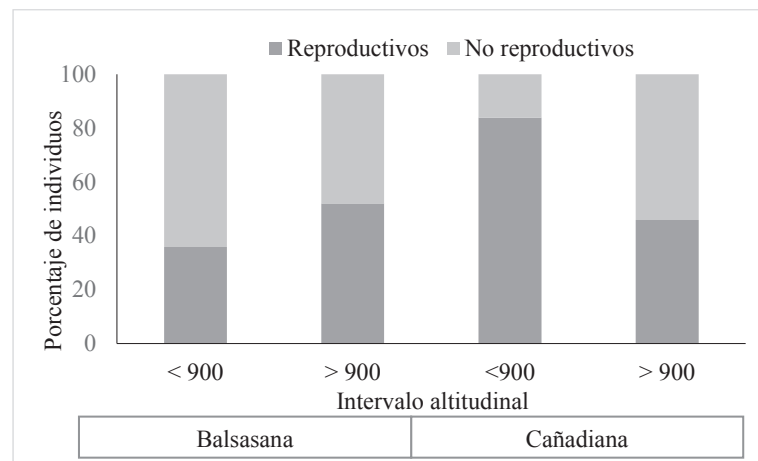


Figura 2. Porcentaje de individuos no reproductivos y reproductivos de *Bursera linanoe* en dos subprovincias bióticas e intervalo altitudinales dentro de estas.

Percent of non-reproductive and reproductive individuals in two biotic subprovinces and two altitudinal ranges.

Cuadro 3. Comparación de medias de las variables estructurales en individuos reproductivos de *Bursera linanoe* en dos subprovincias bióticas y dos intervalos altitudinales.

Comparison of means of the evaluated variables in reproductive individuals of *Bursera linanoe* in two biotic subprovinces and two altitudinal ranges.

Variable	Balsasana			Cañadiana		
	< 900	> 900	Media	< 900	> 900	Media
Densidad (ind. ha ⁻¹)	313 a	320 a	317 a	220 a	173 a	197 b
Altura (m)	6,59 a	3,44 b	5,00 a	4,37 a	3,77 b	4,04 b
Diámetro normal (m)	0,247 a	0,061 b	0,15 a	0,094 a	0,101 a	0,09 a
Área copa (m ² ha ⁻¹)	205 a	52 b	128 a	112 a	137 a	126 a

Medias con distinta letra en la misma fila son estadísticamente diferentes ($P \leq 0,05$).

Cuadro 4. Índice de valor estructural (IVE) de las categorías de tamaño de *Bursera linanoe* por subprovincia e intervalo altitudinal.
 Index of structure value (IVE) of the categories of the size of *Bursera linanoe* by biotic subprovinces and altitudinal range.

Categoría de tamaño [†]	Balsasana			Cañadiana		
	Altitud (m s.n.m)			Altitud (m s.n.m)		
	< 900	> 900	General	< 900	> 900	General
1	107,93	27,43	66,51	12,82	12,84	19,88
2	5,29	79,81	53,41	12,02	104,08	89,06
3	6,13	56,57	54,14	59,82	51,52	68,89
4	51,86	57,34	40,13	149,46	94,19	98,72
5	107,19	60,81	66,15	15,87	37,33	23,65
6	21,57	18,04	19,67	0,00	0,00	0,00
Total	300,0	300,0	300,0	300,0	300,0	300,0

[†] Categorías de tamaño en altura: 1: ≤ 0,3 m, 2: ≥ 0,3 m < 2 m, 3: ≥ 2 m < 4 m, 4: ≥ 4 m < 6 m, 5: ≥ 6 m < 8 m, y 6: ≥ 8 m.

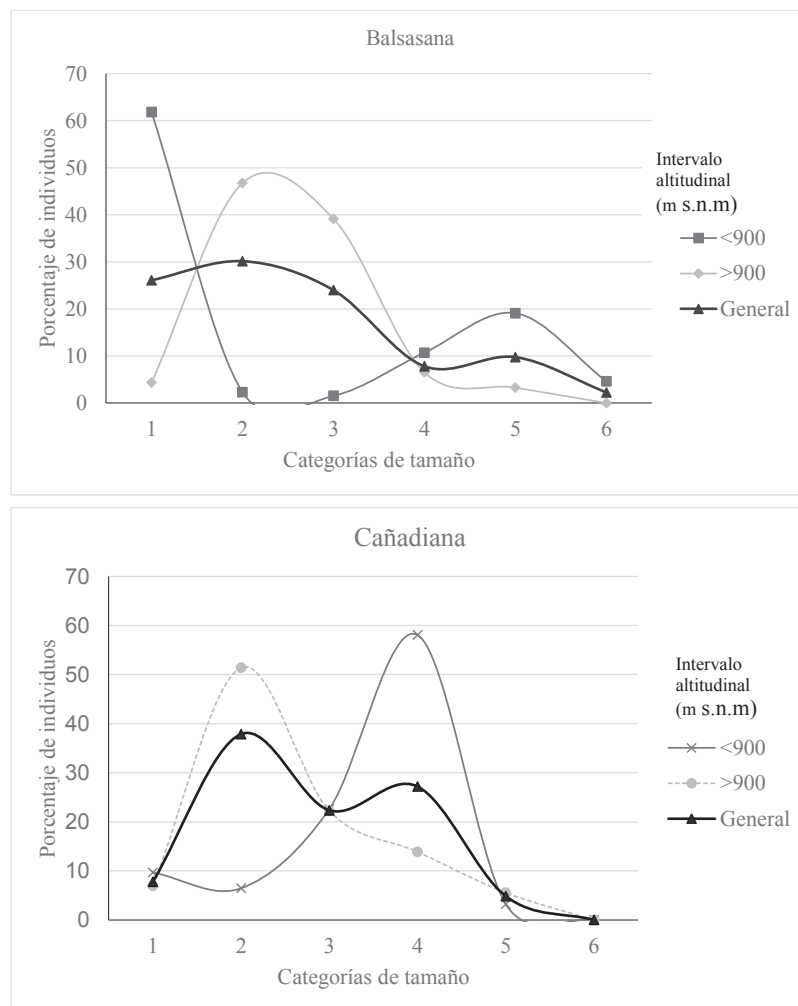


Figura 3. Curva de estructura poblacional de *Bursera linanoe* en dos subprovincias bióticas e intervalos altitudinales (categorías de tamaño en altura: 1: ≤ 0,3 m, 2: ≥ 0,3 m < 2 m, 3: ≥ 2 m < 4 m, 4: ≥ 4 m < 6 m, 5: ≥ 6 m < 8 m, y 6: ≥ 8 m).

Curves of population structure of *Bursera linanoe* in two biotic subprovinces and two altitudinal ranges. (Height categories: 1: ≤ 0.3 m, 2: ≥ 0.3 m < 2 m, 3: ≥ 2 m < 4 m, 4: ≥ 4 m < 6 m, 5: ≥ 6 m < 8 m, y 6: ≥ 8 m).

de Ripley, mientras que con índice de Morisita la mayoría de UM (66 %) presentó un patrón agrupado, seguido de regular (17 %) y aleatorio (17 %). En la altitud mayor a 900 m s.n.m., de acuerdo a los índices de Ripley y Morisita se presentó distribución agrupada (67 % y 83 %) y regular respectivamente (33 % y 17 %).

En la subprovincia Cañadiana el 50 % de las UM tienen un patrón agrupado, el 33 % aleatorio, y 17 % regular usando el índice de Ripley. Con el índice de Morisita, el 64 % presentó patrón agrupado y el restante regular. Dentro de esta subprovincia en el intervalo menor a 900 m s.n.m. se encontraron los siguientes patrones agrupado (50 % y 67 %), aleatorio (50 % y 0 %) y regular (0 % y 33 %) usando los índices de Ripley y Morisita. En el intervalo mayor a 900 m s.n.m. se encontró patrón agrupado (50 % y 60 %), regular (33 % y 40 %) y aleatorio (17 % y 0 %) con los índices anteriormente mencionados. No fue posible calcular el valor del índice de Morisita en una de las unidades de muestreo en esta subprovincia debido a que solo se presentaba un individuo de la especie (figuras 4, 5, 6 y 7).

DISCUSIÓN

Estructura poblacional. El porcentaje de individuos no reproductivos de *Bursera linanoe* en el presente estudio fue mayor al porcentaje (9 %) de árboles no reproductivos que menciona Cruz *et al.* (2009). Sin embargo, los resultados para lináloe en la presente investigación coincidieron con los porcentajes (> 50 %) de individuos no reproductivos que se reportan en otras especies del género *Bursera* tales como *B. palmeri* S. Watson y *B. fagaroides* Eng. El alto porcentaje de individuos no reproductivos garantiza la permanencia de la mayoría de las poblaciones de *B. linanoe* al tener la posibilidad de sustituir a los individuos adultos para que se asegure la reproducción y permanencia de la especie en estos ecosistemas en el largo plazo como se indica para otras especies de árboles (Figuerola *et al.* 2009). Sin embargo, las poblaciones pueden estar en riesgo en el intervalo altitudinal menor a 900 m s.n.m., en la subprovincia Cañadiana, debido a la presencia casi nula de individuos no reproductivos.

El mayor porcentaje de individuos no reproductivos en la subprovincia Balsasana con respecto a la Cañadiana se puede deber a condiciones ambientales favorables. Por ejemplo, la precipitación promedio anual es 341 mm mayor en la subprovincia Balsasana que en la subprovincia Cañadiana (SMN 2010). La mayor precipitación puede promover una producción abundante de semillas e influir en la germinación de estas y establecimiento de las plántulas de lináloe (Ramírez y Arroyo 1990).

El menor desarrollo en altura de los individuos no reproductivos en la subprovincia Balsasana puede ser la consecuencia de la mayor densidad de individuos reproductivos, debido a que doseles densos afectan el crecimiento de los individuos no reproductivos (García y Azócar 2004). Por otra parte, los individuos no reproductivos en

la subprovincia Balsasana en las altitudes mayores a 900 m s.n.m. presentaron mayor altura. Esto se puede deber a una mayor precipitación y tipo de suelo en este intervalo altitudinal (SMN 2010). El suelo feozem se encuentra en la altitud mayor a 900 m s.n.m., mientras que el tipo regosol calcáreo es característico en el intervalo menor a 900 m s.n.m. Las plantas pueden alcanzar un mejor desarrollo en un suelo feozem debido al mayor contenido nutrimental, materia orgánica y profundidad que el suelo regosol calcáreo (Sotelo y Ortiz 2001).

En la presente investigación, la mayor densidad de árboles reproductivos de lináloe se encontró en la subprovincia Balsasana. Esto se puede deber a las condiciones ambientales favorables como una mayor precipitación media anual en la subprovincia Balsasana como se mencionó líneas arriba (SMN 2010).

En ambas subprovincias, el número de árboles reproductivos promedio fue mayor que el número que Cruz *et al.* (2009) reportan para la misma especie (42 árboles ha⁻¹). Incluso, fue mayor que el número de árboles de otras especies que crecen en el trópico seco como *Bursera simplex* Rzed. y Calderón (267 individuos) (Luna *et al.* 2018).

El valor promedio de altura de los árboles de lináloe que se encontró en la presente investigación fue similar en promedio (5,45 m) que Cruz *et al.* (2009) reportan en una investigación previa. En relación a las subprovincias, la mayor altura en la subprovincia Balsasana en comparación con la Cañadiana puede ser consecuencia de diferencias en las condiciones climáticas. En relación a las altitudes, los mayores valores en altura en las altitudes menores a 900 m s.n.m. pueden estar relacionadas a que en estas condiciones el efecto del viento en los árboles es menos agresivo debido a que la velocidad y frecuencia del viento afectan menos al brote principal (Wilcke *et al.* 2008).

El menor diámetro normal de los individuos reproductivos en la subprovincia Cañadiana se pudo deber a que los árboles en esta subprovincia presentaron mayor número de tallos, por lo que el diámetro normal del tallo principal es menor que en los árboles que tienen tallos monopódicos (Cruz *et al.* 2009). El menor diámetro es característico del comportamiento arbustivo en zonas subtropicales (Maza *et al.* 2014). En el presente estudio, el diámetro normal de los árboles reproductivos de lináloe fue menor (0,21 m) que el valor para esta variable reportado en un estudio previo para esta especie (Cruz *et al.* 2009).

La mayor área de copa de los individuos reproductivos en la subprovincia Balsasana puede estar influenciada por el clima cálido subhúmedo que caracteriza la subprovincia Balsasana, en comparación al tipo de clima árido de la subprovincia Cañadiana (García 2004). La precipitación más abundante dentro del grupo climático cálido subhúmedo aumenta el crecimiento de la copa de los individuos al sufrir menor estrés por la mayor disponibilidad de humedad (Azócar *et al.* 1999). De acuerdo a lo anteriormente descrito, se acepta la hipótesis planteada de que la estructura de las poblaciones difiere entre subprovincias

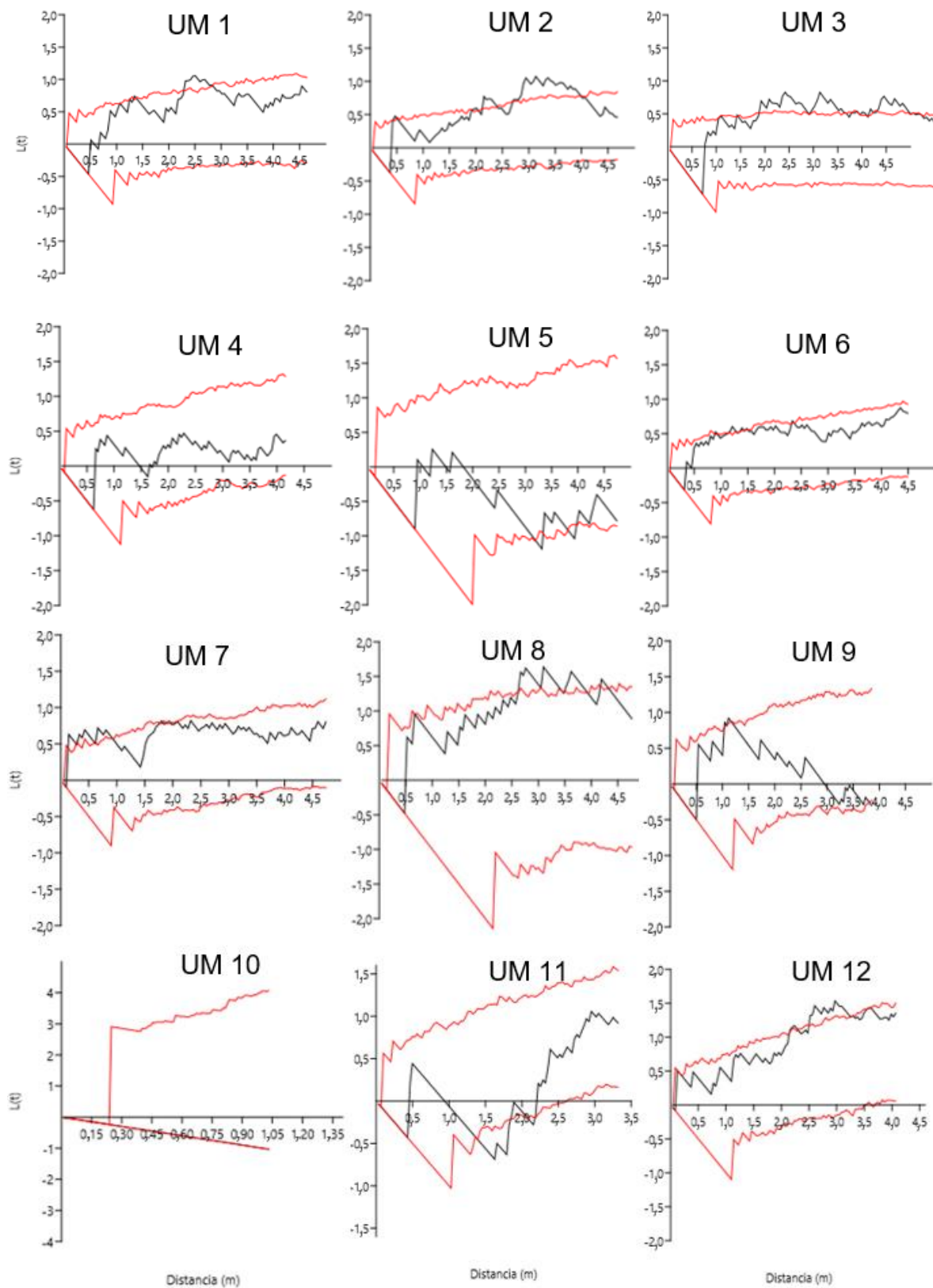


Figura 4. Valores de índice de Ripley $L(t)$ en las Unidades de Muestreo (UM) de la subprovincia Balsasana.

Ripley $L(t)$ ' index values for the sampling units (UM) of the Balsasama subprovince.

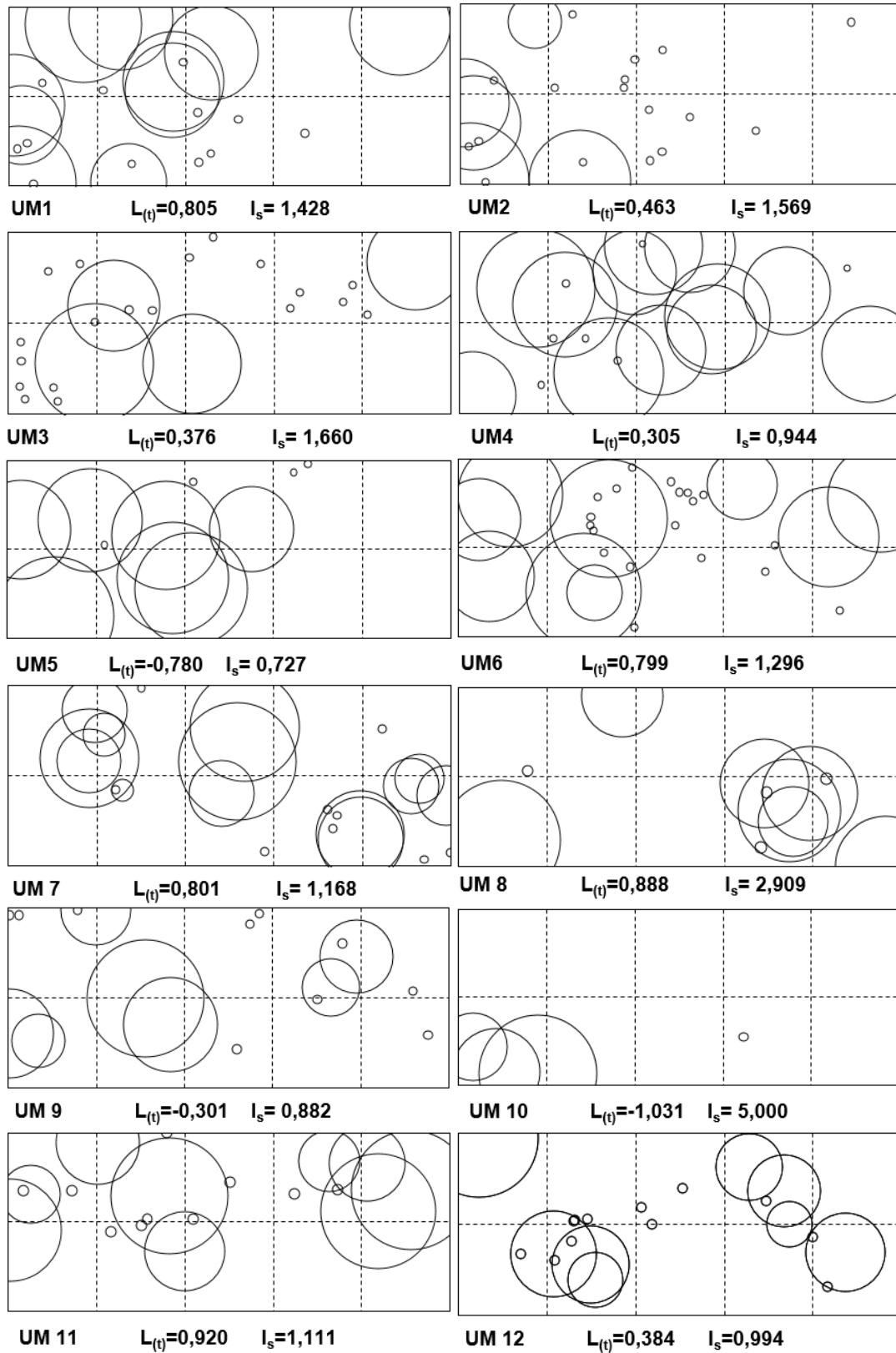


Figura 5. Diagramas de distribución horizontal de *Bursera linanoe* en la subprovincia Balsasana (UM = Unidad de Muestreo, $L(t)$ = Índice de Ripley e $I\delta$ = Índice de Morisita).

Diagrams of *Bursera linanoe*'s horizontal distribution in the Balsasana subprovince (UM = sampling unit, $L(t)$ = Ripley's Index, and $I\delta$ = Morisita's Index).

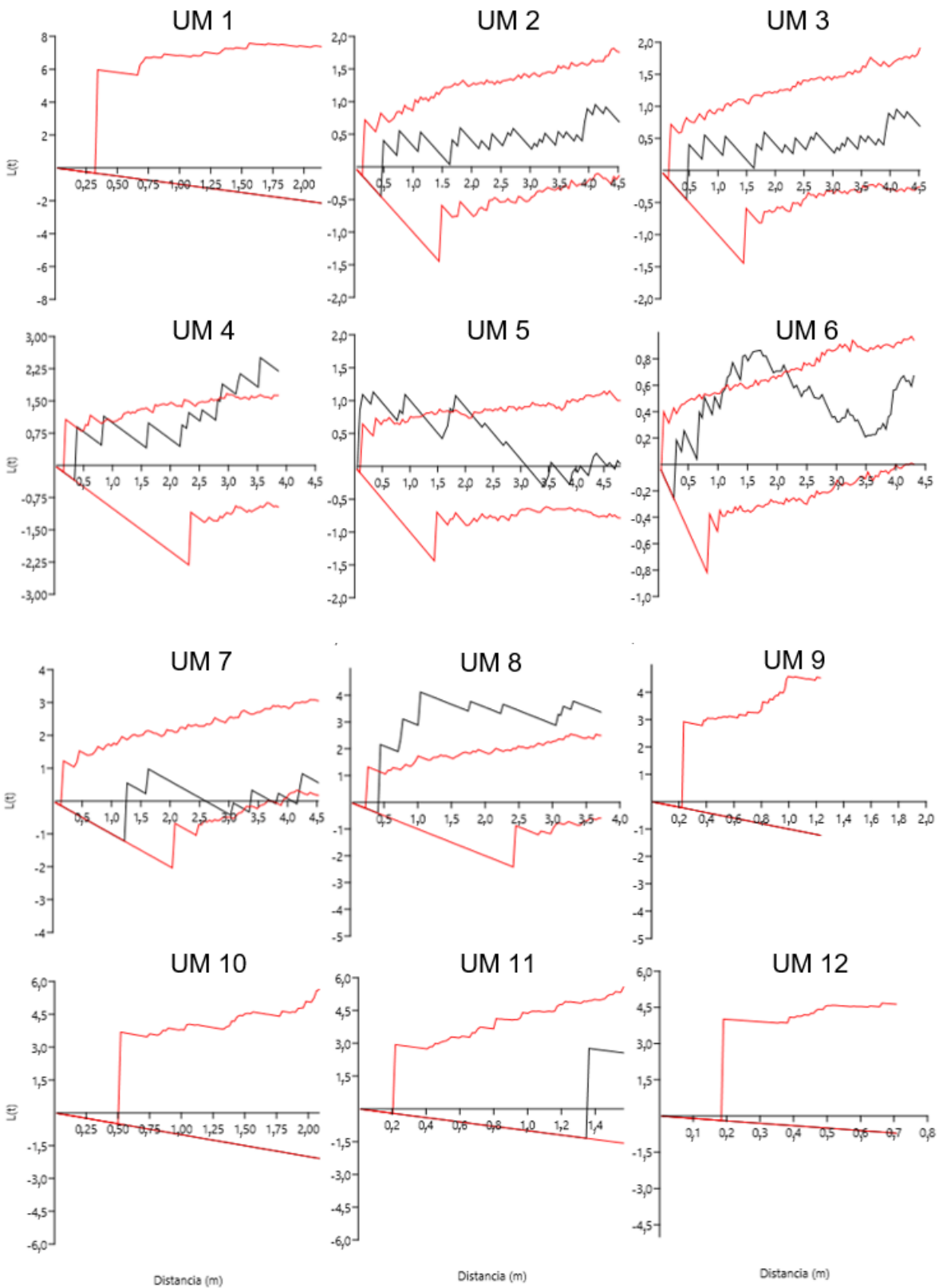


Figura 6. Valores de índice de Ripley $L(t)$ en las Unidades de Muestreo (UM) de la subprovincia Cañadiana.
Ripley $L(t)$ ' index values for the sampling units (UM) of the Cañadiana subprovince.

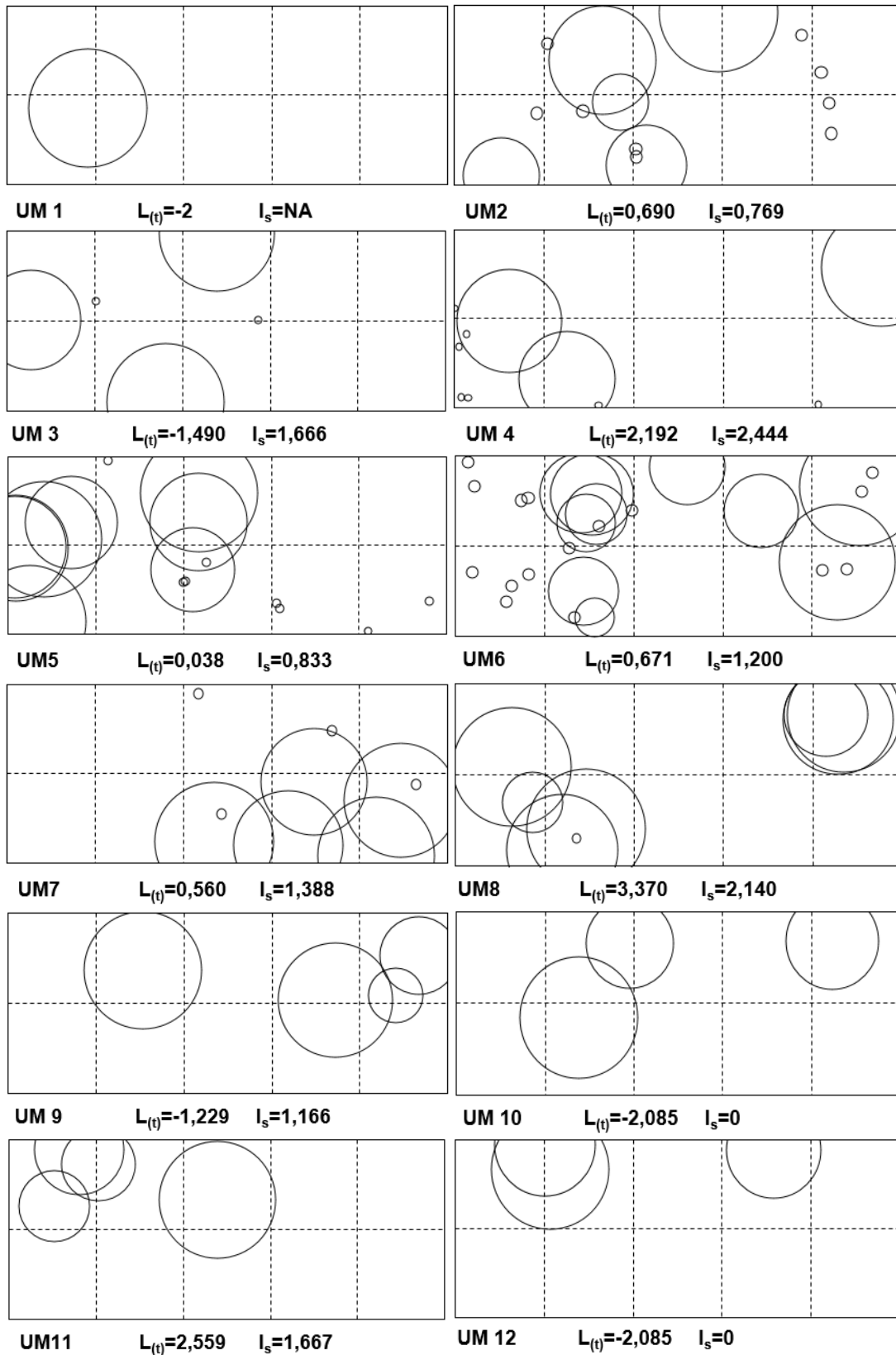


Figura 7. Diagramas de distribución horizontal de *Bursera linanoe* en la subprovincia Cañadiana (UM = Unidad de Muestreo, $L(t)$ = Índice de Ripley e I_s = Índice de Morisita).

Diagrams of *Bursera linanoe*'s horizontal distribution in the Cañadiana subprovince (UM = sampling unit, $L(t)$ = Ripley's Index, and I_s = Morisita's Index).

bióticas e intervalos altitudinales por efecto de las condiciones ambientales.

Los valores estructurales mencionados demuestran que son mayores en las poblaciones localizadas en el intervalo menor (< 900 m s.n.m.). Esto puede indicar que en el extremo altitudinal inferior de la distribución de esta especie existen las condiciones ideales para mayor crecimiento y éxito (Cruz *et al.* 2009). También, Wilcke *et al.* (2008) reportan mayores valores en variables como altura, diámetro del tallo y diámetro de la copa en el extremo inferior de la distribución de *Graffenrieda emarginata* (Ruíz & Pav.) Triana.

Entre subprovincias, las diferencias entre el IVE se puede deber al clima y a que algunas categorías de tamaño son más susceptibles a niveles bajos de precipitación. En la subprovincia Cañadiana los valores bajos de IVE de las categorías correspondientes a individuos no reproductivos puede ser consecuencia del difícil establecimiento de la regeneración por efecto de la sequía (Rey y Alcántara 2000). El IVE, al ser un índice estructural, permitió evaluar a los individuos por categoría de tamaño, asignándole un valor a cada estadio y poder conocer su representatividad en las diferentes condiciones. Cuando se utiliza el IVE los individuos de menor tamaño pueden ser evaluados mediante medidas no invasivas (altura y conteos).

La curva poblacional tipo II que se encontró en la subprovincia Balsasana al nivel altitudinal menor a 900 m s.n.m. indica la presencia de regeneración e individuos adultos y una ausencia de individuos jóvenes. Esta ausencia puede estar relacionada al efecto del pastoreo en la zona, dichas categorías pueden estar siendo afectadas por el ramoneo, en donde los animales alcanzan las hojas de los individuos de menor tamaño dañándolos fuertemente.

La curva tipo IIb en la altitud menor a 900 m s.n.m. en la subprovincia Cañadiana significa que la regeneración es escasa, y se presenta en las especies que tienen problemas para establecerse en etapas tempranas por baja precipitación. En la subprovincia Cañadiana se presentan condiciones más secas, donde la regeneración puede verse afectada por la falta de agua, desencadenando una alta mortalidad en la ya escasa cantidad de plántulas que han logrado germinar. Este tipo de curva poblacional se ha registrado en árboles de *Bursera simaruba* y *Dioon holmgrenii* De Luca, Sabato & Vázq. Torres (Martínez y Álvarez 1995, Velasco *et al.* 2017).

La curva poblacional tipo II que se observó en los intervalos altitudinales menor a 900 m s.n.m. de ambas subprovincias se caracterizó por baja proporción de individuos de la categoría 1, mayor proporción de las categorías 2 y 3 y una caída en el porcentaje de individuos a partir de la categoría 4 (Martínez y Álvarez 1995). Esta curva se documenta en *Bursera palmeri* S. Watson (Suzán *et al.* 2017).

Patrón de distribución horizontal. Se rechaza la hipótesis planteada ya que se presentaron diferentes patrones de distribución horizontal en subprovincias bióticas e intervalos altitudinales. El patrón de distribución agrupado para *B.*

linanoe en la presente investigación fue semejante al de *B. graveolens* y *B. glabrifolia* en el bosque tropical caducifolio (Linares 2005). Este patrón es común en especies del género *Bursera* que crecen en suelos pedregosos (Guevara y Rzedowski 1980). Los suelos pedregosos contribuyen al establecimiento de plántulas debido a la mayor disponibilidad de agua.

En algunas subprovincias se presentaron otros tipos de patrones de distribución espacial pero en menor porcentaje, esto puede deberse al índice utilizado y ser consecuencia de la densidad de los individuos en la unidad de muestreo. Es importante mencionar que las variaciones en el tipo de patrón de distribución puede estar relacionado a la construcción propia del índice de dispersión.

Es así como el patrón de distribución aleatorio observado en la subprovincia Cañadiana (índice de Ripley) puede deberse a la baja densidad de los individuos en la zona, como Linares (2005) reporta para *B. graveolens*.

CONCLUSIONES

Las subprovincias bióticas y los intervalos altitudinales donde se desarrolla el lináloe presentan poblaciones con características estructurales distintas a consecuencia de factores ambientales como la precipitación anual y el tipo de suelo. Los individuos de la subprovincia Balsasana presentaron mayores valores en altura, diámetro normal, y área de copa. La menor densidad de individuos en Cañadiana puede estar relacionada a las condiciones de aridez y suelos más pedregosos. Las categorías de tamaño intermedias pueden estar favorecidas por una mayor cantidad de humedad ambiental en las altitudes mayores a 900 m s.n.m. El patrón agrupado domina en las poblaciones estudiadas, sin embargo, otros patrones de distribución pueden presentarse en menor porcentaje de acuerdo al índice considerado.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a quienes nos ayudaron en la toma de dato en campo: Ing. Yanet Jiménez Salmerón, M.C. Areli Madai Guzman Pozos y el señor Luis Méndez Hidalgo. A las autoridades locales de los Ejidos San Juan Bautista Cuicatlán, especialmente a Romeo Adalberto Salinas González, al ejido Santa María Tecomavaca y al ejido San Juan de los Cues. Al Colegio de Postgraduados por el financiamiento para el desarrollo de la presente investigación. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada.

REFERENCIAS

- Andrés AR, D Espinosa. 2002. Morfología de plántulas de *Bursera Jacq.* ex L. (Burseraceae) y sus implicaciones filogenéticas. *Botanical Sciences* (70): 5-12. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.1652>
- Azócar A, F Rada, C García. 1999. Aspectos ecofisiológicos para la conservación de ecosistemas tropicales contras-

- tantes. *Botanical Sciences* (65): 89-94. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.1599>
- Bongers F, J Popma, J Meave, J Carabias. 1988. Structure and floristic composition of the lowland rain forest of Los Tuxtlas, Mexico. *Vegetatio* 74(1): 55-80. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00045614>
- Cruz E, V Mariles, M Gómez, F Solares, V Serrano, MA Cano, D Ayerde. 2009. Ecología y áreas potenciales de distribución del lináloe (*Bursera linanoe* (La Llave) Rzedowski, Calderón & Medina). DF, México. INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, MX) - Campo Experimental Valles Centrales de Oaxaca. 45 p.
- Ettema CH, DA Wardle. 2002. Spatial soil ecology. *Trends in ecology & evolution* 17(4): 177-183.
- Figueroa E, F Puebla, H Godínez, J Núñez. 2009. Seed dispersal effectiveness by understory birds on *Dendropanax arboreus* in a fragmented landscape. *Biodiversity and Conservation* 18(13): 3357-3365. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10531-009-9645-z>
- Gadow KV, OS Sánchez, JG Álvarez. 2007. Estructura y crecimiento del bosque. Göttingen, Alemania. Universidad de Göttingen. 287 p.
- García E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. DF, México. Instituto de Geografía-UNAM (Universidad Autónoma de México). 90 p.
- García C, A Azócar. 2004. Ecología de la regeneración de árboles de la sabana. *Ecotropicos* 17(1-2): 1-24.
- Griffith DA, PR Peres-Neto. 2006. Spatial modeling in ecology: the flexibility of eigenfunction spatial analyses. *Ecology* 87(10): 2603-2613. DOI: [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2006\)87\[2603:SMIETF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2006)87[2603:SMIETF]2.0.CO;2)
- Guevara F, J Rzedowski. 1980. Notas sobre el género *Bursera* (Burseraceae) en Michoacán (México). I. Tres especies nuevas de los alrededores de la presa del infiernillo, con algunos datos relativos a la región. *Botanical Sciences* 39: 63-81. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.1175>
- Linares R. 2005. Spatial distribution patterns of trees in a seasonally dry forest in the Cerros de Amotape National Park, northwestern Peru. *Revista Peruana de Biología* 12(2): 317-326.
- Luna JJ, G Rodríguez, JR Enríquez, J Ruíz, JA García, GV Campos. 2018. Frutos y semillas de *Bursera simplex* Rzed. & Calderón en diferentes sitios y estructura arbórea. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 9(48): 92-114. DOI: <https://doi.org/10.29298/rmcf.v8i48.188>
- Martínez M, E Álvarez. 1995. Ecología de poblaciones de plantas en una selva húmeda de México. *Botanical Sciences* 56: 121-153.
- Maza S, F Macedo, J Rodríguez, K Oyama, M Martínez. 2014. Variación de la estructura y composición de comunidades de árboles y arbustos entre tipos de vegetación en la Cuenca de Cuitzeo, Michoacán. *Botanical Sciences* 92(2): 243-258.
- Morisita M. 1959. Measuring of the dispersion of individuals and analysis of the distributional patterns. *Memoirs of the Faculty of Science Kyushu University Serie E* 2(4): 5-23.
- Ramírez N, MK Arroyo. 1990. Estructura Poblacional de *Copaifera pubiflora* Benth. (Leguminosae: Caesalpinioideae) en los Altos Llanos Centrales de Venezuela. *Biotropica* 22(2): 124-132.
- Rey PJ, JM Alcántara. 2000. Recruitment dynamics of a fleshy-fruited plant (*Olea europaea*): Connecting patterns of seed dispersal to seedling establishment. *Journal of Ecology* 88(4): 622-633. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2000.00472.x>
- Ripley BBD. 1977. Modelling Spatial Patterns. *Royal Statistical Society: Series B (Methodological)* 39(2): 172-192. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1977.tb01615.x>
- Rzedowski J, R Medina, G Calderón. 2004. Las especies de *Bursera* (Burseraceae) en la cuenca superior del Río Papaloapan (México). *Acta Botánica Mexicana* 66: 23-151. DOI: <https://doi.org/10.21829/abm66.2004.970>
- SMN (Servicio Meteorológico Nacional, MX). 2010. Normales climatológicas de la estación, periodo 1951-2010. Comisión Nacional del Agua. Consultado 20 enero 2019. Disponible en <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica/normales-climatologicas-por-estado>
- Sotelo ED, CA Ortiz. 2001. Comparación de la información edafológica de INEGI, con la generada por la clasificación campesina de tierras en Oriental, Puebla México. *Terra Latinoamericana* 19(3): 211-217.
- Suzán H, OO Ponce, GX Malda, VH Cambrón, IG Carrillo. 2017. Edge effect on the population structure and the reproductive success of two *Bursera* species. *Botanical Sciences* 95(1): 9-22. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.775>
- Velasco MV, JI Valdez, C Ramírez, ML Hernández. 2017. Atributos dendrométricos, estructura poblacional y diversidad de estadios de *Dioon holmgrenii* (Cycadales: Zamiaceae). *Revista de Biología Tropical* 65(4): 1609-1624. DOI: <https://doi.org/10.15517/rbt.v65i4.26980>
- Wilcke W, Y Oelmann, A Schmitt, C Valarezo, W Zech, J Hoemeier. 2008. Soil properties and tree growth along an altitudinal transect in Ecuadorian tropical montane forest. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 171(2): 220-230. DOI: <https://doi.org/10.1002/jpln.200625210>

Recibido: 28.06.21
Aceptado: 16.06.22

Relación del tamaño de la sámara con la dispersión de *Gallesia integrifolia* (Phytolaccaceae) en un bosque seco tropical

Relationship of samara size with dispersal of *Gallesia integrifolia* (Phytolaccaceae) in a tropical dry forest

José Miguel Romero-Saritama ^{a*}, Karla Minga ^b, Ángel Benítez ^{a,c}

*Autor de correspondencia: ^a Universidad Técnica Particular de Loja, Departamento de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, San Cayetano alto s/n, Loja, Ecuador, tel.: +593 07 370 1444, jmromero@utpl.edu.ec

^b Universidad Técnica Particular de Loja, Maestría en Biología de la Conservación y Ecología Tropical, Loja, Ecuador.

^c Universidad Técnica Particular de Loja, Departamento de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Herbario HUTPL, Biodiversidad de Ecosistemas Tropicales - BIETROP, San Cayetano, Loja, Ecuador.

SUMMARY

Dispersion is a key element in plant life, allowing them to colonize and establish in new environments. The morphological traits involved in structures specialized in species dispersal play an important role in this process. In this work, the relationship between samara size and the distance and dispersion speed of *Gallesia integrifolia* in an enclosed environment and one with the presence of wind, at two experimental heights, was analyzed and compared. Results showed high variation and correlation among the morphological samara traits. Positive and significant relationships between the samaras dimensions were evident with the distance and speed of flight at one and two meters high in the open environment. On the other hand, a defined pattern for the enclosed environment was not found, resulting in negative relationships in the size of samaras with the distance and speed of flight at the height of one meter. Knowing the effect of morphological traits on dispersal contributes to a better understanding of seed ecology based on the morphological traits of samaras, understanding current species dispersal and distribution processes, and knowing the ability of forest plants to cope with potential future climate change scenarios in dry forests.

Keywords: wind dispersal, dry forest, dispersal distance, intra-specific variation, dispersion speed.

RESUMEN

La dispersión es un elemento ecológico clave que posibilita a las plantas colonizar nuevos ambientes, existiendo varios componentes morfológicos en las semillas que tienen incidencia en los patrones de dispersión. En el presente estudio se analizó la relación del tamaño de la sámara en el comportamiento de dispersión de *Gallesia integrifolia*, distribuida en un bosque seco. Se midió diferentes rasgos morfológicos en las sámaras y se las liberó desde dos alturas experimentales *ex situ* dentro de un ambiente con presencia de viento y en otro sin viento, procediendo a medir la velocidad de descenso y distancia de dispersión. Los resultados mostraron alta variación morfológica de la sámara, encontrando correlaciones significativas entre el tamaño de la sámara con la distancia y velocidad de dispersión. En condiciones de viento, las sámaras más grandes se dispersaron a mayor distancia en las dos alturas de liberación. En cambio, en el ambiente sin viento se encontró una correlación negativa cuando fueron expuestas a menor altura. La velocidad de caída de las sámaras fue más lenta cuando se liberó la sámara a una mayor altura en los dos tipos de ambiente. Conocer el efecto de la morfología en la dispersión, contribuye a comprender mejor la ecología de semillas basado en rasgos morfológicos y a entender los procesos actuales de dispersión y distribución de las especies vegetales.

Palabras clave: anemocoría, bosque seco, distancia de dispersión, variación intraespecífica, velocidad de dispersión.

INTRODUCCIÓN

Las semillas, son el componente más complejo y el método exitoso de la reproducción sexual en plantas vasculares. Presentan alta diversidad morfológica en sus atributos cuantitativos y cualitativos; determinados por diferentes componentes genéticos, condiciones ambientales y por los recursos que la planta madre asigna para la producción de

las semillas (Leishman *et al.* 2000). La variabilidad de los rasgos morfológicos presente en las semillas ha tenido un efecto en la germinación, establecimiento de plántulas y en las estrategias que usan las plantas para su dispersión en tiempo y distancia.

Las especies dispersadas por el viento han desarrollado estructuras morfológicas que ayudan a reducir la velocidad de descenso de las semillas y viajar por corrientes de

aire por un determinado tiempo. Entre estas estructuras constan; la presencia de pelos y sámaras, que permiten a las plantas mejorar su capacidad de dispersión y colonización de nuevos sitios, reducir la presión por competencia y alcanzar nichos que favorezcan la regeneración (Wenny 2001), lo que, a su vez, permite dar forma a las comunidades, determinando patrones de distribución, configuración del paisaje, invasiones de plantas y procesos evolutivos (Howe y Miriti 2004, Planchuelo *et al.* 2016).

Por su parte, las sámaras son unos frutos típicos estructuralmente adaptado a la dispersión anemócora, caracterizados por una gran variabilidad morfológica que influye en los patrones de dispersión de las diferentes especies; encontrándose presentes en 25 órdenes, 45 familias y 140 géneros de angiospermas (Der Weduwen y Ruxton 2019). En este contexto, algunos estudios han documentado que no hay una relación entre el tamaño de la sámara y procesos de dispersión (Delgado *et al.* 2009, Augspurger *et al.* 2016), mientras que, otros estudios mencionan que hay un efecto positivo en la velocidad de descenso con las estructuras dispersadas por el viento, incluidas las sámaras (Sipe y Linnerooth 1995, Planchuelo *et al.* 2016). Un ejemplo de esto se da en la especie *Ailanthus altissima* (Miller) Swingle, donde las variables morfológicas tienen un efecto significativo en la determinación de las capacidades de vuelo de la sámara (Planchuelo *et al.* 2016). Siguiendo este mismo patrón, Vander (2003) identifica en semillas aladas de pinos que el tamaño grande disminuye la dispersión por el viento. Por lo tanto, una mejor comprensión de los rasgos de las sámaras de las especies forestales es esencial para poder predecir el destino de la semilla (Der Weduwen y Ruxton 2019), conocer su capacidad de adaptarse, recuperarse y recolonizarse después de eventos climáticos cambiantes o desfavorables (Der Weduwen y Ruxton 2019), especialmente en zonas áridas donde las condiciones de estrés ambiental pueden jugar un rol importante en el establecimiento de las especies vegetales.

Gallesia integrifolia (Spreng.) Harms (Phytolaccaeae), es un árbol caducifolio de 18 a 20 m de altura, con frutos tipo sámara de aproximadamente 3 cm y con una sola semilla en su interior (Rajput *et al.* 2012, Romero-Saritamá y Draper 2017). No obstante, en el presente estudio se encontró sámaras de uno a más de tres cm de largo. La sámara de *G. integrifolia* posee glándulas productoras de esencias con olor característico similar al ajo que puede percibirse a varios metros de distancia. El aceite esencial de los frutos tiene un excelente desempeño en el control fungistático y fungicida de varios hongos, considerándose una alternativa potencial para reducir el uso de fungicidas sintéticos (Raimundo *et al.* 2018). En cambio, la especie tiene un alto potencial forestal y su madera es duradera (Carvalho 1994), siendo utilizada en carpintería, construcciones y leña, las hojas son buen forraje para el ganado (Aguirre 2012). En zonas degradadas ayuda a la regeneración natural debido a la intensa producción y dispersión de frutos anemocóricos (Barbosa y Pizo 2006).

En Ecuador, *G. integrifolia* se encuentra distribuida en los bosques secos de las provincias de Loja, El Oro y Guayas entre 0 y 1.000 m s.n.m. (Aguirre 2012). Estos bosques han sido altamente intervenidos y fragmentados debido a presiones antrópicas (Romero-Saritamá y Pérez Ruiz 2016). Estudios sobre la dispersión anemócora de especies forestales presentes en el país han sido escasos. El conocimiento de cómo la estructura y tamaño de la sámara influye en la dispersión de la especie, mejoraría enormemente nuestra comprensión sobre el potencial de dispersión, la dinámica de la población, los cambios en el rango geográfico, las invasiones y las respuestas de la especie a los cambios en el hábitat y el clima (Horn *et al.* 2001). Además, dado el futuro incierto de cambios climáticos globales, se hace necesario acelerar estudios sobre la ecología de la dispersión de las especies vegetales forestales en ambientes de estrés ambiental. No obstante, estudios controlados con sámaras en ambientes naturales han resultado difíciles de realizar (Nathan *et al.* 2008), ya sea por la presencia de turbulencia de viento (Ladera y Pineda 2009), altura de las plantas o vegetación circundante. Si bien, se han realizado esfuerzos para medir directamente la dispersión a través de experimentos de campo marcando las diásporas con pintura (Von der Lippe *et al.* 2013, Cabra-Rivas *et al.* 2014) o utilizando trampas a distintas distancias del árbol parental (Bullock y Clarke 2000), los propios autores mencionan que, los experimentos de campo han presentado variables difíciles de controlar.

En tal virtud, esta investigación explora *ex situ*, los efectos del tamaño de la sámara de *Gallesia integrifolia* sobre la dispersión en dos escenarios experimentales, con presencia y ausencia de viento y en dos alturas de liberación. Proponiendo las siguientes preguntas; a) ¿Las sámaras de mayor tamaño favorecen a una mayor distancia de dispersión con una tasa de descenso menor? b) ¿Existe un efecto de la altura de lanzamiento y la presencia de viento sobre la distancia y velocidad de dispersión en función del tamaño de las sámaras? En este marco, nuestra hipótesis está enmarcada en que las sámaras de mayor tamaño tendrán mayor superficie de contacto con el aire circundante permitiéndoles permanecer más tiempo suspendidas, lo que provocaría una mayor distancia de dispersión a una velocidad más lenta, posibilitando que la sámara se aleje más de la planta madre en condiciones de viento.

MÉTODOS

Recolección de sámaras. Durante julio de 2019 se recolectaron al azar aproximadamente 2.000 sámaras maduras (en procesos de dispersión) de 10 individuos distribuidos en un remanente de bosque seco al sur occidente de la provincia de Loja – Ecuador (4° 2' 12,2" S, 79° 46' 2,3" E). El área presenta una temperatura media anual de 20 a 26 °C, se caracteriza por una estación lluviosa desde diciembre a abril y una estación seca de mayo a noviembre, con una precipitación media anual de 500 mm (Espinosa *et al.* 2011). Las sámaras, luego de su recolección se mezclaron

para formar un solo lote que, posteriormente, se almacenó en recipientes herméticos a temperatura ambiente hasta su uso. Los frutos dañados fueron descartados en el estudio.

Tamaño de sámara. Del total de lote recolectado se utilizó una muestra al azar de 200 sámaras y se las separó individualmente en recipientes herméticos. Las sámaras fueron fotografiadas frontalmente y se usó una regla como escala para la referencia del tamaño. Posteriormente, mediante el programa de acceso libre ImageJ del Instituto de Salud Nacional de EE. UU. (NIH 2021), se procedió a medir el tamaño que incluyó; largo total de la sámara (parte alada más estructura correspondiente a la semilla - Lt), largo (La) y ancho de la parte alada (Aa), largo (Ls) y ancho de la estructura considerada semilla (As) (figura 1). Adicionalmente, se calculó el área (A) y determinó el peso (P) de la sámara mediante una balanza de precisión (marca Sartorius de cinco dígitos). Todos los ensayos fueron realizados en el laboratorio de Botánica de la Universidad Técnica Particular de Loja.

Ensayo de dispersión. Primeramente, se seleccionaron dos escenarios experimentales *ex situ*; A) un ambiente cerrado (AC) en ausencia de viento y B) un ambiente abierto (AA) con influencia de viento. Los ensayos en ambiente cerrado se realizaron en el laboratorio de Botánica de la Universidad Técnica Particular de Loja - Ecuador, donde se evitó la presencia de corrientes de aire. El ambiente abierto consis-

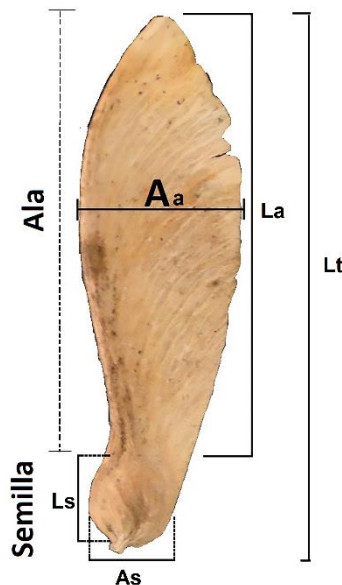


Figura 1. Vista de la estructura, forma y variables medidas en la sámara de *G. integrifolia*. Lt= Largo total de la sámara (parte alada + estructura correspondiente a la semilla). Aa = Ancho del ala, La = Largo ala, Ls = Largo semilla y As = Ancho semilla.

View of the structure and asymmetrical samara shape. Morphological traits measured in the *Gallesia integrifolia* samara. LT = total samara length (winged part + structure corresponding to the seed). L = Length, A = wide of both wing and seed.

tió en un lugar con presencia de viento dentro del campus universitario donde se registraron velocidades de viento entre 3,2 y 4,2 m s⁻¹. durante el experimento. Posteriormente, se utilizaron dos alturas controladas de lanzamiento de las sámaras; a uno y dos metros (Moussa *et al.* 2014). Identificados los escenarios y las alturas correspondientes, se procedió a soltar cada sámara por dos ocasiones, procediendo a medir con un cronómetro el tiempo (segundos) de descenso (caída libre) de las sámaras hasta la llegada al suelo (Greene y Johnson 1993). Así mismo, se registró en metros, la distancia horizontal de recorrido desde el punto de lanzamiento hasta el punto de caída. Este proceso se lo realizó para toda la muestra de sámaras previamente medidas. El tiempo transcurrido entre el primer y segundo lanzamiento de la sámara varió entre 1,5 a 5 minutos.

Análisis de datos. Previo al modelo y correlación se verificó la normalidad de los datos con la prueba de Shapiro-Wilk ($P < 0,05$). En cuanto a la correlación, todas las variables independientes (Largo total (Lt), Largo del ala (La), Ancho del ala (Aa), Largo semilla (Ls), Ancho de semilla (As), Peso (P) y Área (A)) presentaron un coeficiente de correlación de Spearman alto y significativo ($\rho \geq 0,30$), por ello, se seleccionó la variable largo total de la sámara para ejecutar los modelos estadísticos. Para determinar los efectos de las variables independientes largo de la sámara, ambiente y altura sobre las variables dependientes velocidad y distancia de dispersión se realizó un Modelo Lineal Generalizado Mixto (GLMM) de medidas repetidas (Pinheiro y Bates 2000, Norden *et al.* 2007) con la función “lme”, debido a que las semillas estuvieron anidadas a las variables altura y ambiente. En el modelo se incluyó velocidad / distancia en función de largo total, distancia y altura como factores fijos y semilla como factor aleatorio. El ajuste del modelo se realizó con máxima verosimilitud restringida (REML) y la selección del mejor modelo en base al criterio de información de Akaikei (AIC). Finalmente, se realizó una prueba de comparaciones múltiple entre pares de ambientes y alturas relacionadas con la distancia y velocidad utilizando la función “lsmeans” del paquete estadístico “lsmeans”. Todos los análisis se realizaron con el entorno de programación R Project (R Development Core Team 2011).

RESULTADOS

Las sámaras de *G. integrifolia* presentaron un rango de variación de 11,4 a 30,9 mm de largo con 3,41 a 12,1 mm de ancho, siendo el largo total (Lt), largo (La) y ancho del ala (Aa) y área, los rasgos que presentaron mayor variación ($> 23\%$) (cuadro 1). En cambio, dentro de las variables de dispersión, los valores en la distancia a uno y dos metros en un ambiente cerrado mostraron altas variaciones (cuadro 2).

Los análisis mostraron que existe correlaciones significativas ($P < 0,005$) entre el tamaño de las sámaras y la distancia de dispersión (figura 2). En el ambiente con presencia de viento (AA), las sámaras más grandes se dispersan

Cuadro 1. Media \pm desviación estándar y coeficiente de variación de los diferentes rasgos morfológicos estudiados. n = 200.
 Average \pm standard deviation and coefficient of variation of morphological traits recorded in samaras. n = 200.

Variable	Media y desviación estándar	Coefficiente de variación %
Largo total (mm)	21,22 \pm 5,60	26,41
Largo ala (mm)	16,31 \pm 5,19	31,80
Largo semilla (mm)	4,90 \pm 0,75	15,32
Ancho ala (mm)	7,32 \pm 1,69	23,13
Ancho semilla (mm)	4,88 \pm 0,63	12,83
Área (mm ²)	101,36 \pm 47,80	47,15
Peso (g)	0,04 \pm 0,01	21,75

Cuadro 2. Media \pm desviación estándar (coeficiente de variación - %) de los parámetros de dispersión estudiados en los dos ambientes experimentales. n = 200.

Average \pm standard deviation (coefficient of variation - %) of the studied dispersion parameters in both experimental environments. n = 200.

	Altura	Distancia (m)		Velocidad (m/s)	
		1 m	2 m	1 m	2 m
Ambiente	Cerrado	0,34 \pm 0,31 (90,60)	0,27 \pm 0,25 (92,09)	0,60 \pm 0,08 (13,96)	1,21 \pm 0,19 (16,03)
	Abierto	0,47 \pm 0,18 (37,41)	0,67 \pm 0,16 (23,88)	0,95 \pm 0,17 (18,02)	1,56 \pm 0,19 (12,39)

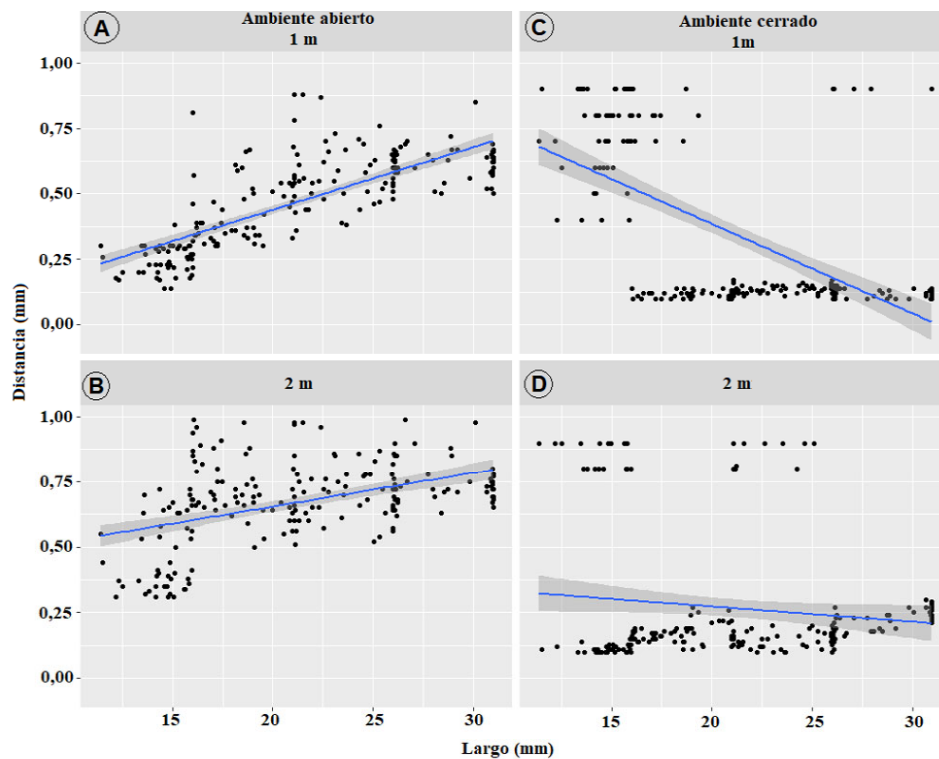


Figura 2. Correlación del largo total (Lt) con la distancia de dispersión de las sámaras en los ambientes experimentales y según las dos alturas utilizados en el estudio.

Relationship of the size and dispersal distance of the samaras in the two environments studied and in the experimental heights.

a una mayor distancia y aquellas liberadas a mayor altura su distancia de dispersión aumentó (figura 2B), aunque, con una menor fuerza de correlación ($r^2 = 0,48$) que las liberadas a un metro ($r^2 = 0,81$). En cambio, en un ambiente cerrado (AC) (figura 2C, 2D), se evidenció una correlación negativa entre el tamaño de la sámara y la distancia de dispersión a un metro ($r^2 = -0,56$). A diferencia de las liberadas a mayor altura, donde las sámaras más grandes se dispersaron a una mayor distancia. En ambas alturas del ambiente cerrado, los coeficientes de correlación fueron menores y las distancias de dispersión más cortas que las identificadas en el ambiente abierto.

Con respecto a la relación del tamaño de la sámara con la velocidad de dispersión (figura 3), se encontró correla-

ciones altas positivas entre estas dos variables ($P < 0,005$), a excepción de las sámaras liberadas a un metro en el ambiente cerrado (figura 3C), donde, no se evidenció ninguna correlación ($r^2 = 0,12$). En cambio, las sámaras más grandes caen más despacio cuando son liberadas a mayor altura y en presencia de viento (figura 3A y 3B)

El GLMM señaló que el tamaño y el ambiente cerrado influyeron negativamente en la distancia de recorrido de las sámaras, mientras que, la altura, ya sea de uno o de dos metros y el ambiente abierto influyó positivamente en la distancia de dispersión (cuadro 3).

Por otra parte, los análisis mostraron que la velocidad de dispersión fue afectada positivamente por el tamaño de las sámaras cuando fueron expuestas a las dos alturas y

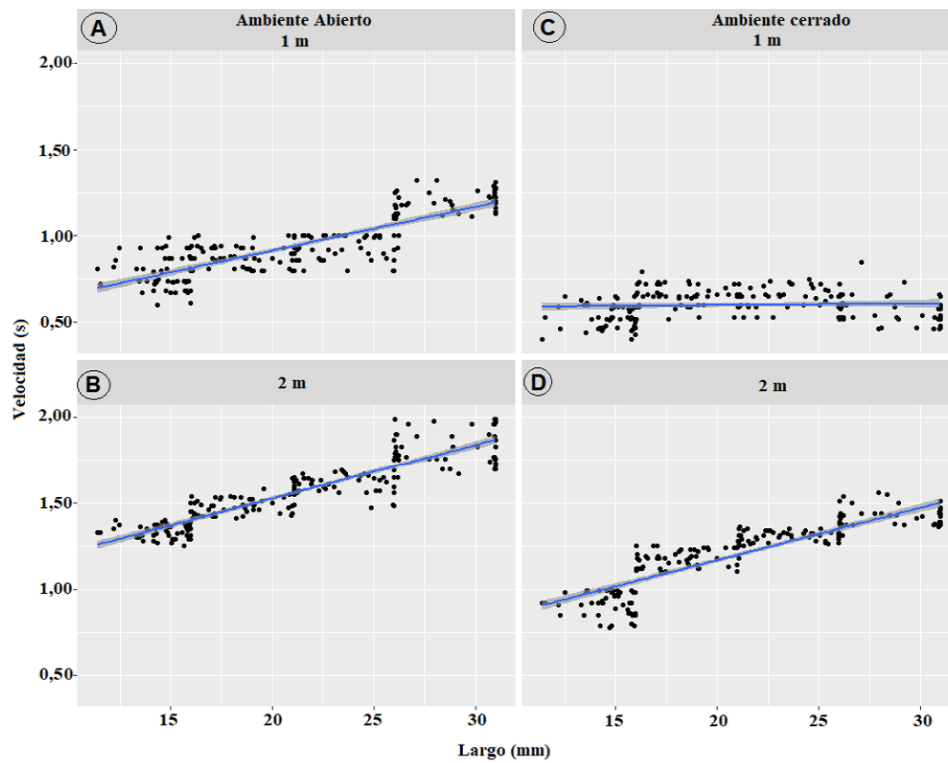


Figura 3. Correlación del largo total (Lt) con la velocidad de dispersión de las sámaras en los ambientes y alturas utilizados en el estudio.
 Relationship of the size and dispersion speed of the samaras in the two environments studied and in the experimental heights.

Cuadro 3. Resultados del LMM de la distancia en función del tamaño, altura y ambiente.

GLMM results of distance based on size, range, height and environment.

Factores	Estimador	Error estándar	Estadístico T	Valor-p
Largo Total	-0,001	0,002	-0,50	0.616
Altura 1m	0,555	0,036	15,57	0,001
Altura 2m	0,616	0,036	17,30	0,001
AC	-0,264	0,017	-15,46	0,001
AA	0,555	0,036	15,57	0,001

al ambiente abierto. A diferencia del escenario sin viento donde se evidenció una influencia negativa en la velocidad de dispersión de las sámaras (cuadro 4).

Asimismo, al realizar las comparaciones múltiples entre las dos alturas de lanzamiento de las sámaras y los ambientes abierto y cerrado se identificó la existencia de diferencias significativas ($P < 0,05$) con respecto a la velocidad y distancia de dispersión de las sámaras (cuadro 5).

DISCUSIÓN

El estudio de rasgos morfológicos regenerativos permite entender la capacidad de adaptación, dispersión, germinación, colonización y establecimiento de plantas en diferentes ecosistemas (Romero-Saritamá 2016), los mismos que, han sido poco analizados en los bosques secos tropicales sudamericanos. Nuestros resultados aportan con información para entender la anemocoría basada en rasgos morfológicos de las sámaras de especies forestales en zonas áridas.

Gallesia integrifolia presenta alta variación intraespecífica en la sámara; característica similar a la encontrada en otras especies como en *Ailanthus altissima* (Delgado *et al.* 2009) y *Platypodium elegans* J. Vogel (Augsburger *et al.* 2016). La variación morfológica en la sámara posiblemente asegura diferentes patrones de vuelo para su dis-

persión. Adicional, para la especie en estudio, se encontró una correlación positiva entre todas las variables morfológicas medidas en la sámara, lo que sugiere una relación isométrica dentro de los rasgos morfológicos de la sámara de *G. integrifolia*, es decir, un cambio en la longitud conduce necesariamente al mismo cambio proporcional en otros parámetros morfológicos (Greene y Johnson 1993). Relaciones isométricas se ha evidenciado en sámaras de *Hopea hainanensis* Merrill y Chun (Song *et al.* 2020).

Dentro de los rasgos morfológicos estudiados en sámaras, la masa y el área han sido generalmente los más utilizados para calcular el potencial de dispersión por el viento, aunque, como lo menciona Minami y Azuma (2003) no siempre han sido los más influyentes. En el caso de *G. integrifolia* el peso y el área, bajo modelos de regresión lineal presentan escasa estimación del potencial de dispersión, situación similar a la encontrada por Planchuelo *et al.* (2016), donde, esos dos rasgos no fueron grandes predictores en la estimación de la dispersión de *Ailanthus altissima*. Siendo importante que los análisis de los rasgos en la sámara deben extenderse más allá del fuerte enfoque tradicional que se tiene en el peso (Saatkamp *et al.* 2019).

Al evaluar el tamaño de las sámaras con la velocidad y distancia de dispersión, en el ambiente abierto con presencia de viento, observamos que, las sámaras más grandes a

Cuadro 4. Resultados del LMM de la velocidad en función del tamaño, altura y ambiente.

GLMM results of dispersal velocity based on size, range, height and environment.

Factores	Estimador	Error estándar	Estadístico T	Valor-p
Largo Total	0,022	0,001	30,88	0,001
Altura 1m	0,484	0,017	29,21	0,001
Altura 2m	1,095	0,017	66,15	0,001
Ambiente cerrado	-0,353	0,008	-44,45	0,001
Ambiente abierto	0,484	0,017	29,21	0,001

Cuadro 5. Comparaciones entre los ambientes en estudio y la altura en función de la velocidad y distancia.

Multiple comparisons between studied environments and height as a function of speed and distance.

Comparaciones	Velocidad			Distancia		
	Estimador	Error estándar	Valor-p	Estimador	Error estándar	Valor-p
AA 1m - AC 1m	0,347	0,017	0,001	0,124	0,023	0,001
AA 1m - AA 2m	-0,618	0,016	0,001	-0,201	0,023	0,001
AA 1m - AC 2m	-0,259	0,017	0,001	0,203	0,023	0,001
AC 1m - AA 2m	-0,965	0,016	0,001	-0,326	0,023	0,001
AC 1m - AC 2m	-0,606	0,016	0,001	0,079	0,023	0,004
AA 2m - AC 2m	0,359	0,016	0,001	0,404	0,023	0,001

AA = ambiente abierto, AC = ambiente cerrado.

diferencia de las pequeñas caen a una velocidad más lenta con una distancia de dispersión más larga, sobre todo, cuando son liberadas a una mayor altura. Esto puede deberse a que la sámara de *G. integrifolia*, al incrementar su tamaño aumenta la superficie de contacto con su entorno que, ante la presencia de viento, la sámara queda atrapada en corrientes de aire, lo que favorece a un mayor tiempo de suspensión (Buitrago y López 2015). En cambio, el tamaño de la sámara se vuelve menos explicativo con respecto a la velocidad y distancia de dispersión en un ambiente cerrado, especialmente a una menor altura de liberación. Sin embargo, al liberar la sámara a dos metros de altura, se evidencia que las sámaras más grandes presentan una tasa de velocidad similar a aquellas que fueron liberadas a menor altura en el ambiente abierto. Que las sámaras grandes caigan más lentamente en un ambiente sin viento a mayor altura de liberación; puede implicar que, tanto, la asimetría como el perfil morfológico de la sámara, le permitan, durante una mayor distancia de caída, rotar lo suficiente para mantenerse más tiempo suspendida en un ambiente estático, así, como lo demuestra Green (1980) en sámaras del género *Acer*, donde, la asimetría de las sámaras juega un rol importante en la velocidad de dispersión, influyendo en la tasa de descenso (McCutchen 1977).

Nuestros resultados muestran que en un escenario con presencia de viento favorece a una menor velocidad de caída y mayor distancia de dispersión, este mismo efecto se presenta cuando las sámaras se sueltan a una mayor altura a excepción del ambiente en calma donde la altura presenta un efecto nulo o negativo en la distancia de dispersión. En la especie *Jacaranda copaia* (Aubl.) D. Don, que produce semillas aladas, aunque con características morfológicas diferentes a *G. integrifolia*, Wright *et al.* (1992), en un estudio de simulación, también determinaron que la altura mejora la elevación de semillas dispersadas por el viento (Wright *et al.* 1992). A pesar de que, esta relación puede tener implicaciones lógicas, hay que tomar en cuenta que, en un ambiente natural, después de la liberación de las sámaras la variación vertical y horizontal de las corrientes de aire y la colisión con la vegetación circundante puede anular el efecto de la variación de los rasgos de las sámaras (Augspurger *et al.* 2016) como se ha evidenciado en *Pinus halepensis* Mill. (Nathan *et al.* 2001).

Asimismo, el efecto positivo en la dispersión en función de la altura y tipo de ambiente con respecto al tamaño de la sámara, a diferencia de sámaras pequeñas, las más grandes se ven favorecidas cuando son liberadas a una mayor altura y en presencia de viento. En un ambiente natural, las sámaras más grandes que se encuentran en el dosel del árbol, por lo tanto, a una mayor altura de liberación, tendrían mayor posibilidad alejarse más de la planta, no solo por la misma presencia del viento, sino, porque la velocidad promedio del viento aumenta cerca de la parte superior del dosel, pudiendo impulsar a las sámaras fuera del dosel (Nathan *et al.* 2008).

CONCLUSIONES

En especies que producen alta variación morfológica en sus componentes de dispersión, como es el caso de la sámara en *G. Integrifolia*, nuestros resultados respaldan la importancia de incorporar rasgos morfológicos más allá del peso o el área de las sámaras para ayudar a predecir de la mejor manera el potencial de dispersión de las especies forestales, sobre todo, en los bosques donde las condiciones de aridez ambiental son desfavorables para el establecimiento, sobrevivencia y desarrollo de las plantas. Los datos experimentales obtenidos en *G. integrifolia* predicen que las sámaras más grandes, al tener mayor superficie de contacto con el entorno se ven favorecidas para una mayor distancia de dispersión, especialmente cuando las sámaras son liberadas a mayor altura y con presencia de corrientes de viento.

Finalmente, el efecto positivo del tamaño de las sámaras en la dispersión de *G. integrifolia* permite un acercamiento a la ecología de la dispersión de especies leñosas que producen sámaras como su medio de dispersión en los bosques secos; ecosistemas que, por su alta vulnerabilidad ecológica y proceso de cambio climático, la distribución natural de las especies se ve afectada. Por lo tanto, conocer los mecanismos por los cuales *G. integrifolia* se dispersa, podrá ayudar a mejorar los modelos que predicen la dispersión de semillas para otras especies dispersadas por el viento en las zonas áridas.

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro agradecimiento al programa de maestría en Biología de la Conservación y Ecología Tropical del Departamento de Ciencias Biológicas de Universidad Técnica Particular de Loja. Asimismo, a los revisores anónimos que con sus comentarios permitieron mejorar el trabajo.

REFERENCIAS

- Aguirre Z. 2012. Especies forestales de los bosques secos Ecuador. Guía para su identificación. Quito, Ecuador. Ministerio del Ambiente de Ecuador. 140 p.
- Augspurger C, SE Franson, KC Cushman, HC Muller-Landau. 2016. Intraspecific variation in seed dispersal of a Neotropical tree and its relationship to fruit and tree traits. *Ecology and Evolution* 6(4): 1128-1142. DOI: <https://doi.org/10.1002/ece3.1905>
- Barbosa KC, MA Pizo. 2006. Seed Rain and Seed Limitation in a Planted Gallery Forest in Brazil - Restoration. *Ecology* 14(4): 504-515.
- Bontemps A, EK Klein, S Oddou-Muratorio. 2013. Shift of spatial patterns during early recruitment in *Fagus sylvatica*: evidence from seed dispersal estimates based on genotypic data. *Forest Ecology and Management* 305: 67-76. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2013.05.033>
- Buitrago J, L López. 2015. Síndromes de dispersión de diásporas de las especies arbustivo y arbóreas de tres tipos de coberturas del Parque Natural Quinini, municipio de Tibacuy, Cundinamarca, Colombia. *Biodiversidad Neotropical* 5(1): 7-15.

- Bullock JM, RT Clarke. 2000. Long distance seed dispersal by wind: measuring and modelling the tail of the curve. *Oecologia* 124: 506-521.
- Cabra-Rivas I, Á Alonso, P Castro. 2014. Does stream structure affect dispersal by water a case study of the invasive tree *Ailanthus altissima* in Spain. *Management Biological Invasions* 5(2): 179-186. DOI: <http://dx.doi.org/10.3391/mbi.2014.5.2.11>
- Carvalho P. 1994. Espécies florestais brasileiras, recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. Brasília, Brasil. Embrapa. 639 p.
- Delgado JA, MD Jiménez, A Gómez. 2009. Samara size versus dispersal and seedling establishment in *Ailanthus altissima* (Miller) Swingle. *Journal of Environmental Biology* 30(2): 183-186.
- Der Weduwen D, G Ruxton. 2019. Secondary dispersal mechanisms of winged seeds. *Biological Reviews* 94: 1830-1838. DOI: <https://doi.org/10.1111/brv.12537>
- Espinosa C, O Cabrera, A Luzuriaga, A Escudero. 2011. What Factors Affect Diversity and Species Composition of Endangered Tumbesian Dry Forests in Southern Ecuador. *Biotropica* 43(1): 15-22. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2010.00665.x>
- Green D. 1980. The terminal velocity and dispersal of spinning samaras. *American Journal of Botany* 67(8): 1218-1224. DOI: <https://doi.org/10.2307/2442364>
- Greene D, E Johnson. 1993. Seed mass and dispersal capacity in wind-dispersed diaspores. *Oikos* 67(1): 69-74. DOI: <https://doi.org/10.2307/3545096>
- Horn HS, R Nathan, SR Kaplan. 2001. Long-distance dispersal of tree seeds by wind. *Ecological Research* 16(5): 877-885.
- Howe HF, MN Miriti. 2004. When seed dispersal matters. *BioScience* 54(7): 651-660. DOI: [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2004\)054\[0651:WSDMJ2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2004)054[0651:WSDMJ2.0.CO;2)
- Ladera C, P Pineda. 2009. The physics of the spectacular flight of the *Triplaris samaras*. *Latin-American Journal of Physics Education* 3(3): 557-565.
- Leishman MR, AT Wright, AT Moles, M Westoby. 2000. The evolutionary ecology of seed size In Fernner M ed. Seed: the ecology of regeneration in plant communities. Second Edition. Sydney, Australia. Cabi. p. 31-58.
- McCutchen, C.W. 1997. The spinning rotation of ash and tulip tree samaras. *Science* 197: 691-692
- Minami S, A Azuma. 2003. Various flying modes of wind-dispersal seeds. *Journal of Theoretical Biology* 225(1): 1-14. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0022-5193\(03\)00216-9](https://doi.org/10.1016/S0022-5193(03)00216-9)
- Nathan R, U Safriel, I Noy-Meir. 2001. Field validation and sensitivity analysis of a mechanistic model for tree seed dispersal by wind. *Ecology* 82(2): 374-388.
- Nathan R, FM Schurr, O Spiegel, O Steinitz, A Trakhtenbrot, A Tsoar. 2008. Mechanisms of long-distance seed dispersal. *Trends Ecology Evolution* 23(11): 638-647. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.08.003>
- NIH (National Institute of Health, USA). 2021. Image J, USA. Consultado jun. 2021. Disponible en <https://imagej.nih.gov/ij/>.
- Norden N, J Chave, A Caubere, P Chatelet, N Ferroni, PM Forget, C Thébaud. 2007. Is temporal variation of seedling communities determined by environment or by seed arrival? A test in a neotropical forest. *Journal of Ecology* 95(3): 507-516.
- Pinheiro JC, DM Bates. 2000. Mixed Effects Models in S-PLUS. New York, USA. Springer. 528 p.
- Planchuelo G, P Catalán, J Delgado. 2016. Gone with the wind and the stream: dispersal in the invasive species *Ailanthus altissima*. *Acta Oecologica* 73: 31-37. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actao.2016.02.006>
- R Development Core Team. 2011. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. Consultado el 14 de ene. 2021. Disponible en <http://www.R-project.org/>.
- Raimundo K, W Campos, J Glamčlija, M Soković, J Gonçalves, G Linde, N Colauto, Z Gazim. 2018. Antifungal activity of *Gallesia integrifolia* fruit essential oil. *Brazilian Journal of Microbiology* 49(1): 229-235. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.03.006>
- Rajput K, D Romeiro, E Longui, C Marcati. 2012. Development of successive cambia and structure of wood in *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms (Phytolaccaceae). *Trees - Structure and Function* 26: 1943-1950. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00468-012-0762-z>
- Romero-Saritama JM. 2016. Caracterización morfofisiológica de semillas de especies leñosas distribuidas en dos zonas secas presentes en el Sur del Ecuador. *Ecosistemas* 25(2): 93-100. DOI: <https://doi.org/10.7818/ECOS.2016.25-2.12>
- Romero-Saritama JM, D Draper. 2017. Almacenamiento y morfología de semillas. Loja, Ecuador. Ed. Loja. 156 p.
- Romero-Saritama JM, C Pérez-Ruiz. 2016. Rasgos morfológicos regenerativos en una comunidad de especies leñosas en un bosque seco tropical tumbesino. *Ecosistemas* 25(2): 59-65. DOI: <https://doi.org/10.7818/ECOS.2016.25-2.07>
- Saatkamp A, A Cochrane, L Commander, L Guja, B Jimenez-Alfaro, J Larson, A Nicotra, P Poschold, F Silveira, A Cross, E Dalziel, J Dickie, T Erickson, A Fidelis. 2019. A research agenda for seed-trait functional ecology. *New Phytologist* 221(4): 1764-1775. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.15502>
- Sipe T, A Linnerooth. 1995. Intraspecific variation in samara morphology and flight behavior in *Acer saccharinum* (Aceraceae). *American Journal of Botany* 82(11): 1412-1419. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1995.tb12678.x>
- Song YB, XL Shen-Tu, M Dong. 2020. Intraspecific Variation of Samara Dispersal Traits in the Endangered Tropical Tree *Hopea hainanensis* (Dipterocarpaceae). *Frontiers in Plant Science*. 11: 599764. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.599764>
- Vander S. 2003. Effects of seed size of wind-dispersed pines (*Pinus*) on secondary seed dispersal and the caching behavior of rodents. *Oikos* 100(1): 25-34. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2003.11973.x>
- Von der Lippe M, JM Bullock, I Kowarik, T Knopp, MC Wichmann. 2013. Human-mediated dispersal of seeds by the airflow of vehicles. *PLOS One* 8(1): e52733. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052733>
- Wenny D. 2001. Advantages of seed dispersal : A re-evaluation of directed dispersal. *Evolutionary Ecology Research* 3: 51-74. Consultado 13 sept. 2022. Disponible en <http://www.evolutionary-ecology.com/abstracts/v03/1226.html>
- Wright R, R Wein, B Dancik. 1992. Population differentiation in seedling root size between adjacent stands of jack pine. *Forest Science* 38(4): 777-785. DOI: <https://doi.org/10.1093/forestscience/38.4.777>

Instrucciones para los autores de la revista Bosque, proceso de publicación y políticas para los árbitros

Actualización de fecha: septiembre 2022

Instrucciones para los autores

Bosque es una revista científica que publica trabajos originales relacionados con el manejo y producción de recursos forestales, ciencias y tecnología de la madera, silvicultura, ecología forestal, conservación de recursos naturales y desarrollo rural asociados con los ecosistemas forestales. Las fechas de publicación son en abril, agosto y diciembre de cada año. Las contribuciones pueden ser en las modalidades de artículos, revisiones, notas u opiniones, en castellano o inglés.

- *Artículos.* Informan acerca de investigaciones inéditas de carácter científico que proyectan el conocimiento actualizado en un campo particular contemplado en los ámbitos de la revista y están sustentados en datos procedimentales propios o generados a partir de otros estudios publicados. La extensión máxima de los manuscritos será de 8.000 palabras, considerando todo su contenido (incluye todos los archivos del manuscrito con sus contenidos completos).
- *Revisiones.* Presentan una síntesis y discusión de la información científica más actual con respecto a un tema relevante en el ámbito de la revista. La extensión máxima de los manuscritos será de 8.000 palabras, considerando todo su contenido.
- *Opiniones.* Analizan, desde un punto de vista personal o con apoyo bibliográfico, un tema de actualidad relacionado con el carácter de la revista. La extensión máxima de los manuscritos será de 3.000 palabras, considerando todo su contenido.
- *Notas.* Describen metodologías o técnicas nuevas en el ámbito de la revista, o bien informan acerca de investigaciones en desarrollo, con resultados preliminares. La extensión máxima de los manuscritos será de 3.000 palabras, considerando todo su contenido.

Estructura de los manuscritos

La organización de artículos y notas debe seguir la siguiente estructura:

- *Título.* El título debe ser preciso y conciso. Se debe elegir con cuidado todas las palabras del título; su asociación con otras palabras debería ser diligentemente revisada. Debido al acceso internacional de la revista, se recomienda incluir en el título información relevante sobre la localización geográfica del estudio cuando corresponda.

- *Autores.* Indicar el nombre y apellido de todos los autores con letras minúsculas, con las letras iniciales en mayúscula. Indique un autor por línea, alineado a la izquierda. Ordene cada dirección mencionando los datos necesarios, primero la institución matriz (por ejemplo, la universidad) y luego las dependencias dentro de aquella en orden decreciente (por ejemplo, facultad, departamento, laboratorio); a continuación indique la ciudad y el país de residencia del autor. Para el autor de correspondencia, individualizado con un asterisco, se debe agregar su teléfono y correo electrónico. Opcionalmente, puede agregar el código ORCID y su correo electrónico para cada autor. Aplique el formato del siguiente ejemplo:

Nombre1 Apellido1^a
Nombre2 Apellido2^{b*}
Nombre3 Apellido3^{a,b}

^a Universidad Uuuu, Facultad Ffff, Departamento de Dddd, Ciudad, País. ORCID ID (opcional). correo@electrónico.com (opcional).

*Autor de correspondencia: ^b Universidad Uuuu, Facultad Ffff, Departamento de Dddd, Ciudad, País, tel.: 56-63-221056. ORCID ID (opcional). correo@electrónico.com

- *Resumen.* Redactado en tiempo pasado, debe contener el planteamiento del problema, el objetivo, fundamentos metodológicos, resultados y conclusiones más relevantes, con un máximo de 250 palabras. Evite descripciones largas de métodos y no incluya citas bibliográficas ni los niveles de significancia estadística.
- *Palabras clave.* Como máximo cinco palabras (puede incluir una o dos frases breves de un máximo de tres palabras) que identifiquen claramente el tema del trabajo. Se sugiere usar nuevas palabras no incluidas en el título del manuscrito.
- *Introducción.* Redactada en tiempo presente, comprende planteamiento del problema, importancia del tema, hipótesis si compete, objetivos, alcances del trabajo y limitaciones para su desarrollo, si es que las hubo. En este capítulo se realizará una síntesis e interpretación de la literatura relacionada directamente con el título y objetivos del trabajo.
- *Métodos.* Redactados en tiempo pasado, proveen información suficiente y concisa de manera que el problema o experimento pueda ser reproducido o fácilmente entendido por especialistas en la materia.

Deberán señalarse claramente las especificaciones técnicas y procedencia de los materiales usados, sin describir materiales triviales. Los organismos bióticos deberán ser convenientemente identificados de acuerdo con las normas internacionales que correspondan. En los métodos empleados se deberá señalar claramente el procedimiento experimental o de captación de datos y los métodos estadísticos, así como los programas computacionales. Si el método no fuese original, se indicará bibliográficamente; si fuera original o modificado se describirá convenientemente. En cualquier caso, la presentación de varios métodos será cronológica.

- **Resultados.** Redactados en tiempo pasado, incluyen la presentación sintética, ordenada y elaborada de la información obtenida. Entrega resultados en forma de texto escrito con apoyo de cuadros y figuras, si corresponde, conjuntamente con análisis e interpretación de los datos. Se deberá evitar tanto la repetición de detalles dados en otros capítulos como la descripción de aquello que sea evidente al examinar los cuadros o figuras que se presenten.
- **Discusión.** Redactada en tiempo presente, incluye la interpretación integrada de los resultados y, cuando corresponda, la comparación de ellos con los de publicaciones previas. Consiste en un análisis crítico de los resultados de acuerdo con los objetivos y/o hipótesis. Debe comentarse el significado y la validez de los resultados, de acuerdo con los alcances definidos para el trabajo y los métodos aplicados. En este capítulo no deberán repetirse los resultados obtenidos.
- **Conclusiones.** Redactada en tiempo presente, podrán ser incluidas en una sección única o integradas en la discusión, con la correspondiente indicación en el título de la sección. En caso de presentarlas como una sección aparte, se incluirán allí en forma precisa y concisa aquellas ideas más relevantes que se deriven directamente de lo aportado por el trabajo. Deben dar respuesta a las hipótesis o a los objetivos planteados en la introducción. Deben redactarse en forma clara y objetiva sin incluir citas bibliográficas. Pueden incluir recomendaciones para trabajos futuros.
- **Contribución de autores.** Se debe especificar la contribución de cada autor del estudio.
- **Financiamiento.** En esta sección se debe indicar la fuente de financiamiento. Cuando corresponda, se debe mencionar la agencia, programa, y código del proyecto. Alternativamente, se debe mencionar que el financiamiento proviene de fuente interna mencionando la institución/universidad, o bien indicar que el estudio no contó con financiamiento interno/externo.
- **Agradecimientos.** En esta sección opcional se deberán mencionar brevemente a personas e instituciones que contribuyeron con financiamiento u otro tipo de colaboración para la realización del trabajo.
- **Referencias.** Se indicarán las referencias de todas las

citas bibliográficas señaladas en el texto, ordenadas alfabéticamente. La precisión y la veracidad de los datos entregados en las referencias bibliográficas son responsabilidad del o los autores de las contribuciones y deben corresponder a publicaciones originales. El número máximo de referencias será de 40 para artículos, notas y opiniones, y de 60 para revisiones. Utilice literatura moderna, relevante y directamente relacionada con su trabajo. Por lo menos 75 % de las referencias deberán corresponder a revistas científicas de corriente principal.

Para las modalidades de revisión y opinión no se exige seguir la estructura indicada anteriormente. Sin embargo, deben contener las secciones de título, autores, resumen, palabras clave, introducción, el desarrollo del trabajo adecuadamente dividido en secciones, contribución de autores, financiamiento, agradecimientos y referencias.

El nombre de cada sección debe estar escrito con mayúscula, centrado, y tamaño 16 puntos, con la excepción de las secciones de contribución de autores, financiamiento, y agradecimientos, que deben tener tamaño 12 puntos.

Estilo y formato

En general, el resumen, métodos y resultados del manuscrito deberán estar redactados en tiempo pasado, y la introducción, discusión y conclusiones en tiempo presente. Use tiempo presente cuando se refiera a resultados publicados previamente, esto ayuda a diferenciar entre los hallazgos de su estudio (tiempo pasado) y los hallazgos de otros estudios. En el texto no utilice acrónimos ni abreviaturas, escriba el nombre completo de las cosas; las excepciones que se pueden utilizar son aquellas de dominio global como, por ejemplo, ADN, pH, CO₂ y muy pocas otras. Tampoco utilice en el texto los símbolos de los elementos químicos. Acate las reglas gramaticales en todo el manuscrito, incluidas las descripciones de cuadros y figuras.

El trabajo debe estar escrito en hojas tamaño carta (279 x 216 mm), con márgenes de 2 cm por lado, interlineado a espacio y medio (1,5 espacios), letra Times New Roman, tamaño 12 puntos, con numeración de página en el extremo inferior derecho y número de línea correlativo para todo el trabajo, a la izquierda. Separar los párrafos a renglón seguido y con sangría de 0.8 cm a la izquierda en la primera línea. Debe presentarse en archivos electrónicos con procesador de texto Word.

El título principal se escribirá con letras minúsculas, tamaño 14, negrita, y centrado. En él deberá omitirse la mención de los autores de nombres científicos, los que, sin embargo, se presentarán la primera vez que se mencionen en el texto a partir de la introducción.

En el encabezado superior derecho de cada página debe incluirse un título abreviado con un máximo de 40 caracteres y espacios.

Las ecuaciones se numerarán en el margen derecho con paréntesis cuadrados “[]”; en el texto se mencionarán de acuerdo con esta numeración y deberán estar elaboradas con el editor de ecuaciones, no insertas como imagen.

Las unidades de medidas deberán circunscribirse al Sistema Internacional de unidades (SI). En la notación numérica, los decimales deberán ser separados por coma (,) y las unidades de miles por punto (.). En los textos en inglés, los decimales separados por punto y las unidades de miles por coma. Usar cero al comienzo de números menores a una unidad, incluyendo valores de probabilidad (por ejemplo, $P < 0,001$).

La descripción de los resultados de cada prueba estadística en el texto debe incluir el valor exacto de probabilidad asociado P . Para valores de P menores que 0,001, indique como $P < 0,001$. En cuadros y figuras usar asteriscos para señalar el nivel de significancia de las pruebas estadísticas: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; ns = no significativo.

Debe indicarse el nombre científico de todos los organismos biológicos que aparezcan en el texto, de acuerdo con la nomenclatura internacional respectiva. Si un nombre común es usado para una especie, la primera vez que cite en el texto, a partir de la introducción, se debe dar a continuación su nombre científico en cursiva entre paréntesis, por ejemplo, coihue (*Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst.). Citas posteriores pueden aparecer con el nombre del género abreviado seguido del adjetivo del nombre científico (por ejemplo, *N. dombeyi*), siempre y cuando no produzca confusiones con otras especies citadas en el manuscrito. Se sugiere mencionar el apellido del autor de forma abreviada y con un punto, como se menciona en el ejemplo anterior. Al iniciar una oración con el nombre de una especie, escriba su género completo y no lo abrevie con su inicial. En el resumen y en el título no mencione los autores de nombres científicos.

En los cuadros se deben incluir los datos alfanuméricos ordenados en filas y columnas, escritos con fuente Times New Roman de 12 puntos (mínimo 9 puntos de tamaño), sin negritas. Sólo los encabezamientos de las columnas y los títulos generales se separan con líneas horizontales; las columnas de datos deben separarse por espacios y no por líneas verticales. En las figuras se incluyen otras formas de presentación de datos o información, como gráficos, diagramas, fotografías y mapas. En cuadros y figuras se deben incluir las descripciones auto explicativas en castellano e inglés numerados en forma consecutiva. Todas las figuras y cuadros deben ser citados en el texto de la siguiente forma: (cuadro 1), (cuadro 2), ...; (figura 1), (figura 2). Las figuras llevan el título en el margen inferior y los cuadros en el margen superior. Los cuadros y figuras deben tener una resolución tal que permitan ser reducidos sin perder legibilidad. Se sugiere incluir una máximo de cuatro cuadros y cuatro figuras, sin embargo, se deja sujeta la posibilidad de incluir cuadros y figuras adicionales si es pertinente para la correcta presentación de la información.

Cuadros y figuras deben ir insertos en el manuscrito, con sus respectivas descripciones, ubicándolas lo más próximo posible después de haberlos citado por primera vez en el texto. Los cuadros deben estar en el formato de tablas (editables, no como imágenes).

En las figuras todos los rótulos y leyendas deben estar escritos con letra Times New Roman de tamaño 9 a 12 puntos, sin negrita y respetando la gramática y normas de escritura de la revista. Las figuras pequeñas deberán estar diseñadas con un ancho máximo de 8 cm (una columna en la revista) y las grandes con un máximo de 16 cm de ancho (dos columnas en la revista). Excepcionalmente, una figura podrá tener 23 cm de ancho (y máximo 14 cm de alto) para presentarla en formato apaisado. Organice las figuras reuniendo en una sola aquellos objetos afines (por ejemplo, gráficos de un mismo tipo de información) e identifíquelos con una letra mayúscula (A, B, C...), la que se explicará en la descripción de la figura.

Los manuscritos en castellano deben contener insertas las respectivas traducciones al inglés de:

- Título del manuscrito.
- Summary: debe ser equivalente en contenido al resumen en castellano.
- Keywords: equivalentes a las palabras clave en castellano.
- Descripciones de cuadros y de figuras.

En el caso de manuscritos en inglés, se debe incluir el respectivo texto en castellano.

Citas y referencias

Las citas bibliográficas se indicarán en el texto por el apellido del o los autores, seguido del año de publicación. Algunos ejemplos de citas bibliográficas más frecuentes son:

- Citas bibliográficas de uno y dos autores:
 - De acuerdo con Santamaría (2010), el crecimiento se mantiene constante durante ...
 - ... están influidos por el sitio en cuestión (Santamaría 2010, López y Castro 2011).
- Citas bibliográficas de más de dos autores:
 - Según Barría *et al.* (2009), el factor más importante...
 - ... entre otros, el diámetro y la altura (Barría *et al.* 2009, Morán *et al.* 2010).
- Citas bibliográficas de un mismo autor, publicadas en un mismo año:
 - En el estudio de Rodríguez (2009abd), se observa que en cada unidad de muestreo...
 -lo que es coincidente con estudios anteriores (Rodríguez 2009ab, Morán *et al.* 2010acd).

- Citas de más de una publicación a la vez, se ordenan cronológicamente:
 - Cerón (2007), García y Villanueva (2009), y Suárez *et al.* (2010) analizan los componentes edafoclimáticos...
 - ...la altura ha sido identificada como el atributo más importante (Cerón 2007, García y Villanueva 2009, Suárez *et al.* 2010).

En el capítulo de referencias, las referencias bibliográficas deben incluir apellido paterno e inicial del o los nombres de todos los autores, el año de publicación, el título y la información complementaria que permita localizar la fuente del documento en cuestión. Incluya el DOI de cada referencia al final. Algunos ejemplos de los formatos de las referencias bibliográficas más frecuentes son:

- Referencias de artículos en revistas científicas (escriba con cursiva los nombres completos de las revistas, sin abreviar):

Jones J, A Almeida, F Cisneros, A Iroumé, E Jobbágy, A Lara, W de Paula Lima, C Little, C Llerena, L Silveira, JC Villegas. 2016. Forests and water in South America. *Hydrological Processes* 31(5): 972-980. DOI: <https://doi.org/10.1002/hyp.11035>

Jones Kogan M, C Alister. 2010. Glyphosate use in forest plantations. *Chilean Journal of Agricultural Research* 70(4):652-666. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392010000400017>.

Karzulovic JT, MI Dinator, J Morales, V Gaete, A Barrios. 2009. Determinación del diámetro del cilindro central defectuoso en trozas podadas de pino radiata (*Pinus radiata*) mediante atenuación de radiación gamma. *Bosque* 26(1):109-122. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002005000100011>

- Referencias de libros como un todo:

Morales EH. 2005. Diseño experimental a través del análisis de varianza y modelo de regresión lineal. 3 ed. Santiago, Chile. Andros. 248 p.

CONAF (Corporación Nacional Forestal, CL). 2007. Estadísticas de visitantes e ingresos propios de áreas silvestres protegidas de la Décima Región de Los Lagos. 52 p. (Informe Estadístico N° 47).

- Referencias de partes o capítulos de libros:

Gutiérrez B, R Ipinza. 2010. Evaluación de parámetros genéticos en *Nothofagus*. In Ipinza R, B Gutiérrez, V Emhart eds. Domesticación y mejora genética de raulí y roble. Valdivia, Chile. Exion. p. 371-390.

- Referencias de memorias, tesis, seminarios de titulación o trabajos de titulación:

Emhart V. 2006. Diseño y establecimiento de un huerto semillero clonal de *Eucalyptus nitens* (Deane *et* Maiden) con fines de producción, investigación y docencia. Tesis Ingeniero Forestal. Valdivia, Chile. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Austral de Chile. 79 p.

Aparicio J. 2008. Rendimiento y biomasa de *Eucalyptus nitens* con alternativas nutricionales para una silvicultura sustentable en suelo rojo arcilloso. Tesis Magister en Ciencias. Valdivia, Chile. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Austral de Chile. 234 p.

- Referencias de documentos en internet:

De Angelis JD. 2009. European pine shoot moth. Oregon State University Extension (Urban Entomology Notes). Consultado 10 jul. 2009. Disponible en <http://www.ent.orst.edu/urban/home.html>.

- Referencias de documentos en internet o sitios web sin autor:

MOP (Ministerio de Obras Públicas, CL). 2019. Mesa Nacional del Agua. Santiago, Chile. Consultado 13 sept. 2022. Disponible en <https://www.mop.cl/MesaAgua/index.html>.

Para más información respecto de otros casos específicos relacionados con las citas y referencias bibliográficas, se pueden consultar los documentos que a continuación se señalan. No obstante, el orden y la tipografía de los elementos constituyentes de las citas y referencias bibliográficas deberán ajustarse al reglamento de la revista Bosque.

Biblioteca Conmemorativa Orton (IICA/CATIE). 2011. Normas para citar referencias bibliográficas en artículos científicos 4 ed. Consultado 13 abr. 2011. Disponible en http://biblioteca.catie.ac.cr/index.php?option=com_content&task=view&id=18&Itemid=50

The Council of Biology Editors (CBE). 1994. Scientific style and format: The CBE manual for authors, editors, and publishers. 6 ed. Cambridge, New York. Cambridge University Press. 704 p.

Carta de envío

Los autores deberán acompañar su manuscrito con una carta de envío que indique que el trabajo es original, no ha sido publicado previamente y no está siendo considerado para publicación en otro medio de difusión. También deberán declarar cualquier posible conflicto de intereses que pudiesen tener. Se deberá señalar el tipo de contribución del manuscrito (artículo, revisión, opinión, nota). La carta deberá ser firmada al menos por el autor líder del manuscrito.

Envío de documentos

Los archivos deberán ser nombrados según el tipo de información contenida en el archivo. Por ejemplo, los archivos digitales del manuscrito se etiquetarán de la siguiente forma:

- Texto.doc: texto principal del trabajo (incluye figuras y cuadros, además del título, summary, keywords, y descripciones de figuras y cuadros en inglés).
- Carta.pdf: carta de presentación y envío del manuscrito que debe contener la mención de: el tipo de trabajo, declaración de no conflicto de interés, declaración de que el manuscrito, de forma parcial o total, no ha sido previamente publicado y que no está siendo considerado para ser publicado en otro medio.

Los envíos de deben realizar a través de la plataforma OJS (Open Journal System) de la revista Bosque, disponible en www.revistabosque.org. Si presenta dificultades para el envío, puede remitirlo por correo electrónico a revistabosque@uach.cl. El autor de correspondencia recibirá una carta de acuse de recibo del editor.

Proceso de publicación

El cabal cumplimiento de las instrucciones para los autores se refleja en menores tiempos del proceso editorial. Durante el primer paso del proceso editorial, el comité editor revisa el manuscrito para verificar la pertenencia al ámbito de la revista y el cumplimiento de las instrucciones para los autores. Cuando no se cumplen tales condiciones, el manuscrito es devuelto al autor de correspondencia, informándole su situación y mencionando las faltas de formato. Cuando se ha verificado el cabal cumplimiento de las instrucciones para los autores, se registra esa fecha como recepción del manuscrito y el comité editor envía el manuscrito a un editor asociado, seleccionado acorde a la temática del trabajo. El editor asociado envía el manuscrito a un mínimo de dos árbitros o revisores externos, en un sistema de doble ciego. A los árbitros se les solicita declinar la revisión de un manuscrito cuando sientan que presentan conflictos de interés o que no podrán realizar una revisión justa y objetiva. Los árbitros evalúan el manuscrito de acuerdo con la pauta que proporciona la revista. Si los árbitros o el comité editor lo estiman pertinente, podrán solicitarla los autores, a través del editor asociado, información adicional sobre el manuscrito (datos, procedimientos, etc.) para su mejor evaluación. La evaluación de los árbitros puede ser: publicar con modificaciones menores, publicar con modificaciones mayores, o no publicar. Las evaluaciones y observaciones de los árbitros son revisadas por el editor asociado, quien las toma en consideración para hacer una recomendación de publicación (revisiones

menores, revisiones mayores, o no publicar) al comité editor, el cual informa por escrito al autor de correspondencia la decisión de continuar o no en el proceso de publicación y si su manuscrito deberá ser nuevamente evaluado por árbitros. Cuando el manuscrito es aceptado, el comité editor envía al autor de correspondencia una carta de aceptación de su manuscrito, indicando el tipo de modificación necesaria. En no más de tres semanas el autor de correspondencia debe devolver una versión modificada a la revista, para que el comité editor analice el manuscrito corregido. El comité editor decide el orden en que aparecerán los trabajos publicados en cada número. Una contribución puede ser rechazada por el comité editor en cualquiera de las instancias del proceso de publicación, ya sea por cuestiones de fondo o de forma que no cumplan con las instrucciones para los autores. Ante sospecha de conducta poco ética o deshonestas por parte de los autores que han sometido su manuscrito al proceso de edición, el editor se reserva el derecho de informar a las instituciones patrocinadoras u otras autoridades pertinentes para que realicen la investigación que corresponda.

Los trabajos publicados en Bosque están bajo licencia Creative Commons Chile 2.0.

Ante cualquier duda se sugiere contactarse con el editor (revistabosque@uach.cl) o revisar la información adicional de nuestra página web www.revistabosque.org.

La versión electrónica de libre acceso de los trabajos completos publicados por Bosque se encuentran en los siguientes sitios: www.revistabosque.org, <http://revistas.uach.cl/index.php/bosque/index>, y http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_serial&pid=0717-9200.

Políticas para los árbitros

Los árbitros o revisores de los manuscritos son integrantes clave del proceso editorial de la revista. Tienen la misión de contribuir a que la ciencia avance a través de su aporte en garantizar la alta calidad de los trabajos antes de ser publicados. Su trabajo es altruista y anónimo con respecto a los autores de los manuscritos.

El editor y/o editores asociados envían cada manuscrito a por lo menos dos árbitros considerados idóneos para evaluar el tema y así el comité editor puede considerar diversas opiniones de especialistas para decidir sobre el proceso editorial.

La responsabilidad de los árbitros es la de evaluar rigurosamente los manuscritos dentro de un plazo de tres semanas propuesto por la revista.

Los árbitros deberán declinar la revisión del manuscrito cuando sientan que presentan conflictos de interés o que no podrán realizar una revisión justa y objetiva del manuscrito. Un arbitraje apropiado incluye virtudes y debilidades del manuscrito, sugerencias para su mejoramiento, preguntas precisas para que los autores puedan responderlas y orientaciones para que el trabajo sea de mejor calidad y mayor aceptación por los futuros lectores. Los árbitros

deben mantener la confidencialidad de los manuscritos que reciben para revisión y nunca utilizar o difundir datos o información de ellos; el hacerlo es una conducta reñida con la ética. Los árbitros deberán abstenerse de solicitar la inclusión de aspectos que el manuscrito no busca responder, como también de insinuar que sean citados sus propios trabajos.

Frente a la revista, los árbitros deberán velar por la calidad y rapidez de sus revisiones y evitar los conflictos de intereses. Los árbitros deben cumplir los plazos y formatos solicitados por la revista. Cuando ello no sea posible, deberán declinar oportunamente el arbitraje. Cuando requieran de un tiempo adicional para la revisión de un manuscrito, deberán informar al editor. Si un árbitro presenta conflicto de intereses con respecto a un manuscrito, deberá abste-

nerse de realizar la revisión, informando al editor. Cuando un árbitro propone no publicar un manuscrito o hacerlo sólo después de cambios mayores, podrá recibir una nueva versión corregida por los autores que haya acogido las sugerencias de mejoramiento. El arbitraje es una herramienta eficaz para mejorar la calidad de los trabajos.

El editor y/o editor asociado podrá difundir informes de arbitrajes entre los revisores (conservando el anonimato) para promover el buen desempeño, resolver controversias y mejorar el proceso de edición.

Los árbitros serán informados del destino del manuscrito que revisaron. Como una forma de retribuir sus valiosos aportes, el editor les enviará una carta de agradecimiento por cada arbitraje y publicará sus nombres a inicios del año siguiente a su colaboración.



**UNIVERSIDAD AUSTRAL
DE CHILE FACULTAD DE
CIENCIAS FORESTALES Y
RECURSOS NATURALES**