

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO FORESTAL



Diferenciación Morfológica y Anatómica de Acículas en Tres Poblaciones Naturales de
Pinus coulteri D. Don. de Baja California, México

Por:

OLIVER PÉREZ ROBLERO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO FORESTAL

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO FORESTAL

Diferenciación Morfológica y Anatómica de Acículas en Tres Poblaciones Naturales de
Pinus coulteri D. Don. de Baja California, México

Por:

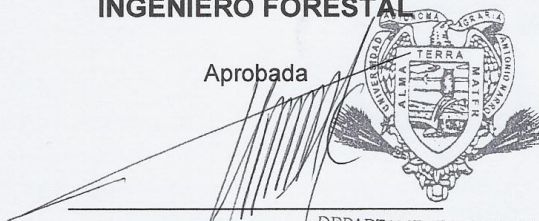
OLIVER PÉREZ ROBLERO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO FORESTAL

Aprobada



DEPARTAMENTO FORESTAL
Dr. Celestino Flores López
Asesor Principal

Dr. José Ángel Villarreal Quintanilla
Coasesor

Dra. Francisca Ramírez Godina
Coasesor

Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía



Coordinación
División de Agronomía
Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2014

Este proyecto de tesis ha sido apoyado por el proyecto de Investigación de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro con clave 38-111-3613-2122, a cargo del profesor investigador Dr. Celestino Flores López.

DEDICATORIA

A mis Padres

Ovilio Sarvelio Pérez Pérez y Emelia Roblero Morales; por darme la vida y la herencia más grande que se le puede dar a un hijo a quien les debo lo que soy; porque día con día han luchado para que sus hijos salgan adelante y tengan un futuro mejor en la vida. Gracias por la confianza, el apoyo, el amor, la amistad y los sabios consejos y regaños que me brindaron para salir adelante en mi carrera profesional.

A mis Hermanos

Ovilio Pérez Roblero, Cristina Pérez Roblero, Miguel Ángel Pérez Roblero, Anadeli Pérez Roblero y Leiver Pérez Roblero. Los mejores hermanos del mundo; con todos tengo una enorme deuda en mi formación, porque siempre me apoyan en todos los momentos de mi vida, y por el cariño y confianza que me han tenido, las cuales forman parte en mi vida y una hermosa familia junto a nuestros padres. Gracias por confiar en mí.

A mis Abuelos

Con sus sabios y grandes consejos he aprendido mucho y me han enseñado a salir adelante, sobre todo el respeto, la humildad hacia las demás personas y gracias a sus oraciones para estar siempre con salud y felicidad, los estimo mucho.

A mi Novia

María de la Luz González Ragoytia, por a ver estado conmigo los momentos más difíciles y por a verme brindado su cariño y amor, sobre todo por estar conmigo en la toma de datos de esta tesis.

A mis Amigos

Oliver Ramírez Morales, Carlos Pérez Roblero, Emilio Martínez Sánchez, Elí Pérez Pérez, Sergio Aroldo Trujillo, Maynor Morales Roblero, Arturo Nolasco Gumeta, Armando Avisai Euan y al profesor Vicente Martínez Oranday de Tae Won Do; a pesar en los momentos difíciles siempre estaban ahí para recibir su ayuda y apoyo incondicionalmente.

AGRADECIMIENTO

A Dios

Por guiarme en el mejor camino, porque con su grandeza, todo ha sido posible, por cumplir unas de mis metas más importantes de mi vida, que es obtener mi carrera profesional, además, por darme salud, cuidado y a demás ayudado en los momentos difíciles de mi estancia en la universidad.

A mi ALMA MATER

La Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por darme la oportunidad de concluir esta etapa de mi vida en sus instalaciones.

Departamento Forestal

Principalmente al cuerpo de profesores que gracias a sus enseñanzas, aprendizaje y ética profesional hacen la formación de cada uno de los alumnos.

Al Dr. Celestino Flores López, por a verme dado la oportunidad de participar en el proyecto de tesis y ser el asesor principal de este proyecto.

Al Dr. José Ángel Villarreal Quintanilla Profesor investigador del Departamento de Botánica y a la Dra. Francisca Ramírez Godina Departamento de Fitomejoramiento, por la revisión, comentarios y correcciones del escrito de tesis.

Al Departamento de Fitomejoramiento, especialmente al laboratorio de Citogenética por a permitirme llevar a cabo mi trabajo de laboratorio, en especial a la T.A. Norma Leticia Portos Gaona por su asesoramiento en el manejo de los materiales de laboratorio.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Página

ÍNDICE DE CUADRO	iii
ÍNDICE DE FIGURA	iv
RESUMEN	v
ABSTRAC	vi
1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Hipótesis	2
1.2 Objetivo general.....	2
2 REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Descripción de <i>Pinus coulteri</i>	3
2.2 Importancia de <i>Pinus coulteri</i> D. Don.....	4
2.3 Variación Morfológica y Anatómica	4
2.3.1 Tipos de variación e importancia	5
2.4 Estudios realizados sobre variación morfológica y anatómica en coníferas	6
2.5 Estudios realizados en <i>Pinus coulteri</i> D. Don.	9
3 MATERIALES Y MÉTODOS	10
3.1 Descripción de las áreas de estudio de <i>Pinus coulteri</i>	10
3.1.1 Localización	10
3.2 Aspectos ecológicos.....	10
3.2.1 Clima	12
3.3 Muestreo y colecta del material vegetativo	13
3.4 Variables evaluadas	14
3.4.1 Variables morfológicas	14
3.4.2 Variables anatómicas.....	17
3.5 Análisis estadístico	18
3.5.1 Verificación de normalidad	19
3.5.2 Análisis de varianza	20
3.5.3 Análisis multivariado	20
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
4.1 Normalidad de las variables.....	21

4.2	Comparación entre poblaciones.....	21
4.3	Componentes principales.....	25
5	CONCLUSIONES.....	29
6	RECOMENDACIONES.....	30
7	LITERATURA CITADA.....	31

ÍNDICE DE CUADRO

Cuadro		Página
1	Trabajos realizados en variación morfológica y anatómica, así como también las variables de cada una de ellas	7
2	Localización de las poblaciones y del material colectado de <i>Pinus coulteri</i> D. Don en Baja California.....	10
3	Tipos de climas	13
4	Prueba de normalidad para las variables morfológicas y anatómicas de <i>Pinus coulteri</i> D. Don.....	22
5	Valores de tendencia central y dispersión, prueba (DMS) en variables morfológicas y anatómicas de tres poblaciones de <i>Pinus coulteri</i> D. Don.....	23
6	Matriz de correlación de los eigenvalores de <i>Pinus coulteri</i> D. Don.....	26
7	Correlaciones de variables con los componentes principales de <i>Pinus coulteri</i> D. Don.....	27

ÍNDICE DE FIGURA

Figura		Página
1	Ubicación geográfica de las 5 poblaciones naturales de <i>Pinus coulteri</i> D. Don en Baja California (García, 2012).....	11
2	Variables morfológicas evaluadas de <i>Pinus coulteri</i> D. Don.....	16
3	Características anatómicas en la sección transversal de acículas de <i>Pinus coulteri</i> D. Don.....	19
4	Gráfica que muestra los valores de los componentes 1 y 2 de las cuatro poblaciones de <i>Pinus coulteri</i> D. Don.....	28

RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el objetivo de Identificar los caracteres morfológicos y anatómicas de acículas que aportan mayor variación para diferenciar las poblaciones de *Pinus coulteri* de Laguna Hanson, Sierra Blanca y Rancho Nuevo, Baja California. La recolección del material vegetativo se realizó en el año 2010, el número de muestras por población fue de 22 árboles para Sierra Blanca, 25 árboles para Laguna Hanson y de 19 árboles para la población de Rancho Nuevo. La diferencia de números de muestras recolectadas por población se debe a que únicamente se tomó en cuenta los árboles maduros, se utilizó un muestreo selectivo, esto con la finalidad de muestrear individuos maduros en toda la población. Se efectuó una prueba de normalidad para cada una de las variables, se estimaron los valores de tendencia central y de dispersión. Se desarrolló un Análisis de Varianza considerando efectos mixtos, así como un análisis de componentes principales. Los análisis de varianza mostraron diferencias estadísticas significativas entre poblaciones en 9 de 16 variables evaluadas. La población de Laguna Hanson y Sierra Blanca estadísticamente son iguales en cinco variables morfológicas y cuatro anatómicas pero diferentes a Rancho Nuevo, mientras que para dos variables morfológicas, longitud de acícula, longitud de vaina y canales resiníferos, las tres poblaciones son diferentes. Las variables morfológicas que presentaron mayor variación fueron ancho de vaina, número de hileras de estomas en el envés izquierdo, número de hileras de estomas en el envés derecho, número de hileras de estomas en el haz y en las anatómicas fue ancho del haz vascular incluyendo células endodérmicas, longitud del haz vascular incluyendo células endodérmicas, número de células endodérmicas, distancia desde ángulo a la posición del canal resinífero, se puede observar claramente que las variables anatómicas y morfológicas son útiles para diferenciar las poblaciones de *Pinus coulteri*.

Palabras claves: *Pinus coulteri*, variación morfológica, anatómica.

ABSTRACT

The present study was made with the objective Identify morphological and anatomical characters of needles that provide more variation to differentiate populations of *Pinus coulteri* of Laguna Hanson, Sierra Blanca and Rancho Nuevo, Baja California. The collection of plant material was performed in 2010, the number of samples per population was 22 trees to Sierra Blanca, Laguna Hanson 25 trees and 19 trees for the population of Rancho Nuevo. The difference of numbers of samples collected by population is due to it was taken into account only the mature trees, selective sampling is used, this in order to sample the entire mature population. A normality test for each of the variables, the values of central tendency and dispersion were estimated . An Analysis of Variance considering mixed effects, and a principal component analysis was developed. The analysis of variance showed statistically significant differences between populations in 9 of 16 variables evaluated. The population of Laguna Hanson and Sierra Blanca are statistically the same in five and four anatomical morphological variables but different from Rancho Nuevo, while two morphological variables, needle length, pod length and resin canals, the three populations are different. The morphological variables that showed greater variation were wide pod, number of rows of stomata on the left underside, number of rows of stomata on the right underside, number of rows of stomata on the upper and anatomical was width of vascular bundle including endoderm cells, including vascular bundle length endoderm cells, number of endodermal cells, distance from the position angle resinífero canal, you can clearly see that the anatomical and morphological variables are useful for differentiating populations of *Pinus coulteri*.

Keywords: *Pinus coulteri*, morphological variation, anatomical.

1 INTRODUCCIÓN

México es un centro de diversificación de pinos, siendo el hábitat de más de la mitad de las especies de este género en el mundo (Ledig, 2004). Para México y América Central se reportan 72 especies de pinos incluyendo variedades y formas (Perry, 1991). México ostenta diferentes especies de pinos, desde el nivel del mar hasta cerca de cuatro mil metros de altitud, lo mismo en ambientes húmedos que en zonas semiáridas (Fonseca, 2003).

La península de Baja California es una de las partes únicas de México, ya que en ella prevalecen climas de tipo Mediterráneo, así como también seis pisos bioclimáticos: el Inframediterráneo, Termomediterráneo, Mesomediterráneo, Supramediterráneo y hacia el sur el mesotropical y termotropical. En cada uno se describen las diferentes plantas vasculares de acuerdo a su altitud de piso de vegetación, utilizando análisis de los pisos bioclimáticos; además las especies vasculares encontradas en cada piso son únicas (Peinado *et al.*, 1994). El número de especies endémicas para el bosque de coníferas de las Sierras de Juárez y de San Pedro Mártir es notorio debido tal vez a su relativo aislamiento y condiciones ambientales específicas (Delgadillo, 2004).

En Baja California, *Pinus coulteri* se distribuye de manera dispersa y rara en Sierra Blanca, Sierra de Juárez, y Sierra de San Pedro Mártir (Farjon y Styles, 1997; Perry, 1991; Delgadillo, 2004;). Sin embargo, Perry (1991), hace mención de otras pequeñas poblaciones aisladas al suroeste de San Faustino y al noroeste de Laguna Hanson.

De acuerdo a la Norma-059-SEMARNAT-2010, *Pinus coulteri* D. Don, es una especie que se encuentra sujeta a protección especial (Pr), podría llegar a encontrarse amenazadas por factores que inciden negativamente en su viabilidad, por lo que se determina la necesidad de propiciar su recuperación y conservación o la recuperación y conservación de poblaciones de especies asociadas.

Esta especie de pino forma parte del grupo resistente al fuego al que sobreviven los árboles adultos; la mayoría son altos, de corteza gruesa, acículas largas y ramas gruesas. Conos pesados y con escamas que presentan espinas; semillas grandes con alas largas y son lentas para iniciar la producción de semillas. La parcialidad serotina

aparentemente le da una ventaja reproductiva después de que el fuego pasa sobre otras especies del grupo como; *Pinus jeffreyi* Grey. & Balf., *Pinus lambertiana* Dougl., *Pinus palustris* Mill., *Pinus ponderosa* Laws., *Pinus sabiniana* Dougl., *Pinus torreyana* Parry (McCune, 1988). Aparentemente se establece después de un incendio pero los árboles maduros están en lugares rocosos que son generalmente protegidos del fuego (Perry, 1991).

Para medir la variación, existe una gran cantidad de variación genética dentro de especies, entre poblaciones de diferentes procedencias y entre individuos dentro de una población. Para medir la variación genética en plantas existe una amplia gama de métodos que va desde medidas de morfología en campo hasta técnicas especiales de laboratorio con marcadores genéticos moleculares (Furnier, 2004).

Los patrones de variación dentro de especies son de gran interés, ya que determinan la manera en que explotamos y conservamos estos recursos. Si hay pocas diferencias entre poblaciones, la pérdida de cualquier población no es tan grave debido a que se pierde una unidad única genéticamente. Si las poblaciones son muy diferenciadas, cada una representa un recurso único y es preciso mantener más poblaciones en programas de conservación y mejoramiento (Furnier, 2004). Las diferencias morfológicas son principalmente los conos y semillas de esta especie que son únicos, el desarrollo masivo de las escamas de los conos y la prolongación de las apófisis y umbo lo hacen inmediatamente reconocible (Perry, 1991).

1.1 Hipótesis

Ho: Ninguna variable morfológica y anatómica de acículas presenta mayor variación para diferenciar algunas de las tres poblaciones estudiadas.

Ha: Al menos una variable morfológica y/o anatómica de acículas presenta mayor variación que permite diferenciar al menos una población de las tres estudiadas.

1.2 Objetivo general

Identificar las variables morfológicas y anatómicas de acículas que aportan mayor variación para diferenciar las poblaciones de *Pinus coulteri* de: Laguna Hanson, Sierra Blanca y Rancho Nuevo y compararlas con dos poblaciones anteriormente descritas y evaluadas.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Descripción de *Pinus coulteri*

Esta especie fue encontrada por Thomas Coulter entre los años 1832-1833 en las montañas de Santa Lucía, cerca de Cone Peak, en California, a una altura de 3000 a 4000 pies y que años después fue descrita por el botánico Lamb ex D. Don en el año de 1836; en México se distribuye en Baja California; pero más extendida y abundante en las gamas de la costa de la Alta California, U.S.A. (Farjon y Styles, 1997). Se encuentra distribuido principalmente en bosques aislados en las montañas costeras de la parte central y sur de California. Existen algunas y muy aisladas poblaciones en Baja California norte México en la Sierra de Juárez y San Pedro Mártir. Al suroeste de San Faustino existe una pequeña población de *Pinus coulteri*, y se han reportado poblaciones dispersas al noroeste de laguna Hanson (Perry, 1991).

Pinus coulteri es un árbol de tamaño pequeño mediano llega a medir 10 a 25 m de altura, la corona es abierta e irregular. La corteza en los árboles maduros es de 3 a 5 cm de grosor es de color café oscuro y se divide en placas longitudinales que son ásperas e irregulares.

Las ramas son gruesas, ásperas de color café rojizo y se divide en ramificaciones largas y poco recurrentes (Perry, 1991). Las hojas se dan en fascículos de 3 con una longitud 15-28 cm, su color es verde grisácea, muy gruesas de 2 mm con márgenes finamente aserrados, muy densas en los extremos de las ramas, pueden persistir de 3-4 años (Farjon y Styles, 1997; Perry, 1991).

Los estomas están presentes en la superficie dorsal y ventral, presenta de 3 a 4 canales resiníferos y ocasionalmente uno interno; las paredes de las células endodermales no son gruesas; la cubierta del fascículo es de color café claro y persistentes (Perry, 1991).

Los conos tienen una forma ovoide de 20 a 35 cm de longitud y de 13 a 15 cm de ancho cuando está abierto, crecen en un pedúnculo de 1 a 2 cm. Son muy persistentes, resinosos y tienen un notable color amarillo pálido. Cuando están verdes los conos pueden pesar a hasta 2 kg. Las escamas son duras y muy firmes, la apófisis puede medir hasta 3 cm de ancho, muy protuberantes, son curvas dirigidas hacia el

centro del cono, terminando en una punta pronunciada de 2 a 3 cm de longitud, de consistencia firme, y parecidas a las garras de un águila. Las semillas son planas de 10 a 16 mm de longitud y de 8 a 10 mm de ancho, de color café oscuro. Tiene un ala articulada que es muy gruesa (de hasta 2 mm), es de color café, de 20 a 25 mm de longitud y de 12 a 15 mm de ancho. El promedio de semilla por kg es de 3000 y de 12 a 15 cotiledones (Perry, 1991).

2.2 Importancia de *Pinus coulteri* D. Don.

La mayoría de las poblaciones de este pino son muy pequeñas y aisladas, su madera que es blanda se usa sólo ocasionalmente para combustible, las semillas son recolectadas algunas veces como alimento por los nativos, aunque la cubierta de la semilla es muy dura y gruesa. Desde que se conoce la hibridez natural con *Pinus jeffreyi*, parece que las selecciones de esos árboles podrían tener un importante potencial para la plantación de muchas zonas montañosas particularmente en el Norte de Baja California (Perry, 1991).

2.3 Variación Morfológica y Anatómica

La variación es el factor principal utilizado para definir la aparición de diferencias anatómicas o fisiológicas entre individuos, debidas a su composición genética o al medio en donde se desarrollan las progenies y los progenitores. Los tipos de variación entre árboles son el resultado de tres factores importantes: los diferentes ambientes en las cuales los árboles crecen, las diferencias genéticas entre los árboles, y las interacciones existentes entre el genotipo de los árboles y el ambiente (Zobel y Talbert, 1988).

Para conocer la variación existente en las poblaciones de especies forestales, a cualquier nivel taxonómico o categoría, es necesario hacer un estudio biosistemático de las características de interés; además de un análisis con un modelo de tipo anidado, el cual permita apreciar las diferencias ya sea a nivel geográfico o de procedencias, a nivel de sitios dentro de procedencias, rodales dentro de sitios, árboles dentro de rodales, o bien a nivel de muestras dentro de árbol (Zobel y Talbert, 1988).

Existen diferentes métodos para medir la variación genética, desde la medición de la variación morfológica, hasta por marcadores genéticos moleculares. La variación morfológica nos puede proporcionar información sobre patrones de variación adaptativa. Los datos moleculares pueden facilitar información sobre niveles de flujo génico, deriva génica y endogamia, pero en muchos casos no nos manifiestan patrones de variación adaptativa (Furnier, 2004).

Los patrones de variación dentro de especies son de gran interés, ya que determinan la manera en que explotamos y conservamos estos recursos. Si hay pocas diferencias entre poblaciones, la pérdida de cualquier población no es tan grave debido a que no perdemos una unidad única genéticamente. Por otra parte, si las poblaciones son muy diferenciadas, cada una representa un recurso único y es preciso mantener más poblaciones en programas de conservación y mejoramiento (Furnier, 2004).

2.3.1 Tipos de variación e importancia

Para el mejoramiento genético forestal la variación ambiental está dada por factores ambientales que afectan al crecimiento del árbol, estos pueden controlarse y manipularse por actividades silvícolas, pero con otros no es posible hacerlo. Algunos de estos factores son la fertilización, la humedad, la estructura del suelo, el control de malezas; la precipitación, la temperatura, la velocidad del viento y la profundidad del suelo son pocos afectados por el hombre, pero todas estas fuerzas afectan al fenotipo del árbol (Zobel y Talbert, 1988).

La variabilidad genética, está dada por la variación aditiva y la no aditiva, la primera es causada por los efectos acumulativos de los alelos en todos los loci que determinan una característica, la variación no aditiva se divide en dos tipos: la variación por dominación es causada por la interacción de alelos específicos en un locus, mientras que la variación por epistasia es causada por las interacciones entre loci (Zobel y Talbert, 1988).

La variación geográfica (o de procedencia) está controlada especialmente para las características de adaptabilidad, también existe variación entre sitios, en una procedencia contiene diferencias significativas relacionadas con distintos sitios, con frecuencia los efectos no están determinados genéticamente si no que están

determinados por efectos de diferentes ambientes sobre el crecimiento y desarrollo del bosque, La variabilidad en rodales naturales se debe a cuatro grandes fuerzas; dos que aumentan la variación y dos que la disminuyen. Las fuerzas de la naturaleza que actúan para aumentar la variación son la mutación y el flujo genético; las que la disminuyen son la selección natural y la deriva genética, por otra parte la variación entre rodales son pocos considerados que pueden ser ignorados; pero este no siempre es el caso, especialmente cuando el hombre ha intervenido en las poblaciones con prácticas silvícolas, la variación entre árboles de la misma especie dentro de un rodal está presente en las características cualitativas y la adaptabilidad, está controlada genéticamente, cabe mencionar también la variación dentro del árbol donde presenta variabilidad para algunas características como las del follaje cuando está expuesta al sol o a la sombra (Zobel y Talbert, 1998).

2.4 Estudios realizados sobre variación morfológica y anatómica en coníferas

A continuación se presentan algunos estudios realizados diferentes especies de coníferas por diferentes autores en México, las cuales se presentan en el cuadro siguiente.

De los diferentes estudios revisados, en el Cuadro 1 se sintetiza los resultados encontrados, la mayor variación se presente en las características como: longitud de acícula (LA), número de hileras de estomas (NHE), número de acículas por fascículo (NAF), diámetro del cono (DC), longitud de cono (LC) y número de canales resiníferos (NCR).

Cuadro 1. Trabajos realizados en variación morfológica y anatómica, así como también las variables de cada una de ellas.

Espece	Características morfológicas, anatómicas	Autor
<i>Pinus chiapensis</i> Martínez	Acícula: longitud de acícula, número de estomas en mm lineal.	Vilela y Acosta, (2001).
<i>Pinus engelmannii</i> Carr.	Acículas: número de acículas por fascículo, longitud y ancho de acícula, longitud de vaina. Conos: longitud y grueso de cono. Semillas: el ancho y longitud de semilla.	Rodríguez, (2004).
Genero <i>Pseudotsuga</i>	Acículas: longitud de acícula, número de hileras de estomas en el envés izquierdo, estructura de las subepidermis (continua o discontinua), número de canales resiníferos y forma del corte (circular o pentagonal). Conos: longitud y ancho de cono, escama, longitud total de la bráctea, longitud de espinas centrales laterales.	Reyes et al., (2005).
<i>Pinus arizonica</i> Engelm.	Acículas: número de acículas por fascículo, largo y ancho de acícula, largo y ancho de vaina, número de estomas y número de serraciones. Conos: número de conos por verticilo, largo y ancho de cono, largo y ancho de umbo.	Rodríguez y Capó (2005).
<i>Pinus hartwegii</i> Lindl.	Acículas: número de acículas por fascículo, longitud de acículas mayores y menores, longitud del braquiblasto, longitud del fascículo. Conos: largo y ancho de cono, ancho de ápice del cono, peso del cono y semillas.	Iglesias y Tivo (2006).

<i>Picea mexicana</i> Martínez.	Acícula: largo y ancho de acícula, número de hileras de estomas en parte media del haz y envés, número de estomas en 1m, número de canales resiníferos, diámetro del haz vascular incluyendo células epiteliales, longitud lateral al lado de la posición de canal y distancia desde la esquina lateral (ángulo) al centro del canal resinífero. Conos: longitud y ancho de cono, escamas. Semillas: longitud y ancho de semillas, longitud del ala con semilla y ancho del ala.	Hernández (2009).
<i>Picea martinezii</i> T.F. Patterson	Acícula: largo y ancho de acícula, número de hileras de estomas en parte media del haz y envés, número de estomas en 1mm, número de canales resiníferos, tamaño y posición del canal, diámetro del ducto del canal resinífero, diámetro del haz vascular incluyendo células epiteliales, longitud lateral al lado de la posición de canal y distancia desde la esquina lateral (ángulo) al centro del canal resinífero. Conos: longitud y ancho de cono, escamas y longitud de escama. Semillas: longitud y ancho de semillas, longitud del ala con semilla y ancho del ala.	Martínez (2009).
<i>Pinus patula</i> Schl. et Cham.	Acícula: el largo de la acícula más larga (cm), largo de la vaina (mm). Conos: la longitud cono (cm) y grueso del mismo en (cm). De dos escamas de la parte central y exterior del cono se evaluó el ancho de quilla (mm) y el largo de apófisis (mm). Semilla: a una muestra de dos semillas por individuo de cada población se les midió el largo (mm) y el ancho (mm). Así mismo, se midió el largo (mm) y ancho del ala de la semilla (mm).	Viveros et al., (2013).

2.5 Estudios realizados en *Pinus coulteri* D. Don.

Se estudiaron dos poblaciones naturales de *Pinus coulteri* de Baja California: Rancho San Faustino y Santa Catarina. Se evaluó la variación morfológica y anatómica de acículas, se compararon 9 variables morfológicas y 7 variables anatómicas; se determinó que las poblaciones de San Catarina y Rancho San Faustino son diferentes en cuatro variables morfológicas y cinco anatómicas sobresaliendo la diferencia principalmente al ancho de acícula y al número de hileras de estomas, por lo tanto los valores de variación indican que existe variabilidad en la especie, esto a pesar de ser una especie endémica con distribución limitada (Arellano, 2013).

También otro trabajo fue realizado en las mencionadas dos poblaciones de *Pinus coulteri*, donde se comparó la producción de semillas, estimando el potencial, eficiencia de semillas, así como la pérdida de semillas y los indicadores reproductivos de conos y semillas; se encontró que los valores de potencial de semillas y eficiencia de semillas son altos en comparación con otras especies del género *Pinus*, esto a pesar de la condición restringida y endémica de la especie (García, 2012).

En otro trabajo se realizó un seguimiento de la migración del pino Coulter a lo largo de la península transversal y al sur de las gamas costeras de la California, con la finalidad de observar la presencia o ausencia de alelos, se cree que los alelos se fueron perdiendo de forma gradual, encontrando que el patrón de disminución de la heterocigosidad y la pérdida de alelos se ve reflejada con el aumento de la latitud por la acción de la deriva genética, a través del efecto fundador; esto no es exclusivo de *Pinus coulteri*; pero es uno de los ejemplos más claros, además como la especie amplió su rango de distribución hacia el norte durante el pleistoceno, sucedieron eventos colonizadores y como resultado la pérdida de alelos, provocado por el gran tamaño de las semillas; para su dispersión a través de una cordillera a otra (Ledig, 2000).

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Descripción de las áreas de estudio de *Pinus coulteri*

3.1.1 Localización

Las áreas de estudio se encuentran ubicadas en el estado de Baja California, México donde se encuentran cinco poblaciones naturales de *Pinus coulteri*: Sierra Blanca, Parque Nacional Sierra San Pedro Mártir, Santa Catarina, (Farjon y Styles, 1997; Perry, 1991; Delgadillo, 2004). Perry (1991), hace mención de otras pequeñas poblaciones aisladas al suroeste de San Faustino y al noroeste de Laguna Hanson.

La presente investigación se realizó en las poblaciones de Sierra Blanca, Rancho Nuevo y Laguna Hanson.

Cuadro 2. Localización de las poblaciones y del material colectado de *Pinus coulteri* D. Don en Baja California.

Población	Propiedad	Municipio	Coordenadas geográficas	Altitud
Sierra Blanca	Privada	Ensenada	32°03'8.07" 116°29'40.41"	1200
Laguna Hanson	Privada	Ensenada	32°03'36.20" 115°56'29.04"	1200- 1800
Rancho Nuevo	Privada	Ensenada	31° 8'3.17" 115°30'7.02"	1900

3.2 Aspectos ecológicos

Baja California se compone por un sistema montañoso que recorre a lo largo toda la península, con pendientes regularmente abruptas hacia el Mar de Cortés y menos accidentadas hacia la cuesta opuesta. Destacan la Sierra Juárez y la Sierra de San Pedro Mártir en la parte norte donde se hizo este estudio (Rzedowski, 1983).

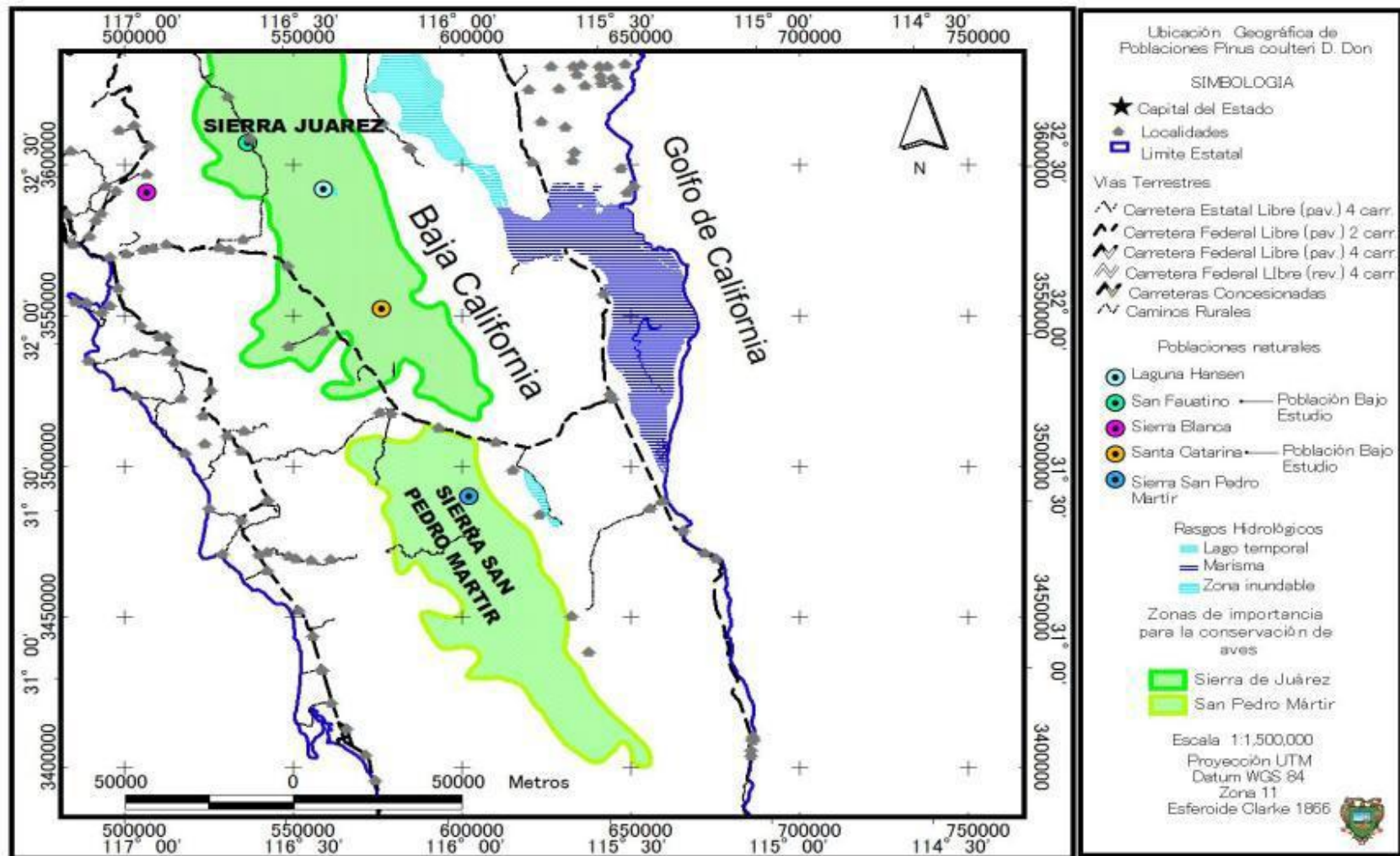


Figura 1. Ubicación geográfica de las 5 poblaciones naturales de *Pinus coulteri* D. Don en Baja California (García, 2012).

El tipo de vegetación con el que se encuentra asociado al bosque de pinos es el chaparral en las zonas rocosas, formando rodales de pino abierto a menudo con *Quercus chrysolepis*; se desarrolla en una altitud de los 1200- 1800 m en las montañas de la Sierra Juárez, para el caso de la sierra de San Pedro Mártir a 1900- 2150 m (Farjon y Styles, 1997).

Los árboles de *Pinus coulteri* comúnmente se encuentran dispersos en la zona de transición entre chaparral y bosque. En la vegetación de chaparral perennifolio destacan *Adenostoma*, *Rhus*, *Ceanothus*, *Quercus* y otros arbustos de matorral de *Artemisia*, y en el bosque de coníferas *Pinus coulteri* se asocia a *Pinus Jeffreyi*, *Pinus quadrifolia* y *Pinus juarezensis* (Perry, 1991; Rzedowski, 1983).

El suelo de las poblaciones de San Faustino y Santa Catarina es regosol eutrítico con textura gruesa, para Laguna Hanson y Sierra San Pedro Mártir es litosol con textura gruesa y en la Sierra Blanca existe un suelo de tipo feozem haplico con textura media (INIFAP y Conabio, 1995). Aun así Farjon y Styles (1997) declaran que este pino se encuentra en zonas rocosas formadas por rocas de granito en suelos someros. Rzedowski (1983), menciona que aunque la mayoría de las especies mexicanas de *Pinus* poseen afinidades por suelos ácidos y hacia climas templados hasta a fríos y semihúmedos, existen notables diferencias entre las especies, y algunas prosperan en lugares francamente calientes, húmedos y semiáridos, así como en suelos alcalinos.

3.2.1 Clima

En la provincia de California el clima es de tipo mediterráneo y varía de húmedo a semiseco y de frío a semicálido (Rzedowski, 1983). Tipos de clima de acuerdo con García (1988).

En las poblaciones la temperatura del mes más frío se presenta entre -3 y 18 °C, y la temperatura del mes más caliente es por debajo de los 22 °C, con porcentaje de lluvia invernal mayor del 36 % del total anual.

Cuadro 3. Tipos de climas

Población	Clima
Sierra Blanca	(Cs) templado, con lluvias en invierno, con una temperatura media anual entre 12 y 18 °C.
Lagua Hanson	(Cb's) semifrío, subhúmedo con verano fresco largo y lluvias en invierno, y la temperatura media anual entre los 5 y 12 °C.
Sierra San Pedro Mártir	C (E) s(x'). Clima templado semifrío subhúmedo con lluvias en invierno, con verano cálido y fresco respectivamente y algo extremo a los 1,800 msnm. C(s). Clima templado subhúmedo con lluvia invernal menor a 36%, semifrío, con temperatura media anual entre 5 y 12 °C y verano largo y fresco; este clima predomina entre los 1,500 y 1,800 msnm. BSks. Clima seco mediterráneo templado con un porcentaje de lluvia invernal mayor de 36, verano 15 cálido; predomina por debajo de los 1,500 msnm.

3.3 Muestreo y colecta del material vegetativo

La recolección del material vegetativo se realizó en el año 2010, el número de muestras por población fue de 22 árboles para Sierra Blanca, 25 árboles para Laguna Hanson y de 19 árboles para la población de Rancho Nuevo. La diferencia de números de muestras recolectadas por población se debe a que únicamente se recolectaron de árboles maduros, se utilizó un tipo de muestreo selectivo, esto con la finalidad de muestrear individuos maduros en toda la población. La colecta de las muestras para las tres poblaciones se efectuó de forma manual con ayuda de ganchos y garrochas para cortar las muestras de ramas las cuales fueron embolsadas y marcadas para su identificación por árbol.

Posteriormente a la recolección, las muestras vegetativas fueron llevadas a la universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila para evaluar la variación morfológica y anatómica presentes en las acículas.

3.4 Variables evaluadas

3.4.1 Variables morfológicas

Las variables morfológicas y anatómicas seleccionadas para este estudio se basaron en los trabajos Hernández (2009) Martínez (2009), Arellano (2013) García (1986) y Rodríguez (2005), las cuales son: longitud de acícula, ancho de acícula, longitud de vaina, ancho de vaina, número de hileras de estomas en el envés izquierdo, número de hileras de estomas en el envés derecho, número de hileras de estomas en el haz, número de estomas en el haz 1mm, número de estomas en el envés 1mm. Mientras que las anatómicas son: número de canales resiníferos, diámetro del canal resinífero uno y dos incluyendo las células endodérmicas, longitud y ancho del haz vascular incluyendo células endodérmicas, número de células endodérmicas y distancia desde ángulo a la posición del canal resinífero.

De cada muestra vegetativa correspondiente a cada árbol, se eligieron 30 fascículos, con un muestreo selectivo sistemático, esto fue a razón de que la vaina que fuera elegido presentara un color café oscuro el cual indicaba que había llegado a su madurez fenológica.

Longitud y ancho de vaina (LV y AV). Para realizar las mediciones de estas dos variables se tuvieron que ordenar los 30 fascículos, posterior a esto se hizo un muestreo aleatorio con el uso de números aleatorios empleando una calculadora para obtener 10 fascículos del total ya mencionados, después, se midió la longitud desde la base hasta la parte superior de la vaina y para el ancho de vaina se midió en la parte central con un vernier digital ambos en mm. De cada fascículo se enumeró las acículas del 1 al 3 y empleando la calculadora se obtuvo aleatoriamente una acícula, de esta manera se obtuvo 10 acículas por árbol (Figura 2a).

Las 10 acículas que fueron seleccionadas, se metieron en popotes los cuales estuvieron enumerados del 1 al 10, esto para tener un control, luego fueron envueltos

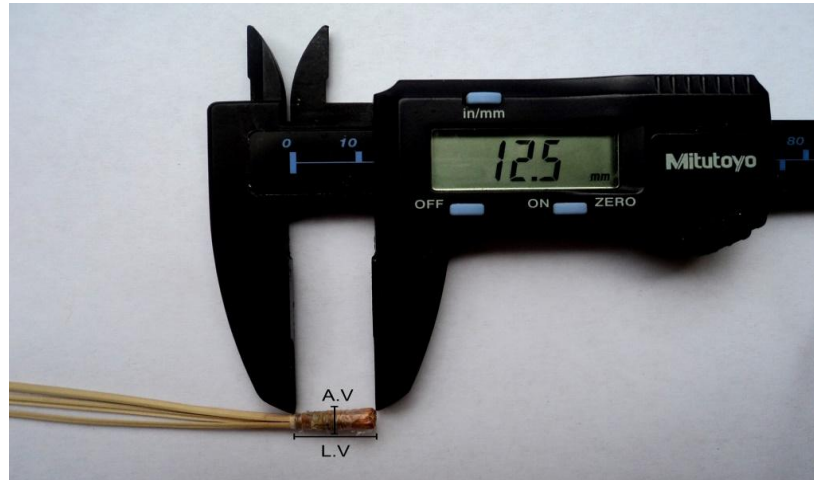
con una cinta adhesiva y marcados para su identificación con las iniciales de la población, número del árbol ejemplo: RN ARB 1; una vez listo toda la muestra se sometieron al proceso de rehidratación en alcohol etílico al 70% dentro de un recipiente durante tres semanas. Longitud y ancho de acícula (LA Y AA). Para el largo se midió desde la base hasta el ápice con una regla en mm, el ancho se efectuó en la parte media de la hoja con la ayuda de un vernier digital en mm (Figura 2b).

Número de hileras de estomas en el haz y envés izquierdo, derecho NDHEH, NDHEENI y NDHEEND. Antes de iniciar a contar las hileras de estomas en ambos lados, nos posicionamos en la base de la acícula para luego poder identificar el haz y poder definir el envés izquierdo y derecho esto debido a la forma triangular de la acícula, una vez definidos los envés se contabilizó el número total de hileras de estomas en el haz y en el envés con el uso de un microscopio con un objetivo de 30x para su mejor visualización (Figura 2c).

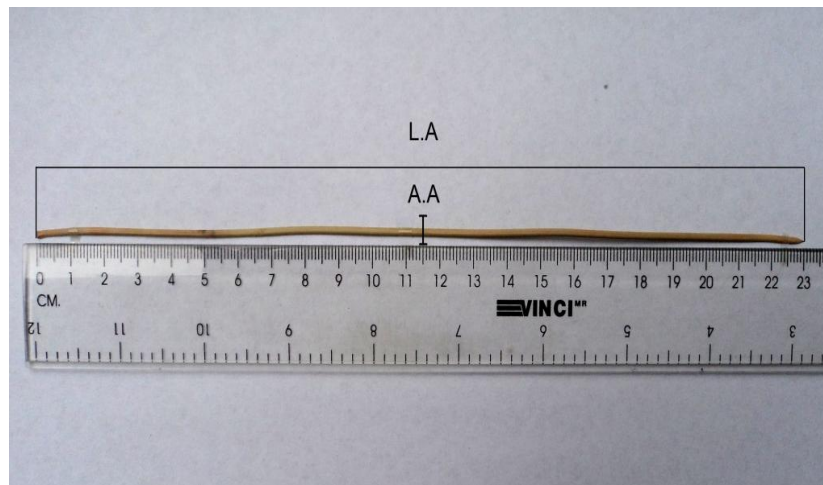
Número de estomas en el haz y envés NEEH1MM y NEEE1MM (Figura 2c). Con la ayuda de una hoja milimétrica se midió un milímetro de acícula tomado justamente a la mitad y esta a su vez fue cortada con una navaja de doble filo. Posterior a esto se contabilizó el número de estomas en el haz y envés (izquierdo y derecho) en un microscopio a un objetivo de 30x. una vez contabilizado el número de estomas se hicieron diez cortes transversales de ambos lados de la acícula para obtener muestras temporales en portaobjetos y cubreobjetos; a estos cortes se les agregó una gota de ácido láctico, inmediatamente estos fueron sometidos a fuego lento por unos segundos para eliminar restos de resina o alguna sustancia que interviene en la visibilidad de las variables anatómicas de interés, después se cubrió con cubreobjetos sellados los lados con esmalte para uña. Posterior a esto cada portaobjeto se etiquetó con la información correspondiente de cada población, muestra y árbol.

Finalmente las muestras fueron ordenadas y guardadas en cajas de madera con cubierta de vidrio, para después ser llevadas para el análisis de imágenes al laboratorio de Citogenética del Departamento de Fitomejoramiento de la UAAAN.

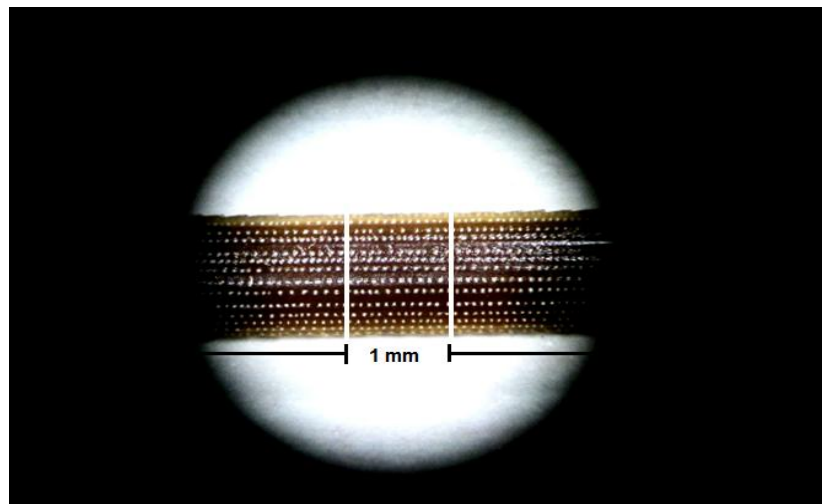
a)



b)



c)



a) LV, MM=Longitud de vaina; AV, MM= Ancho de vaina b) LA, MM= Longitud de acícula; AA, MM= Ancho de acícula c) NDHEH = Número de hileras de estomas; NEEH1MM= Número de estomas en un milímetro.

Figura 2. Variables morfológicas evaluadas de *Pinus coulteri* D. Don.

3.4.2 Variables anatómicas

Para el análisis de imágenes las variables anatómicas se usó un microscopio Carl Zeiss con cámara digital Pixera Winder Pro y un software de medición AxionVisión Rel. 4.8 para tomar las fotografías, se procedió primero a definir el tipo de objetivo a utilizar, 2.5x, 4x y 5x. Esto se hizo con la finalidad de saber cual tendría una mejor apreciación del corte transversal, el más apto fue el aumento de 2.5x y 4x porque se lograba visualizar el corte completo lo cual facilitó contabilizar y medir variables de interés.

El número de fotografías en formato JPG que se tomaron por portaobjetos fue de 4 por acícula mismas que se identificaron con su respectiva información este procedimiento se repitió hasta la décima muestra de cada árbol para tener un total de 40 fotografías por árbol, una vez obtenidas el total de fotografías se usó el software Axio Visión Real 4.8, para realizar las mediciones en μm .

El software AxionVisión Rel. 4.8. Importa imagen para visualizar y manejar; y esta a su vez permite acercamientos sobre la imagen para tener una mayor claridad, así también permite cambiar la iluminación y dar colores para que la imagen sea mejor visible en las mediciones de variables de interés las cuales se mencionan a continuación.

Número de canales resiníferos (NCR). Para la observación de esta variables se usaron las fotografías de los cortes transversales, donde estos se presentaron de forma irregular, se tiene documentado la presencia de solo dos canales en los extremos izquierdo y derecho, mismos que se encontraron presentes en todos los cortes realizados por lo cual se decidió que estos dos fueran los evaluados (Figura 3a).

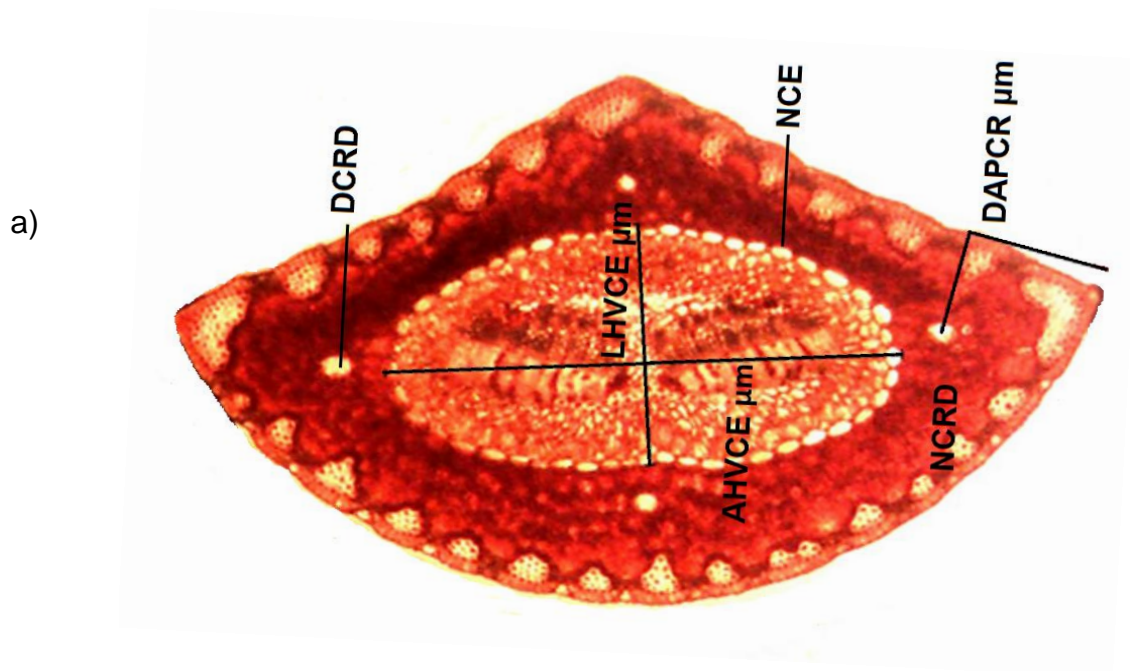
Diámetro del canal resinífero uno y dos incluyendo las células endodérmicas μm (DCRU Y DCRD). Para definir el número de canales resiníferos a medir se definió a enumerarlos, esto se hizo de acuerdo a la forma triangular que presentó el corte transversal a partir del vértice superior se tomó como referencia para enumerar los canales en el sentido de las manecillas del reloj (Figura 3a).

Longitud y ancho del haz vascular incluyendo células endodérmicas μm (LHVCE Y AHVCE). Esta medición fue realizada al haz vascular incluyendo las células endodérmicas esto fue en forma de cruz (Figura 3a).

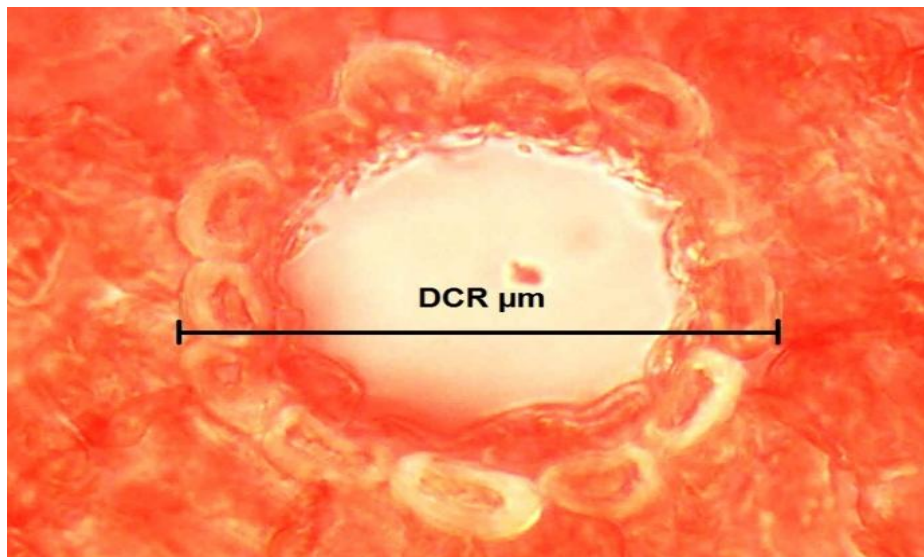
Número de células endodérmicas (NCE). Para esta variable se realizó contando todas las células endodérmicas que rodean el haz vascular tomando como referencia a una celular, a esta célula se le marco con un color como punto de partida del conteo para no cometer errores que pudiesen afectar en el resultado (Figura 3a).

La distancia desde el ángulo a la posición del canal resinífero μm (DAPCR). Para esta variable únicamente se realizó la medición de un lado del corte transversal de la acícula esta fue la del lado donde se encuentra el canal resinífero 1 descrita ya anteriormente, en la medición se colocaron dos líneas una perpendicular al corte del envés y otra en la esquina del ángulo, las dos líneas nos sirvieron de referencia para realizar la medición (Figura 2b).

3.5 Análisis estadístico



b)



a) Sección transversal de la acícula; b) canal resinífero: NCR= Número del canal resinífero; DCR= Diámetro del canal resinífero incluyendo células; NCE= Número de células endodérmicas; LHVCE= Longitud del haz vascular incluyendo células endodérmicas; AHVCE= Ancho del haz vascular incluyendo células endodérmicas; DAPCR = Distancia desde el ángulo a la posición del canal resinífero.

Figura 3. Características anatómicas en la sección transversal de acículas de *Pinus coulteri* D. Don.

3.5.1 Verificación de normalidad

Para la características morfológicas y anatómicas existen variables binarias y discretas, se realizó una prueba de normalidad para cada una de las variables utilizando como apoyo el diagrama de árbol y el diagrama de cajas, la gráfica de probabilidad normal, y la prueba de normalidad de Shapiro–Wilk, para las variables binarias y discretas se utilizaron las transformaciones de Box y Cox (1964), que consiste en elevar los valores a un lambda (λ) para normalizadas.

3.5.2 Análisis de varianza

Se realizó para de determinar la variación entre poblaciones se llevaron a cabo los análisis el de varianza considerando un modelo de efectos mixtos con muestras de clasificación jerárquica o muestreo anidado, considerando únicamente a las poblaciones y a los árboles dentro de ellas (Snedecor y Cochran, 1981; Sit, 1995; Littell *et al.*, 1996). Cuando se presentaron diferencias con el análisis de varianza se llevó la prueba de diferencia mínima significativa (DMS) de separación de medias.

Empleando el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + L_i + A_{j(i)} + \varepsilon_{k(ij)}$$

Donde:

Y_{ijk} = Valor observado de la característica en la k-ésima muestra del j-ésimo árbol en la i-ésima localidad.

μ = Valor promedio de la característica.

L_i = Efecto aleatorio de la i-ésima población.

$A_{j(i)}$ = Efecto aleatorio del j-ésimo árbol dentro de la i-ésima población.

$\varepsilon_{k(ij)}$ = Error aleatorio de muestreo dentro de árboles.

3.5.3 Análisis multivariado

Se realizó un análisis de componentes principales para examinar las relaciones de las variables cuantitativas, se examinaron los datos con la posibilidad de reducir el número de variables. Con el apoyo del programa SAS y utilizando el procedimiento Proc Princomp, en la tabla eigenvectors se determinaron los componentes principales y se graficaron los primeros componentes que más aportaron a la variabilidad total en cada población.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Normalidad de las variables

Se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para las todas variables con el programa estadístico SAS, se comparó los valores de (W) calculado con W de los valores críticos de tabla de Shapiro-Wilk para un tamaño de muestra de $n=66$ a un nivel de significancia de 0.05 (Cuadro 4). La prueba de normalidad de Shapiro-Wilk que se aplicó a las 16 variables de las 3 poblaciones demostró que dos variables no presentaron una distribución normal, la cual se realizó a una transformación con valores de diferentes a lambdas (λ) para lograr su ajuste. Las variables son el número de hileras de estomas en el envés derecho (NDHEEND) con un lambda $\lambda=0.05$ y el número de canal resinífero (NCR) con un lambda $\lambda=0.9$. Una vez normalizadas las variables, se calcularon los valores de tendencia central y de dispersión (cuadro 5).

4.2 Comparación entre poblaciones

Se realizó el análisis de varianza y se obtuvo que las variables evaluadas presentaron diferencia significativa a excepción de diámetro del canal resinífero uno incluyendo las células (DCRU, μm) y diámetro del canal resinífero dos incluyendo las células (DCRD, μm) ambas pertenecientes a las variables anatómicas (Cuadro 5).

De acuerdo a la prueba de diferencia mínima significativa (DMS) de separación de medias de la variables morfológicas, longitud de acícula (LA, mm) y longitud de vaina (LV, mm), las tres poblaciones son diferentes, teniendo a Sierra Blanca (SB) con la media más alta que Laguna Hanson (LH) y que Rancho nuevo (RN), por otro lado ancho de acícula (AA, mm), Laguna Hanson y Sierra Blanca son diferente a Rancho Nuevo teniendo a LH con la media más alta, por otra parte ancho de vaina (AV, mm), LH y SB son iguales pero diferentes que Rancho nuevo teniendo la media más alta LH,

Cuadro 4. Prueba de normalidad para las variables morfológicas y anatómicas de *Pinus coulteri* D. Don.

Características	Variables	n	Valores de W	$w^{\infty}\dagger$
Morfológicas	Longitud de acícula (LA, mm)	66	0.968 [¶]	0.947
	Ancho de acícula (AA, mm)	66	0.968 [¶]	0.947
	Longitud de vaina (LV, mm)	66	0.952 [¶]	0.947
	Ancho de vaina (AV, mm)	66	0.963 [¶]	0.947
	Número de hileras de estomas en el envés izquierdo (NDHEENI)	66	0.990 [¶]	0.947
	Número de hileras de estomas en el envés derecho (NDHEEND)	66	0.858	0.947
	Número de hileras de estomas en el haz (NDHEH)	66	0.981 [¶]	0.947
	Número de estomas en el haz 1mm (NEEH1MM)	66	0.978 [¶]	0.947
	Número de estomas en el envés 1 mm (NEEE1MM)	66	1.968 [¶]	0.947
Anatómicas	Número de canales resiníferos (NCR).	66	0.940	0.947
	Diámetro del canal resinífero uno incluyendo las células (DCRU, μm)	66	0.987 [¶]	0.947
	Diámetro del canal resinífero dos incluyendo las células (DCRD, μm)	66	0.988 [¶]	0.947
	Ancho del haz vascular incluyendo células endodérmicas (ADHVCE, μm)	66	0.972 [¶]	0.947
	Longitud del haz vascular incluyendo células endodérmicas (LDHVCE, μm)	66	0.961 [¶]	0.947
	Número de células endodérmicas (NCE)	66	0.979 [¶]	0.947
	Distancia desde ángulo a la posición del canal resinífero (DDAAPCR, μm).	66	0.959 [¶]	0.947

†= Valor crítico de W para la prueba de ajuste de normalidad de Shapiro – Wilk.

Donde $W \geq w^{\infty}$, n la H_0 es aceptada a nivel de significancia ∞

¶ = existe normalidad.

n= número de árboles muestreados

Cuadro 5. Valores de tendencia central y dispersión, prueba (DMS) en variables morfológicas y anatómicas de tres poblaciones de *Pinus coulteri* D. Don.

Características Morfológicas y Anatómicas	Laguna Hanson			Sierra Blanca			Rancho Nuevo		
	$\bar{x} \pm s\bar{x}$	Min-Max	C.V %	$\bar{x} \pm s\bar{x}$	Min-Max	C.V %	$\bar{x} \pm s\bar{x}$	Min-Max	C.V %
LA, (mm)	179.52±4.51 b	144.00-227.80	12.56	230.16±5.93 a	165.30-288.40	12.09	148.68±4.74 c	115.00-191.00	13.92
AA, (mm)	1.72±0.03 a	1.43-2.04	9.08	1.71±0.04 a	1.42-2.00	10.55	1.32±0.02 b	1.17-1.48	7.06
LV, (mm)	8.14±0.22 b	5.74-10.50	13.49	10.52±0.47 a	7.24-15.00	20.93	5.81±0.16 c	4.14-6.90	11.95
AV, (mm)	2.47±0.05 a	2.02-2.93	10.49	2.62±0.12 a	2.08-4.97	21.81	2.22±0.039 b	4.14-6.90	7.69
NHDEENI	5.67±0.14 a	5.74-10.50	12.86	5.32±0.13 a	4.30-6.20	11.29	4.38±0.13 b	3.20-5.50	13.20
NHDEEND	5.55±0.14 a	4.50- 6.80	12.91	5.49±0.27 a	4.00-10.30	22.81	4.48±0.12 b	3.70-5.30	11.69
NHDEH	11.75±0.28 a	9.80-14.40	12.19	11.67±0.32 a	8.30-14.90	12.85	9.41±0.24 b	8.00-11.60	11.51
NEEH1MM	97.74±2.69 a	68.50-125.80	13.78	88.36±3.29 b	61.20-137.00	17.47	78.24±2.41 c	54.90-104.60	13.45
NEEE1MM	90.67±2.65 a	66.90-119.40	14.63	81.02±2.56 b	63.20-121.30	14.87	71.18±2.367 c	56.10-95.40	14.49
NCR	4.32±0.25 b	2.40-6.60	29.95	5.04±0.31 a	2.10-9.00	28.42	2.46±0.15 c	2.00-4.30	27.40
DCRU (µm)	98.36±1.89 a	77.95-122.05	9.62	102.57±1.73 a	90.60-118.57	7.91	99.77±1.38 a	88.48-107.21	6.03
DCRD (µm)	98.70±2.28 a	73.24-125.39	11.53	102.45±1.69 a	88.54-119.48	7.74	98.23±1.47 a	87.64-109.07	6.51
ADHVCE (µm)	908.43±18.33 a	729.38-1068.84	10.09	982.79±23.97 a	782.79-1157.68	11.44	786.84±14.91 b	667.13-933.87	8.26
LDHVCE (µm)	541.01±8.36 a	467.31-615.99	7.72	539.79±9.64 a	459.61-619.27	8.38	476.36±6.53 b	430.45-540.75	5.98
NCE	42.99± 0.61 a	38.75-50.05	7.20	41.28±0.84 a	34.50-49.35	9.58	38.38±0.53 b	33.85-42.45	6.09
DAAPCR (µm)	255.18±6.92 a	208.00-353.01	13.57	258.41±4.61 a	215.81-295.10	8.38	229.04±3.87 b	195.02-259.15	7.37

†=Promedios seguidos de la misma letra, en cada fila, no son diferentes estadísticamente, según la prueba DMS ($P \leq 0.05$).

= Media ; s = Error estándar; Min= Mínimos; Max= Máximos; CV= Coeficiente de variación; (LA, mm)- Longitud de acícula; (AA, mm)- Ancho de acícula; (LV, mm)- Longitud de vaina; (AV, mm)- Ancho de vaina (NDHEH)- Número de hileras de estomas en el haz; (NDHEENI) Número de hileras de estomas en el envés izquierdo; (NDHEEND)- Número de hileras de estomas en el envés derecho; (NEEH1MM)- Número de estomas en el haz en un milímetro; (NEEE1MM)- Número de estomas en el envés en un milímetro; (NCR)- Número de canales resiníferos; (DCRU, µm)- Diámetro del canal resinífero uno incluyendo las células; (DCRD, µm)- Diámetro del canal resinífero dos incluyendo las células; (NCE)- Número de células endodérmicas; (LHVCE, µm)- Longitud del haz vascular incluyendo células endodérmicas; (AHVCE, µm)- Ancho del haz vascular incluyendo células endodérmicas; (DAPCR, µm)- Distancia del ángulo a la posición del canal resinífero.

mientras que para el Número de hileras de estomas en el envés izquierdo (NDHEENI), número de hileras de estomas en el envés derecho (NDHEEND) y Número de hileras de estomas en el haz (NDHEH), la población de Laguna Hanson y Sierra Blanca son iguales pero diferentes con RN, obteniendo la media más alta para LH. Por otro lado para el número de estomas en el haz 1mm (NEEH1MM) y número de estomas en el envés 1 mm (NEEE1MM), las tres poblaciones son diferentes obteniendo la media, más alta Laguna Hanson.

En las variables anatómicas que presentaron diferencia es el número de canales resiníferos (NCR), obteniendo una diferencia significativa para las 3 poblaciones obteniendo la media más alta para Sierra Blanca, y para Ancho del haz vascular incluyendo células endodérmicas (ADHVCE, μm) y Distancia desde ángulo a la posición del canal resinífero (DDAAPCR, μm), obteniendo similitud para la Laguna Hanson y Sierra Blanca y diferencia para Rancho Nuevo con la media más elevada para LH y para número de células endodérmicas (NCE) y longitud del haz vascular incluyendo células endodérmicas (LDHVCE, μm), siendo iguales Sierra Blanca y Laguna Hanson pero diferente con el resto de la población obteniendo así las media más alta para LH.

Al comparar los resultados con las variables de las dos poblaciones estudiadas se tiene que la población de Rancho San Faustino son iguales a las poblaciones de Laguna Hanson y Sierra Blanca respecto a dos variables morfológicas número de hileras de estomas en el envés izquierdo y número de hileras de estomas en el envés derecho y dos variables anatómicas número de células endodérmicas y distancia desde el ángulo al canal resinífero teniendo las medias más altas, mientras que las población Rancho Nuevo y Santa Catarina no semejan resultados en ninguna de las variables evaluadas, por lo tanto las otras variables de las dos poblaciones evaluadas difieren en longitud de acícula, número de estomas del haz en un milímetro, diámetro del canal resinífero uno y dos, teniendo la media más alta Santa Catarina y número de células endodérmicas para Rancho San Faustino.

Algunas variables que presentaron diferencia en las tres poblaciones estudiadas pueden estar asociadas a las condiciones ambientales, estudio realizado (Vilela y Acosta, 2001), encontró una disminución en la longitud de las acículas y un incremento

tanto en el número de estomas por milímetro lineal como en el grosor de la pared tangencial externa de las células epidérmicas, a medida que aumenta la altitud.

En las variables morfológicas de acículas evaluadas se encontraron diferencias, entre poblaciones, en el número de hileras de estomas en *Pseudotsuga* (Reyes *et al.*, 2005) y en *Pinus arizonica* se encontraron diferencias significativas en el número de estomas (Rodríguez y Capó, 2005), lo anterior indica que las variables morfológicas de acículas son esenciales en la diferenciación de poblaciones.

En la mayoría de las variables anatómicas en la sección transversal de la hoja se encontraron diferencias significativas a excepción de la variable longitud lateral al lado de la posición del canal resinífero (Martínez, 2009).

Zobel y Talbert (1988), mencionan que en variación natural, aquellas características que se ven más afectadas por las poblaciones, están sujetas con los efectos ambientales, mientras que cuando son los árboles dentro de poblaciones quienes aportan más variación, se debe a efectos genéticos.

4.3 Componentes principales

El análisis de los tres primeros componentes aportan 82% de variación total, desglosada de la siguiente manera, para el primer componente aporta 61%, para el segundo 12% y para tercer componente 9% (cuadro 6). Las variables más morfológicas correlacionadas positivamente con el primer componente son ancho de vaina (AV) ($r=.26$), longitud de vaina (LV) ($r=.26$), número de hileras de estomas en el envés izquierdo (NDHEENI) ($r=.29$), número de hileras de estomas en el envés derecho (NDHEEND) ($r=.26$), número de hileras de estomas en el haz (NDHEH) $r=0.30$, número de canales resiníferos y las anatómicas son (NCR) ($r=.26$), ancho del haz vascular incluyendo células endodérmicas (ADHVCE, μm) ($r=.30$), longitud del haz vascular incluyendo células endodérmicas (LDHVCE, μm) ($r=.29$), número de células endodérmicas (NCE) ($r=.26$), distancia desde ángulo a la posición del canal resinífero (DDAAPCR, μm) ($r=.25$). Prácticamente en este componente representa la manifestación de las características de 6 morfológicas y 5 anatómicas (Cuadro 7).

Cuadro 6. Matriz de correlación de los eigenvalores de *Pinus coulteri* D. Don.

Componentes	Eigenvalor	Diferencia	Proporción	Acumulativo
1	9.68	7.82	0.61	0.61
2	1.87	0.41	0.12	0.72
3	1.46	0.78	0.09	0.82
4	0.68	0.19	0.04	0.86
5	0.49	0.07	0.03	0.89
6	0.42	0.10	0.03	0.91
7	0.32	0.06	0.02	0.93
8	0.27	0.06	0.02	0.95
9	0.20	0.04	0.01	0.96
10	0.16	0.04	0.01	0.97
11	0.12	0.02	0.01	0.98
12	0.10	0.02	0.01	0.99
13	0.08	0.02	0.01	0.99
14	0.06	0.01	0.00	0.99
15	0.05	0.02	0.00	1.00
16	0.03		0.00	1.00

En el segundo componente solo 2 variables anatómicas se correlacionaron, diámetro del canal resinífero uno incluyendo las células (DCRU, μm) ($r=.65$) y diámetro del canal resinífero dos incluyendo las células (DCRD, μm) ($r=.63$).

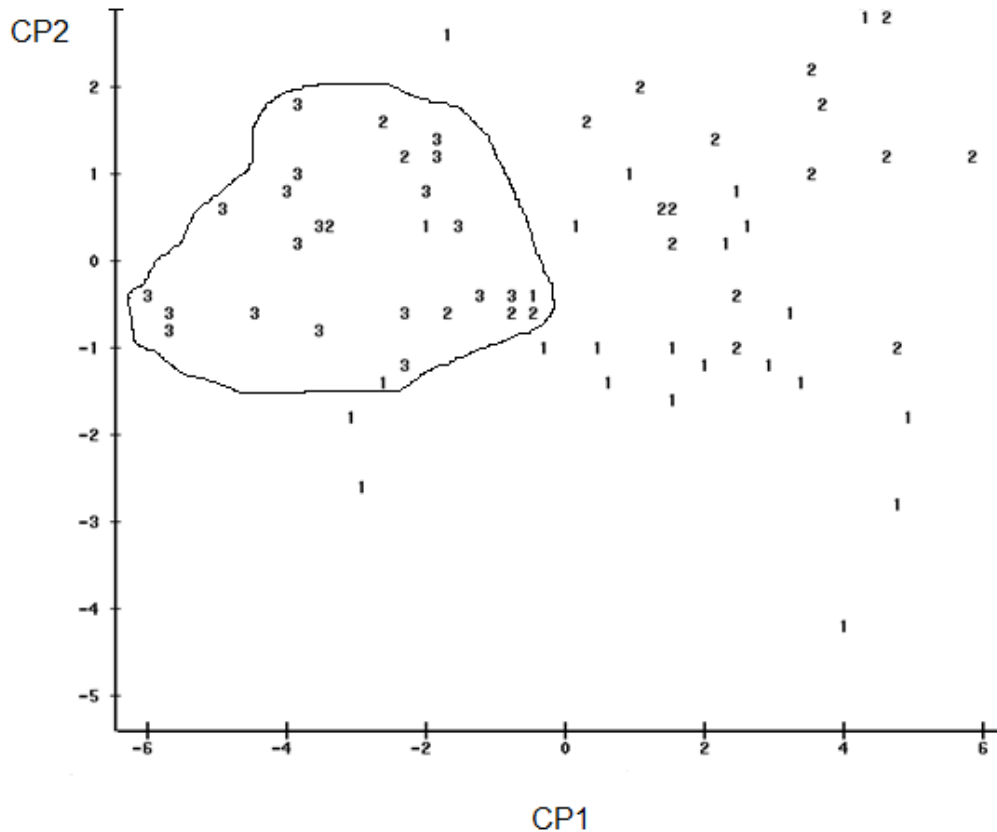
Para el tercer componente en variables morfológicas más correlaciones fue longitud de vaina (LV, mm) ($r=-.27$), número de estomas en el haz 1mm (NEEH1MM) ($r=.55$) número de estomas en el envés 1 mm (NEEE1MM) ($r=.57$). En los tres primeros componentes todas las variables mostraron correlación.

En la Figura 4 se observa que al graficar los valores del análisis de componentes principales, en este caso del componente 1 con los valores del componente 2 se muestran claramente que la población de Rancho Nuevo se separa prácticamente de la población Laguna Hanson y Sierra Blanca en las variables más morfológicas ancho de vaina, longitud de vaina, número de hileras de estomas en el envés izquierdo, número de hileras de estomas en el envés derecho, número de hileras de estomas en el haz, número de canales resiníferos y en las anatómicas ancho del haz vascular incluyendo células endodérmicas, longitud del haz vascular incluyendo células endodérmicas, número de células endodérmicas, distancia desde ángulo a la posición del canal resinífero.

Cuadro 7. Correlaciones de variables con los componentes principales de *Pinus coulteri* D.Don.

Características	Variables	Componentes principales		
		1	2	3
Morfológicas	Longitud de acícula (LA, mm)	0.24	0.13	-0.37
	Ancho de acícula (AA, mm)	0.31¶	-0.02	-0.03
	Ancho de vaina (AV, mm)	0.26¶	-0.01	-0.15
	Longitud de vaina (LV, mm)	0.26¶	0.14	-0.27¶
	Número de hileras de estomas en el envés izquierdo (NDHEENI)	0.29¶	-0.12	0.04
	Número de hileras de estomas en el envés derecho (NDHEEND)	0.26¶	-0.10	0.03
	Número de hileras de estomas en el haz (NDHEH)	0.30¶	-0.11	0.01
	Número de estomas en el haz 1mm (NEEH1MM)	0.21	-0.15	0.55¶
	Número de estomas en el envés 1 mm (NEEE1MM)	0.20	-0.15	0.57¶
Anatómicas	Número de canales resiníferos (NCR).	0.26¶	0.13	0.02
	Diámetro del canal resinífero uno incluyendo las células (DCRU, µm)	0.08	0.65¶	0.19
	Diámetro del canal resinífero dos incluyendo las células (DCRD, µm)	0.10	0.63¶	0.22
	Ancho del haz vascular incluyendo células endodérmicas (ADHVCE, µm)	0.30¶	0.04	-0.20
	Longitud del haz vascular incluyendo células endodérmicas (LDHVCE, µm)	0.29¶	-0.03	-0.05
	Número de células endodérmicas (NCE)	0.26¶	-0.19	0.03
	Distancia desde ángulo a la posición del canal resinífero (DDAAPCR, µm).	0.25¶	-0.01	-0.07

¶= Variables fuertemente correlacionadas.



CP= Componente principal; 1= Laguna Hanson; 2= Sierra Blanca; 3 Rancho Nuevo.

Figura 4. Gráfica que muestra los valores de los componentes 1 y 2 de las cuatro poblaciones de *Pinus coulteri* D. Don.

El análisis de componentes principales ayudó a separar a las poblaciones de *Pinus pseudostrobus* de *P. montezumae* Lamb. (Favela, 1991) y en *Pinus devoniana* var. *devoniana* Lindl de *Pinus devoniana* var. *cornuta* (Sáenz et al., 2012). Arellano (2013) no encontró separación entre poblaciones de *pinus coulteri* D.Don., debido a que son poblaciones de la misma especie.

5 CONCLUSIONES

La población de Laguna Hanson y Sierra Blanca estadísticamente son iguales en cinco variables morfológicas y cuatro anatómicas pero diferentes a Rancho Nuevo, obteniendo las medias más altas, sobresaliendo la diferencia principal para las tres poblaciones en variables longitud de acícula, longitud de vaina, número de estomas en el haz y envés en un milímetro y número de canal resinífero.

Al comparar los resultados con las dos poblaciones *Pinus coulteri* estudiadas de San Catarina y Rancho San Faustino son diferentes en cuatro variables morfológicas y cinco anatómicas.

Las poblaciones de *Pinus coulteri* en Baja California presentan variación morfológica y anatómica de acícula.

6 RECOMENDACIONES

Evaluar las variables morfológicas y anatómicas de la población faltante, aumentar el número de muestras, así como realizar estudios de marcadores genéticos moleculares con el propósito de conocer la variación fenotípica y genética de la especie, esto con la finalidad establecer estrategias de conservación de la especie en México.

Medir el diámetro de todos los canales resiníferos incluyendo las células endodérmicas para ver si existe variación entre especie de la misma población.

7 LITERATURA CITADA

- Arellano C., A 2013. Variación morfológica y anatómica *Pinus coulteri* D. Don de acículas en poblaciones naturales de Baja California. Tesis profesional. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 40 p.
- Box, G. E. P. y D. R. Cox. 1964. An analysis of transformation. Journal of the Royal Statistical Society. Series B (methodological) 26(2): 211-252.
- Delgadillo R., J. 2004. El Bosque de coníferas de la Sierra San Pedro Mártir. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. 159 p.
- Farjon, A. y B.T Styles. 1997. Flora Neotrópica: *Pinus* (Pinaceae). New York Botanical Garden. New York. 291 p.
- Favela L., S. 1991. Aplicación de técnicas numéricas en algunos pinos mexicanos. Reporte científico N° 25. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de ciencias forestales. Linares, N.L. 35 p.
- Fonseca J., R 2003. De piña y de piñones. Ciencia. Vol. 69:64-65.
- Furnier, G.R. 2004. Métodos para medir variación genética en las plantas. *In* Manejo de Recursos Genéticos Forestales. Vargas H., J. J., B. Bermejo V. y F.T. Ledig. Editores. 2a ed. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México, y Comisión Nacional Forestal, Zapopan, Jalisco. pp. 22-29.
- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). 4ª Ed. Secretaría de la Presidencia. Comisión de Estudios del Territorio Nacional. México. 217 p.
- García V., de J. 2012. Indicadores reproductivos de conos y semillas de poblaciones naturales de *Pinus coulteri* D. Don en Baja California. Tesis profesional. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 36 p.
- Hernández S., D. 2009. Variación morfológica y anatómica de *Picea mexicana* Martínez en poblaciones naturales de México. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 52 p.

- Iglesias A., L. G., y. Tivo F. 2006. Caracterización morfométrica de la población de *Pinus hartwegii* Lindl del cofre de perote, Veracruz, México. *Ra Ximhai* 2 (2): 449-468.
- INIFAP – Conabio. 1995. Edafología. Escalas 1:250000 y 1:1000000. México. [Archivo en línea en formato Vectoriales (Arcview)]. Disponible en: http://www.conabio.gob.mx/informacion/metadatos/gis/eda251mgw.xml?_httpcache=yes&_xsl=/db/metadatos/xsl/fgdc_html.xsl&_indent=no
- Ledig, F.T. 2000. Founder effects and the genetic structure of Coulter pine D. Don. *The American Genetic Association* 91: 307-315.
- Ledig, F. T. 2004. Conservación y manejo de recursos genéticos forestales. In *Manejo de Recursos Genéticos Forestales*, segunda edición. Vargas H., J. Jesús, B. Bermejo V. y F. Thomas Ledig (eds.). Colegio de Postgraduados, Montecillo, México y Comisión Nacional Forestal, Zapopan, Jalisco. pp. 07-19.
- Martínez V., R. 2009. Variación morfológica y anatómica de *Picea martinezii* T. F. Patterson en cuatro poblaciones naturales de México. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 53 p.
- McCune, B. 1988. Ecological diversity in North American Pines. *American Journal of Botany*. 75(3):353-368.
- Peinado, M., C. Bartolomé, J. Delgadillo y I. Aguado. 1994. Pisos de vegetación de la Sierra San Pedro Mártir, Baja California, México. *Acta Botánica Mexicana*, 29: 1-30.
- Perry J., P. Jr., A. 1991. *The Pines of México and Central América*. Timber Press. Portland, Oregón USA. 231 p.
- Reyes H., V.J., J.J. Vargas H., J. López U., y H. Vaquera H. 2005. Variación morfológica y anatómica en poblaciones mexicanas de *Pseudotsuga* (Pinaceae). *Acta Botánica Mexicana*. 70: 47- 67.
- Rodríguez G., A. 2004. Variación de nueve caracteres morfológicos de acículas, conos y semillas de *Pinus engelmannii* Carr en el estado de Durango. Tesis profesional. Universidad Autónoma de Chapingo, Texcoco, México. 78 p.

- Rodríguez L., R. y M.A. Capó A. 2005. Morfología de acículas y conos en poblaciones naturales de *Pinus arizonica* Engelm. Ra Ximhai 1 (1): 131-152.
- Rzedowski, J. 1983. Vegetación de México. Limusa. México. 432 p.
- Sáenz R., C., S. Aguilar A., M.A. Silva F., X. Madrigal S., S. Lara C., y J. López U. 2012. Variación morfológica altitudinal entre poblaciones de *Pinus devoniana* Lindl. y la variedad putativa *cornuta* Martínez en Michoacán. Rev. Méx.Cien. For: vol. 3(13): 18-28.
- SEMARNAT.2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental – especies nativas de México de flora y fauna silvestre – categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio – lista de especies en riesgo. D.O.F.30 de diciembre de 2010. México. 153 p. [En línea] 2 de Febrero 2011.
- Vilela., A. E., y S. Acosta C. 2001. *Pinus chiapensis*. Un enfoque ecológico de su anatomía foliar. Polibotánica, 11: 111-120.
- Viveros V., H., A. R Camarillo L., C. Sáenz R., y A. Aparicio R. 2013. Variación altitudinal en caracteres morfológicos de *Pinus patula* en el estado de Oaxaca (México) y su uso en la zonificación. Bosque 34(2): 173-179.
- Weng, C. y S. T. Jackson. 2000. Species differentiation of North American spruce (*Picea*) based on morphological and anatomical characteristics of needles. Canadian Journal of Botany 78 (11): 1367-1383.
- Zobel, B. y J. Talbert. 1988. Técnicas de mejoramiento genético de árboles forestales. Traductor M. Guzmán O. Limusa. México. 545 p.