

# VARIACIÓN DE CARACTERÍSTICAS REPRODUCTIVAS DE ÁRBOLES DE *Pinus patula* EN UN HUERTO SEMILLERO SEXUAL

## REPRODUCTIVE CHARACTERISTICS VARIATION IN *Pinus patula* TREES AT A SEXUAL SEED ORCHARD

N. Beatriz Mendoza-Hernández<sup>1</sup>, Carlos Ramírez-Herrera<sup>1</sup>, Javier López-Upton<sup>1</sup>,  
Valentín Reyes-Hernández<sup>1</sup>, P. Antonio López<sup>2</sup>

Ciencias Forestales. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. <sup>2</sup>Campus Puebla, Colegio de Postgraduados. 72760. Santiago Momoxpan, Puebla. kmcram@colpos.mx

### RESUMEN

Los huertos semilleros son importantes para producir germoplasma para establecimiento de plantaciones forestales. El objetivo del estudio fue evaluar la variación de características reproductivas de conos y semillas en un huerto semillero sexual de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. La variación de características reproductivas se consideró que es influenciada posiblemente por la constitución genética de los árboles y por diferencias ambientales. El estudio se realizó en un huerto en Cuaunepantla, Acaxochitlán, Hidalgo, México. El diseño experimental fue completamente al azar y los conos fueron la unidad mínima experimental. El número de conos muestreados varió con la producción de tres años en 19 árboles muestreados. Las variables analizadas fueron peso seco del cono, número potencial de semillas, porcentaje de óvulos abortados, índice de endogamia, peso de la semilla, eficiencia reproductiva y semillas llenas, vanas y plagadas. Todas las variables mostraron diferencias entre árboles ( $p \leq 0.01$ ) y entre años de producción ( $p \leq 0.05$ ). La cantidad de semillas dañadas (3 %) fue mayor en 2012; peso seco del cono (32 g), potencial de semillas (117 semillas por cono), porcentaje de semillas llenas (58 %), peso de semilla (9.5 mg) y eficiencia reproductiva (22 mg g<sup>-1</sup>) fueron mayores en 2013. El porcentaje de óvulos abortados e índice de endogamia promedio (0.25) fueron mayores en 2014. Los niveles de variación fueron altos en las características reproductivas de *Pinus patula*. El índice bajo de endogamia indicó autofecundación baja.

**Palabras clave:** *Pinus patula*, huerto semillero, características reproductivas, semillas, conos.

### ABSTRACT

Seed orchards are important to produce germplasm for forest plantation establishment. The objective of this study was to evaluate the variation of reproductive characteristics of cones and seeds in a *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham at a sexual orchard. The reproductive characteristics variation was considered to be influenced by the genetic constitution of the trees and by environmental differences. The study was conducted in an orchard at Cuaunepantla, Acaxochitlán, Hidalgo, México. The experimental design was completely random and cones were the minimum experimental unit. The number of sampled cones varied with the production of three years in 19 sampled trees. The analyzed variables were dry cone weight, potential seeds number, percentage of aborted ovules, inbreeding index, seed weight, reproductive efficiency and full, empty and plagued seeds. All the variables showed differences between trees ( $p \leq 0.01$ ) and between production years ( $p \leq 0.05$ ). The number of damaged seeds (3 %) was higher in 2012. Dry cone weight (32 g), seed potential (117 seeds per cone), full seeds percentage (58 %), seed weight (9.5 mg) and reproductive efficiency (22 mg g<sup>-1</sup>) were higher in 2013. The percentage of aborted ovules and average inbreeding index (0.25) were higher in 2014. The variation levels were high in the reproductive characteristics of *P. patula*. The low inbreeding rate indicated low self-fertilization.

**Key words:** *Pinus patula*, seed orchard, reproductive characteristics, seeds, cones.

### INTRODUCTION

*Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. is a species native to Mexico that grows naturally throughout the states of Nuevo Leon,

\* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: agosto, 2016. Aprobado: abril, 2017.

Publicado como ARTÍCULO en Agrociencia 52: 279-291. 2018.

## INTRODUCCIÓN

*Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. es una especie nativa de México que crece naturalmente en los estados de Nuevo León, Tamaulipas, San Luis Potosí, Querétaro, Hidalgo, Distrito Federal, Estado de México, Tlaxcala, Puebla, Guerrero, Oaxaca y Veracruz (Patiño y Kageyama, 1991; Perry, 1991). *Pinus patula* es la especie mexicana con la superficie mayor de plantación fuera del país (Wormald, 1975; Ladrach, 1985), principalmente por la forma del fuste, crecimiento rápido y calidad de la madera (Vela, 1980; Velázquez *et al.*, 2004). Las plantaciones forestales en México, incluidas las de *P. patula*, se realizan con germoplasma recolectado en rodales naturales sin considerar la calidad de los árboles (Vargas, 2003).

Un programa de ensayos de progenies de *P. patula* se inició en el norte del estado de Puebla y el este del estado de Hidalgo en 2004 (Salaya *et al.*, 2012; Morales *et al.*, 2013). Los ensayos de progenies se plantaron con semilla de esta especie seleccionada en Sudáfrica y Colombia por CAMCORE (International Tree Breeding and Conservation) y germoplasma recolectado de árboles seleccionados por el Colegio de Postgraduados en rodales naturales en los estados de Hidalgo, Puebla y Veracruz (Salaya *et al.*, 2012). Varios huertos semilleros sexuales se establecieron una vez determinados los árboles superiores en esos ensayos de progenie (Morales *et al.*, 2013).

Un huerto semillero es una plantación aislada de árboles superiores, donde se pretende reducir la polinización del óvulo por polen de árboles que crecen fuera del huerto (White *et al.*, 2007). Los huertos semilleros representan una relación importante entre un programa de mejoramiento y un programa de plantaciones (Fernandes *et al.*, 2008).

Las condiciones ambientales, como temperatura y precipitación, pueden influir en la formación de estrobilos masculinos y por lo tanto en la producción de polen que, a su vez, puede repercutir en la producción de conos y semillas de árboles del género *Pinus* (Owens *et al.*, 2005; Owens y Fernando, 2007). El análisis de los conos y semillas en un huerto semillero permite determinar la cantidad y calidad de las semillas (Bonner, 1993). Esta información puede utilizarse en los programas de mejoramiento, estrategias de manejo de unidades productoras de germoplasma y seguimiento de la producción de semilla de la especie. Por lo anterior, el objetivo de esta investigación

Tamaulipas, San Luis Potosí, Querétaro, Hidalgo, Estado de México, Tlaxcala, Puebla, Guerrero, Oaxaca, Veracruz and Mexico City (Patiño and Kageyama, 1991; Perry, 1991). *Pinus patula* is the Mexican species with the largest plantation area of outside the country (Wormald, 1975; Ladrach, 1985), mainly because of the shape of their trunk, rapid growth and wood quality (Vela, 1980; Velázquez *et al.*, 2004). Forest plantations in Mexico, including those of *P. patula*, are managed with germplasm collected in natural stands without considering the quality of the trees (Vargas, 2003).

In 2004, a trial program of progenies of *P. patula* started at north of the state of Puebla and east of the state of Hidalgo (Salaya *et al.*, 2012; Morales *et al.*, 2013). Progeny trials were planted with selected seed from this species in South Africa and Colombia by CAMCORE (International Tree Breeding and Conservation) and germplasm collected in natural stands at the states of Hidalgo, Puebla, and Veracruz selected by the Colegio de Postgraduados (Salaya *et al.*, 2012). Several sexual seed orchards were established once the most fitted trees were determined after the progeny trials (Morales *et al.*, 2013).

A seed orchard is an isolated higher quality plantation, intended to reduce ovule pollination by pollen from trees that grow outside the orchard (White *et al.*, 2007). Seed orchards represent an important relationship between an improvement program and a plantation program (Fernandes *et al.*, 2008).

Environmental conditions, such as temperature and precipitation, can influence the formation of male strobili and therefore pollen production which, in turn, can impact cones and seeds production in *Pinus* trees (Owens *et al.*, 2005; Owens y Fernando, 2007). Cones and seeds analysis in a seed orchard determines the quantity and quality of the seeds (Bonner, 1993). This information is used in breeding programs, management strategies of germplasm production units and seed production monitoring of a species. Therefore, the objective of this research was to evaluate the variation of the reproductive characteristics of cones and seeds in three production years of a sexual seed orchard of *P. patula*. We hypothesized that the variation of the reproductive characteristics is influenced by the genetic constitution of the trees and by environmental variation that leads low pollen production that affects cones and seeds development.

fue evaluar la variación en características reproductivas de conos y semillas en tres años de producción en un huerto semillero sexual de *P. patula*. La hipótesis fue que la variación de características reproductivas es influenciada por la constitución genética de los árboles y por diferencias ambientales que repercuten en una producción baja de polen que afecta el desarrollo de conos y semillas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización del huerto semillero

El huerto semillero sexual de *P. patula* se ubica en Cuaunepantla, municipio de Acaxochitlán, estado de Hidalgo (20° 09' 55" N, 98° 14' 07" O y 2200 m de altitud). *Pinus patula* y *P. teocote* Schiede ex Schltdl. en un bosque natural se localizaron al sur y oeste del huerto, y *P. greggii* Engelm. se localizó en una plantación al norte. El huerto semillero se originó de una prueba de progenies establecida en el 2004 con semilla de 792 árboles de 72 familias (Salaya *et al.*, 2012). Los árboles con las tasas menores de crecimiento, tallos torcidos y bifurcados y copas con ramas abundantes y gruesas se eliminaron de la prueba original en 2013. La floración y polinización de los conos que maduraron en 2012, 2013 y 2014 ocurrió cuando la prueba tenía 713 árboles vivos. En el momento del estudio el huerto lo integraban 89 árboles, de 43 familias, de 13 procedencias. Los árboles en el huerto se distribuían en un arreglo de bloques incompletos, donde los que pertenecían a la misma familia estaban distantes, para evitar o disminuir la endogamia. Sólo 19 de los árboles del huerto produjeron semilla en 3 años consecutivos, por lo que el análisis de la información se realizó como si los árboles estuvieran en un diseño completamente al azar y los conos fueron la unidad mínima experimental. Todos los conos de cada árbol se recolectaron.

### Selección de árboles para recolecta de conos y semillas

De diciembre de 2014 a febrero de 2015 se recolectaron 909 conos de 19 árboles. Los individuos se eligieron en el estudio por su producción mayor de conos en uno o más años, de 2012 a 2014 (Cuadro 1).

Los conos se contabilizaron y se colocaron individualmente en bolsas de papel con información del número de cono, número de árbol y año de producción. Los conos de *P. patula* son seróticos, por lo que permanecen cerrados en el árbol por varios años (Perry, 1991). Los años de producción se identificaron por la posición del cono y por su color; así, los de color marrón brillante en el ápice de las ramas se determinó que correspondían al 2014. Los conos de 2013 fueron los de color marrón, con manchas

## MATERIALS AND METHODS

### Seed orchard location

The sexual seed orchard of *P. patula* is located at Cuaunepantla, Acaxochitlán municipality, Hidalgo State (20° 09' 55" N, 98° 14' 07" W and 2200 m altitude). *Pinus patula* and *P. teocote* Schiede ex Schltdl. in a natural forest were located to the south and west of the orchard, and *P. greggii* Engelm. was located on a plantation to the north. The seed orchard originated from a progeny test established in 2004 with seeds from 792 trees of 72 families (Salaya *et al.*, 2012). The trees with low growth rates, twisted and bifurcated stems, and crowns with abundant and thick branches were removed from the original test in 2013. Flowering and pollination of the cones that matured in 2012, 2013 and 2014 occurred when the experiment had 713 living trees. At the time of this study, the orchard consisted of 89 trees, from 43 families, from 13 origins. The trees in the orchard were distributed in an incomplete blocks arrangement, where those from the same family were distant to avoid or reduce inbreeding. Only 19 of these trees in the orchard produced seed in the three consecutive years, so the data analysis was carried out as if the trees were in a completely random design and the cones were the minimum experimental unit. All cones of each tree were collected.

**Cuadro 1. Cantidad de conos recolectados en árboles de *Pinus patula* en un huerto semillero sexual.**

**Table 1. Amount of collected *Pinus patula* cones in trees at a sexual seed orchard.**

| Árbol | Conos recolectados (Número) |      |      | Total |
|-------|-----------------------------|------|------|-------|
|       | 2012                        | 2013 | 2014 |       |
| 1     | 16                          | 17   | 8    | 41    |
| 2     | 10                          | 0    | 0    | 10    |
| 20    | 0                           | 21   | 34   | 55    |
| 21    | 0                           | 0    | 28   | 28    |
| 22    | 6                           | 18   | 40   | 64    |
| 26    | 0                           | 17   | 47   | 64    |
| 29    | 27                          | 22   | 55   | 104   |
| 32    | 0                           | 0    | 28   | 28    |
| 38    | 0                           | 7    | 72   | 79    |
| 39    | 9                           | 7    | 20   | 36    |
| 40    | 11                          | 6    | 17   | 34    |
| 50    | 0                           | 21   | 5    | 26    |
| 55    | 4                           | 7    | 5    | 16    |
| 60    | 21                          | 8    | 12   | 41    |
| 62    | 8                           | 0    | 9    | 17    |
| 66    | 0                           | 12   | 35   | 47    |
| 68    | 20                          | 20   | 0    | 40    |
| 72    | 28                          | 31   | 72   | 131   |
| 74    | 12                          | 9    | 27   | 48    |
| Total | 172                         | 223  | 514  | 909   |

grises, ubicados debajo de los anteriores y los conos del año 2012 fueron los de coloración grisácea (por el desgaste de su capa superior) en el verticilo inferior. Algunos conos con color diferente a los anteriores se recolectaron en la misma rama, en verticilos diferentes, pero conos de color marrón con manchas grises o grises no se encontraron en el verticilo o verticilos recientes.

### Extracción y manejo de la semilla

Los conos se colocaron en un lugar con sombra y ventilado para evitar el desarrollo de hongos, se sumergieron 5 s en agua a 70 °C, se secaron y mantuvieron 24 h en un invernadero para promover la apertura de las escamas y facilitar la extracción de la semilla. Las semillas se obtuvieron al golpear el cono sobre una mesa y remover las escamas, las cuales se clasificaron como infértiles y fértiles. Las escamas fértiles están en la parte central del cono (Bramlett *et al.*, 1977).

Los conos se mantuvieron a 70 °C por 20 h y se obtuvo su peso seco con la curva de pérdida de humedad; esta se obtuvo con antelación con una muestra de 100 conos que se mantuvieron a 70 °C por 30 h. El peso seco (g) se determinó en una balanza electrónica, con aproximación a 0.1 g (N08110®, OHAUS Corporation).

### Variables reproductivas evaluadas

El número potencial de semillas (NPS) se obtuvo al multiplicar el número de escamas fértiles por dos, que es el número máximo de semillas que un cono puede producir, pues cada escama fértil tiene dos óvulos que podrían originar dos semillas (Lyons, 1956; Bramlett *et al.*, 1977; Mosseler *et al.*, 2000). Las semillas llenas, vanas y plagadas de cada cono se contabilizaron y clasificaron manualmente. El número de óvulos abortados se calculó al restar el número de semillas llenas, vanas y plagadas de NPS. El porcentaje de óvulos abortados (%OA), semillas llenas (%SLL), vanas (%SV) y plagadas (%SP) se calculó con respecto a NPS. El peso total de las semillas llenas por cono se obtuvo en balanza analítica (SM®, Chyo Balance Corporation). El peso promedio de una semilla llena (PSE) se estimó al dividir el peso total de las semillas llenas entre el número de ellas. La eficiencia reproductiva (ER) es un indicador de la proporción de energía que un árbol destina a la producción de semillas con respecto a la masa del cono y se calculó al dividir el peso (mg) de las semillas llenas entre el peso seco (g) del cono (PSC) (Mosseler *et al.*, 2000). El índice de endogamia (IE) fue la proporción del número de semillas vanas respecto al total de semillas (Mosseler *et al.*, 2000).

### Tree selection to collect cones and seeds

From December 2014 to February 2015, 909 cones of 19 trees were collected and individuals were chosen in this research for their large cone yield in one or more years, from 2012 to 2014 (Table 1).

Cones were counted, and placed in individual paper bags with information of the cone number, tree number and production year. *Pinus patula* cones are serotinous and, for this reason, they remain closed in the tree several years (Perry, 1991). The production years were identified by the position of the cones and their color; thus, those of bright brown color at the apex of the branches correspond to 2014; the 2013 were brown color, with gray spots, located below the previous ones, and the 2012 cones were of grayish coloration (by the wear of its upper layer) in the lower whorl. Some cones with a different color to the previous ones were collected in the same branch, in different whorls, but cones of brown color with gray or gray spots were not found in the whorl or recent whorls.

### Extraction and seed management

The cones were placed in a shaded and ventilated area to prevent fungi development and they were submerged 5 s in 70 °C water, dried and kept 24 h in a greenhouse to promote scales opening and facilitate seed extraction. The seeds were obtained by striking the cones on a table and removing the scales, which were classified as infertile and fertile. The fertile scales are in the central part of the cone (Bramlett *et al.*, 1977).

The cones were kept at 70 °C for 20 h and their dry weight was obtained with the moisture loss curve previously obtained with a 100 cones sample maintained at 70 °C for 30 h. The dry weight (g) was assessed on an electronic scale, with a 0.1 g approximation (N08110®, OHAUS Corporation).

### Evaluated reproductive variables

The potential number of seeds (PNS) was obtained by multiplying the number of fertile scales by two, which is the maximum number of seeds that a cone can produce, since each fertile scale has two ovules that could originate two seeds (Lyons, 1956; Bramlett *et al.*, 1977; Mosseler *et al.*, 2000). The full, empty and plagued seeds of each cone were counted and manually sorted. The number of aborted ovules was calculated by subtracting the number of filled, empty and plagued seeds from the PNS. The percentage of aborted ovules (%AO), filled seeds

### Análisis estadístico

Las características de conos y semillas se analizaron con el procedimiento GLM-SAS/PC para Windows versión 9.4 (SAS Institute Inc., 2012) con el modelo siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + AR_j + A_i \times AR_j + \varepsilon_{ijk} \quad (1)$$

donde  $Y_{ijk}$  es la variable respuesta,  $\mu$  es la media experimental,  $A_i$  es el efecto del  $i$ -ésimo año de producción,  $AR_j$  es el efecto del  $j$ -ésimo árbol,  $A_i \times AR_j$  es la interacción del año de producción  $\times$  árbol y  $\varepsilon_{ijk}$  es el error experimental.

Los componentes de la varianza se estimaron con el procedimiento VARCOMP-SAS/PC (REML) (SAS Institute Inc., 2012), donde  $\sigma^2_{\text{año}}$  es la varianza entre año de producción,  $\sigma^2_{\text{árbol}}$  es la varianza de árboles,  $\sigma^2_{\text{año} \times \text{árbol}}$  es la varianza de la interacción del año de producción  $\times$  árbol y  $\sigma^2_e$  es la varianza del error.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza mostró diferencias ( $p \leq 0.01$ ) en PSC entre años de producción y árboles (Cuadro 2). El error experimental contribuyó con el porcentaje mayor de la varianza total para esta y las demás variables. El PSC promedio fue 29, 31 y 32 g en 2014, 2012 y 2013. Estos resultados fueron menores a (36 y 50 g) los de árboles de *P. patula* en un bosque en Pinal de Amoles, Querétaro, y en una plantación en Madagascar (Patiño y Kageyama, 1991). En nuestra investigación la diferencia entre los años pudo deberse a diferencias genéticas y ambientales, según los valores de componentes de varianza para la fuente de variación árboles y error experimental (Cuadro 2). Los árboles 39, 60 y 62 tuvieron el PSC mayor en 2012, 2013 y 2014, respectivamente (Cuadros 3, 4 y 5). El PSC del árbol 1 fue el menor en 2012 y 2013, y arriba únicamente del árbol 55 en 2014 (Cuadros 3, 4 y 5).

El NPS mostró diferencias ( $p \leq 0.01$ ) entre años y árboles (Cuadro 2). Los promedios de NPS variaron de 91 a 117 por cono en 2014 y 2013, respectivamente. La diferencia en NPS pudo deberse a la diferencia en la producción de polen entre los años y a polinización temprana, pues ésta estimula la producción de escamas fértiles que aumenta NPS (Owens *et al.*, 2005). Los promedios de NPS en nuestro estudio fueron menores a los reportados para *P. patula* (125 semillas potenciales por cono; Dvorak, 2002).

(%FS), empty (%ES) and plagued (%PS) was calculated respect to the PNS. The total weight of filled seeds per cone was obtained in an analytical balance (SM<sup>®</sup>, Chyo Balance Corporation). The full seed average weight (SWE) was estimated by dividing the total weight of the filled seeds by the number of seeds. Reproductive efficiency (RE) is an indicator of the proportion of energy that a tree allocates to seeds production respect to the cone mass, and it was calculated by dividing the filled seed weight (mg) by the dry cone weight (g) (DCW) (Mosseler *et al.*, 2000). The inbreeding index (II) was the proportion of the number of empty seeds respect to the seeds total (Mosseler *et al.*, 2000).

### Statistical analysis

Cones and seeds characteristics were analyzed with the GLM-SAS / PC procedure for Windows version 9.4 (SAS Institute Inc., 2012) using the following model:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + AR_j + A_i \times AR_j + \varepsilon_{ijk} \quad (1)$$

where  $Y_{ijk}$  is the response variable,  $\mu$  is the experimental mean,  $A_i$  is the effect of the  $i$ -th production year,  $AR_j$  is the effect of the  $j$ th tree,  $A_i \times AR_j$  is the interaction of the production year  $\times$  tree, and  $\varepsilon_{ijk}$  is the experimental error.

The components of the variance were estimated with the VARCOMP-SAS / PC (REML) procedure (SAS Institute Inc., 2012), where  $\sigma^2_{\text{year}}$  is the variance between production years,  $\sigma^2_{\text{tree}}$  is the tree variance,  $\sigma^2_{\text{year} \times \text{tree}}$  is the interaction variance from the production year  $\times$  tree, and  $\sigma^2_e$  is the error variance.

## RESULTS AND DISCUSSION

The analysis of variance showed differences ( $p \leq 0.01$ ) in the CDW between production years and trees (Table 2). The experimental error contributed with the greatest percentage of the total variance for this and the other variables. The average CDW was 29, 31 and 32 g in 2014, 2012 and 2013. These results (36 and 50 g) were lower than those of *P. patula* trees in a forest at Pinal de Amoles, Querétaro, Mexico, and at a plantation in Madagascar (Patiño and Kageyama, 1991). In our research, the difference between years could be due to genetic and environmental differences, according to the variance component values for the trees source of variation and experimental error (Table 2). Trees 39, 60 and 62 had the highest CDW in 2012, 2013 and 2014, each (Tables 3, 4 and 5). The CDW of tree



**Cuadro 2. Componentes de la varianza de las características reproductivas de *Pinus patula* en un huerto semillero sexual en Cuaunepantla, Acaxochitlán, Hidalgo, México.**  
**Table 2. Variance components of the reproductive characteristics of *Pinus patula* at a sexual seed orchard in Cuaunepantla, Acaxochitlán, Hidalgo, México.**

| Características <sup>†</sup> | $\sigma^2$ <sup>‡</sup><br>Total | Componentes de la varianza (% de la $\sigma^2$ total) |                     |                         |                     |
|------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|
|                              |                                  | $\sigma^2$<br>año                                     | $\sigma^2$<br>árbol | $\sigma^2$<br>año*árbol | $\sigma^2$<br>error |
| Peso seco del cono           | 99                               | 1.4                                                   | 36.9                | 5.0                     | 56.7                |
| Núm. potencial de semillas   | 2559                             | 6.7                                                   | 23.8                | 14.1                    | 55.4                |
| Óvulos abortados (%)         | 127                              | 1.8                                                   | 6.8                 | 7.2                     | 84.2                |
| Semillas llenas (%)          | 438                              | 3.4                                                   | 27.6                | 8.3                     | 60.7                |
| Semillas vanas (%)           | 183                              | 0.3                                                   | 28.9                | 5.4                     | 65.4                |
| Semillas dañadas (%)         | 15                               | 1.3                                                   | 4.7                 | 7.7                     | 86.3                |
| Índice de endogamia          | 0.04                             | 0.8                                                   | 34.4                | 5.3                     | 59.5                |
| Peso de la semilla           | 13                               | 1.0                                                   | 11.3                | 22.5                    | 65.2                |
| Eficiencia reproductiva      | 148                              | 6.1                                                   | 21.0                | 23.0                    | 49.9                |

<sup>†</sup>Varianza; <sup>‡</sup>Todas las variables fueron significativamente diferentes para las fuentes de variación con al menos  $p \leq 0.05$  ♦ <sup>†</sup>Variance; <sup>‡</sup>All variables were statistically different for the variation sources ( $p \leq 0.05$ ).

**Cuadro 3. Promedios ( $\pm$  error estándar) de las características de conos y semillas de árboles de *Pinus patula* de un huerto semillero sexual en Cuaunepantla, Acaxochitlán, Hidalgo, México, en 2012.**

**Table 3. Averages ( $\pm$  standard error) of cone and seed characteristics of *Pinus patula* trees at a sexual seed orchard in Cuaunepantla, Acaxochitlán, Hidalgo, México, 2012.**

| Árbol | PSC <sup>†</sup> | NPS          | %OA        | %SLL       | %SV        | %SD       | IE              | PSE        | ER         |
|-------|------------------|--------------|------------|------------|------------|-----------|-----------------|------------|------------|
| 1     | 19 $\pm$ 1       | 131 $\pm$ 7  | 12 $\pm$ 2 | 82 $\pm$ 2 | 5 $\pm$ 1  | 1 $\pm$ 0 | 0.06 $\pm$ 0.01 | 7 $\pm$ 0  | 41 $\pm$ 3 |
| 2     | 26 $\pm$ 2       | 67 $\pm$ 6   | 50 $\pm$ 7 | 44 $\pm$ 4 | 25 $\pm$ 6 | 5 $\pm$ 3 | 0.29 $\pm$ 0.05 | 8 $\pm$ 1  | 10 $\pm$ 2 |
| 22    | 24 $\pm$ 1       | 39 $\pm$ 8   | 50 $\pm$ 6 | 25 $\pm$ 6 | 23 $\pm$ 5 | 2 $\pm$ 1 | 0.46 $\pm$ 0.11 | 7 $\pm$ 1  | 2 $\pm$ 1  |
| 29    | 35 $\pm$ 2       | 171 $\pm$ 8  | 24 $\pm$ 4 | 62 $\pm$ 4 | 13 $\pm$ 2 | 1 $\pm$ 0 | 0.18 $\pm$ 0.02 | 8 $\pm$ 0  | 25 $\pm$ 2 |
| 39    | 44 $\pm$ 2       | 145 $\pm$ 3  | 28 $\pm$ 3 | 62 $\pm$ 4 | 9 $\pm$ 3  | 1 $\pm$ 0 | 0.12 $\pm$ 0.03 | 11 $\pm$ 0 | 22 $\pm$ 2 |
| 40    | 30 $\pm$ 2       | 87 $\pm$ 13  | 27 $\pm$ 7 | 41 $\pm$ 4 | 25 $\pm$ 4 | 7 $\pm$ 2 | 0.33 $\pm$ 0.03 | 8 $\pm$ 0  | 9 $\pm$ 2  |
| 55    | 19 $\pm$ 2       | 88 $\pm$ 18  | 24 $\pm$ 7 | 66 $\pm$ 7 | 9 $\pm$ 2  | 1 $\pm$ 0 | 0.11 $\pm$ 0.01 | 8 $\pm$ 1  | 25 $\pm$ 5 |
| 60    | 39 $\pm$ 1       | 116 $\pm$ 6  | 33 $\pm$ 3 | 55 $\pm$ 3 | 6 $\pm$ 1  | 7 $\pm$ 2 | 0.08 $\pm$ 0.01 | 9 $\pm$ 0  | 14 $\pm$ 1 |
| 62    | 40 $\pm$ 4       | 132 $\pm$ 11 | 14 $\pm$ 5 | 81 $\pm$ 5 | 4 $\pm$ 1  | 1 $\pm$ 0 | 0.04 $\pm$ 0.01 | 13 $\pm$ 0 | 35 $\pm$ 3 |
| 68    | 26 $\pm$ 2       | 75 $\pm$ 9   | 35 $\pm$ 3 | 38 $\pm$ 3 | 26 $\pm$ 4 | 1 $\pm$ 0 | 0.40 $\pm$ 0.04 | 7 $\pm$ 0  | 8 $\pm$ 1  |
| 72    | 35 $\pm$ 1       | 152 $\pm$ 9  | 16 $\pm$ 3 | 65 $\pm$ 3 | 16 $\pm$ 2 | 2 $\pm$ 1 | 0.19 $\pm$ 0.01 | 8 $\pm$ 0  | 23 $\pm$ 2 |
| 74    | 38 $\pm$ 2       | 82 $\pm$ 9   | 33 $\pm$ 5 | 51 $\pm$ 2 | 15 $\pm$ 2 | 2 $\pm$ 0 | 0.23 $\pm$ 0.03 | 13 $\pm$ 0 | 14 $\pm$ 2 |

<sup>†</sup>PSC: Peso seco del cono (g), NPS: número potencial de semillas (#), %OA: porcentaje de óvulos abortados, %SLL: porcentaje de semillas llenas, %SV: porcentaje de semillas vanas, %SD: porcentaje de semillas dañadas, IE: índice de endogamia, PSE: peso de la semilla (mg) y ER: eficiencia reproductiva ( $\text{mg g}^{-1}$ ) ♦ <sup>†</sup>PSC: cone dry weight (g); NPS: potential number of seeds (#); %OA: percentage of aborted ovules; %SLL: percentage of filled seeds; %SV: percentage of empty seeds; %SD: percentage of damaged seeds, IE: inbreeding index; PSE: seed weight (mg); ER: reproductive efficiency ( $\text{mg g}^{-1}$ ).

El árbol 29 tuvo el máximo NPS en n 2012 y 2013 y el árbol 39 en 2014; este árbol tuvo un potencial alto en los tres años. En contraste, el árbol 22 tuvo el potencial de semillas mínimo sólo en 2012, y el potencial de semillas en ese año fue menor al promedio de todos los árboles en los tres años.

1 was the lowest in 2012 and 2013; only above tree 55 in 2014 (Tables 3, 4 and 5).

The PNS showed differences ( $p \leq 0.01$ ) between years and trees (Table 2). The PNS averages ranged between 91 and 117 per cone in 2014 and 2013, each. PNS difference could be due to differences in pollen

**Cuadro 4. Promedios ( $\pm$  error estándar) de las características de conos y semillas de árboles de *Pinus patula* de un huerto semillero sexual en Cuaunepantla, Acaxochitlán, Hidalgo, México, en 2013.****Table 4. Averages ( $\pm$  standard error) cone and seed characteristics of *Pinus patula* trees at a sexual seed orchard, in Cuaunepantla, Acaxochitlán, Hidalgo, México, 2013.**

| Árbol | PSC <sup>†</sup> | NPS          | %OA        | %SLL       | %SV        | %SD       | IE              | PSE        | ER         |
|-------|------------------|--------------|------------|------------|------------|-----------|-----------------|------------|------------|
| 1     | 20 $\pm$ 1       | 114 $\pm$ 7  | 19 $\pm$ 2 | 77 $\pm$ 3 | 4 $\pm$ 1  | 0 $\pm$ 0 | 0.05 $\pm$ 0.01 | 7 $\pm$ 0  | 31 $\pm$ 2 |
| 20    | 33 $\pm$ 1       | 141 $\pm$ 8  | 18 $\pm$ 3 | 71 $\pm$ 3 | 10 $\pm$ 1 | 1 $\pm$ 0 | 0.13 $\pm$ 0.02 | 11 $\pm$ 0 | 35 $\pm$ 3 |
| 22    | 30 $\pm$ 1       | 92 $\pm$ 10  | 31 $\pm$ 5 | 30 $\pm$ 3 | 36 $\pm$ 1 | 3 $\pm$ 0 | 0.53 $\pm$ 0.04 | 8 $\pm$ 1  | 9 $\pm$ 1  |
| 26    | 28 $\pm$ 1       | 111 $\pm$ 10 | 18 $\pm$ 4 | 62 $\pm$ 6 | 19 $\pm$ 3 | 1 $\pm$ 1 | 0.25 $\pm$ 0.04 | 9 $\pm$ 0  | 23 $\pm$ 3 |
| 29    | 34 $\pm$ 2       | 176 $\pm$ 8  | 21 $\pm$ 3 | 65 $\pm$ 4 | 13 $\pm$ 2 | 1 $\pm$ 1 | 0.17 $\pm$ 0.02 | 9 $\pm$ 0  | 29 $\pm$ 2 |
| 38    | 37 $\pm$ 2       | 139 $\pm$ 10 | 20 $\pm$ 5 | 67 $\pm$ 4 | 11 $\pm$ 3 | 3 $\pm$ 1 | 0.13 $\pm$ 0.03 | 11 $\pm$ 0 | 27 $\pm$ 3 |
| 39    | 34 $\pm$ 2       | 136 $\pm$ 9  | 26 $\pm$ 5 | 55 $\pm$ 7 | 18 $\pm$ 7 | 1 $\pm$ 0 | 0.23 $\pm$ 0.07 | 9 $\pm$ 1  | 19 $\pm$ 4 |
| 40    | 30 $\pm$ 5       | 121 $\pm$ 14 | 23 $\pm$ 6 | 67 $\pm$ 6 | 9 $\pm$ 2  | 1 $\pm$ 1 | 0.12 $\pm$ 0.02 | 9 $\pm$ 1  | 25 $\pm$ 3 |
| 50    | 30 $\pm$ 1       | 50 $\pm$ 6   | 36 $\pm$ 2 | 36 $\pm$ 3 | 24 $\pm$ 3 | 4 $\pm$ 2 | 0.38 $\pm$ 0.04 | 11 $\pm$ 1 | 7 $\pm$ 1  |
| 55    | 26 $\pm$ 1       | 121 $\pm$ 11 | 19 $\pm$ 4 | 74 $\pm$ 5 | 6 $\pm$ 1  | 1 $\pm$ 0 | 0.07 $\pm$ 0.01 | 9 $\pm$ 0  | 32 $\pm$ 4 |
| 60    | 41 $\pm$ 3       | 119 $\pm$ 15 | 30 $\pm$ 5 | 55 $\pm$ 6 | 12 $\pm$ 6 | 3 $\pm$ 2 | 0.15 $\pm$ 0.07 | 10 $\pm$ 1 | 17 $\pm$ 3 |
| 66    | 37 $\pm$ 1       | 151 $\pm$ 8  | 25 $\pm$ 3 | 63 $\pm$ 3 | 11 $\pm$ 1 | 0 $\pm$ 0 | 0.14 $\pm$ 0.01 | 10 $\pm$ 0 | 25 $\pm$ 2 |
| 68    | 33 $\pm$ 2       | 88 $\pm$ 6   | 34 $\pm$ 3 | 50 $\pm$ 3 | 16 $\pm$ 1 | 0 $\pm$ 0 | 0.24 $\pm$ 0.02 | 10 $\pm$ 0 | 13 $\pm$ 2 |
| 72    | 40 $\pm$ 2       | 145 $\pm$ 8  | 20 $\pm$ 3 | 65 $\pm$ 3 | 14 $\pm$ 2 | 1 $\pm$ 0 | 0.18 $\pm$ 0.01 | 9 $\pm$ 0  | 22 $\pm$ 2 |
| 74    | 29 $\pm$ 3       | 55 $\pm$ 10  | 36 $\pm$ 7 | 37 $\pm$ 9 | 26 $\pm$ 4 | 1 $\pm$ 1 | 0.46 $\pm$ 0.09 | 10 $\pm$ 1 | 9 $\pm$ 2  |

<sup>†</sup>PSC: Peso seco del cono (g), NPS: número potencial de semillas (#), %OA: porcentaje de óvulos abortados, %SLL: porcentaje de semillas llenas, %SV: porcentaje de semillas vanas, %SD: porcentaje de semillas dañadas, IE: índice de endogamia, PSE: peso de la semilla (mg) y ER: eficiencia reproductiva (mg g<sup>-1</sup>) ♦ <sup>†</sup>PSC: cone dry weight (g); NPS: potential number of seeds (#); %OA: percentage of aborted ovules; %SLL: percentage of filled seeds; %SV: percentage of empty seeds; %SD: percentage of damaged seeds; IE: inbreeding index; PSE: seed weight (mg); ER: reproductive efficiency (mg g<sup>-1</sup>).

El análisis de varianza mostró diferencias ( $p \leq 0.01$ ) en %OA entre años y árboles. El mayor %OA (29 %) se registró en los conos maduros de 2012 y 2014, y el menor (25 %) se encontró en los conos maduros de 2013. El aborto de los óvulos puede deberse a ausencia de polen, falta de desarrollo del tubo polínico y tubo polínico corto, que no alcance a fecundar el óvulo (Owens *et al.*, 2005). Los %OA fueron menores en *P. patula* en los tres años que en conos de *P. leiophylla* Schiede ex Schltdl. & Cham. (72.9 %) (Morales-Velázquez *et al.*, 2010). En contraste, estos fueron mayores en *P. patula* que en *P. engelmannii* Carr., *P. durangensis* Mart. y *P. rzedowskii* (Madrigal & Caballero) (20, 23 y 22 %, respectivamente) (Bustamante-García *et al.*, 2012; Bustamante-García *et al.*, 2014; Castilleja *et al.*, 2016). Los árboles aportaron un porcentaje bajo a la variación total. Los árboles 2 y 22 tuvieron los valores máximos de esta característica en 2012. Los árboles 50 y 74 mostraron el valor máximo de esta característica en 2013. El árbol 60 alcanzó el valor máximo en 2014 y el árbol 1 mostró el valor menor en 2012; en los árboles 26 y 20 y 20 y 39 se presentaron los valores menores en 2013 y 2014.

production between years and to early pollination, since it stimulates fertile scales production that increases PNS (Owens *et al.*, 2005). PNS averages in our study were lower than those reported for *P. patula* (125 potential seeds per cone, Dvorak, 2002). Tree 29 had the highest PNS in “n” for 2012 and 2013 and tree 39 in 2014; this tree had a high potential in the three years. In contrast, tree 22 had the minimum seed potential only for 2012, and the seed potential in that year was less than the average of all trees in the three evaluated years.

The analysis of variance showed differences ( $p \leq 0.01$ ) in %AO between trees and years. The highest %AO (29 %) was registered in 2012 and 2014 mature cones, the lowest (25 %) was found in 2013 mature cones. The ovules abortion may be due to pollen absence, lack of development of the pollen tubes or short pollen tubes, which in turn fails to fertilize the ovule (Owens *et al.*, 2005). The %AO were lower in *P. patula* in the three evaluated years than in *P. leiophylla* Schiede ex Schltdl. & Cham. cones (72.9 %) (Morales-Velázquez *et al.*, 2010). In contrast, these were higher in *P. patula* than in *P. engelmannii* Carr., *P. durangensis* Mart. and *P.*

**Cuadro 5. Promedios ( $\pm$  error estándar) de las características de conos y semillas de árboles de *Pinus patula* de un huerto semillero sexual en Cuaunepantla, Acaxochitlán, Hidalgo, México, en 2014.****Table 5. Averages ( $\pm$  standard error) of cone and seed characteristics of *Pinus patula* trees at a sexual seed orchard, in Cuaunepantla, Acaxochitlán, Hidalgo, México, in 2014.**

| Árbol | PSC <sup>†</sup> | NPS          | %OA        | %SLL        | %SV        | %SD       | IE              | PSE        | ER         |
|-------|------------------|--------------|------------|-------------|------------|-----------|-----------------|------------|------------|
| 1     | 20 $\pm$ 3       | 57 $\pm$ 11  | 32 $\pm$ 6 | 62 $\pm$ 6  | 5 $\pm$ 3  | 0 $\pm$ 0 | 0.07 $\pm$ 0.03 | 7 $\pm$ 0  | 13 $\pm$ 3 |
| 20    | 31 $\pm$ 1       | 101 $\pm$ 6  | 18 $\pm$ 3 | 66 $\pm$ 3  | 13 $\pm$ 2 | 3 $\pm$ 1 | 0.16 $\pm$ 0.02 | 11 $\pm$ 0 | 25 $\pm$ 2 |
| 21    | 28 $\pm$ 2       | 69 $\pm$ 7   | 35 $\pm$ 3 | 36 $\pm$ 3  | 29 $\pm$ 3 | 1 $\pm$ 0 | 0.43 $\pm$ 0.04 | 11 $\pm$ 0 | 10 $\pm$ 1 |
| 22    | 24 $\pm$ 1       | 74 $\pm$ 5   | 29 $\pm$ 2 | 28 $\pm$ 2  | 41 $\pm$ 2 | 2 $\pm$ 0 | 0.56 $\pm$ 0.03 | 8 $\pm$ 0  | 7 $\pm$ 1  |
| 26    | 27 $\pm$ 1       | 90 $\pm$ 8   | 30 $\pm$ 2 | 50 $\pm$ 3  | 19 $\pm$ 2 | 0 $\pm$ 0 | 0.29 $\pm$ 0.03 | 9 $\pm$ 0  | 15 $\pm$ 1 |
| 29    | 32 $\pm$ 1       | 119 $\pm$ 6  | 33 $\pm$ 2 | 48 $\pm$ 2  | 18 $\pm$ 2 | 1 $\pm$ 0 | 0.27 $\pm$ 0.02 | 9 $\pm$ 0  | 15 $\pm$ 1 |
| 32    | 20 $\pm$ 1       | 70 $\pm$ 6   | 27 $\pm$ 3 | 54 $\pm$ 3  | 17 $\pm$ 2 | 2 $\pm$ 1 | 0.22 $\pm$ 0.02 | 8 $\pm$ 0  | 15 $\pm$ 1 |
| 38    | 40 $\pm$ 1       | 138 $\pm$ 5  | 24 $\pm$ 2 | 64 $\pm$ 2  | 9 $\pm$ 1  | 3 $\pm$ 0 | 0.12 $\pm$ 0.01 | 11 $\pm$ 0 | 24 $\pm$ 1 |
| 39    | 35 $\pm$ 1       | 141 $\pm$ 8  | 21 $\pm$ 3 | 62 $\pm$ 4  | 14 $\pm$ 2 | 3 $\pm$ 1 | 0.18 $\pm$ 0.03 | 9 $\pm$ 0  | 23 $\pm$ 2 |
| 40    | 22 $\pm$ 1       | 66 $\pm$ 6   | 27 $\pm$ 3 | 50 $\pm$ 3  | 22 $\pm$ 3 | 1 $\pm$ 1 | 0.30 $\pm$ 0.03 | 9 $\pm$ 0  | 13 $\pm$ 2 |
| 50    | 29 $\pm$ 4       | 115 $\pm$ 16 | 24 $\pm$ 5 | 51 $\pm$ 11 | 22 $\pm$ 7 | 3 $\pm$ 1 | 0.30 $\pm$ 0.09 | 11 $\pm$ 0 | 23 $\pm$ 6 |
| 55    | 18 $\pm$ 3       | 61 $\pm$ 14  | 32 $\pm$ 6 | 50 $\pm$ 8  | 10 $\pm$ 3 | 8 $\pm$ 5 | 0.14 $\pm$ 0.04 | 7 $\pm$ 1  | 18 $\pm$ 2 |
| 60    | 36 $\pm$ 2       | 92 $\pm$ 6   | 41 $\pm$ 2 | 44 $\pm$ 4  | 11 $\pm$ 4 | 4 $\pm$ 2 | 0.18 $\pm$ 0.06 | 9 $\pm$ 0  | 10 $\pm$ 1 |
| 62    | 42 $\pm$ 3       | 79 $\pm$ 13  | 33 $\pm$ 4 | 53 $\pm$ 7  | 12 $\pm$ 5 | 3 $\pm$ 1 | 0.20 $\pm$ 0.09 | 12 $\pm$ 0 | 12 $\pm$ 2 |
| 66    | 23 $\pm$ 1       | 80 $\pm$ 6   | 35 $\pm$ 3 | 46 $\pm$ 2  | 17 $\pm$ 2 | 2 $\pm$ 0 | 0.25 $\pm$ 0.01 | 9 $\pm$ 0  | 11 $\pm$ 1 |
| 72    | 37 $\pm$ 1       | 124 $\pm$ 4  | 25 $\pm$ 1 | 61 $\pm$ 2  | 13 $\pm$ 1 | 1 $\pm$ 0 | 0.17 $\pm$ 0.01 | 9 $\pm$ 0  | 19 $\pm$ 1 |
| 74    | 32 $\pm$ 1       | 64 $\pm$ 7   | 35 $\pm$ 3 | 43 $\pm$ 4  | 19 $\pm$ 2 | 2 $\pm$ 1 | 0.31 $\pm$ 0.03 | 12 $\pm$ 0 | 10 $\pm$ 1 |

<sup>†</sup>PSC: Peso seco del cono (g), NPS: número potencial de semillas (#), %OA: porcentaje de óvulos abortados, %SLL: porcentaje de semillas llenas, %SV: porcentaje de semillas vanas, %SD: porcentaje de semillas dañadas, IE: índice de endogamia. PSE: peso de la semilla (mg) y ER: eficiencia reproductiva (mg g<sup>-1</sup>) ♦ <sup>†</sup>PSC: cone dry weight (g); NPS: potential number of seeds (#); %OA: percentage of aborted ovules; %SLL: percentage of filled seeds; %SV: percentage of empty seeds; %SD: percentage of damaged seeds; IE: inbreeding index; PSE: seed weight (mg); ER: reproductive efficiency (mg g<sup>-1</sup>).

El análisis de varianza mostró diferencias ( $p \leq 0.01$ ) en %SLL entre años y árboles. Los %SLL promedio fueron superiores a 50 y 58 % en los tres años. Estos porcentajes representaron 72 y 74 semillas llenas por cono en 2012 y 2013 y 55 semillas en 2014. El número de semillas llenas por cono por año, en los tres años, fue mayor al número de semillas llenas (22 semillas llenas por cono) en conos recolectados en poblaciones naturales de *P. patula* y al número (45 a 50 semillas por cono) cosechado en un huerto semillero de esta especie en Zimbabwe (Geary y Pattinson, 1969; Barrett, 1972; Barnes y Mullin, 1974). El número de semillas llenas por cono en los tres años en la investigación presente estuvo dentro de los valores (22 a 93 semillas llenas por cono) reportados para *P. patula* (Patiño y Kageyama, 1991). El número de semillas llenas por cono puede variar considerablemente entre años debido al clima, como precipitación escasa y temperatura baja, y daños a las semillas por insectos (Andersson, 1965; Patiño y Kageyama 1991; De Groot y Schnekenburger, 1996). Los %SLL promedios fueron mayores en *P. patula* en

*rzedowskii* (Madrigal & Caballero) (20, 23 and 22 %, each) (Bustamante-García *et al.*, 2012; Bustamante-García *et al.*, 2014; Castilleja *et al.*, 2016). Trees had low contribution to the total variation percentage. Trees 2 and 22 had the maximum values for this characteristic in 2012. Trees 50 and 74 showed the maximum value for this characteristic in 2013. Tree 60 reached the maximum value in 2014 and tree 1 showed the lowest value in 2012; trees 26 and 20 and 20 and 39 showed the lowest values during 2013 and 2014.

The analysis of variance showed differences ( $p \leq 0.01$ ) in the %FS between years and trees. The average %FS were higher than 50 and 58 % for the three years. These percentages represent 72 and 74 filled seeds per cone in 2012 and 2013 and 55 seeds in 2014. The number of filled seeds per cone per year, over the three years, was greater than the number of filled seeds (22 filled seeds per cone) in cones collected in natural populations of *P. patula*, and the harvested number (45 to 50 seeds per cone) in a seed orchard of this species in Zimbabwe (Geary and Pattinson,



cada año de nuestra investigación respecto a los porcentajes reportados en conos de *P. leiophylla* (2 %) y *P. rzedowskii* (17 %) (Morales-Velázquez *et al.*, 2010; Castilleja *et al.*, 2016) y fueron similares a los registrados en *P. engelmannii* (49 %), *P. durangensis* (49 %) y *P. ayacahuite* var. *veitchii* (Shaw) (55 %) (Bustamante-García *et al.*, 2012; Bustamante-García *et al.*, 2014; Castilleja *et al.*, 2016). El %SLL entre árboles varió considerablemente entre los años (Cuadros 3, 4 y 5). Los árboles 1 y 62 tuvieron el porcentaje máximo de semillas llenas en 2012, el número 22 tuvo el porcentaje menor en los tres años. El número alto de semillas llenas por cono pudo deberse a la tasa alta de cruzamiento entre individuos genéticamente diferentes, lo que se logró al dejar en pie individuos de diferentes procedencias y espaciamiento de 20 m entre árboles de la misma familia en el huerto.

El análisis de varianza mostró diferencias significativas ( $p \leq 0.01$ ) en %SV entre árboles y entre años. El %SV fue bajo con respecto al potencial de semillas en los tres años. El %SV promedio fue 15 % en 2012 y 2013 y 17 % en 2014. Los %SV promedio en *P. patula* en la presente investigación fueron menores que los reportados en *P. strobus* L. (22 %), *P. leiophylla* (24 %) y *P. rzedowskii* (61 %) (Rajora *et al.*, 2002; Morales-Velázquez *et al.*, 2010; Castilleja *et al.*, 2016). También, los promedios para esta variable en el presente estudio fueron menores a los promedios reportados para *P. engelmannii* (27 %) y *P. durangensis* (26 %) (Bustamante-García *et al.*, 2012; Bustamante-García *et al.*, 2014). Pero, los promedios de %SV del presente estudio fueron similares los de *P. leiophylla* (18 en un renglón 18 y %) en un huerto semillero y de poblaciones naturales de *P. ayacahuite* var. *veitchii* (17 %) (Gómez-Jiménez *et al.*, 2010; Castilleja *et al.*, 2016). La autofecundación es la causa principal de la producción de semillas vanas (Dogra, 1967). Además, la hibridación de los árboles del huerto con *P. teocote* y *P. greggii* como parientes cercanos de *P. patula* es probable (Hernández-León *et al.*, 2013) y también puede afectar negativamente la calidad de las semillas (Wachowiak *et al.*, 2005; Ávila-Flores *et al.*, 2016). El árbol 68 tuvo el %SV máximo en 2012 y árbol 22 presentó los porcentajes mayores en los siguientes años. El árbol 62 tuvo el %SV menor en 2012 y el árbol 1 mostró los valores menores en los siguientes años (Cuadros 3, 4 y 5).

En %SP hubo diferencias significativas entre años ( $p \leq 0.01$ ) y entre árboles ( $p \leq 0.05$ ). Los %SP promedio

1969; Barrett, 1972; Barnes and Mullin, 1974). The number of filled seeds per cone in the three years in the present research was within the reported values (22 to 93 seeds filled per cone) for *P. patula* (Patiño and Kageyama, 1991). The number of filled seeds per cone can considerably vary between years due to climate, such as low precipitation, low temperature or damages by insects (Andersson, 1965; Patiño and Kageyama 1991; De Groot and Schnekenburger, 1996). Average %FS were higher in *P. patula* in each of the assessed years at the present research respect to the reported percentages for *P. leiophylla* (2 %) and *P. rzedowskii* (17 %) cones (Morales-Velázquez *et al.*, 2010; Castilleja *et al.*, 2016) and similar to those recorded for *P. engelmannii* (49 %), *P. durangensis* (49 %) and *P. ayacahuite* var. *veitchii* (Shaw) (55 %) (Bustamante-García *et al.*, 2012; Bustamante-García *et al.*, 2014; Castilleja *et al.*, 2016). The %FS among trees considerably varied between years (Tables 3, 4 and 5). Trees 1 and 62 had the highest full seeds percentage in 2012. Number 22 had the lowest percentage in the three years. The high number of filled seeds per cone could be due the high crossing rate between genetically different individuals achieved by leaving individuals of different origins and 20 m spacing between trees of the same family in the orchard.

The analysis of variance showed significant differences ( $p \leq 0.01$ ) in the %ES between trees and between years. The %ES was low respect to seed potential during the three years. The %ES average was 15 % in 2012 and 2013 and 17 % in 2014. The %ES average in *P. patula* in the present research were lower than those reported for *P. strobus* L. (22 %), *P. leiophylla* (24 %) and *P. rzedowskii* (61 %) (Rajora *et al.*, 2002; Morales-Velázquez *et al.*, 2010; Castilleja *et al.*, 2016). Also, the averages for this variable were lower than those reported for *P. engelmannii* (27 %) and *P. durangensis* (26 %) (Bustamante-García *et al.*, 2012; Bustamante-García *et al.*, 2014). However, the averages of %ES shown here were similar to those of *P. leiophylla* (18 % in row 18) in a seed orchard and from natural populations of *P. ayacahuite* var. *veitchii* (17 %) (Gómez-Jiménez *et al.*, 2010; Castilleja *et al.*, 2016). Self-fertilization is the main cause of vain seeds production (Dogra, 1967). In addition, orchard trees hybridization with *P. teocote* and *P. greggii* as close relatives of *P. patula* is likely (Hernández-León *et al.*, 2013) and may also negatively affect seeds quality

fueron 2.6, 1.4 y 2.3 % del potencial de semillas en los años 2012, 2013 y 2014, respectivamente. Estos %SP promedio fueron mayores a los obtenidos en un huerto semillero de *P. monticola* Dougl. ex D. Don en Kalamanka (1.2 %), Vernon, Columbia Británica, Canadá (Owens y Fernando, 2007) y en una población natural de *P. leiophylla* (0.9 %) en el Estado de Michoacán (Morales-Velázquez *et al.*, 2010). Los árboles 40 y 60 tuvieron los %SP mayores en 2012 (Cuadro 3) y los árboles 50 y 55 presentaron los valores mayores en 2013 y 2014, respectivamente (Cuadros 4 y 5). Los %SP bajos en los conos de los tres años confirmaron presencia baja de insectos en los conos y semillas en el huerto del estudio los tres años de evaluación.

En IE se encontraron diferencias entre años ( $p \leq 0.05$ ) y entre árboles ( $p \leq 0.01$ ). La segunda variación mayor fue el árbol, después del error experimental (Cuadro 2). Los IE fueron 0.21, 0.22 y 0.24 en 2012, 2013 y 2014. El índice de endogamia debida a árbol varió de 0.05 en el árbol 1 a 0.53 para el árbol 22 en 2013. Los IE de *P. patula* fueron menores en este huerto, en cada uno de los tres años, que los valores que se reportaron para *Picea rubens* Sarg. (0.61), *P. rigida* Mill. (0.35), *P. leiophylla* (0.50) y *Picea martinezii* T. F. Patterson (0.75) (Mosseler *et al.*, 2000; Mosseler *et al.*, 2004; Gómez-Jiménez *et al.*, 2010; Flores-López *et al.*, 2012). Los IE altos se deben a tasas altas de autofecundación, lo que incrementa la presencia de alelos recesivos letales causantes de la muerte del embrión (Bramlett, 1977). Aunque, con base en los valores promedio de IE en los tres años la tasa de autofecundación y cruzamiento entre individuos emparentados fue baja. Esto posiblemente fue resultado de cruzamientos entre árboles no emparentados.

En PSE hubo diferencias ( $p \leq 0.01$ ) entre años de producción y entre árboles. El PSE promedio en los tres años fue 9.5 mg (Cuadros 3, 4 y 5). Este valor fue mayor al reportado (8.7 mg) en *P. patula* en el estado de Veracruz, e incluso mayor que el promedio (8.5 mg) de 16 procedencias naturales de *P. patula* (Barrett, 1972; Mendizábal *et al.*, 2006). El peso de la semilla varió de 7 a 13, 7 a 11 y 7 a 12 mg en 2012, 2013 y 2014, respectivamente. Los árboles 62 y 74 tuvieron los valores mayores para esta característica en 2012 y 2014 (Cuadro 3, 4 y 5). En contraste, el árbol 1 tuvo los pesos menores en los tres años de producción. El número de semillas por kg varió de

(Wachowiak *et al.*, 2005; Ávila-Flores *et al.*, 2016). Tree 68 had the maximum %ES in 2012 and tree 22 following years. Tree 62 had the lowest %ES in 2012 and tree 1 had the lowest values the following years (Tables 3, 4 and 5).

%PS had significant differences between years ( $p \leq 0.01$ ) and between trees ( $p \leq 0.05$ ). The average %PS was 2.6, 1.4 and 2.3 % from the seed potential in 2012, 2013 and 2014, each. These %PS were higher than those obtained for *P. monticola* Dougl. ex D. Don in a seed orchard at Kalamanka (1.2 %), Vernon, British Columbia, Canada (Owens and Fernando, 2007) and in a wild population of *P. leiophylla* (0.9 %) at the State of Michoacán, México (Morales-Velázquez *et al.*, 2010). Trees 40 and 60 had the highest %PS in 2012 (Table 3), trees 50 and 55 had the highest values in 2013 and 2014, each (Tables 4 and 5). The low %PS in the cones throughout the three years confirmed low insects presence in the cones and seeds at the research orchard after three evaluation years.

The II showed differences between years ( $p \leq 0.05$ ) and between trees ( $p \leq 0.01$ ). The second major variation was with the trees, after the experimental error (Table 2). The II were 0.21, 0.22 and 0.24 in 2012, 2013 and 2014. The inbreeding rate due to tree varied from 0.05 in tree 1 to 0.53 in tree 22 in 2013. II in *P. patula* were lower in this orchard, in each of the three evaluated years, compared to the reported values for *Picea rubens* Sarg. (0.61), *P. rigida* Mill. (0.35), *P. leiophylla* (0.50) and *Picea martinezii* T. F. Patterson (0.75) (Mosseler *et al.*, 2000; Mosseler *et al.*, 2004; Gómez-Jiménez *et al.*, 2010; Flores-López *et al.*, 2012). High II is due to high rates of self-pollination, which increases the presence of lethal recessive alleles that cause embryonic death (Bramlett, 1977). Although, based on the average values of II in the three evaluated years, the self-pollination rate and crossbreeding between related individuals was low. This was possibly due to crosses between unrelated trees.

The SWE shows differences ( $p \leq 0.01$ ) between production years and between trees. The average SWE during the three evaluated years was 9.5 mg (Tables 3, 4 and 5). This value was higher than that reported (8.7 mg) in *P. patula* at the state of Veracruz, Mexico, and even higher than the average (8.5 mg) at 16 natural locations of *P. patula* (Barrett, 1972; Mendizábal *et al.*, 2006). Seed weight varied from

102 653 a 110 145. Estos valores están en el intervalo promedio de (92 000 a 114 000) semillas por kg registrado para *P. patula* en Sudáfrica y Zimbabwe (Barnes y Mullin, 1974).

Hubo diferencias ( $p \leq 0.01$ ) en ER entre años y entre árboles ( $p \leq 0.05$ ). Los árboles 1 y 22 tuvieron ER máxima y mínima en 2012. La ER varió de 2 a 41 mg de semillas por g de cono en los árboles 1 y 2 en 2012. El valor promedio de ER en nuestro estudio fue similar (16) a la obtenida en *P. leiophylla*, mayor (3.3) y en *P. rigida* (Mosseler *et al.*, 2004; Gómez-Jiménez *et al.*, 2010), y menor a los valores (24 y 30) obtenidos en *Picea mexicana* Martínez y *Pseudotsuga menziesii* Mirb., que son especies con conos ligeros (Flores-López *et al.*, 2005; Mápula-Larreta *et al.*, 2007).

Aunque la producción de conos y semillas se espera que aumente con la edad de los árboles de *P. patula*, el manejo intensivo es recomendable para promover la producción de conos. La cantidad baja de polen puede conducir al aborto de los conos; estos requieren polen en 80 % o más de las escamas fértiles para mantener su desarrollo (Owens *et al.*, 2005). Por lo tanto, la recolección y almacenamiento de polen puede ser una práctica común en los huertos de *P. patula*. La disponibilidad de polen permitirá su dispersión inmediata, pues los estróbilos femeninos alcanzarían la receptividad y se aseguraría la polinización temprana. Lo anterior estimularía el desarrollo de los conos y la formación del número mayor de escamas fértiles y, por lo tanto, aumentaría el número potencial de semillas (Owens *et al.*, 2005). También, las cruas controladas pueden implementarse en los árboles de *P. patula* para evitar la autofecundación, que es la causa principal de la producción de semillas vanas e índices altos de endogamia debido al aumento de la probabilidad de que alelos deletéreos se junten en la fecundación y formen genotipos homocigóticos (Dogra, 1967; Hartl y Clark, 2007). El cruzamiento entre individuos diferentes promueve la formación de semillas llenas (Owens *et al.*, 2005). El riego puede ser parte del manejo para aumentar la sincronía entre la receptibilidad de los estróbilos femeninos y la liberación del polen, ya que riegos ligeros pueden atrasar la dispersión del polen (Owens *et al.*, 2005). La fertilización y aplicación de hormonas, como ácido giberélico ( $AG_{4/7}$ ), pueden promover la floración de los árboles del género *Pinus* (Ebell, 1972; Ross *et al.*, 1985).

7 to 13, 7 to 11 and 7 to 12 mg in 2012, 2013 and 2014, each. Trees 62 and 74 had the highest values for this characteristic in 2012 and 2014 (Table 3, 4 and 5). In contrast, tree 1 had the lowest weights throughout the three production years. The number of seeds per kg varied from 102, 653 to 110, 145. These values are within the average range of 92, 000 to 114, 000 seeds per kg recorded for *P. patula* in South Africa and Zimbabwe (Barnes and Mullin, 1974).

There were differences ( $p \leq 0.01$ ) in the RE between years and between trees ( $p \leq 0.05$ ). Trees 1 and 22 had maximum and minimum RE during 2012. The RE varied from 2 to 41 mg of seeds per g of cones in trees 1 and 2 in 2012. The average RE value in our study was similar (16) to that obtained in *P. leiophylla*, higher (3.3) in *P. rigida* (Mosseler *et al.*, 2004; Gómez-Jiménez *et al.*, 2010), and lower values (24 and 30) in *Picea mexicana* Martínez and *Pseudotsuga menziesii* Mirb., which are species with light cones (Flores-López *et al.*, 2005; Mápula-Larreta *et al.*, 2007).

Although cones and seeds production expects to increase with age in *P. patula* trees, intensive management is recommended to promote cones production. Low pollen amount can lead to cones abortion; these require 80 % or more pollen on the fertile scales to maintain their development (Owens *et al.*, 2005). Therefore, pollen recollection and storage may be a common practice in the *P. patula* orchards. Pollen availability will allow its immediate dispersion since female strobili would reach receptivity and ensure early pollination. This would stimulate cones development and the formation of a greater number of fertile scales and, therefore, increase the potential seeds number (Owens *et al.*, 2005). Also, controlled breeding can be implemented in the *P. patula* trees to avoid self-fertilization, which is the main cause of vain seeds production and high inbreeding rates due to the increased probability of deleterious alleles to join in fertilization and form homozygous genotypes (Dogra, 1967, Hartl and Clark, 2007). Crossing between different individuals promotes full seeds formation (Owens *et al.*, 2005). Irrigation can be part of the management to increase the synchrony between the receptivity of the female strobili and pollen release given that light irrigation can delay pollen dispersion (Owens *et al.*, 2005). Fertilization and hormones application, such as gibberellic acid

## CONCLUSIONES

*Pinus patula* mostró variación alta en las características reproductivas. La fuente de variación mayor en las características fueron los árboles, después del error experimental. El porcentaje de semillas llenas varió entre los años; pero, un número alto de semillas llenas por conos se registraron en los tres años. El porcentaje bajo de semilla vana e índice menor de endogamia indicaron nivel bajo de autofecundación en el huerto semillero.

## LITERATURA CITADA

- Andersson, E. 1965. Cone and seed studies in Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). Stud. For. Suec. 23: 1-278.
- Ávila-Flores, I. J., J. C. Hernández-Díaz, M. S. González-Elizondo, J. Á. Prieto-Ruiz, and C. Wehenkel. 2016. Degree of hybridization in seed stands of *Pinus engelmannii* Carr. in the Sierra Madre Occidental, Durango, Mexico. PLoS ONE 11: e0152651.
- Barnes, R. D., and L. J. Mullin. 1974. Flowering phenology and productivity in clonal seed orchards on *Pinus patula*, *P. elliotii*, *P. taeda*, and *P. kesiya* in Rhodesia. Forest Research Paper No. 3. Rhodesia Forestry Commission. 81 p.
- Barrett, W. G. 1972. Variación de características morfológicas en poblaciones naturales de *Pinus patula* Schltdl. et Cham. en México. Suplemento Forestal 7, Institute for Domestic and Internal Affairs, Argentina. pp: 9-35.
- Bonner, F. T. 1993. Análisis de Semillas Forestales. Serie de Apoyo Académico No. 47. División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 53 p.
- Bramlett, D. L. 1977. Efficiency of seed production in southern, pine seed orchards, In: Proceedings of the Thirteenth Lake States Forest Tree Improvement Conference. Gen. Tech. Rep. NC-50. USDA, Forest Service, St. Paul, MN. pp: 17-25.
- Bramlett, D. L., E. W. Belcher Jr., G. L. DeBarr, G. D. Hertel, R. P. Karrfalt, C. W. Lantz, T. Miller, K. D. Ware, and H. O. Yates III. 1977. Cone analysis of southern pines: a guidebook. Gen. Tech. Rep. SE-13. USDA, Forest Service. Asheville, NC. 28 p.
- Bustamante-García, V., J. Á. Prieto-Ruiz, E. Merlín-Bermudes, R. Álvarez-Zagoya, A. Carrillo-Parra, y J. C. Hernández-Díaz. 2012. Potencial y eficiencia de producción de semilla de *Pinus engelmannii* Carr., en tres rodales semilleros del estado de Durango, México. Madera Bosques 18: 7-21.
- Bustamante-García, V., J. Á. Prieto-Ruiz, A. Carrillo-Parra, R. Álvarez-Zagoya, H. González-Rodríguez, and J. J. Corral-Rivas. 2014. Seed production and quality of *Pinus durangensis* Mart., from seed areas and a seed stand in Durango, Mexico. Pak. J. Bot. 46: 1197-1202.
- Castilleja S., P. P. Delgado V., C. Sáenz-Romero, and Y. Herre-rías D. 2016. Reproductive success and inbreeding differ in fragmented populations of *Pinus rzedowskii* and *Pinus ayacahuite* var. *veitchii*, two endemic Mexican pines under threat. Forests 7: 1-17.

(AG<sub>47</sub>), can promote the flowering in *Pinus* trees (Ebell, 1972; Ross *et al.*, 1985).

## CONCLUSIONS

*Pinus patula* showed high variation in reproductive characteristics. The greatest source of variation in the characteristics was the trees, after the experimental error. The percentage of filled seeds varied between years; but a high number of seeds filled by cones were recorded in the three years. The low percentage of vain seeds and low inbreeding index indicates a low level of self-fertilization in the seed orchard.

—End of the English version—



- De Groot, P., and F. Schnekenburger. 1996. Cone traits of jack pine and black spruce in young seedling seed orchards. New For. 12: 279-291.
- Dogra, P. D. 1967. Seed sterility and disturbances in embryogeny in conifers with particular reference to seed testing and tree breeding in Pinaceae. Stud. For. Suec. 15: 5-96.
- Dvorak, W. S. 2002. *Pinus patula* Schiede & Schltdl. & Cham. In: Vozzo, J. (ed.). Tropical Tree Seed Manual. Agricultural Handbook 721. USDA, Forest Service. pp: 632-635.
- Ebell, L. F. 1972. Cone-induction response of Douglas fir to form of nitrogen fertilizer and time of treatment. Can. J. For. Res. 2: 317-326.
- Fernandes, L., M. Rocheta, J. Cordeiro, S. Pereira, S. Gerber, M. M. Oliveira, and M. M. Ribeiro. 2008. Genetic variation, mating patterns and gene flow in a *Pinus pinaster* Aiton clonal seed orchard. Ann. For. Sci. 65: 706.
- Flores-López, C., J. López-Upton, y J. J. Vargas-Hernández. 2005. Indicadores reproductivos en poblaciones naturales de *Picea mexicana* Martínez. Agrociencia 39: 117-126.
- Flores-López, C., C. G. Geada-López, J. López-Upton, y E. López-Ramírez. 2012. Producción de semillas e indicadores reproductivos en poblaciones naturales de *Picea martinezii* T. F. Patterson. Rev. For. Baracoa 31: 49-58.
- Geary, T.F., y J. V. Pattinson. 1969. Seed production potential of cones of *Pinus kesiya* and *P. patula* in Central Africa. Rhod. J. Agric. Res. 7: 111-115.
- Gómez-Jiménez, D. M., C. Ramírez-Herrera, J. Jasso-Mata, y J. López-Upton. 2010. Variación en características reproductivas y germinación de semillas de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham. Rev. Fitotec. Mex. 33: 297-304.
- Hartl, D. L., and A. G. Clark. 2007. Principles of Population Genetics. 4<sup>th</sup> ed. Sinauer Associates, Inc. Publisher. Sunderland, MA, U.S.A. 652 p.
- Hernández-León S., D. S. Gernandt, J. A. Pérez de la Rosa, and L. Jardón-Barbolla. 2013. Phylogenetic relationship and species delimitation in *Pinus* section *Trifoliae* inferred from



- plastid DNA. PLoS ONE 8: e70501. doi:10.1371/journal.pone.0070501
- Ladrach, W. E. 1985. Comparisons between provenances and sources of fourteen conifers in the Colombian Andes after five years. Research Report 102, Investigación Forestal. Cartón y Papel de Colombia. Cali, Colombia. 13 p.
- Lyons, L. A. 1956. The seed production capacity and efficiency of red pine cones (*Pinus resinosa*). Can. J. Botany 34: 27-36.
- Mápula-Larreta, M., J. López-Upton, J. J. Vargas-Hernández, and A. Hernández-Livera. 2007. Reproductive indicators in natural populations of Douglas-fir in Mexico. Biodivers. Conserv. 16: 727-742.
- Mendizábal H., L. C., J. Alba L., y M. I. Cabrera C. 2006. Variación de semillas de *Pinus patula* Schl. et Cham. con respecto a su posición en el fruto. Foresta Veracruzana 8: 13-16.
- Morales-Velázquez, M. G., C. A. Ramírez-Mandujano, P. Delgado-Valerio, y J. López-Upton. 2010. Indicadores reproductivos de *Pinus leiophylla* Schltdl. et Cham. en la cuenca del río Angulo, Michoacán. Rev. Mex. Cien. For. 1: 31-38.
- Morales G., E., J. López U., J. J. Vargas H., C. Ramírez H., y A. Gil M. 2013. Parámetros genéticos de *Pinus patula* en un ensayo de progenies establecido en dos altitudes. Rev. Fitotec. Mex. 36: 155-162.
- Mosseler, A., J. E. Major, J. D. Simpson, B. Daigle, K. Lange, Y. S. Park, K. H. Johnsen, and O. P. Rajora. 2000. Indicators of population viability in red spruce, *Picea rubens*. I. Reproductive traits and fecundity. Can. J. Bot. 78: 928-940.
- Mosseler, A., O. P. Rajora, J. E. Major, and K. H. Kim. 2004. Reproductive and genetic characteristics of rare, disjunct pitch pine populations at the northern limits of its range in Canada. Conserv. Genet. 5: 571-583.
- Owens, J. N., J. Bennett, and S. L. Hirrondelle. 2005. Pollination and cone morphology affect cone and seed production in lodgepole pine seed orchards. Can. J. For. Res. 35: 383-400.
- Owens, J. N., and D. D. Fernando. 2007. Pollination and seed production in western white pine. Can. J. For. Res. 37: 260-275
- Patiño V., F., and P. Y. Kageyama. 1991. *Pinus patula*, Schiede & Deppe. Seedleaflet No. 8A. Danish International development Agency (DANIDA), Forest Seed Centre. Humlebaek, Denmark. 25 p.
- Perry, J. P. 1991. The Pines of Mexico and Central America. Timber Press. Portland, Oregon. 231 p.
- Rajora, O.P., A. Mosseler, and J. E. Major. 2002. Mating system and reproductive fitness traits of eastern white pine (*Pinus strobus*) in large, central versus small, isolated, marginal populations. Can. J. Bot. 80: 1173-1184.
- Ross, S.D., J. E. Webber. R. P. Pharis and J. N. Owens. 1985. Interaction between gibberellin A4/7 and root-pruning on the reproductive and vegetative process in Douglas fir. I. Effects on flowering. Can. J. For. Res. 15: 341-347.
- Salaya, D., J. M., J. López U., y J. J. Vargas H. 2012. Variación genética y ambiental en dos ensayos de progenie de *Pinus patula*. Agrociencia 46: 519-534.
- SAS Institute Inc., 2012 SAS version 9.4 for Windows. SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA. Licensed to Colegio de Postgraduados, site 70070615.
- Vargas H., J. J. 2003. Estado de la diversidad biológica de los árboles y bosques en el Norte de México. Documentos de Trabajo: Recursos Genéticos Forestales. FGR/60S. Servicio de Desarrollo de Recursos Forestales, Dirección de Recursos Forestales, FAO, Roma. 42 p.
- Vela G., L. 1980. Contribución a la ecología de *Pinus patula* Schl. et Cham. Publicación Especial No. 19. INIF/SARH. México, D. F. 109 p.
- Velázquez, M., A., G. Ángeles P., T. Llanderal O., A. Román J., and V. J. Reyes H. 2004. Monografía de *Pinus patula*. CONAFOR/Colegio de Postgraduados. México, D. F. 124 p.
- Wachowiak, W., A. Lewandowski, and W. Prus-Gowacki. 2005. Reciprocal controlled crosses between *Pinus sylvestris* and *P. mugo* verified by a species-specific cpDNA marker. J. Appl. Genet. 46: 41-43.
- White, T. L., W. T. Adams, and D. B. Neale. 2007. Forest Genetics. CAB International. London, UK. 682 p.
- Wormald, T. J. 1975. *Pinus patula*. Tropical Forestry 7. Department of Forestry, Commonwealth Forestry Institute. Oxford, UK. 212 p.