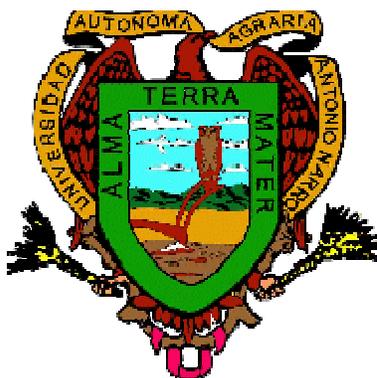


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**



**Tamaño y densidad de estomas en hojas de *Pinus pinceana* Gordon de tres procedencias del Norte de México**

**Por:**

**JAIME ABRAHAM PÉREZ GONZÁLEZ**

**TESIS**

**Presentada como requisito parcial para  
obtener el título de:**

**INGENIERO FORESTAL**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México**

**Junio de 2006**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**

**Tamaño y densidad de estomas en hojas de *Pinus pinceana* Gordon de tres procedencias del Norte de México**

**Por:**

**JAIME ABRAHAM PÉREZ GONZÁLEZ**

**TESIS**

**Presentada como requisito parcial para obtener el título de:**

**INGENIERO FORESTAL**

**APROBADA**

**Asesor principal**

**Coordinador de la División de Agronomía**

---

Ph. D. Miguel A. Capó Arteaga

---

M. C. Arnoldo Oyervides García

Buenvista, Saltillo, Coahuila, México

Junio de 2006

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**

**Tamaño y densidad de estomas en hojas de *Pinus pinceana* Gordon de tres procedencias del Norte de México**

**Por:**

**JAIME ABRAHAM PÉREZ GONZÁLEZ**

**TESIS**

**Presentada como requisito parcial para obtener el título de:**

**INGENIERO FORESTAL**

**APROBADA**

---

Ph. D. Miguel A. Capó Arteaga

Asesor principal

---

M. C. Salvador Valencia Manzo

Asesor

---

Dra. Ma. Margarita Murillo Soto

Asesor

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Junio de 2006

El presente trabajo se llevó a cabo con el apoyo del Proyecto de Investigación: "Ecología, genética de poblaciones y estrategias de conservación de *Pinus pinceana* Gordon", con clave: 01-C01-01429, con el apoyo de la Secretaria de Medio Ambiente de Recursos Naturales patrocinado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (SEMARNAT-CONACyT-2002).

## AGRADECIMIENTOS

A Dios, Señor todo poderoso, creador del Cielo y la Tierra, por haberme dado la existencia y la fortaleza en los momentos más difíciles de mi vida, así como salud e inteligencia suficiente para mi superación.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (mi ALMA MATER) por haberme permitido terminar una carrera profesional.

Al Ph. D. Miguel Ángel Capó Arteaga Jefe del Departamento Forestal por su asesoría y apoyo durante el trabajo de tesis, así como su amistad brindada.

Al M. C. Salvador Valencia Manzo maestro del Departamento Forestal por su participación como miembro del jurado y sus aportaciones para la elaboración del documento.

A la Dra. Ma. Margarita Murillo Soto encargada del laboratorio de Fisiotecnia por su participación como miembro del jurado y la facilitación del laboratorio, así como la revisión del documento.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la Beca otorgada durante el trabajo de tesis, mediante el proyecto “Ecología, genética de poblaciones y estrategias de conservación de *Pinus pinceana* Gordon” SEMARNAT-CONACyT-2002-01-C01-01429.

A los maestros del Departamento Forestal por sus consejos y conocimientos transmitidos como parte de mi formación académica y a su amistad otorgada.

Al Dr. Fernando Borrego Escalante por haberme permitido trabajar en el laboratorio durante las horas de clase y la facilitación del microscopio en días inhábiles.

A la Ing. Lourdes Hernández por su apoyo incondicional en la calibración del microscopio y trabajo del laboratorio, así como su confianza y amistad brindada.

A Miguel Sosa Morales por su gran ayuda en la recolección de muestras de *Pinus pinceana* en las diferentes localidades y a su amistad otorgada.

A Norma Leticia Portos Gaona del laboratorio de Citogenética por su ayuda en la toma de fotografías de estomas en las muestras de *Pinus pinceana*.

A mi novia Fabiola Pablo González por su gran ayuda incondicional en la toma de datos durante el trabajo de tesis.

A mis amigos y compañeros de generación que compartieron su amistad y me brindaron su apoyo durante mi estancia en la universidad.

## **DEDICATORIA**

### **A mis Padres**

**Ricardo Pérez Hernández y Julia del Carmen González V.**

Por los sabios consejos que siempre me dieron para salir adelante con mis estudios, por la educación y los principios que me inculcaron para ser un hombre honesto, humilde y sobre todo respetuoso hacia los demás, por los sacrificios que hicieron para darme una profesión y por sus cuidados y atenciones que siempre han tenido, así como el apoyo que me brindaron durante la carrera profesional.

### **A mis hermanos**

**Rolando, Mauricio Ricardo y Sarieli Pérez González**

Por el cariño y respeto que siempre nos hemos tenido, por el apoyo y los estímulos que me brindaron para terminar la carrera y por las privaciones que de alguna manera pasaron para que continuara con mis estudios.

### **A mis abuelos**

**Ma. Elena Vazquez A. y Esteban González A. †**

En memoria a mi abuelo que siempre me dio su consejo para que saliera adelante y terminara una carrera profesional y por el cariño que me dio en vida.

A mi abuela que siempre me ha demostrado su cariño, por sus bendiciones que me ha dado cuando estoy fuera de casa, por sus consejos que me han ayudado a pensar bien las cosas y por el apoyo que me brindó durante este tiempo.

### **A mis tíos**

Que siempre me dieron ánimos para continuar mis estudios y terminar una carrera profesional que fuera de mi agrado y poder ejercerla satisfactoriamente.

### **A mi novia**

A Fabiola Pablo González que siempre me demostró su apoyo, su cariño, y su comprensión desde que la conocí, por su compañía que nunca me hizo sentirme sólo y por sus palabras de aliento, gracias.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	iii
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	iii
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
Objetivos .....	2
Hipótesis.....	2
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	3
<i>Pinus pinceana</i> Gordon .....	3
Distribución geográfica .....	3
Condiciones ecológicas.....	4
Importancia.....	4
Variación genética .....	5
Hojas .....	6
Estomas .....	7
Intercambio de gases .....	9
Movimiento estomático.....	9
Procedencias.....	10
Ensayo de procedencias .....	10
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	12
Ubicación geográfica del área de estudio .....	12
Etapa de vivero y campo.....	13

Muestreo .....	13
Colecta de acículas .....	13
Etapa de laboratorio .....	14
Preparación de las muestras.....	14
Medición de estomas .....	14
Densidad de estomática .....	15
Procesamiento estadístico .....	17
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>18</b>
Tipos de hojas .....	18
Procedencias.....	21
<b>CONCLUSIÓN .....</b>	<b>26</b>
<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>27</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>28</b>
<b>APÉNDICE.....</b>	<b>33</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1	Ubicación geográfica, descripción y fecha de evaluación de las localidades evaluadas ..... 12
Cuadro 2	Diferencias entre procedencias de las variables estomáticas evaluadas en hojas de <i>Pinus pinceana</i> Gordon de tres procedencias del Norte de México ..... 18
Cuadro 3	Comparación de medias y agrupación Tukey de las variables estomáticas evaluadas en hojas de <i>Pinus pinceana</i> Gordon de tres procedencias del Norte de México ..... 22

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1a	Estomas en hojas primarias de <i>Pinus pinceana</i> Gordon en la cara ventral, tomadas a 40 X ..... 20
Figura 1b	Estomas en hojas primarias de <i>Pinus pinceana</i> Gordon en la cara dorsal, tomadas a 40 X ..... 20
Figura 2	Estomas en la cara ventral de hojas secundarias de <i>Pinus pinceana</i> Gordon, tomadas a 40 X ..... 20

## INTRODUCCIÓN

Los pinares son comunidades vegetales muy característicos de México, ya que existen 35 especies del género *Pinus*, lo que representa el 37 % del total de especies para el mundo entero; la gran mayoría de los pinares mexicanos tienen una distribución geográfica restringida al territorio de México. *Pinus pinceana* Gordon, así como otras especies de piñoneros tienen una distribución geográfica restringida en México (Rzedowski, 1978). En términos generales, los pinos piñoneros crecen en áreas semiáridas, bajo condiciones climáticas y edáficas adversas, donde en la mayoría de los casos, no se desarrolla otro tipo de árbol; representan una notable adaptación por parte de una especie maderable, a ecosistemas sumamente secos (Caballero y Ávila, 1989).

Uno de los factores limitantes para el crecimiento de las plantas en zonas áridas es el agua y de acuerdo a este factor las especies adaptadas a estas condiciones han adquirido características morfológicas y fisiológicas especiales, entre ellas la distribución y densidad de estomas, las cuales juegan un papel importante en el intercambio gaseoso con el ambiente (Glat *et al.*, 1981. Citado por Yáñez y García, 1985).

Las agujas de las coníferas tienen una baja relación de superficie a volumen, lo cual es un carácter típicamente xeromorfo. La epidermis lleva numerosos estomas sobre un lado o sobre todos en las diferentes coníferas. En las hojas los estomas se presentan en ambas caras (hoja anfistomática) o en una sola, ya sea la superior (hoja epistomática) o, de modo más general, en la inferior (hoja hipostomática)

(Esau, 1972). El carácter hipostomático es considerado como una forma primitiva, y el carácter anfiestomático es considerado como una característica adaptativa y ventajosa para incrementar al máximo la absorción de CO<sub>2</sub> (Yáñez y García, 1985).

La epidermis con su cutícula protege a la hoja de la desecación, pero también reduce el intercambio gaseoso a niveles muy bajos. El sistema de pequeños poros o estomas, a través de los cuales difunden los gases, así como los pasadizos aéreos dentro de la hoja, son sorprendentemente eficaces para el intercambio de dióxido de carbono. La difusión del CO<sub>2</sub> está en estrecha correlación con la presencia y número de estomas (Bidwell, 1979).

### Objetivo

El objetivo del presente trabajo es comparar tres procedencias de *Pinus pinceana* Gordon mediante la evaluación del tamaño y densidad de estomas en hojas cotiledonares, primarias y secundarias.

### Hipótesis

Las hipótesis propuestas son:

Ho: No existen diferencias entre procedencias con respecto al tamaño y la densidad de estomas en las hojas cotiledonares, primarias y secundarias.

Ha: Al menos una procedencia es diferente a las demás con respecto al tamaño y la densidad de estomas en las hojas cotiledonares, primarias y secundarias.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### *Pinus pinceana* Gordon

Es un árbol pequeño de 4 a 10 metros de altura, con la copa espesa, irregularmente redondeada, con ramas bajas, largas y flexibles, espaciadas irregularmente en el tronco; frecuentemente se extienden casi hasta el suelo, lo que le da al árbol joven una apariencia arbustiva. Hojas en fascículos de 3, ocasionalmente 4, borde entero, delgadas, de color verde grisáceo; estomas en las superficies dorsal y ventral (Perry, 1991). Sin embargo, Martínez (1948) menciona que no presenta estomas en la cara externa, solo en las internas.

### Distribución geográfica

*Pinus pinceana*, así como otras especies de piñoneros como *Pinus edulis* Engelm., *Pinus maximartinezii* Rzedowski, *Pinus monophylla* Torr. y *Pinus nelsonii* Shaw., tienen distribución geográfica restringida en México y en apariencia no constituyen elementos dominantes en los bosques, sino muy localmente (Rzedowski, 1978).

Perry (1991) menciona que *Pinus pinceana* se encuentra disperso en la Sierra Madre Oriental, principalmente en el estado de Coahuila y como pequeñas poblaciones dispersas en el estado de Zacatecas. Martínez (1948) reporta los siguientes lugares donde colectó ejemplares de esta especie: Hacienda el Garambullo, el Fraile, Coahuila; Sierra el Garambullo y Sierra la Herradura, Parras, Coahuila; Paso de Carneros, cerca de General Cepeda, Coahuila; Sierra la Concordia, Coahuila;

Rancho el Maguey Verde, cerca de Camargo, Querétaro; la Mesa, Hidalgo y Sierra Negra, 9 Km. al sur de Parras, Coahuila.

#### Condiciones ecológicas

Esta especie prospera en suelos calizos y desérticos, pedregosos, muy delgados y pobres en materia orgánica; en laderas de montaña y lomeríos donde puede rodar con facilidad su semilla (Eguiluz, 1978). Así mismo se encuentra dispersa en colinas rocosas y montañas muy secas de la Sierra Madre Oriental (Perry, 1991).

Forma rodales puros abiertos, a veces en manchones pequeños; pero también se le ve asociado con varios piñoneros y otras coníferas; su rango altitudinal se extiende desde los 1500 msnm en San Luis Potosí, hasta 2700 msnm en Querétaro, siendo los 1900 msnm la altitud a la que se encuentra más abundante en Coahuila (Eguiluz, 1978).

#### Importancia

Los piñoneros son el resultado de una evolución que les ha permitido adquirir una notable adaptación a ecosistemas con sequías extremas y condiciones edáficas muy pobres, además juegan un papel importante como proveedores de bienes y servicios para la población rural (Caballero y Ávila, 1989). Su madera se utiliza con fines domésticos, como leña, postes para cerca y muebles rústicos; sus piñones son comestibles y dentro de la región se comercializan; así mismo, puede ser una especie exitosa para los programas de reforestación con fines de protección al suelo (Eguiluz, 1978).

La Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, la considera una especie de importancia, debido a que es una especie endémica de México y se encuentra dentro de la categoría de protección especial ya que su distribución es muy restringida (SEMARNAT, 2002). Debido a que la especie es complementaria del *Pinus cembroides* en cuanto al aprovechamiento de su semilla, su regeneración se podría ver afectada en el futuro (Perry, 1991).

### Variación genética

Se entiende por variación genética a las diferencias asociadas dentro de determinadas especies y que se transmiten de generación a generación (Jara, 1995). La variación entre los fenotipos se puede atribuir en parte al genotipo y en parte al ambiente (Spurr y Barnes, 1982). Todas las diferencias entre los árboles son el resultados de tres factores: los diferentes ambientes en los cuales los árboles crecen, las diferencias genéticas entre los árboles, y las interacciones existentes entre el genotipo de los árboles y los ambientes en los cuales éstos crecen (Zobel y Talbert, 1988).

Las acículas maduras suelen ser cortas en años secos y largas en años húmedos, lo cual significa que el clima es el causal de tal variación (Lanner 1970. Citado por Zavala *et al.*, 1989). En un estudio de variación morfológica de acículas de distintas procedencias de *Pinus cembroides*, donde se midió número y largo de las acículas, Muñoz (1995) reportó que dos poblaciones de Coahuila presentaron similitud en cuanto a estas dos variables, lo que supone que los ambientes más secos influyeron en una reducción de número de acículas y largo de las mismas. Por otro lado,

Rodríguez y Capó (2005) reportan que *Pinus arizonica* Engelm., presenta mayor número de acículas y menor tamaño en longitud y ancho de acículas a mayor altitud sobre el nivel del mar. Las variables morfológicas que están relacionadas con la longitud de acículas en *Pinus cembroides* y *Pinus discolor* son el número de acículas por fascículo y el brote anual (Zavala *et al.*, 1989).

Santos (1998) reporta que en ocho localidades de *Pseudotsuga* del Norte de México encontró diferencias morfológicas y anatómicas altamente significativas en las hojas, las diferencias se presentaron entre localidades y dentro de cada localidad.

## Hojas

Las hojas son expansiones laterales del tallo de gran importancia fisiológica, ya que a partir de ellas se realizan las funciones básicas de la planta, como son: la fotosíntesis, la respiración y la transpiración (Meson y Montoya, 1993).

Las hojas cotiledonares, son las primeras hojas no foliares del embrión de las plantas con semilla (Padilla, 1987). Los cotiledones en desarrollo levantan a la semilla por encima del suelo y se convierten en estructuras fotosintéticas iniciales. Cuando el hipocótilo alcanza su longitud de madurez y los cotiledones completan su desarrollo; en este momento aparece la primera de las hojas verdaderas (primarias) al pie de la base de los cotiledones (Daniel *et al.*, 1982).

Las hojas primordiales o primarias, son notables en plántulas, rara vez se les observa sobre madera vieja, de forma linear, lanceolada, con borde serrado,

solitarias, insertas en forma espiral a lo largo del hipocótilo. Las hojas secundarias son aciculares o triangulares, insertas en los nudos en haces de 2, 3 y 5 hojas, rara vez mayor número, ocasionalmente solitarias, envueltas en su parte baja por una vaina membranosa, persisten en el árbol dos años o más (Vidal, 1962).

Las hojas se adaptan de diversas maneras a condiciones ambientales particulares. Las modificaciones de las especies incluyen una diversidad de mecanismos que reducen la pérdida de agua en plantas xeromórficas: pelos superficiales, estomas hundidos, arrollamiento de los limbos, etc. Aun en una sola especie, o en una misma planta, pueden ocurrir considerables variaciones en respuesta a situaciones ambientales y fisiológicas (Bidwell, 1979).

### Estomas

Los estomas son aberturas en la epidermis rodeadas por células oclusivas, las cuales controlan el tamaño de la abertura. En el género *Pinus*, los estomas se presentan según filas longitudinales paralelas a los haces vasculares (Esau, 1972). Los estomas son reguladores principales del proceso de difusión. Gracias a la modificación de la abertura de los estomas la planta puede controlar al mismo tiempo el flujo de entrada del CO<sub>2</sub> a la hoja y también la pérdida de agua por transpiración (Larcher, 1977).

El número y tamaño de los estomas determina la cantidad de agua transpirada y, en cierta medida, los lugares donde pueden crecer las diferentes especies. Las especies con superficies epidérmicas de las hojas gruesas y ceróseas y pocos

estomas son capaces de soportar sequías extremas y ocupar las localidades más secas (Hocker, 1984).

La cantidad, distribución, tamaño, forma y movimiento de los estomas son características específicas que pueden variar según la situación de la planta. La densidad estomática en coníferas va desde 40 a 120 estomas por milímetro cuadrado (Larcher, 1977).

Al comparar *P. cembroides* y *P. discolor*, en base a frecuencia, distribución, índice y distancia entre estomas Yáñez y García (1985) reportan que *P. cembroides* podría ser más tolerante a sequía por presentar menor frecuencia de estomas y también por ocupar áreas ecológicas más secas que *P. discolor*.

En otro estudio de frecuencia estomatal en hojas primarias de cuatro especies de *Pinus*, los resultados muestran que a nivel de especies existen diferencias altamente significativas en el número de estomas por hilera en las dos caras de la hoja y en el número de hileras estomatales de la cara inferior, pero no en la frecuencia estomatal (Vargas y Muñoz, 1988). Por otro lado García y Capó (1989) en un estudio de variación morfológica y fisiológica de *Pinus cembroides*, *P. maximartinezii* Rzedowski y *P. ayacahuite* Erhen reportaron que la densidad de estomas por milímetro cúbico no presento diferencias en la cara dorsal, pero si hubo diferencias significativas entre especies en la cara ventral.

### Intercambio de gases

Debido a que los estomas, representan no más del 0.1 % de la superficie foliar, podría esperarse que la difusión fuera extremadamente baja. Sin embargo, los experimentos demuestran, por el contrario, que los gases pueden entrar y salir con gran rapidez. La difusión del CO<sub>2</sub> tiene lugar usualmente sólo a través de las superficies foliares que poseen estomas y aproximadamente en proporción al número de estomas presentes (Bidwell, 1979).

### Movimiento estomático

Cuando la presión de turgencia dentro de la célula oclusiva aumenta y las células se tornan túrgidas, asumen la forma de un plátano, con las paredes engrosadas separadas para formar un poro o abertura. Ello se debe a que conforme las células adquieren turgidez tienden a expandirse en toda dirección; en consecuencia, a medida que se alargan son forzadas a adquirir la forma de plátano porque las paredes engrosadas no pueden dilatarse. Cuando disminuye la presión de turgencia, las células oclusivas se tornan flácidas, las paredes engrosadas se aproximan y los poros se cierran (Bidwell, 1979).

Entre los factores externos que tienen gran influencia en la abertura, destacan la luz, la temperatura, la humedad del aire y el suministro de agua; entre los factores internos influyen la presión parcial de CO<sub>2</sub> en el sistema intercelular, las condiciones hídricas en que se encuentra la planta, el contenido iónico y las fitohormonas de las que el ácido giberélico y la citoquinina determinan la abertura y el ácido abscísico el cierre del poro (Larcher, 1977).

## Procedencias

Procedencia es el lugar o lugares concretos donde se encuentra un rodal de árboles, por extensión el término se aplica a la semilla recolectada allí, así como las plantas obtenidas por su germinación (Bouvareal, 1978). Zobel y Talbert (1988) la definen como el área geográfica original de la cual se obtienen semillas u otros propágulos. A su vez, Patiño y Borja (1978) la definen como una población de árboles de una misma especie que por desarrollarse en condiciones diferentes presenta variaciones morfológicas, produciendo plantas genéticamente distintas.

Una procedencia confiable sería aquella que produjera una rotación adecuada con una probabilidad de 90 % más que una cosecha sobresaliente en el 50 % de los casos (Zobel y Talbert, 1988).

Daniel *et al.* (1982) mencionan que las especies de amplia distribución geográfica ofrecen diversidad de procedencias y variación genética, de la misma manera que aquellas especies de distribución discontinuas presentan gran variación, debido a que casi no intercambian material genético entre sus procedencias.

### Ensayo de procedencias

Un ensayo de procedencias consiste en la recolección de semillas de varias procedencias para hacerlas crecer en una determinada localidad, con el propósito de determinar cual de ellas es la mejor para una localidad en particular (Daniel *et al.*, 1982).

Los ensayos de procedencias determinan en gran medida si existen diferencias genéticas entre las poblaciones en los caracteres estudiados de las plantas y la magnitud de esa diferenciación genética entre las distintas procedencias bajo las condiciones ambientales comunes en el lugar del experimento (Spurr y Barnes, 1982).

El aspecto práctico de las pruebas de procedencias implica la identificación de fuentes de semilla adecuadas para las necesidades de reforestación; una vez que se han identificado tales procedencias, la semilla que se necesita para la reforestación puede ser colectada en rodales o áreas específicas (Young, 1991).

## MATERIALES Y MÉTODOS

En este estudio se evaluaron plántulas y árboles de *Pinus pinceana* de tres localidades del norte de México. Dos de éstas del estado de Coahuila; Ejido el Garambullo y Ejido Palmas Altas, del municipio de Saltillo y la tercera del estado de Zacatecas; Lomas del Orégano, del municipio de Mazapil (Cuadro 1).

Cuadro 1. Ubicación geográfica, descripción y fecha de evaluación de las localidades evaluadas.

Localidad	Ubicación geográfica	Altitud msnm	Fecha de evaluación	Vegetación
Palmas Altas	25° 07' 57.7" N 101° 27' 04.6" W	2, 312	Febrero 2006	Bosque de pino, crasirosulifolios espinosos
Garambullo	25° 02' 05.7" N 101° 29' 0.55" W	2, 080	Febrero 2006	Bosque de pino, crasirosulifolios espinosos
L. del Orégano	24° 30' 19.1" N 101° 27' 48.2" W	2, 310	Febrero 2006	Bosque de pino, izotal, matorral inerme, crasirosulifolios espinosos

La ubicación geográfica y la altitud fueron tomadas con un receptor GPS (Trailblazer XL).

### Ubicación geográfica del área de estudio

Las plántulas que se utilizaron en este estudio se desarrollaron en el invernadero del Departamento Forestal, dentro de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, localizada al sur de la ciudad de Saltillo, entre los 25° 21' y 25° 22' de latitud norte y los meridianos 101° 01' y 102° 03' de longitud oeste, con una altitud de 1754 msnm (CETENAL, 1975). La evaluación de las hojas cotiledonares y primarias se hicieron a partir del mes de junio hasta noviembre del 2005.

## Etapa de vivero y campo

### Muestreo

Para hacer la colecta de las muestras, hojas cotiledonares y hojas primarias, se eligieron cinco contenedores de plantas de forma al azar por cada localidad, de los cuales se escogieron tres plantas por contenedor, tomando en cuenta que estas plantas tuvieran presentes sus hojas cotiledonares.

En el caso de las muestras de hojas secundarias, se seleccionaron al azar 10 árboles de cada localidad, procurando que por lo menos hubiera una distancia de 30 metros entre árboles para disminuir el probable parentesco entre ellos.

### Colecta de acículas

Al momento de la colecta, para hojas cotiledonares y primarias, se utilizaron bolsas de papel para conservar las muestras, se identificaron y se llevaron al laboratorio de Fisiotecnia de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. En las hojas cotiledonares, se tomaron tres muestras por cada planta y para las hojas primarias, se tomaron dos muestras por planta. Las muestras se prepararon el mismo día de la colecta, por lo que no fue necesario darles un tratamiento especial.

Las hojas secundarias fueron colectadas en la parte media de la copa y con exposición sur, de manera que hubiera homogeneidad en la colecta. Después se guardaron en bolsas de polietileno debidamente identificadas y se depositaron en un recipiente con hielo hasta el momento de su preparación para evitar que se deshidrataran.

## Etapa de laboratorio

### Preparación de las muestras

A cada una de las muestras de hojas cotiledonares se le aplicó en la parte media una película delgada de barniz transparente para uñas en uno de sus lados, y para las hojas primarias y secundarias se le aplicó en ambos lados (caras internas y cara externa). Después de unas horas se desprendió la película con la ayuda de una pinza y una aguja de disección, colocándose sobre un portaobjetos, cuidando que la superficie que tuvo contacto con la epidermis de la acícula quedara hacia arriba. Se le agregó una gota de agua destilada y se le colocó un cubreobjetos, técnica similar a la usada por Hultine y Marshall (2001).

### Medición de estomas

Para la medición de estomas fue necesario calibrar un microscopio compuesto Zeiss para realizar las medidas en micras ( $\mu$ ). Las mediciones se hicieron en tres campos diferentes con tres repeticiones cada uno para mayor confiabilidad. Se midió el número de estomas en un milímetro lineal ( $\text{mm}^{-1}$ ), ancho de estoma, largo de estoma y distancia entre estoma con el objetivo de 40 X, y para las distancias entre hileras de estomas y grupos de hileras con el objetivo de 10 X, para lo cual se utilizó el microscopio compuesto con una reglilla micrométrica con una aproximación a 0.01 mm en el ocular. Por lo tanto fue necesario hacer la conversión a micras ( $\mu$ ) con las siguientes fórmulas:

Objetivo 10 X                     $0.05 \times 1000 = 50$

$50/5 = 10\mu$

$10\mu$  *por medida observada = Tamaño en micras*

Donde:

0.05 = Valor observado en el micrómetro de objeto

5 = Valor observado en el micrómetro de ocular

1000 = Constante

Objetivo 40 X                     $0.01 \times 1000 = 10$

$10/4 = 2.5\mu$

$2.5\mu$  *por medida observada = Tamaño en micras*

Donde:

0.01 = Valor observado en el micrómetro de objeto

4 = Valor observado en el micrómetro de ocular

1000 = Constante

#### Densidad estomática

Para la densidad estomática, se contó el número de estomas en el campo observado a 40 X. Finalmente la densidad observada se extrapola para  $1\text{mm}^2$  utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{18 \text{ mm}}{40 X} = 0.45 \text{ mm}$$

Donde:

18 mm = Diámetro del ocular

40 X = Objetivo utilizado

0.45 mm = Diámetro del campo

Con esta fórmula se obtuvo un diámetro de campo, el cual se utilizó para obtener el área del campo observado utilizando la fórmula de la circunferencia.

$$A = \pi x r^2$$

$$A = 3.1416 x 0.225^2$$

$$A = 0.159 \text{ mm}^2$$

Donde:

$\pi$  = Constante

$r^2$  = Radio al cuadrado

Posteriormente se realizó una regla de tres para obtener el número de estomas por milímetro cuadrado.

0.159  $\text{mm}^2$  --- No. de estomas observados

1.00  $\text{mm}^2$  --- X No. de estomas /  $\text{mm}^2$

Además se evaluó la variable número de hileras de estomas en los tres tipos de hojas, en el caso de las hojas primarias y secundarias se evaluaron en la cara ventral y la cara dorsal.

## Procesamiento estadístico

El procesamiento de los datos y el análisis estadístico se realizó con el programa Statistical Analysis System (SAS) versión 8.2. El cual permitió realizar el análisis de varianza (ANVA) para cada una de las variables.

Se utilizó un modelo estadístico que corresponde a un diseño completamente al azar.

Dicho modelo se define como:

$$Y_{ij} = \mu + \rho_i + \varepsilon_{ij}$$

$i$  = Procedencias

$j$  = Número de plantas

Donde:

$Y_{ij}$  = Observación en la  $j$ -ésima planta en la  $i$ -ésima procedencia

$\mu$  = Media general

$\rho_i$  = Efecto de la  $i$ -ésima procedencia

$\varepsilon_{ij}$  = Error experimental de la  $j$ -ésima planta en la  $i$ -ésima procedencia

Cuando se presentaron diferencias entre procedencias en el análisis de varianza (ANVA), se procedió a realizar la prueba de Tukey de comparación de medias.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Tipos de hojas

Los resultados de los análisis de varianza muestran que existen diferencias entre procedencias en algunas de las variables evaluadas (Cuadro 2) (Apéndices 1, 2, 3 y 4).

Cuadro 2. Diferencias entre procedencias de las variables estomáticas evaluadas en hojas de *Pinus pinceana* Gordon de tres procedencias del Norte de México.

Tipo de hojas	Variables evaluadas							
	NH	NEmm <sup>2</sup>	NEmm <sup>-1</sup>	LE	AE	DE	DH	DGH
Cotiledonares	**	**	**	NS	NS	**	----	----
Primarias, cara ventral	*	NS	**	**	NS	**	NS	NS
Primarias, cara dorsal	NS	NS	*	**	NS	*	----	NS
Secundarias, cara ventral	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

NH = Número de hileras de estomas NEmm<sup>2</sup> = Número de estomas por milímetro cuadrado NEmm<sup>-1</sup> = Número de estomas en un milímetro lineal LE = Longitud de estomas AE = Ancho de estomas DE = Distancia entre estomas DH = Distancia entre hileras de estomas DGH = Distancia entre grupos de hileras de estomas NS = No significativo \* = Significativo con P > 0.05 \*\* = significativo con P > 0.01 ---- = Variables no evaluadas

Con respecto a los tres tipos de follaje, se advierte que en general, las hojas cotiledonares presentan mayor diferencia entre procedencias que las hojas primarias en cuatro de seis variables evaluadas, y éstas a su vez tienen mayor diferencia que las hojas secundarias, las cuales, definitivamente no presentan diferencias estadísticas entre procedencias en ninguna de las variables evaluadas.

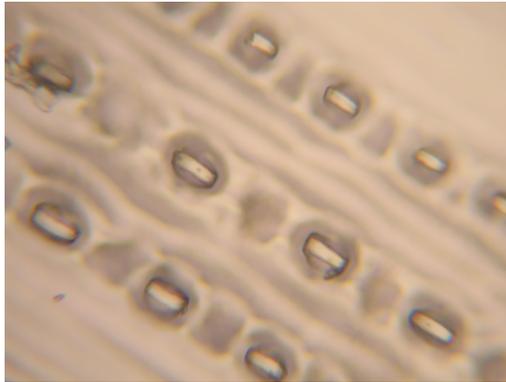
Esto probablemente se deba a que las hojas secundarias provienen de árboles de poblaciones naturales situadas en sitios con alta variabilidad ecológica, contrario al ambiente que predomina en el invernadero donde se desarrollaron las plantas que se utilizaron para evaluar las hojas cotiledonares y primarias, por lo que las variaciones encontradas en los primeros dos tipos de follaje se pueden atribuir al efecto genético y no al ambiente (Spurr y Barnes, 1982).

En un estudio de frecuencia estomatal en hojas primarias de cuatro especies de *Pinus*, los resultados muestran que a nivel de especies existen diferencias altamente significativas en el número de estomas por hilera en las dos caras de la hoja y en el número de hileras estomatales de la cara inferior, pero no en la frecuencia estomatal total (Vargas y Muñoz, 1988).

Quiroz y Bermejo (1999) reportan en un estudio de variación de acículas de *Pinus radiata* que el número de hileras en las tres caras son muy variables entre árboles y que en cada una de las caras de la acícula también existe una variabilidad significativa.

En un estudio de tres procedencias de *Pinus cembroides* Zucc., Morales (2002) reporta que para la densidad estomática, ancho de estomas y distancia entre estomas no existen diferencias en el haz ni en el envés entre las procedencias en hojas aciculares. Así mismo, en un ensayo de tres procedencias de *P. greggii* Contreras (2005) reporta no haber encontrado diferencias en cuanto al ancho de los estomas tanto en el haz como en el envés.

De acuerdo con nuestras observaciones y los datos registrados, las hojas primarias de *Pinus pinceana* son anfistomáticas ya que presentan estomas tanto en la cara ventral como en la cara dorsal (Figura 1).



a) Cara ventral



b) Cara dorsal

Figura 1. Estomas en hojas primarias de *Pinus pinceana* Gordon, a) cara ventral, b) cara dorsal, tomadas a 40 X.

Así mismo, los resultados de este trabajo muestran que las hojas secundarias de *P. pinceana* son epistomáticas ya que presentan estomas únicamente en la cara ventral y carecen de ellos en la cara dorsal (Figura 2).

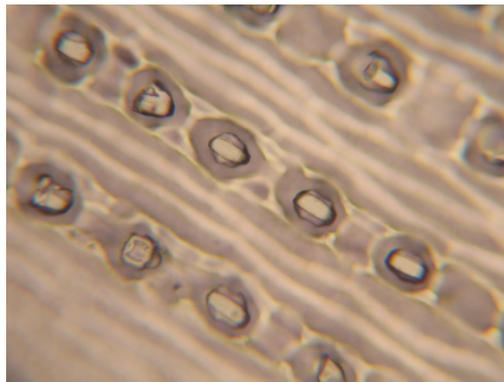


Figura 2. Cara ventral

Figura 2. Estomas en la cara ventral de las hojas secundarias de *Pinus pinceana* Gordon, tomadas a 40 X.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio y para estas tres procedencias, las hojas fasciculares de *Pinus pinceana* son epistomáticas, ya que sólo presentan estomas en la cara ventral, este resultado coincide con la descripción de Martínez (1948) pero difiere a lo reportado por Perry (1991) donde menciona que esta especie presenta estomas en ambas caras.

### Procedencias

Respecto a las hojas cotiledonares, se aprecia que la procedencia Lomas del Orégano presenta valores más bajos que Palmas Altas en cuanto a número de hileras de estomas (NH), densidad estomática ( $NEmm^2$ ) y número de estomas en un milímetro lineal ( $NEmm^{-1}$ ), pero presenta mayor distancia entre estomas ( $DE \mu$ ) que Palmas Altas (Cuadro 3). Lo cual indica que la distancia entre estomas está correlacionada con la densidad estomática y el número de estomas en un milímetro lineal.

Para las hojas primarias (cara ventral) la procedencia de el Garambullo presenta valores más altos que Palmas Altas con respecto a número de hileras de estomas (NH), longitud de estomas ( $LE \mu$ ) y distancia entre estomas ( $DE \mu$ ) pero presenta menor número de estomas en un milímetro lineal ( $NEmm^{-1}$ ) y menor distancia entre grupos de hileras (DGH) que Palmas Altas. Para la cara dorsal, Palmas Altas presentó valores más bajos que el Garambullo en cuanto a la distancia entre estomas ( $DE \mu$ ) y longitud de estomas ( $LE \mu$ ) pero presentó mayor número de estomas en un milímetro lineal ( $NEmm^{-1}$ ) que el Garambullo (Cuadro 3).

Cuadro 3. Comparación de medias y agrupación Tukey de las variables estomáticas evaluadas en hojas de *Pinus pinceana* Gordon de tres procedencias del Norte de México.

Hojas cotiledonares	Variables evaluadas															
	NH		NEmm <sup>2</sup>		NEmm <sup>-1</sup>		LE μ		AE μ		DE μ		DH μ		DGH μ	
	$\bar{x}$	Tukey	$\bar{x}$	Tukey	$\bar{x}$	Tukey	$\bar{x}$	Tukey	$\bar{x}$	Tukey	$\bar{x}$	Tukey	$\bar{x}$	Tukey	$\bar{x}$	Tukey
Hojas cotiledonares																
Palmas Altas	8.6	a	43.3	a	7.0	a	40.9	a	28.1	a	150.7	b	-----		-----	
Garambullo	9.1	a	41.5	ab	6.9	a	39.9	a	26.9	a	157.9	ab	-----		-----	
Lomas del Orégano	7.8	b	39.3	b	6.4	b	40.6	a	26.7	a	165.2	a	-----		-----	
Promedio	8.5		41.4		6.8		40.5		27.2		157.9		-----		-----	
Hojas primarias																
Cara ventral																
Palmas Altas	5.5	b	62.8	a	10.6	a	33.8	b	22.7	a	70.0	b	64.8	a	353.0	a
Garambullo	6.2	a	61.0	a	9.6	b	37.3	a	23.1	a	82.7	a	61.8	a	309.8	b
Lomas del Orégano	5.9	ab	63.0	a	10.1	ab	34.0	b	21.9	a	72.6	b	56.3	a	329.5	ab
Promedio	5.9		62.3		10.1		35.0		22.6		75.1		61.0		330.8	
Hojas primarias																
Cara dorsal																
Palmas Altas	2.6	a	34.5	a	10.4	a	34.9	b	22.7	a	75.7	b	-----		572.7	a
Garambullo	2.9	a	35.7	a	9.6	ab	38.1	a	22.7	a	86.9	a	-----		557.0	a
Lomas del Orégano	3.1	a	37.3	a	9.3	b	36.3	ab	22.0	a	79.2	ab	-----		584.3	a
Promedio	2.9		35.8		9.8		36.4		22.5		80.6		-----		571.3	

NH = Número de hileras de estomas NEmm<sup>2</sup> = Número de estomas por milímetro cuadrado NEmm<sup>-1</sup> = Número de estomas en un milímetro lineal LE = Longitud de estomas AE = Ancho de estomas DE = Distancia entre estomas DH = Distancia entre hileras de estomas DGH = Distancia entre grupos de hileras μ = Micras ----- = Variables no evaluadas.

Las diferencias que se presentan entre las procedencias, probablemente se deben a que las poblaciones naturales de *P. pinceana* se desarrollan en condiciones distintas y eso provoca que produzcan características genéticas distintas (Patiño y Borja, 1978). Por otro lado, Hocker (1984) menciona que las especies con pocos estomas son capaces de soportar sequías extremas y ocupar las localidades más secas.

La densidad estomática de *Pinus pinceana* en los tres tipos de hojas se encuentran dentro del rango que menciona Larcher (1977), que va desde 40 a 120 estomas por mm<sup>2</sup> de superficie foliar en coníferas.

En cuanto a los resultados encontrados en las hojas primarias, son semejantes a lo encontrado por Contreras (2005) donde reporta que la procedencia que presentó mayor distancia entre estomas en el haz, también lo presentó en el envés. En este caso, la procedencia el Garambullo presentó mayor distancia entre estomas tanto en la cara ventral como en la cara dorsal.

Santos (1998) reporta que el número de hileras en *Pseudotsuga*, el mayor porcentaje de variación se presentó a nivel de localidad con un valor del 38 %, siendo en este caso el valor más bajo a nivel de árboles dentro de localidades con un valor de 28 %. Así mismo menciona que las hojas más largas son también más anchas y por lo tanto muestran mayor número de hileras de estomas.

Vilela y Acosta (2001) reportan que en *Pinus chiapensis*, a medida que aumenta la altitud se observa una disminución en la longitud de las acículas y un incremento en

el número de estomas por milímetro lineal. Estas variaciones, están asociadas a las diferentes condiciones ambientales a las que los individuos están sujetos.

En un estudio de variación morfológica y fisiológica en plántulas, García y Capó (1989) reportaron que *P. cembroides*, *P. maximartinezii* y *P. ayacahuite* presentan diferencias significativas entre especies en cuanto a la densidad de estomas por milímetro cúbico en la cara ventral; *P. cembroides* 19.34, *P. maximartinezii* 22.87 y *P. ayacahuite* desde 27.53 hasta 51.61. *Pinus pinceana*, está por arriba de estos valores, ya que presentó una media de 62.33 estomas por milímetro cuadrado en la cara ventral de las hojas primarias.

Este resultado, probablemente se deba a una respuesta de las plantas a las condiciones del invernadero, ya que la cantidad y distribución de los estomas pueden variar según la situación de la planta (Larcher, 1977).

En cuanto al número de estomas por milímetro cuadrado en las hojas secundarias de *P. pincena*, presentó una media de 88.25 estomas / mm<sup>2</sup>, siendo un valor muy alto en comparación con *P. cembroides* y *P. discolor*, donde Yáñez y García (1985) reportan que *Pinus cembroides* presenta mayor número de estomas en el envés. En el haz  $10.8 \pm 2.4$ , en el envés  $16.1 \pm 3.4$  y *Pinus discolor*  $35 \pm 5.1$  estomas por milímetro cuadrado. Estas dos especies difieren en el número de estomas por milímetro cuadrado, siendo mayor en la especie de *P. discolor*.

De acuerdo a este resultado, podría ser que *P. pinceana* presenta mayor cantidad de estomas que *P. cembroides* para tener mejor difusión de CO<sub>2</sub> ya que carece estomas en la cara dorsal y dicha difusión tiene lugar sólo a través de las superficies foliares que poseen estomas (Bidwell, 1979).

Para la variable longitud de estomas en hojas secundarias no se encontraron diferencias entre procedencias en *P. pinceana*, sin embargo, en un estudio de variación en aloenzimas y tamaño de estoma en *Pinus edulis* asociado con la humedad del suelo, Mitton *et al.* (1998) encontraron que la longitud de estoma fue significativamente diferente entre dos procedencias y una de ellas fue igual a las otras dos, donde el factor determinante de estas diferencias fue la humedad del suelo.

Morales (2002) reporta que para la longitud de estomas en *Pinus cembroides*, únicamente en el envés encontró diferencias significativas entre procedencias. Así mismo, Contreras (2005) reporta que la longitud de estomas en *P. greggii*, también presento diferencias entre procedencias únicamente en el envés; esto podría deberse a que las hojas evaluadas en ambos estudios provenían de un ensayo de procedencias establecido en campo.

## CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos, se concluye que las mayores diferencias entre procedencias se presentan a nivel de plántulas en sus hojas cotiledonares y primarias.

La procedencia de Palmas Altas presentó mayor número de estomas por milímetro cuadrado y milímetro lineal en las hojas cotiledonares y primarias, lo cual indica que probablemente esta localidad se desarrolla en condiciones más húmedas que el Garambullo y Lomas del Orégano (Hocker, 1984).

## RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar un estudio similar a este, incluyendo una mayor cantidad de procedencias, representando todo el rango de distribución geográfica de la especie.

Se recomienda que las acículas provengan de plantas crecidas en condiciones uniformes.

Se recomienda comparar los resultados con otras especies de pinos piñoneros que crezcan en las mismas localidades que *P. pinceana*.

Debe estudiarse el ambiente de cada localidad para correlacionar esas condiciones con la densidad de estomas y otras variables estomáticas.

## LITERATURA CITADA

- Bidwell, R. G. S. 1979. Fisiología vegetal. A.G.T. Editor. México. 784 p.
- Bouvareal, P. 1978. La adaptación ecológica de los árboles forestales. Aplicación a la selección. En: Ecología Forestal. P. Pesson (compilador). Mundi-prensa. Madrid. Pp. 171-187.
- Caballero D., M. y R. Ávila R. 1989. Importancia actual y potencial de los pinos piñoneros en México. *In*: Flores F., J. D., J. Flores L., E. García M. y H. Lira S. (comps). Memorias del III Simposio Nacional sobre Pinos Piñoneros. UAAAN. INIFAP. Saltillo, Coahuila. Pp. 18-22.
- CETENAL. 1972a. Carta de uso de Suelo. G14 C42 Sierra el Laurel, Coahuila. Esc. 1:50,000. Secretaría de la Presidencia.
- CETENAL. 1972b. Carta Edafológica. G14 C42 Sierra el Laurel, Coahuila. Esc. 1:50,000. Secretaría de la Presidencia.
- CETENAL. 1973a. Carta de uso de Suelo. G14 C62 Concepción del Oro. Esc. 1:50,000. México.
- CETENAL. 1973b. Carta Edafológica. G14 C62 Concepción del Oro. Esc. 1:50,000. México.
- CETENAL. 1975. Carta topográfica. G14 C33 Saltillo. Esc. 1:50,000. México.
- Contreras M., R. 2005. Ensayo de tres procedencias de *Pinus greggii* Engelm., establecido en el CAESA, Arteaga, Coahuila. Tesis profesional. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 58 p.

- Eguiluz P., T. 1978. Ensayo de integración de los conocimientos sobre el género *Pinus* en México. Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. 623 p.
- Daniel, T. W., J. A. Helms y F. S. Baker. 1982. Principios de Silvicultura. Segunda Edición. McGraw – Hill. México. 492 p.
- Esau, K. 1972. Anatomía vegetal. Omega. España. 779 p.
- García M., A. y M. A. Capó A. 1989. Variación morfológica y fisiológica entre especies y procedencias de los pinos piñoneros *Pinus cembroides* Zucc., *Pinus maximartinezii* Rzedowski y de *Pinus ayacahuite* Erhen., en semillas y plántulas durante el primer año de crecimiento. In: Flores F., J. D., J. Flores L., E. García M. y H. Lira S. (comps). Memorias del III Simposio Nacional sobre Pinos Piñoneros. UAAAN. INIFAP. Saltillo, Coahuila. Pp. 59-63.
- Hocker, H. W. 1984. Introducción a la biología forestal. A.G.T. Editor. México. 446 p.
- Hultine K. R. y J. D. Marshall. 2001. A comparison of three methods for determining the stomatal density of pine needles. *Journal of Experimental Botany* 52: 369-373.
- Jara L., F. N. 1995. Mejoramiento forestal y conservación de recursos genéticos forestales. Manual técnico No. 14. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 174 p.
- Larcher, W. 1977. Ecofisiología vegetal. Ed. Omega. México. 305 p.
- Martínez, M. 1948. Los pinos mexicanos. Segunda edición. Ediciones Botas. México. 361 p.

- Meson, M. y M. Montoya. 1993. Selvicultura mediterránea. Ediciones Mundi-prensa. 367 p.
- Mitton J. B., M. C. Grant y A. Murayama Y. 1998. Variation in allozymes and stomatal size in pinyon (*Pinus edulis*, Pinaceae), associated with soil moisture. American Journal of Botany 85: 1262-1265.
- Morales L., P. 2002. Supervivencia, crecimiento, arquitectura de copa y características estomáticas en tres procedencias de *Pinus cembroides* Zucc., en el CAESA, Arteaga, Coahuila. Tesis profesional. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 73 p.
- Muñoz C., E. 1995. Variación morfológica en acículas, conos y plántulas en distintas procedencias de *Pinus cembroides* Zucc. Tesis profesional. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 41 p.
- Padilla, H. G. 1987. Glosario práctico de términos forestales. Editorial Limusa. 273 p.
- Patiño, V. F. y Borja L. G. 1978. La necesidad de la investigación en ensayos de especies y procedencias. In: Memorias de la primera Reunión Nacional sobre Plantaciones Forestales. DGTICF. México. Publicación Especial No. 13. Pp.22-26.
- Perry, P. J. 1991. The pines of Mexico and Central America. Timber Press. Portland, Oregon. 231 p.
- Quiroz V., R. I. y B. Bermejo V. 1999. Variación en características de acículas, conos y semillas de *Pinus radiata* var. *Cedrosensis* (Howell) Axelrod. Rev. Chapingo serie Ciencias Forestales y del Ambiente 5(1): 41-46.

- 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. 1978. Vegetación de México. Limusa. México. 432 p.
- Santos G., R. 1998. Variación morfológica y anatómica en hojas y conos de ocho localidades de *Pseudotsuga* del Norte de México. Tesis profesional. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 60 p.
- SEMARNAT. 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, Protección ambiental, Especies nativas de México de flora y fauna silvestres, Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio, Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación. Segunda sección. México. 153 p.
- Spurr, S. H. y B. V. Barnes. 1982. Ecología forestal. A.G.T. Editor. México. 690 p.
- Vargas H., J. J. y A. Muñoz O. 1988. Frecuencia estomatal y tamaño del tejido vascular en hojas primarias de cuatro especies de *Pinus*. Agrociencia. 72: 173-181.
- Vidal, J. J. 1962. El pino y algunas especies de interés económico. Manuales UTEHA No. 141/141a. México. 233p.
- Vilela, A. E. y S. Acosta C. 2001. *Pinus chiapensis*: Un enfoque ecológico de su anatomía foliar. Polibotánica. 11: 111-120.
- Yáñez J., P. y E. García M. 1985. Frecuencia, distribución, índice entre estomas en *Pinus cembroides* y *Pinus discolor* en el Altiplano Potosino. In: Flores L., J. E., C. M. Cantú A. y J. S. Marroquín F. (eds). Memorias del Primer Simposio

Nacional sobre Pinos Piñoneros. Facultad de Silvicultura y Manejo de Recursos Renovables. UANL. Linares, N. L. pp. 110-120.

Young, R. A. 1991. Introducción a las ciencias forestales. Editorial Limusa. 632 p.

Zavala C., J. A. Ávila N. y E. García M. 1989. Variación anual en la longitud de acículas y su relación con los factores ambientales en piñoneros del altiplano potosino. *In*: Flores F., J. D., J. Flores L., E. García M. y H. Lira S. (comps). Memorias del III Simposio Nacional sobre Pinos Piñoneros. UAAAN. INIFAP. Saltillo, Coahuila. Pp. 72-79.

Zobel, B. L. y J. T. Talbert. 1988. Técnicas de mejoramiento genético de árboles forestales. Limusa. México. 545 p.

## APÉNDICE

Apéndice 1. Análisis de varianza realizado para las variables evaluadas en las hojas cotiledonares de tres procedencias de *P. pinceana* en el Norte de México.

Variable	FV	GI	SC	CM	Fc	Pr > F
Número de hileras	Procedencia	2	12.79	6.39	8.97	0.0006
	Error	42	29.92	0.71		
	Total	44	42.719			
Número de Estomas mm <sup>2</sup>	Procedencia	2	120.93	60.46	6.20	0.0044
	Error	42	409.55	9.75		
	Total	44	530.48			
Número de Estomas mm <sup>-1</sup>	Procedencia	2	3.16	1.58	6.37	0.0038
	Error	42	10.42	0.24		
	Total	44	13.58			
Longitud de Estomas	Procedencia	2	8.75	4.37	0.64	0.5330
	Error	42	287.94	6.85		
	Total	44	296.70			
Ancho de Estomas	Procedencia	2	17.47	8.73	2.55	0.0904
	Error	42	144.09	3.43		
	Total	44	161.56			
Distancia entre estomas	Procedencia	2	1568.90	784.45	5.55	0.0072
	Error	42	5931.91	141.23		
	Total	44	7500.82			

FV = Fuente de variación GI = Grados de libertad SC = Suma de cuadrados CM = Cuadrados medios Fc = F calculada Pr > = Probabilidad de rechazar Ho.

Apéndice 2. Análisis de varianza realizado para las variables evaluadas en la cara ventral de las hojas primarias de tres procedencias de *P. pinceana* del Norte de México.

Variable	FV	GI	SC	CM	Fc	Pr> F
Número de hileras	Procedencia	2	4.44	2.22	4.50	0.0170
	Error	42	20.75	0.49		
	Total	44	25.20			
Número de Estomas mm <sup>2</sup>	Procedencia	2	35.74	17.87	0.74	0.4845
	Error	42	1018.18	24.24		
	Total	44	1053.93			
Número de Estomas mm <sup>-1</sup>	Procedencia	2	6.53	3.26	7.48	0.0017
	Error	42	18.33	0.43		
	Total	44	24.87			
Longitud de Estomas	Procedencia	2	115.10	57.55	10.15	0.0003
	Error	42	238.23	5.67		
	Total	44	353.34			
Ancho de Estomas	Procedencia	2	10.40	5.20	1.25	0.2982
	Error	42	175.38	4.17		
	Total	44	185.78			
Distancia entre estomas	Modelo	2	1360.14	680.07	10.88	0.0002
	Error	42	2625.10	62.50		
	Total	44	3985.25			
Distancia entre hileras	Procedencia	2	560.09	280.04	1.93	0.1582
	Error	42	6103.11	145.31		
	Total	44	6663.21			
Distancia entre Grupos de hileras	Procedencia	2	13974.93	6987.46	3.10	0.0556
	Error	42	94706.29	2254.91		
	Total	44	108681.23			

FV = Fuente de variación GI = Grados de libertad SC = Suma de cuadrados CM = Cuadrados medios Fc = F calculada Pr > = Probabilidad de rechazar Ho.

Apéndice 3. Análisis de varianza realizado para las variables evaluadas en la cara dorsal de las hojas primarias de tres procedencias de *P. pinceana* del Norte de México.

Variable	FV	GI	SC	CM	Fc	Pr > F
Número de hileras	Procedencia	2	2.47	1.23	2.75	0.0756
	Error	42	18.93	0.45		
	Total	44	21.41			
Número de Estomas mm <sup>2</sup>	Procedencia	2	61.87	30.93	1.17	0.3207
	Error	42	1111.94	26.47		
	Total	44	1173.81			
Número de Estomas mm <sup>-1</sup>	Procedencia	2	9.68	4.84	3.69	0.0333
	Error	42	55.02	1.31		
	Total	44	64.70			
Longitud de Estomas	Procedencia	2	78.44	39.22	6.44	0.0036
	Error	42	255.80	6.09		
	Total	44	334.25			
Ancho de Estomas	Procedencia	2	5.62	2.81	0.68	0.5128
	Error	42	174.15	4.14		
	Total	44	179.78			
Distancia entre estomas	Procedencia	2	979.09	489.54	4.64	0.0151
	Error	42	4430.22	105.48		
	Total	44	5409.32			
Distancia entre Grupos de hileras	Procedencia	2	5647.90	2823.95	0.40	0.6717
	Error	42	295225.92	7029.18		
	Total	44	300873.82			

FV = Fuente de variación GI = Grados de libertad SC = Suma de cuadrados CM = Cuadrados medios Fc = F calculada Pr > = Probabilidad de rechazar Ho.

Apéndice 4. Análisis de varianza realizado para las variables evaluadas en la cara ventral de las hojas secundarias de tres procedencias de *P. pinceana* del Norte de México.

Variable	FV	GI	SC	CM	Fc	Pr> F
Número de hileras	Procedencia	2	4.53	2.26	2.40	0.1099
	Error	27	25.53	0.94		
	Total	29	30.07			
Número de Estomas mm <sup>2</sup>	Procedencia	2	81.96	40.98	0.34	0.7183
	Error	27	3303.09	122.33		
	Total	29	3385.06			
Número de Estomas mm <sup>-1</sup>	Procedencia	2	0.20	0.10	0.36	0.6994
	Error	27	7.72	0.28		
	Total	29	7.93			
Longitud de Estomas	Procedencia	2	5.51	2.75	1.08	0.3528
	Error	27	68.72	2.54		
	Total	29	74.24			
Ancho de Estomas	Procedencia	2	7.66	3.83	2.39	0.1108
	Error	27	43.31	1.60		
	Total	29	50.97			
Distancia entre estomas	Procedencia	2	12.51	6.25	0.53	0.5943
	Error	27	318.53	11.79		
	Total	29	331.04			
Distancia entre hileras	Procedencia	2	75.63	37.81	0.34	0.7127
	Error	27	2976.66	110.24		
	Total	29	3052.30			
Distancia entre Grupos de hileras	Procedencia	2	3253.88	1626.94	1.36	0.2726
	Error	27	32191.38	1192.27		
	Total	29	35445.27			

FV = Fuente de variación GI = Grados de libertad SC = Suma de cuadrados CM = Cuadrados medios Fc = F calculada Pr > = Probabilidad de rechazar Ho.

Apéndice 5. Comparación de medias y agrupación Tukey de las variables estomáticas evaluadas en las hojas secundarias de *Pinus pinceana* Gordon de tres procedencias del Norte de México.

	NH		NEmm <sup>2</sup>		NEmm <sup>-1</sup>		LEμ		AEμ		DEμ		DHμ		DGHμ	
	$\bar{x}$	Tukey	$\bar{x}$	Tukey	$\bar{x}$	Tukey	$\bar{x}$	Tukey	$\bar{x}$	Tukey	$\bar{x}$	Tukey	$\bar{x}$	Tukey	$\bar{x}$	Tukey
Hojas secundarias	7.2	a	90.04	a	12.11	a	41.05	a	30.01	a	49.41	a	53.00	a	326.33	a
Palmas Altas	6.3	a	86.05	a	12.04	a	40.05	a	29.33	a	50.37	a	54.88	a	324.00	a
Garambullo	7.0	a	88.67	a	11.91	a	40.83	a	30.56	a	50.98	a	56.88	a	303.17	a
Promedio	6.8		88.2		12.0		40.6		29.9		50.2		54.92		317.8	

NH = Número de hileras de estomas    NEmm<sup>2</sup> = Número de estomas por milímetro cuadrado    NEmm<sup>-1</sup> = Número de estomas en un milímetro lineal    LE = Longitud de estomas    AE = Ancho de estomas    DE = Distancia entre estomas    DH = Distancia entre hileras de estomas    DGH = Distancia entre grupos de hileras    μ = Micras.