



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

---

---

**INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSGRADO EN CIENCIAS FORESTALES**

**VARIACIÓN EN INDICADORES REPRODUCTIVOS,  
SEMILLAS Y PLANTULAS DE *Pinus cembroides* ZUCC. Y  
*P. orizabensis* D.K. BAILEY & HAWKSW.**

**LETICIA ALEJANDRA HERNÁNDEZ ANGUIANO**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL**

**PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO**

**2016**

---

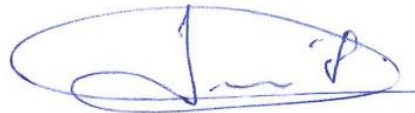
---

La presente tesis titulada: **Variación en indicadores reproductivos, semillas y plántulas de *Pinus cembroides* Zucc. y *P. orizabensis* D.K. Bailey & Hawksw.,** realizada por la alumna: **Leticia Alejandra Hernández Anguiano,** bajo la dirección del Consejo Particular Indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS  
EN CIENCIAS FORESTALES**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



---

Dr. Javier López Upton

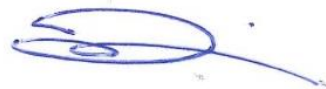
ASESOR



---

Dr. Carlos Ramírez Herrera

ASESOR



---

Dra. Angélica Romero Manzanares

Montecillo, Texcoco, Estado de México, noviembre de 2016

# VARIACIÓN EN INDICADORES REPRODUCTIVOS, SEMILLAS Y PLÁNTULAS DE *Pinus cembroides* ZUCC. Y *P. orizabensis* D.K. BAILEY & HAWKSW.

Leticia Alejandra Hernández Anguiano, M.C.  
Colegio de postgraduados, 2016

## Resumen

*Pinus cembroides* Zuccarini y *P. orizabensis* D.K. Bailey & Hawksworth son pinos piñoneros usados indistintamente en reforestación por aparentes similitudes morfológicas aunque crecen en hábitats diferentes. El objetivo fue identificar diferencias en características reproductivas, de semilla y calidad de planta entre ambas taxa y algunas de sus procedencias. Se evaluaron características de cono y producción de semilla y se determinaron diferencias ( $p < 0.05$ ) entre especies y poblaciones en la mayoría de las variables. El potencial de producción de semillas por cono resultó 19 vs. 23, la eficiencia de producción de semilla 40.6 vs. 35 % y la eficiencia reproductiva de 0.77 vs. 0.64 g semilla /g de cono seco, superior en *P. cembroides*. El índice de endogamia (no. semillas vanas/semillas desarrolladas) fue mayor en *P. orizabensis* (0.33 vs. 0.37). El peso de la semilla resultó diferente, 502 mg en *P. cembroides* vs. 372.6 mg en *P. orizabensis*. Las poblaciones con mejores resultados de indicadores reproductivos fueron Cadereyta, Querétaro de *P. cembroides* y, Alzayanca, Tlaxcala de *P. orizabensis*. En general, la viabilidad reproductiva de las poblaciones de *P. cembroides* fue mejor que la de *P. orizabensis*. La calidad germinativa de la semilla se evaluó usando lotes masales de diferentes procedencias de ambas especies, la semilla fue analizada de acuerdo a tres colores de testa, ya que los productores la venden a diferente precio. En *P. cembroides* la testa fue 0.1 mm más gruesa y la capacidad germinativa fue 88 % y la de *P. orizabensis* 84 %. Hay mayor vigor germinativo en *P. cembroides*, se requiere 12.7 días para alcanzar el 50% de germinación en *P. cembroides* y 13.4 días en *P. orizabensis*. Las procedencias difieren ( $p < 0.01$ ) para capacidad germinativa, valor pico, y días para alcanzar el valor pico y germinación del 50%. En *P. cembroides*, la semilla de Cadereyta, presentó mayor porcentaje de germinación (95 %) y con menor vigor la de Santiago de Anaya, Hgo. con 87.5 % de germinación. Entre procedencias de *P. orizabensis*, la semilla con mayor capacidad germinativa fue de El Carmen, Tlaxcala (87 %), aunque las de Tepeyahualco, Pue., y Alzayanca, Tlax., presentaron mayor velocidad de germinación. En ambas especies la semilla parda tiene mayor capacidad de germinación y la semilla con testa negra es más delgada; además en *P. cembroides* la de testa negra germina más rápido y en *P. orizabensis* la semilla color pardo tiene más vigor. En plantas de 15 meses producidas en vivero se determinaron diferencias morfológicas entre ambos pinos y sus procedencias. El número de cotiledones fue de 8 a 15 en ambos piñoneros, mayormente de 10 y 11 en *P. cembroides*, de 11 y 12 en *P. orizabensis*. La altura del hipocótilo de 35 a 36 mm sin diferencias entre las taxa. *P. cembroides* y sus procedencias presentaron menor altura y mayor diámetro (17.70 cm y 8.69 mm vs. 18.77 y 7.92 mm, respectivamente a 15 meses), esto es un índice de esbeltez menor en las plantas a 6 y 15 meses en vivero. La mejor planta por su índice de esbeltez fue la de Cadereyta, Qro., y en *P. orizabensis* la de Alzayanca, Tlax. Aparentemente las plantas de *P. cembroides* tienen mayor capacidad de establecerse en condiciones ambientales más limitadas que las de *P. orizabensis*.

**Palabras Clave:** caracteres morfológicos, color de testa, germinación, indicadores reproductivos, *Pinus cembroides*, *Pinus orizabensis*, plántulas, semilla.

# VARIATION IN REPRODUCTIVE INDICATORS, SEEDS AND SEEDLINGS OF *Pinus cembroides* ZUCC. AND *P. orizabensis* D.K. BAILEY & HAWKSW.

Leticia Alejandra Hernández Anguiano, MC  
Colegio de Postgraduados, 2016.

## Abstract

*Pinus cembroides* Zuccarini and *P. orizabensis* D.K. Bailey & F.G. Hawksworth are pinyon pines used indistinctly in reforestation by apparent morphologic similarities although they are growing in different habitats. The aim of this research was to identify differences in reproductive characteristics, seed traits and plant quality between both taxa and some provenances of them. Characteristics of cone and seed production were evaluated and differences ( $p < 0.05$ ) among species and populations in most variables were determined. The potential of production of seeds by cone was 19 vs. 23, the efficiency of seed production was 40.6 vs. 35% and reproductive efficiency was 0.77 vs. 0.64 g of seed / g cone dry weight, was higher in *P. cembroides*. Inbreeding index (empty seed / developed seed) was higher in *P. orizabensis* (0.33 vs. 0.37). The seed weight was different, 502 mg in *P. cembroides* vs. 372.6 mg in *P. orizabensis*. Populations with better reproductive indicators were Cadereyta, Querétaro from *P. cembroides* and Alzayanca, Tlaxcala from *P. orizabensis*. In general, reproductive viability of populations of *P. cembroides* was better than those of *P. orizabensis*. The germinating seed quality was evaluated using bulk seed lots of different provenances of both species; seeds were also tested base on its seed coat color because producers sell pinyon seeds at a different price according to its color. In *P. cembroides* the seed coat was 0.1 mm thicker and germination was 88 % while in *P. orizabensis* was 84 %. Greater vigor was in *P. cembroides*, the time required to reach 50% germination was 12.74 days and 13.38 days for *P. orizabensis*. Provenance were significant different ( $p < 0.01$ ) for germination capacity, peak value and time to reach the peak value and 50% of germination. In *P. cembroides*, the seed of Cadereyta, Qro. had higher germination percentage (95%), less vigor was the one from Santiago de Anaya, Hidalgo, with germination percentage of 87.5%. Among provenances of *P. orizabensis*, seed germination was heigher in El Carmen, Tlaxcala (87.13%), but seeds from Tepayahualco, Puebla, and Alzayanca, Tlaxcala, had higher germination rate. In both species the seed of brown color has higher germination, black seed is thinner; also in *P. cembroides*, the black coat seed germinates faster and in *P. orizabensis* brown seeds have more vigor. Morphological differences were found between the two pines and their provenances in plants of six and 15 months old under greenhouse conditions. The number of cotyledons was 8 to 15 in both pines, mostly 10 and 11 in *P. cembroides*, and 11 and 12 in *P. orizabensis*. Hypocotyl height was 35 to 36 mm without differences between the taxa. The *P. cembroides* and their provenances presented a lower height and more diameter (17.70 cm and 8.69 mm vs. 18.77 and 7.92 mm, respectively at 15 months), this generated a slenderness index lower in their in seedling of six and 15 month of age. Among provenances, the best plant according to slenderness index in *P. cembroides* was from Cadereyta Qro., and Alzayanca, Tlaxcala in *P. orizabensis*. Apparently plants of *P. cembroides* are better able to be establishing in environmental conditions more limited than those of *P. orizabensis*.

**Keywords:** germination behavior, morphological traits, *Pinus cembroides*, *Pinus orizabensis*, reproductive indicators, seed coat color, seed quality, seedlings.

*A Dios,  
Mis padres Lety Anguiano y Alex Hernández,  
Ricardo O.M.C., mi sueño eterno,  
A mis ahijados Diego y Erick,  
Mis sobrinos Iván y Fer,  
Mi consen Brian.*

*El valor es la gracia bajo presión... (Ernest Hemingway)*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el apoyo económico otorgado durante mis estudios de Maestría.

Al Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, por haberme brindado la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado.

Al Dr. Javier López Upton, por dirigir el proyecto de investigación y compartir conmigo sus conocimientos.

Al Dr. Carlos Ramírez Herrera, por su asesoría para la realización de la investigación.

A la Dra. Angélica Romero Manzanares, por su asesoría para la realización de la investigación.

A mis padres, por la paciencia en mis malos ratos de estrés y mi ausencia en momentos difíciles, y el gran apoyo, los amo.

Al Ing. Ricardo Omar Melchor Castillo, por la motivación y el incondicional apoyo para finalizar éste proyecto.

Mis compañeros, Ofe, Oscar, Sandra, Iris, por las asesorías, la convivencia y su amistad.

## CONTENIDO

<b>CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO II. VARIACIÓN EN INDICADORES REPRODUCTIVOS DE <i>Pinus cembroides</i> Y <i>P. orizabensis</i>.....</b>	<b>4</b>
RESUMEN .....	4
INTRODUCCIÓN.....	5
MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
Recolecta .....	7
Beneficio.....	8
Disección de conos .....	8
Medición de semillas .....	9
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	11
CONCLUSIONES.....	23
<b>CAPÍTULO III. VARIACIÓN EN GERMINACIÓN Y VIGOR DE SEMILLAS DE <i>Pinus cembroides</i> Y <i>P. orizabensis</i> .....</b>	<b>24</b>
RESUMEN .....	24
INTRODUCCIÓN.....	24
MATERIALES Y MÉTODOS.....	<b>28</b>
Contenido de humedad de la semilla.....	30
Grosor de testa.....	30
Imbibición de la semilla .....	31
Viabilidad de la semilla .....	31
Germinación .....	32
Análisis estadístico .....	33
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	35
CONCLUSIONES.....	49
<b>CAPÍTULO IV. VARIACIÓN EN CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE PLÁNTULAS DE <i>Pinus cembroides</i> Y <i>P. orizabensis</i> .....</b>	<b>50</b>
RESUMEN .....	50
INTRODUCCIÓN.....	51
MATERIALES Y MÉTODOS.....	54
Producción de planta .....	55
Variables.....	56
Análisis estadístico .....	56
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	58
CONCLUSIONES.....	67
<b>CAPÍTULO V. CONCLUSIONES GENERALES .....</b>	<b>68</b>
<b>CAPÍTULO VI. LITERATURA CITADA .....</b>	<b>70</b>

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 2.1.</b> Ubicación y datos climáticos de las localidades de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> en el estudio de producción de semilla.....	<b>7</b>
<b>Cuadro 2.2.</b> Análisis de varianza de las variables de producción de semillas de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> y procedencias probadas.....	<b>11</b>
<b>Cuadro 2.3.</b> Valores medios y error estándar de potencial de producción de semillas y proporción de óvulos abortados año 1er y 2do año, de semillas llenas, vanas, y plagadas de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> y por sus poblaciones en estudio. ....	<b>13</b>
<b>Cuadro 2.4.</b> Valores medios y error estándar del peso seco de cono, peso total de semillas llenas por cono, peso unitario de semilla <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> y por sus poblaciones en estudio.....	<b>14</b>
<b>Cuadro 2.5.</b> Potencial de producción de semillas (PPS) y eficiencia de producción de semillas de diferentes especies de pinos y otras coníferas de México. ....	<b>18</b>
<b>Cuadro 2.6.</b> Índice de endogamia y eficiencia reproductiva de diferentes especies de pinos y otras coníferas de México. ....	<b>21</b>
<b>Cuadro 3.1.</b> Ubicación de las poblaciones de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> incluidas en el presente estudio.....	<b>28</b>
<b>Cuadro 3.2.</b> Lotes de semilla formados para análisis de germinación, viabilidad, vigor, imbibición y grosor de testa de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> , establecidos para probar diferencias entre especies, procedencias y color de testa de la semilla. ....	<b>29</b>
<b>Cuadro 3.3.</b> Valores medios de grosor de testa, contenido de humedad inicial con base en el peso fresco, contenido de humedad a 44 h de imbibición, y porcentaje de absorción en semillas de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> en general y por colores de testa en cada especie. ....	<b>36</b>
<b>Cuadro 3.4.</b> Porcentaje de viabilidad de semilla de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> con color diferente de testa y procedencia diferente. ....	<b>40</b>
<b>Cuadro 3.5.</b> Análisis de varianza para capacidad germinativa (CG), días para alcanzar el 50 % de la germinación (GERM50), valor pico (VP) y día en que se presenta el valor pico (DVP) entre especies y procedencias de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> . ....	<b>41</b>



<b>Cuadro 3.6.</b> Valores medios y error estándar (e.e.) de la capacidad germinativa, valor pico y días para alcanzar la germinación de 50% y días para alcanzar el valor pico de semillas de <i>P. cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> y sus respectivas procedencias. ....	<b>42</b>
<b>Cuadro 3.7.</b> Análisis de varianza de la capacidad germinativa, valor pico, días a la germinación de 50% y días al valor pico de semillas de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> con diferente color de testa. ....	<b>45</b>
<b>Cuadro 4.1.</b> Ubicación de las poblaciones de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> incluidas en el estudio presente. ....	<b>54</b>
<b>Cuadro 4.2.</b> Análisis de varianza del número de cotiledones de plántulas y longitud del hipocótilo de plántulas de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> . ....	<b>58</b>
<b>Cuadro 4.3.</b> Número de hojas cotiledonares y longitud del hipocótilo en plántulas de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> . ....	<b>58</b>
<b>Cuadro 4.4.</b> Porcentaje del número de hojas cotiledonares en plántulas de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> . ....	<b>59</b>
<b>Cuadro 4.5.</b> Análisis de varianza de diámetro al cuello y altura de plántula de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> a seis y 15 meses de edad. ....	<b>60</b>
<b>Cuadro 4.6.</b> Valores promedios y error estándar del diámetro al cuello de la raíz y altura en plántulas de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> a seis y 15 meses de edad. ....	<b>61</b>
<b>Cuadro 4.7.</b> Análisis de varianza de índice de esbeltez (Ie), tasa de crecimiento en altura (TCA) y tasa de crecimiento en diámetro (TCD) de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> . ....	<b>63</b>
<b>Cuadro 4.8.</b> Valores promedios y error estándar del número de ramas, índice de esbeltez (Ie), tasa de crecimiento en altura (TCA) y tasa de crecimiento en diámetro (TCD) de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> a los 15 meses de edad. ....	<b>63</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 3.1.</b> Curva de imbibición de semillas de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> . .....	<b>37</b>
<b>Figura 3.2.</b> Curva de imbibición de semillas de <i>Pinus cembroides</i> con testa de color diferente. ....	<b>38</b>
<b>Figura 3.3.</b> Curva de imbibición de semillas de <i>Pinus orizabensis</i> con testa de color diferente. ....	<b>39</b>
<b>Figura 3.4.</b> Germinación de semillas de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> . ....	<b>41</b>
<b>Figura 3.5.</b> Germinación de semillas de <i>Pinus cembroides</i> de diferentes procedencias. ....	<b>43</b>
<b>Figura 3.6.</b> Germinación de semillas de <i>Pinus orizabensis</i> de diferentes procedencias. ....	<b>44</b>
<b>Figura 3.7.</b> Curva de germinación de semillas de <i>Pinus cembroides</i> con testa de color diferente. ....	<b>46</b>
<b>Figura 3.8.</b> Curva de germinación de semillas de <i>Pinus orizabensis</i> con testa de color diferente. ....	<b>46</b>
<b>Figura 4.1.</b> Frecuencia del número de hojas cotiledonares en plántulas de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> . ....	<b>59</b>
<b>Figura 4.2.</b> Coloración de hojas primarias de plántulas de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> . ....	<b>65</b>
<b>Figura 4.3.</b> Diferencia de color de hojas primarias de plántulas de <i>Pinus cembroides</i> y <i>P. orizabensis</i> .....	<b>66</b>

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN GENERAL

Uno de los principales problemas en la repoblación artificial forestal en México es la supervivencia de las plantas en campo, que es menor a 50 % a un año de plantadas (Vargas y Vanegas, 2012; Orozco *et al.*, 2010). Entre algunas causas se puede citar el empleo de plántulas morfológica y fisiológicamente inadecuadas (Mexal, 1996; Burney *et al.*, 2015), generado principalmente por el uso de especies o sus orígenes impropios al microclima específico del sitio (Birchler *et al.*, 1998; Prieto *et al.*, 1999).

Los pinos piñoneros se distribuyen en 19 estados del territorio mexicano (Farjon y Styles, 1997) *Pinus cembroides* Zuccarini y *P. orizabensis* D.K. Bailey & Hawksworth son especies altamente útiles en la restauración de ecosistemas forestales degradados, sus requerimientos ecológicos son mínimos, son resistentes a la sequía y eficientes en el uso del agua (Carrillo, 2009), la química de sus oleorresinas supone cierta diferenciación de las poblaciones propiciada por el aislamiento geográfico de las sierras madre (Romero *et al.*, 1996).

*Pinus cembroides* y *P. orizabensis* se ubican en el subgénero *Strobus*, sección *Parrya*, grupo *Cembroides* (Gernandt *et al.*, 2003), son especies alopátricas y se diferencian en la composición de terpenos, número de hojas por fascículo, color del follaje y corteza e intervalo de distribución altitudinal (Bailey y Hawksworth, 1992). *P. cembroides* es el piñonero de mayor distribución desde Arizona, Texas, y Nuevo México en EE.UU y en el territorio nacional se localiza en Sonora, Chihuahua, Coahuila, Durango, Zacatecas, Nuevo León, Tamaulipas, San Luis Potosí, Aguascalientes, Jalisco, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo hasta el noroeste de Veracruz (Farjon y Styles, 1997). *P. orizabensis* se localiza en Puebla, Tlaxcala y el centro de Veracruz, principalmente en la cuenca alta al oeste del Pico de Orizaba, por debajo de los 20°

L.N. (Perry, 1991; Farjon y Styles 1997). Los árboles son de porte pequeño a mediano, tronco monopódico más o menos recto, corteza delgada, ramificación a altura baja, lento crecimiento, conos esféricos, semilla grande sin ala con testa gruesa y megagametofito de color rosa (Bailey y Hawksworth, 1992; Farjon y Styles, 1997; Romero *et al.*, 1996). Por sus características, la utilidad principal es para producción de planta con fines de restauración y recolecta de piñón (Granados *et al.*, 2015; Fonseca, 2003), en ambos casos conviene identificar fuentes productoras de germoplasma de buena calidad para el establecimiento de rodales semilleros.

Realizar análisis de conos en poblaciones naturales es una forma de caracterizar la eficiencia de producción de semilla (Bonner *et al.*, 1994), proporciona información sobre el estado reproductivo y viabilidad de la población, y permite identificar problemas de depresión endogámica, falta de polen o presencia de plagas (Mosseler *et al.*, 2000).

Por otro lado, las características físicas y fisiológicas de la semilla como la capacidad de germinación y vigor germinativo son variables que definen la calidad de un lote de semillas para producción de planta (Bonner *et al.*, 1994). La primera es el porcentaje de semillas que germina durante un periodo de tiempo dado y es útil para definir la cantidad de semillas que se requieren para producir plántulas (Kolotelo, 2001), la segunda variable se refiere a la velocidad y uniformidad de germinación cuanto más rápida y uniforme se dé la germinación, mayor será el vigor de la semilla y la uniformidad de la producción de la planta (Kolotelo *et al.*, 2001; Bonner *et al.*, 1994; CATIE, 1996).

Las características morfológicas que se evalúan con mayor frecuencia para determinar la calidad de las plántulas son la altura, el diámetro, la arquitectura del tallo e indicadores como la relación tallo/raíz, llamado índice de esbeltez, que es una medida de vigor (Thompson, 1985; Duryea, 1984). Los requerimientos de humedad se incrementan considerablemente si la parte

aérea es grande en superficie foliar, lo que implica menor capacidad de establecimiento, en comparación con plantas de menor altura y mayor diámetro (Santiago *et al.*, 2007). En el presente estudio se evaluaron diferencias entre ambos taxa y sus procedencias en las características morfológicas en las plántulas, bajo la hipótesis que a nivel de plántulas existen diferencias morfológicas entre las especies que ayuden a identificarlas en vivero.

El objetivo de éste estudio fue determinar las diferencias en indicadores reproductivos, calidad de semilla y de plántula entre ambos taxa y entre sus procedencias e identificar fuentes de semilla de buena calidad que produzcan plantas vigorosas con fines de restauración.

## CAPÍTULO II

### VARIACIÓN EN INDICADORES REPRODUCTIVOS DE *Pinus cembroides* Y *Pinus orizabensis*

#### RESUMEN

En dos especies de piñonero se evaluaron características de cono y producción de semilla para determinar indicadores reproductivos. Cinco poblaciones naturales fueron estudiadas, dos en Querétaro y una en Hidalgo de *Pinus cembroides*, más una en Puebla y otra en Tlaxcala de *P. orizabensis*. Por rodal se analizaron 15 árboles, 10 conos por árbol. Se determinaron diferencias ( $p < 0.05$ ) entre especies y poblaciones en la mayoría de las variables. En la relación *P. cembroides* vs. *P. orizabensis*, el potencial de producción de semillas por cono resultó (19 vs. 23); la eficiencia de producción de semilla (40.6 vs. 35 %) y la eficiencia reproductiva (peso semilla / peso seco del cono, 0.77 vs. 0.64) fue superior en *P. cembroides*; y el índice de endogamia (semillas vanas / desarrolladas, 0.33 vs. 0.37) fue mayor en *P. orizabensis*. El peso de la semilla resultó diferente, 502 mg en *P. cembroides* (1,992 semillas  $\text{kg}^{-1}$ ) vs. 372.6 mg en *P. orizabensis* (2,684 semillas  $\text{kg}^{-1}$ ). Las poblaciones con mejores resultados de indicadores reproductivos fueron Cadereyta, Querétaro de *P. cembroides* y, Alzayanca, Tlaxcala de *P. orizabensis*. En general, la viabilidad reproductiva de las poblaciones de *P. cembroides* fue mejor que la de *P. orizabensis*.

**Palabras Clave:** eficiencia reproductiva, índice de endogamia, *Pinus cembroides*, *Pinus orizabensis*, producción de semilla.

## INTRODUCCIÓN

*Pinus cembroides* Zuccarini y *P. orizabensis* D.K. Bailey & F.G Hawksworth son piñoneros que destacan por su capacidad adaptativa a condiciones climáticas semiáridas en suelos delgados o profundos (Carrillo, 2009). La primera especie se distribuye ampliamente en 18 estados del territorio nacional hasta el suroeste de EE.UU. (Farjon y Styles, 1997). *P. orizabensis* es el piñonero que se distribuye más al sur, es nativo y endémico de los estados de Puebla, Tlaxcala y Veracruz (Farjon y Styles, 1997; Perry, 1991), forma parte de la vegetación de transición entre los bosques templados y matorral xerófilo (Granados *et al.*, 2015), y habita en altitudes de 2300 a 2700 m s.n.m. (Bailey y Hawksworth, 1992).

La importancia de estos piñoneros es ecológica, económica y cultural, poseen alto potencial adaptativo por su resistencia para vivir en lugares de baja precipitación y en suelos poco profundos, por lo que estos pinos son útiles para reforestación de ecosistemas degradados en zonas áridas y semiáridas (Mohedano *et al.*, 1999). La semilla (piñón) es alimento de aves y roedores (Romero *et al.*, 1996; Carrillo, 2009), además que, es recolectada por la gente con fines de comercialización o autoconsumo (Fonseca, 2003). En la actualidad este producto es una fuente de ingreso para los dueños de los piñonares y representa un insumo para la elaboración de platillos y dulces típicos (Hernández *et al.*, 2011). Actualmente ambos pinos son confundidos por su semejanza morfológica, a pesar de ser alopátricos y crecer en ambientes relativamente diferentes (Bailey y Hawksworth, 1992), por lo que muestran diferencias adaptativas asociadas a la diferenciación taxonómica.

Realizar análisis de conos en poblaciones naturales es una forma de caracterizar la eficiencia de producción de semilla (Bonner *et al.*, 1994), proporciona información sobre el

estado reproductivo y viabilidad de la población, y permite identificar problemas de depresión endogámica, falta de polen o presencia de plagas (Mosseler *et al.*, 2000).

Con el objetivo de conocer la variación de características reproductivas entre especies y procedencias, se realiza la evaluación de la producción de semillas por conos en tres poblaciones de *P. cembroides* y dos de *P. orizabensis*, ubicadas en el centro de México, bajo la hipótesis de que la viabilidad reproductiva es diferente entre especies y procedencias.



## MATERIALES Y MÉTODOS

### Recolecta

El estudio se realizó en material recolectado de fines de septiembre a inicios de octubre de 2015. En 15 árboles dominantes y sanos se recolectaron al azar 10 conos de cada una de cinco poblaciones naturales del centro del país (Cuadro 2.1). Los árboles se seleccionaron separados entre sí, por una distancia mínima de 50 m para reducir la probabilidad de parentesco entre individuos. El material recolectado se colocó en bolsas de papel con los datos de procedencia y árbol (750 conos en total).

**Cuadro 2.1.** Ubicación y datos climáticos de las localidades de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis* en el estudio de producción de semilla.

Población	Lat. N <sup>†</sup>	Long. O <sup>†</sup>	Elevación (m s.n.m.)	Temp <sup>‡</sup> °C	Prec <sup>‡</sup> mm	I. A. <sup>¶</sup> (Lang)
<i>Pinus cembroides</i>						
El Carrizal, Colón, Qro.	20°52'40"	100°05'07"	2,159	16	626	39 árido
La Laja, Cadereyta, Qro.	20°48'44"	99°38'19"	2,831	14.2	890	63 subhúmedo
La Florida, Santiago de Anaya, Hgo.	20°28'36"	98°59'02"	2,002	17.3	511	30 árido
<i>Pinus orizabensis</i>						
Las Cuevas, Altzayanca, Tlax.	19°22'44"	97°43'02"	2,479	14.0	573	41 semiárida
La Pedrera, Tepeyahualco, Pue.	19°30'26"	97°30'26"	2,417	13.8	491	36 árido

<sup>†</sup>Las coordenadas fueron tomadas en el centro de cada localidad con un geoposicionador Garmin<sup>®</sup> etREX<sup>®</sup> 10 Datum WGS84. <sup>‡</sup> Temperatura media anual y Precipitación media anual a través de ANUSPLIN, software para modelar datos en superficies geográficas considerando la latitud (Sáenz-Romero, 2011). <sup>¶</sup>I. A. Índice de aridez de Lang = Prec. /Temp.

## **Beneficio**

El beneficio de los conos se realizó en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Los conos de cada árbol se separaron en bolsas individuales y se secaron en un invernadero durante 10 días a una temperatura entre 25 y 33 °C. De cada cono se extrajo la semilla, clasificando por tipo: llena, vana, plagada y óvulos abortivos año 1 y 2. La separación de semilla se realizó por flotación, el total de semillas de cada cono se depositó en un vaso de precipitados de 100 ml y se agregó 70 ml de agua destilada, después de un reposo de 12 h, se extrajo la semilla de la superficie clasificándola como semilla vana y la que se depositó en el fondo se clasificó como llena. La semilla llena se colocó en sobres etiquetados por separado. De cada cono se pesó el total de semilla llena una vez que se secó está a temperatura ambiente por un mes, y se calculó el peso por semilla llena y la cantidad de estas por kilogramo.

## **Disección de conos**

Los conos vacíos se disecaron y para facilitar la remoción de escamas se utilizaron mini pinzas de corte diagonal marca TRUPER de 107.9 mm de longitud, se inició con las escamas basales y de ahí en orden ascendente hasta desarmar completamente el cono, se clasificaron y registró el número de escamas fértiles, infértiles y en su caso, semillas llenas, vanas y óvulos abortivos de 1er y 2do año. Todas las partes del cono se colocaron en sobres individuales bien identificados, para obtener su peso seco fueron introducidos en un horno de circulación forzada marca RIOSSA® a 70°C por 72 h; cada sobre se pesó en una balanza analítica marca ADAM PW124, con aproximación a  $1 \times 10^{-4}$  g.

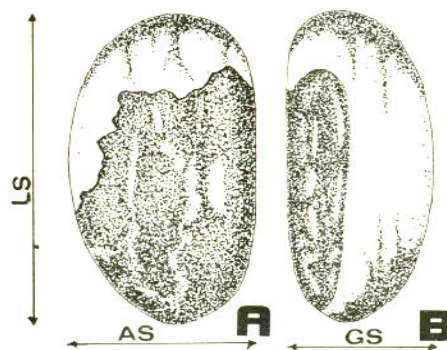
$$\text{Peso del cono seco} = \text{Peso del sobre con cono seco} - \text{Peso del sobre}$$

Para cada cono se calculó: a) el potencial de producción de semilla como escamas fértiles x 2 óvulos de cada escama; b) el número de semillas desarrolladas al sumar las cantidades de

semillas llenas, vanas y plagadas; c) la proporción de óvulos abortados de 1er y 2do año, semillas llenas, vanas, y plagadas con respecto al potencial de semillas. La proporción de semillas llenas del potencial de semilla se conoce como eficiencia de producción de semilla (Mosseler *et al.*, 2000). A partir de las anteriores variables se obtuvieron varios indicadores usados en la determinación de la viabilidad de las poblaciones como la eficiencia reproductiva, que es peso de semillas llenas (mg) / peso cono seco (g), y el índice de endogamia (la relación de semillas vanas / semillas desarrolladas). Cuando ocurre autofecundación o cruzamientos muy emparentados se expresan genes homocigóticos deletéreos que impiden el desarrollo del embrión, lo que genera semilla vana (Mosseler *et al.*, 2000).

### Medición de semillas

En 300 semillas de cada población (dos semillas por cono), se midió el largo, ancho y grueso conforme la representación esquemática de Eguiluz *et al.* (1985) (Figura 2.1), mediante el uso de Vernier digital Marca: Mitutoyo CD-6''CS con aproximación a centésimas de mm.



**Figura 2.1.** Representación esquemática de la semilla de piñón indicando el sitio de medición de cada característica. Tomado de Eguiluz *et al.* (1985)

Colocando la semilla en sentido horizontal se determinó la longitud (LS), la semilla en posición vertical para el ancho (AS), de tal forma que las líneas de vetado coincidieran con las cuchillas del vernier, y el grosor (GS) colocando la semilla vertical, cuidando que las líneas del vetado quedaran entre los espacios del vernier. El peso de la semilla se obtuvo al pesar el total de semilla llena por cono en una balanza analítica marca ADAM PW124, con aproximación a  $1 \times 10^{-4}$  g; el peso promedio se calculó con base en el número de semillas llenas del cono.

El análisis de los datos se ejecutó con el modelo anidado:

$$Y_{ijkl} = \mu + E_i + P_{j(i)} + A_{k(j)} + \epsilon_{ijkl}$$

Dónde:  $Y_{ijkl}$  es la variable respuesta en el  $l$ -ésimo cono del  $k$ -ésimo-árbol de la  $j$ -ésima procedencia de la  $i$ -ésima especie,  $\mu$  es la media general,  $E_i$  es el efecto fijo de la  $i$ -ésima especie,  $P_{j(i)}$  es el efecto fijo de la  $j$ -ésima procedencia de la  $i$ -ésima especie,  $A_{k(j)}$  es el efecto aleatorio del  $k$ -ésimo árbol de la  $j$ -ésima procedencia de la  $i$ -ésima especie,  $\epsilon_{ijkl}$  es el error. Para el procesamiento de la información se utilizó el paquete SAS<sup>®</sup> con el procedimiento MIXED y el método de estimación de máxima verosimilitud restringida (REML), los valores medios de cada variable se obtuvieron mediante LSMEANS (Littell *et al.*, 1996).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinaron diferencias significativas para todas las variables de producción de semillas entre las dos especies, excepto en el peso seco del cono y en el índice de endogamia. Exceptuado el potencial de producción de semilla, en todas las variables se encontraron diferencias significativas entre procedencias (Cuadro 2.2).

**Cuadro 2.2.** Análisis de varianza de las variables de producción de semillas de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis* y procedencias probadas.

Variable	Especie		Procedencia (Especie)	
	Valor de F	Pr > F	Valor de F	Pr > F
Potencial de producción de semilla	18.71	0.0001	2.40	0.0665
Porcentaje de óvulos abortados de 1er año	32.76	0.0001	15.78	0.0001
Porcentaje de óvulos abortados de 2ndo año	58.56	0.0001	9.57	0.0001
Número de semillas desarrolladas	14.11	0.0002	5.34	0.0012
Porcentaje de semillas llenas <sup>†</sup>	4.54	0.0335	13.17	0.0001
Porcentaje de semillas vanas	6.86	0.0090	7.57	0.0001
Porcentaje de semillas plagadas	52.24	0.0001	5.65	0.0008
Peso seco de cono	0.34	0.5629	15.64	0.0001
Peso total de la semilla llena por cono	5.76	0.0167	11.75	0.0001
Peso unitario de semilla	154.35	0.0001	14.68	0.0001
Eficiencia reproductiva <sup>‡</sup>	8.91	0.0029	18.3	0.0001
Índice de endogamia <sup>¶</sup>	1.62	0.2034	8.03	0.0001

<sup>†</sup> Grados de libertad del numerador 1 para especie y 3 para procedencia y del denominador 665 en ambos. <sup>‡</sup> Eficiencia en la producción de semilla llena, <sup>‡</sup> peso de semillas llenas (g) / peso cono seco (g). <sup>¶</sup> Semillas vanas / desarrolladas.

*P. orizabensis* obtuvo un potencial de producción de cuatro semillas más que *P. cembroides* (Cuadro 2.3), esto es, dos escamas fértiles más. El primero en promedio tuvo 8.1 y el segundo 7.7 semillas llenas por cono, lo que dio 5.6 % más de eficiencia en la producción de semilla en *P. cembroides*, 40.6 vs. 35 % en *P. orizabensis*. A pesar de que el aborto de los óvulos en el primer año fue mayor en *P. cembroides*, el porcentaje de óvulos abortados de segundo año fue mayor al doble en *P. orizabensis*, con más semillas vanas y significativamente más semillas plagadas. Lo que al final resultó en una mayor eficiencia en la producción de semillas por cono en *P. cembroides*. Los óvulos abortados de 1er año son producto de la falta de polen (Bramlett *et al.*, 1977).

Las dos especies presentaron un peso seco del cono similar, alrededor de 5 g. A pesar de tener menos semillas llenas por cono, *P. cembroides* presentó 0.9 g más en el peso total de las semillas llenas por cono, lo que se debe al mayor tamaño de sus semillas: largo, ancho y grueso de 14.35, 8.58 y 8.00 mm respectivamente, en comparación con los valores de las mismas variables para *P. orizabensis* que corresponden a 13.34, 7.98 y 7.52 mm, con diferencias altamente significativas ( $p \leq 0.0001$ ) en estas variables entre especies y procedencias. De esta forma, el peso promedio de cada semilla es mayor en *P. cembroides*, 35 % más que el peso de *P. orizabensis*. En consecuencia, en este último el número de semillas calculado fue 2,684 semillas  $\text{kg}^{-1}$  vs. 1,992 semillas  $\text{kg}^{-1}$  de *P. cembroides*. Este factor debe considerarse en la adecuada adquisición de germoplasma para la producción de planta en vivero, particularmente cuando ambas taxa son confundidos al considerarse como la misma especie. Los resultados obtenidos de peso y dimensiones de la semilla de *P. orizabensis* son semejantes a los datos reportados en otro estudio para la misma especie (12.7 mm de largo, 7.2 mm de ancho y peso de 375 mg) (Sánchez *et al.*, 2002).

**Cuadro 2.3.** Valores medios y error estándar de potencial de producción de semillas y proporción de óvulos abortados año 1er y 2do año, de semillas llenas, vanas, y plagadas de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis* y por sus poblaciones en estudio.

Especie / Procedencia	Potencial de producción de semilla	Porcentaje (%) sobre el potencial de semillas				
		Óvulos abortados		Semillas		
		de 1er año	de 2do año	Llenas <sup>†</sup>	Vanas	Plagadas
<i>P. cembroides</i>	19.0 ± 0.60 b	32.7 ± 1.02 a	4.4 ± 0.44 b	40.6 ± 1.54 a	19.7 ± 0.95 b	2.6 ± 0.49 b
<i>P. orizabensis</i>	23.1 ± 0.73 a	23.7 ± 1.24 b	9.3 ± 0.54 a	35.0 ± 1.88 b	24.5 ± 1.16 a	7.5 ± 0.60 a
<b><i>P. cembroides</i></b>						
Cadereyta	20.7 ± 1.03 b	24.6 ± 1.76 cd	4.5 ± 0.10 c	54.4 ± 2.66 a	15.5 ± 1.64 c	1.1 ± 0.85 c
Colón	19.2 ± 1.03 bc	30.6 ± 1.76 b	4.4 ± 0.10 c	37.7 ± 2.66 b	24.5 ± 1.64 a	2.8 ± 0.84 b
Santiago de Anaya	17.2 ± 1.04 c	42.7 ± 1.79 a	4.2 ± 0.10 d	29.8 ± 2.69 c	19.3 ± 1.67 b	3.8 ± 0.86 b
<b><i>P. orizabensis</i></b>						
Alzayanca	22.2 ± 1.03 ab	26.4 ± 1.76 c	6.7 ± 0.10 b	37.2 ± 2.66 b	23.1 ± 1.64 a	6.6 ± 0.85 a
Tepeyahualco	24.1 ± 1.03 a	21.1 ± 1.76 d	11.8 ± 0.10 a	32.8 ± 2.66 bc	25.9 ± 1.64 a	8.4 ± 0.84 a

Medias en columnas con diferentes letras son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ), comparación entre especies y comparación entre las cinco procedencias de las dos especies. <sup>†</sup> Eficiencia de semilla.

**Cuadro 2.4.** Valores medios y error estándar del peso seco de cono, peso total de semillas llenas por cono, peso unitario de semilla *Pinus cembroides* y *P. orizabensis* y por sus poblaciones en estudio.

<b>Especie / Procedencia</b>	<b>Peso seco del cono (g)</b>	<b>Peso total de semillas llenas (g)</b>	<b>Peso unitario semilla llena (mg)</b>	<b>Eficiencia reproductiva<sup>†</sup></b>	<b>Índice de endogamia<sup>‡</sup></b>
<i>P. cembroides</i>	5.14 ± 0.20 a	4.16 ± 0.24 a	502.0 ± 6.6 a	0.77 ± 0.03 a	0.33 ± 0.02 b
<i>P. orizabensis</i>	4.97 ± 0.24 a	3.26 ± 0.29 b	372.6 ± 8.1 b	0.64 ± 0.04 b	0.37 ± 0.02 a
<b><i>P. cembroides</i></b>					
Cadereyta	5.62 ± 0.34 ab	5.92 ± 0.41 a	536.2 ± 11.2 a	1.07 ± 0.05 a	0.23 ± 0.03 c
Colón	6.42 ± 0.34 a	4.05 ± 0.41 b	529.6 ± 11.3 a	0.63 ± 0.05 c	0.41 ± 0.03 a
Santiago de Anaya	3.39 ± 0.34 d	2.49 ± 0.41 c	440.2 ± 11.7 b	0.73 ± 0.05 b	0.37 ± 0.03 ab
<b><i>P. orizabensis</i></b>					
Altzayanca	4.49 ± 0.34 c	3.22 ± 0.41 bc	365.4 ± 11.4 c	0.71 ± 0.05 b	0.35 ± 0.03 ab
Tepeyahualco	5.44 ± 0.34 b	3.30 ± 0.41 bc	379.8 ± 11.4 c	0.61 ± 0.05 c	0.40 ± 0.03 a

Medias en columnas con diferentes letras son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ), comparación entre especies y comparación entre las cinco procedencias de las dos especies. <sup>†</sup> Peso total de semillas llenas / peso seco del cono. <sup>‡</sup> No. de vanas / semillas desarrolladas.



Por lo anterior comentado, el indicador de eficiencia reproductiva (Mosseler *et al.*, 2000) fue mejor en *P. cembroides* (0.77 g de semilla por 1 g de cono vs. 0.64 g g<sup>-1</sup>), esto indica mayor cantidad de recursos a la semilla que al cono, lo cual es adaptativamente más adecuado. Por otro lado, la mayor cantidad de semilla vanas dio un índice de endogamia superior en *P. orizabensis*; si bien es cierto que el número de semillas vanas pudo ser el resultado del daño por insectos, la mayor cantidad de éstas debe ser generado por autopolinización o cruzamiento con árboles muy emparentados (Yazdani y Lindgren, 1991; Williams, 2008), lo que se debe relacionar tanto al parentesco existente en cada población de *P. orizabensis*, como a su tamaño y densidad poblacional.

En las poblaciones de *P. cembroides*, el potencial de semilla fue de 17 a 20.7 semillas por cono. Cadereyta destacó como la población con mayor potencial de producción de semilla y porcentaje de semilla llena, con 11 semillas llenas poco cono, presenta la menor proporción de semillas vanas, plagadas y óvulos abortados de primer año, notablemente mayor eficiencia reproductiva y menos índice de endogamia de las tres evaluadas.

En contraste, Santiago de Anaya presentó el menor potencial de producción de semilla de las tres poblaciones de *P. cembroides*, así como la menor proporción de semillas llenas, lo que da sólo cinco semillas llenas por cono, menos de la mitad de Cadereyta, lo que se relaciona con el menor tamaño (peso) de los conos de Santiago de Anaya. Este hecho puede deberse que ésta última localidad es muy árida, con la menor precipitación de las demás examinadas (Cuadro 2.1). Esta localidad además tuvo semillas de menor tamaño, en promedio 20.5 % menos de peso que el obtenido de las otras dos localidades. Así, el número

de semillas por kg fue de 2,270 semillas en Santiago de Anaya contra 1,865 en Cadereyta y 1,890 semillas kg<sup>-1</sup> en Colón.

Los árboles muestreados de Colón tuvieron la menor eficiencia reproductiva y mayor valor en el índice de endogamia. Santiago de Anaya tuvo el porcentaje mayor de óvulos abortados de primer año, lo que debe asociarse a problemas de polinización. La eficiencia de producción de semillas varió entre 30 y 54 % de semilla llena en las localidades de *P. cembroides*.

En *P. orizabensis*, Tepeyahualco presentó el mayor potencial de producción de semillas, casi dos semillas más que la otra localidad, lo que es una escama fértil más. Esto se asoció al mayor peso de los conos de esta localidad (por 1g); empero, en esta localidad se determinaron ocho semillas llenas por cono al igual que en Alzayanca. Tepeyahualco destacó por tener casi el doble de óvulos abortados de segundo año, fenómeno asociado a la presencia de insectos que se alimentan de la semilla (Bramlett *et al.*, 1977), lo que se relacionó con ser la procedencia que produjo más semilla dañada por insectos.

Para *Pinus cembroides* se han descrito las siguientes plagas de semillas *Conophthorus cembroides* Wood, *Leptoglossus occidentalis* Heidemann, *Eucosma bobana* Kearfott, *Retinia arizonensis* Miller y *Dioryctria albovitella* Hulst (Cibrián y Méndez, 1987), y es posible que sean similares las que atacan a *P. orizabensis*, esto debido a que las primeras cuatro atacan también a otros piñoneros como *P. culminicola* Andresen & Beaman, *P. johannis* M.F. Robert, *P. catarinae* M.-F. Robert-Passini (sinonimia *P. remota* (Little) D.K. Bailey & Hawksw.) y *P. pinceana* Gordon (Flores *et al.*, 2003).

Debido a los problemas antes señalados, la eficiencia de semillas es reducida, se lograron sólo 32.8 % de semillas llenas del potencial de producción en Tepeyahualco y el 37 % en Altzayanca. El índice de eficiencia reproductiva mayor resultó para esta última 0.71g g<sup>-1</sup> frente a 0.57g g<sup>-1</sup> de Tepeyahualco, es decir, en la localidad de Altzayanca se asigna mayor cantidad de biomasa a la producción de semilla.

El peso unitario de semilla es 14.4 mg mayor en Tepeyahualco (379.8 vs. 365.4 mg), lo que implica 104 semillas menos por kilogramo en comparación con Altzayanca (2,633 vs. 2,737sem kg<sup>-1</sup>), lo que puede además, estar relacionado con el mayor índice de endogamia (35%) en Altzayanca.

De las cinco procedencias, la semilla más pesada se determinó en Cadereyta, que fue la población con menor índice de endogamia. Diversos experimentos han demostrado que la autopolinización y el apareamiento entre árboles emparentados aumentan la homocigosis y con ello la expresión de genes recesivos deletéreos, ocasionando un aumento en el número de semillas vanas (Mosseler *et al.*, 2000) y por tanto en el índice de endogamia.

El potencial de producción de semilla se relaciona con el número de escamas fértiles del cono, lo que se relaciona con el tamaño y forma del mismo, por lo que varía de una especie a otra. Los piñoneros tienen potencial de producción de semilla por cono reducido en comparación con otras especies del mismo género y de otras coníferas (Cuadro 2.5), ello se atribuye a pocas escamas y al mayor tamaño de la semilla, que supone más desgaste de energía para su producción.

Los resultados obtenidos para *P. cembroides* superan en cuatro semillas el potencial de producción promedio de tres localidades de este pino en el estado de Hidalgo (Romero, 2005). En contraste, el potencial obtenido para *P. orizabensis* es menor en 6 y 4 semillas a lo señalado en los estudios de Sánchez *et al.* (2005) y García *et al.* (2014), respectivamente, aunque este último estudio es de una plantación de *P. orizabensis* de 22 años de edad establecida en Perote, Veracruz, con una muestra de 100 conos menos que la utilizada en el presente estudio.

**Cuadro 2.5.** Potencial de producción de semillas y eficiencia de producción de semillas de diferentes especies de pinos y otras coníferas de México.

Especie	PPS †	EPS ‡ %	Referencia
<i>Pinus cembroides</i> Zuccarini	19	41	Estudio actual
<i>P. cembroides</i> Zuccarini	15	SD	Romero (2005)
<i>P. orizabensis</i> D.K. Bailey & F.G. Hawksw.	23	35	Estudio actual
<i>P. orizabensis</i> D.K. Bailey & F.G. Hawksw.	29	28	Sánchez <i>et al.</i> (2005)
<i>P. orizabensis</i> D.K. Bailey & F.G. Hawksw.	27	SD	García <i>et al.</i> (2014)
<i>P. catarinae</i> M.-F. Robert-Passini	11	21	Flores-López y Lemus (2000)
<i>P. johannis</i> M. F. Robert	18 -25	4 - 40	Flores-López (2003)
<i>P. nelsonii</i> Shaw	60	SD	Sánchez <i>et al.</i> (1991)
<i>P. pincena</i> Gordon	50	35	Hernández (2006)
<i>P. maximartinezii</i> Rzedowski	91-105	32-61	Jiménez (2015)
<i>P. greggii</i> Engelm. ex Parl.	104	63	López-Upton y Donahue (1995)
<i>P. hartwegii</i> Lindl.	191	71	Alba <i>et al.</i> (2003)
<i>P. leiophylla</i> Schltdl. et Cham.	61	2	Morales <i>et al.</i> (2010)
<i>P. leiophylla</i> Schltdl. et Cham.	53	17	Delgado (1994)
<i>P. oaxacana</i> Mirov	106	54	Alba y Márquez (2006)
<i>P. pseudostrobus</i> Lindl.	73	16	Delgado (1994)
<i>P. montezumae</i> Lamb.	219	68	Delgado (1994)
<i>Pseudotsuga menziesii</i> (Mirb.) Franco	14-42	26	Mápula-Larreta (2007)
<i>Picea mexicana</i> Martínez	205	9-18	Flores-López <i>et al.</i> (2005)
<i>Picea martinezii</i> T. F. Patterson	266	7	Flores-López <i>et al.</i> (2012)

† Potencial de producción de semilla por cono. ‡ Eficiencia de producción de semillas. SD=sin dato.

El potencial de producción de semilla de *P. cembroides* y *P. orizabensis* es similar o mayor a otros pinos de la Subsección Cembroides (Cuadro 2.5). El potencial de producción de *P. johannis* fue de 18 a 25 semillas por cono en poblaciones de Coahuila y Zacatecas y una eficiencia de producción de semilla de 25 a 40 % (Flores-López *et al.*, 2003). *P. catarinae* de la localidad de Santa Catarina Nuevo León tuvo 11 semillas por cono y la presencia de sólo una semilla por escama fértil, a diferencia de los otros pinos donde cada escama fértil presenta dos semillas, lo que se atribuye a la distribución fragmentada de la especie (Flores-López y Lemus, 2000). Los otros piñoneros de las otras subsecciones tienen conos de mayor tamaño y producen más semilla por cono, de la subsección Rzedowskianae se reporta un potencial promedio de 50 semillas por cono en *P. pinceana*, con una eficiencia de producción de semilla de 35 % (Hernández, 2006), y *P. maximartinezii* Rzedowski, la especie de piñonero con mayor tamaño de conos, es la de mayor potencial de producción con 100 semillas (Jiménez, 2015). *P. nelsonii* Shaw de la subsección Nelsonianae tiene potencial de 60 semillas por cono (Sánchez *et al.*, 1991).

En especies del subgénero *Pinus* de México, el potencial de semilla es mayor debido al mayor número de escamas por cono, y por tanto, óvulos (Cuadro 1.5). Estudios en una sola localidad reportan como potencial de producción de 53 hasta 209 semillas para *P. leiophylla* Schltdl. *et* Cham., *P. montezumae* Lamb., *P. pseudostrobus* Lindl., *P. hartwegii* Lindl. y *P. oaxacana* Mirov, o en varias localidades de *P. greggii* Engelm. *ex* Parl., sus cantidades se relacionan con el tamaño de sus conos (Delgado, 1994; López y Donahue 1995; Alba *et al.*, 2003; Alba y Márquez, 2006). Caso contrario ocurre en rodales pequeños o fragmentados, por ejemplo en *P. leiophylla* en un bosque perturbado se determinó un potencial de 61, pero

una eficiencia de producción de 2 %, donde se sugiere que es por la falta de polen ocasionado por la densidad baja del arbolado y la existencia de procesos endogámicos (Morales *et al.*, 2010). En las tres poblaciones naturales de *Picea mexicana* Martínez y las cuatro de *P. martinezii* T. F. Patterson se registró un promedio en el potencial de producción de 204 y 266 semillas por cono y sólo una eficiencia de semilla entre poblaciones de 9 a 18 % y de 2 a 13 %, respectivamente entre esas coníferas, lo que indica un alto grado de consanguinidad entre los árboles de las poblaciones estudiadas, todas asiladas y de tamaño reducido (Flores-López *et al.*, 2005; *et al.*, 2012).

La eficiencia de producción de semilla (EPS) es un indicador que relaciona la cantidad de semilla llena con respecto al potencial de producción de un cono, mide la productividad del cono con respecto a su capacidad biológica, así los valores de 35 a 41 % de los piñoneros en este estudio se asocian a una pérdida moderada de productividad (Bramlett *et al.*, 1977). No obstante, el calculado para *P. orizabensis* es 6.6 % superior al reportado por Sánchez *et al.* (2005), aunque menor al obtenido para *P. cembroides*. En especies del subgénero *Pinus* hay valores mayores de eficiencia reproductiva, de 54 a 68 % en *P. montezumae* y *P. oaxacana*, estudios de una población, y *P. greggii* en varias poblaciones (Delgado, 1994; López y Donahue, 2005; Alba y Márquez, 2006), o similares a *P. pseudostrobus* y *P. leiophylla* con 37 % ambos en una localidad (Delgado, 1994).

El índice de endogamia y eficiencia reproductiva que resultaron para ambas especies del presente estudio son aceptables, toda vez que en poblaciones estudiadas el índice de endogamia es menor en comparación con el observado para otras especies de coníferas (Cuadro 2.6) y cercano al presentado en las poblaciones naturales de *Pseudotsuga menziesii*

(Mirb.) Franco del norte de México, que muestran mejor estado reproductivo que las del sur, con mayor eficiencia en la producción de semillas y una proporción inferior de semillas vanas (Mápula-Larreta *et al.*, 2007).

El alto índice de endogamia indica un alto grado de consanguinidad entre los árboles de una población, como por ejemplo ocurre en *Picea mexicana*, con sus rodales asilados y de tamaño reducido (Flores-López *et al.*, 2005). Así, lo que ocurre en los piñoneros en estudio indica problemas moderados en la producción de semilla.

**Cuadro 2.6.** Índice de endogamia y eficiencia reproductiva de diferentes especies de pinos y otras coníferas de México.

<b>Especie</b>	<b>I. End.<sup>†</sup></b>	<b>Ef. Reprod.<sup>‡</sup> mg/ g</b>	<b>Referencia</b>
<i>Pinus cembroides</i> Zuccarini	0.33	774.9	Estudio actual
<i>P. orizabensis</i> D.K. Bailey & F.G. Hawksworth	0.38	635.6	Estudio actual
<i>P. leiophylla</i> Schltld. <i>et</i> Cham.	0.89	2.5	Morales <i>et al.</i> (2010)
<i>P. leiophylla</i> Schltld. <i>et</i> Cham.	0.37	17	Delgado (1994)
<i>P. pseudostrobus</i> Lindl.	0.37	16	Delgado (1994)
<i>P. montezumae</i> Lamb.	0.13	68	Delgado (1994)
<i>P. engelmannii</i> Carr.	0.19 - 0.42	S.d.	Bustamante <i>et al.</i> (2012)
<i>Picea mexicana</i> Martínez	0.73 - 0.84	15-36	Flores-López <i>et al.</i> (2005)
<i>Pseudotsuga menziesii</i> (Mirb.) Franco	0.40 - 0.81	29.6	Mápula-Larreta <i>et al.</i> (2007)

<sup>†</sup> Índice de endogamia = no. de semillas vanas /semillas desarrolladas. <sup>‡</sup> Eficiencia reproductiva = peso de semillas llenas /peso seco del cono. S.d. = sin dato.

La eficiencia reproductiva de los piñoneros estudiados está por encima de los valores reportados para otras especies, debido al tamaño de la semilla de los piñoneros. Estas especies presentan la estrategia de asignar mayor cantidad de biomasa por semilla, probablemente

para asegurar la viabilidad y la germinación de las semillas y el desarrollo inicial de las plántulas bajo las condiciones de mayor aridez, en comparación con las demás especies de pinos del otro subgénero o bien de otras gimnospermas de México (Cuadro 2.6).

La viabilidad de las poblaciones de *P. cembroides* resultó mejor que la observada en los rodales de *P. orizabensis*; los rodales densos, con mayor número de árboles por unidad de superficie poseen menor índice de endogamia, ya que aumenta la producción de polen y disminuye la posibilidad de autofecundación o cruza entre individuos emparentados (Schemske y Lande, 1985; Mosseler *et al.*, 2000). *P. cembroides* tiene amplia distribución en comparación con *P. orizabensis*, lo que probablemente explique la menor viabilidad de este pino. Lo que se pudo constatar es que en todas las poblaciones hay procesos de perturbación por el sobrepastoreo caprino y la recolecta anual del piñón. Es necesario intervenir mediante un programa de manejo para reducir el pastoreo, y realizar el control de insectos que afecten el desarrollo de la semilla y se promueva la polinización cruzada entre individuos no emparentados de la población, para disminuir la cantidad de semillas vanas.



## CONCLUSIONES

Existen diferencias significativas en todas las variables de producción de semillas de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis*, y entre las localidades muestreadas de ambos pinos. El potencial de producción de semilla es superior en *P. orizabensis*, no obstante la eficiencia de producción de semilla es mayor en las poblaciones de *P. cembroides*, pero en ambos a niveles moderados.

En *P. cembroides* el peso de las semillas llenas, y la relación pesos semilla/peso seco de cono (eficiencia reproductiva) resultaron mayores. Ambos pinos tuvieron un índice de endogamia moderado debido a cierta cantidad de semillas vanas por cono, donde *P. orizabensis* presentó más valor en este índice.

En *Pinus cembroides* destacan los valores de Cadereyta, Querétaro, como la mejor población estudiada, donde se obtuvo la mejor eficiencia reproductiva, menor índice de endogamia y una alta eficiencia de producción de semilla.

De las poblaciones de *P. orizabensis*, la población de Alzayanca, Tlaxcala, presenta mejor eficiencia de producción de semilla, eficiencia reproductiva, y menor índice de endogamia que el registrado para Tepeyahualco Puebla, ésta última presentó los valores más altos para proporción de óvulos abortados de segundo año, semillas vanas y semillas afectadas por plagas.

**CAPÍTULO III**  
**VARIACIÓN EN GERMINACIÓN Y VIGOR DE SEMILLAS DE *Pinus cembroides***  
**Y *P. orizabensis***

**RESUMEN**

La calidad germinativa de la semilla se evaluó usando lotes masales de diferentes procedencias de *P. cembroides* Zuccarini y *P. orizabensis* D.K. Bailey & Hawksworth, la semilla fue separada de acuerdo al color de testa. Entre especies se encontraron diferencias en el grosor de testa, curva de imbibición, capacidad germinativa, valor pico y velocidad de germinación. En *P. cembroides* la testa fue 0.1 mm más gruesa y la capacidad germinativa fue 88 % y la de *P. orizabensis* 84 %. El valor pico indicó mayor vigor en *P. cembroides* que en *P. orizabensis*, no obstante la velocidad de germinación es semejante en ambas especies. El tiempo necesario para alcanzar el 50 % de germinación fue menor en *P. cembroides* que en *P. orizabensis*, 12.74 días frente a 13.38 días respectivamente. La procedencia de la semilla fue significativa ( $p < 0.01$ ) para capacidad germinativa, valor pico y tiempo para alcanzar el valor pico y germinación del 50%. Entre procedencias de *P. cembroides*, la semilla de Cadereyta, Qro., presentó mayor porcentaje de germinación (95%) y junto con la de Colón, Qro., tuvo valor pico sobresaliente, esta última también se caracterizó por tener mayor velocidad de germinación. La semilla con menor vigor fue la recolectada en Santiago de Anaya, Hgo., su porcentaje de germinación fue 87.5%. Entre procedencias de *P. orizabensis*, la semilla con mayor capacidad germinativa fue de El Carmen, Tlaxcala (87.13%), y las de Tepeyahualco, Pue., y Altzayanca, Tlax., presentaron mayor velocidad de germinación. En el color de la testa, en ambas especies la semilla parda tiene mayor capacidad de germinación, además en *P. cembroides* hay diferencia en velocidad de germinación, la de testa negra germina más rápido y en *P. orizabensis* el valor pico indica que la semilla color pardo tiene más vigor. La semilla con testa negra es más delgada.

**Palabras clave:** color de testa, germinación, *Pinus cembroides*, *Pinus orizabensis*, piñón, valor pico.

## INTRODUCCIÓN

*Pinus cembroides* Zuccarini y *P. orizabensis* D.K. Bailey & Hawksworth son pinos que producen semillas comestibles (Fonseca, 2003; Hernández *et al.*, 2011). Se ubican en la sección Parrya del subgénero *Strobus* (Gernandt *et al.*, 2003). Los árboles son de porte pequeño a mediano, tronco monopódico más o menos recto, corteza delgada, ramificación a altura baja, lento crecimiento, conos esféricos, semilla grande sin ala con testa gruesa y megagametofito de color rosa (Bailey y Hawksworth, 1992; Farjon y Styles, 1997; Romero *et al.*, 1996). *P. cembroides* se distribuye en los estados de Arizona, Texas, y Nuevo México en EE.UU y en territorio nacional se localiza en Sonora, Chihuahua, Coahuila, Durango, Zacatecas, Nuevo León, Tamaulipas, San Luis Potosí, Aguascalientes, Jalisco, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo y el noroeste de Veracruz (Farjon y Styles, 1997). *P. orizabensis* se localiza en Puebla, Tlaxcala y el centro de Veracruz, principalmente la cuenca alta al oeste del Pico de Orizaba, por debajo de los 20° L.N. (Perry, 1991; Bailey y Hawksworth, 1992).

La importancia de estas especies es ecológica, económica y cultural, poseen un potencial adaptativo alto, crecen en lugares con poca precipitación, tienen capacidad de establecimiento en suelos poco profundos, con pH de 4 a 8 (Carrillo, 2009). Ambas especies son útiles para reforestación en ecosistemas degradados de zonas áridas y semiáridas con altitudes de 800 a 2800 m.s.n.m. (Mohedano *et al.*, 1999), las semillas son consumidas por aves y roedores (Romero *et al.*, 1996). La madera de estas especies posee propiedades anatómicas y físico-mecánicas semejantes a otros pinos, sin embargo, la cantidad de ramas, la talla comercial reducida y la mala conformación del fuste hacen que su madera sea utilizada como combustible principalmente (Wolf, 1985). La semilla (piñón) es recolectada

para comercialización y autoconsumo, es una fuente de ingreso para los dueños de los piñonares y representa una fuente de abasto de materia prima (piñones) para la elaboración de platillos y dulces típicos (Hernández *et al.*, 2011).

La capacidad de germinación y vigor germinativo son las variables principales que definen la calidad de un lote de semillas para producción de planta (Bonner *et al.*, 1994). La primera es el porcentaje de semillas que germina durante un periodo de tiempo dado y es útil para definir la cantidad de semillas que se requieren para producir plántulas (Kolotelo, 2001), la segunda variable se refiere a la velocidad y uniformidad de germinación, lo cual se define al monitorear el número de días necesarios para alcanzar 50% de germinación o al determinar el valor pico (VP) cuando la germinación acumulada dividida entre el número de día de la prueba alcanza el valor máximo (Kolotelo, 2001), cuanto más rápida y uniforme se dé la germinación, mayor será el vigor de la semilla y la uniformidad de la producción de la planta (Bonner *et al.*, 1994; CATIE, 1996).

Estos dos pinos piñoneros son alopátricos, *P. orizabensis* se ubica en condiciones más australes pero en mayor elevación que *P. cembroides*, se diferencian por el número de acículas por fascículo, cantidad de cera en las acículas y posición de estomas (Bailey y Hawksworth, 1992), lo que supone diferencias en adaptación entre estas taxa, por lo que establecer reforestaciones con el piñonero equivocado alteraría la distribución natural de las especies, además que probablemente se afectaría el desarrollo y supervivencia de las plantas.

Los productores toman como criterio de calidad y precio de semilla, al color de la testa (negro, bicolor y pardo o parraleño como se le conoce en Tlaxcala), ya que la semilla con testa bicolor y pardo tienen un precio mayor, y se ha observado que cada árbol produce un

solo color de testa. Martínez *et al.* (1987) documentó diferencias significativas de la calidad de la semilla con base en el color de la testa en *P. johannis* M.-F. Robert-Passini; las semillas moteadas (pardas) tuvieron una viabilidad del 36.5% y las claras y oscuras (negras) de 99%, y una capacidad de germinación de 35, 84, y 79 %, respectivamente.

El agua es un factor determinante en el almacenamiento o germinación de las semillas, dependiendo de la composición química de la semilla éstas absorben mayor o menor cantidad de agua para iniciar sus procesos metabólicos (Bonner *et al.*, 1994). Para fines de manejo en viveros forestales es importante documentar el comportamiento de la semilla durante el proceso de imbibición. El objetivo del presente estudio fue determinar diferencias entre especies, procedencias y color de la testa, así como verificar la calidad del germoplasma de las diferentes procedencias.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El germoplasma se recolectó en poblaciones naturales de *P. cembroides* y *P. orizabensis* en los años 2014 y 2015 (Cuadro 3.1). En cada procedencia se seleccionaron 15 árboles sanos con buena conformación de copa a una distancia mínima entre estos de 50 m, el número de conos recolectados varió de 10 a 15 por individuo, los que se empaquetaron por árbol en bolsas de papel etiquetadas con el nombre de la especie, procedencia y fecha. Los estróbilos se trasladaron al laboratorio del Posgrado en Ciencias Forestales del Colegio de Postgraduados en Texcoco, Méx. para el beneficio y análisis de la semilla.

**Cuadro 3.1.** Ubicación de las poblaciones de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis* incluidas en el presente estudio.

Población	Latitud N	Longitud O	Elevación (m s.n.m.)
<i>Pinus cembroides</i>			
El Carrizal, Colón, Qro.	20° 52' 40.23"	100° 05' 07.23"	2,159
La Laja, Cadereyta, Qro.	20° 48' 44.32"	99° 38' 18.72"	2,831
La Florida, Santiago de Anaya, Hgo.	20° 28' 36.06"	98° 59' 01.50"	2,002
<i>Pinus orizabensis</i>			
Tepeyahualco, Tepeyahualco, Pue.	19° 30' 25.60"	97° 30' 26.27"	2,417
Rancho Domínguez, El Carmen, Tlax.	19° 24' 01.28"	97° 42' 44.39"	2,671
Las Cuevas, Altzayanca, Tlax.	19° 22' 44.30"	97° 43' 02.10"	2,479

Datos obtenidos en la población con un geoposicionador Garmin® Etrex 10 Datum WGS84.

El número de semillas en los tratamientos obedeció a la disponibilidad del germoplasma, por lo que en algunas pruebas se utilizaron muestras de menor tamaño al indicado por las reglas del ISTA (International Seed Testing Association, 1999). Para el estudio se definieron 18 lotes de semilla de acuerdo a la cantidad disponible por especie,

procedencia y color de la testa (Cuadro 3.2), se probaron diferencias en capacidad germinativa (CG), viabilidad, valor pico (VP), días para alcanzar el valor pico (DVP), días para alcanzar 50% de la germinación (GERM50), grosor de testa e imbibición. En ambas especies se identificaron tres colores en la testa (negro, pardo y bicolor), solo que en *P. cembroides* no hubo suficientes semillas bicolors para hacer las pruebas, por lo que se consideraron los otros dos colores en esta especie.

**Cuadro 3.2.** Lotes de semilla formados para análisis de germinación, viabilidad, vigor, imbibición y grosor de testa de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis*, establecidos para probar diferencias entre especies, procedencias y color de testa de la semilla.

<b>Lote</b>	<b>Especie</b>	<b>Procedencia</b>	<b>Color de testa</b>	<b>Cosecha</b>
1	<i>P. cembroides</i>	Colón	Negro	2015
2	<i>P. cembroides</i>	Cadereyta	Negro	2015
3	<i>P. cembroides</i>	Cadereyta	Pardo	2015
4	<i>P. cembroides</i>	Santiago de Anaya	Negro	2015
5	<i>P. cembroides</i>	Santiago de Anaya	Pardo	2015
6	<i>P. orizabensis</i>	Tepeyahualco	Negro	2015
7	<i>P. orizabensis</i>	Tepeyahualco	Bicolor	2015
8	<i>P. orizabensis</i>	Altzayanca	Negro	2015
9	<i>P. orizabensis</i>	Altzayanca	Bicolor	2015
10	<i>P. orizabensis</i>	Altzayanca	Negro	2014
11	<i>P. orizabensis</i>	Altzayanca	Pardo	2014
12	<i>P. orizabensis</i>	Altzayanca	Bicolor	2014
13	<i>P. orizabensis</i>	Tepeyahualco	Negro	2014
14	<i>P. orizabensis</i>	Tepeyahualco	Pardo	2014
15	<i>P. orizabensis</i>	Tepeyahualco	Bicolor	2014
16	<i>P. orizabensis</i>	El Carmen	Negro	2014
17	<i>P. orizabensis</i>	El Carmen	Pardo	2014
18	<i>P. orizabensis</i>	El Carmen	Bicolor	2014

Las pruebas fisiológicas se realizaron con semilla recolectada en dos años consecutivos, la semilla del 2014 se mantuvo almacenada a humedad menor al 8 %, en una cámara fría a -6 °C. No se detectaron efectos significativos por el año de cosecha en las pruebas de germinación, por lo que éste factor no se consideró en los análisis posteriores.

### **Contenido de humedad de la semilla**

El contenido de humedad se determinó en dos muestras de semilla con un peso inicial entre 3 y 4 g, las cuales se colocaron en cajas de aluminio con tapa. Estas se introdujeron en una estufa de secado Riossa<sup>®</sup> a 130 °C por una hora (ISTA, 1999). La semilla se pesó en una balanza analítica marca Edam<sup>®</sup> PW124, con aproximación a  $1 \times 10^{-4}$  g. El contenido de humedad se calculó con la fórmula siguiente (Kolotelo, 2001; Bonner *et al.*, 1994):

$$\text{C.H.} = (\text{Peso fresco semilla} - \text{Peso seco semilla}) * 100 / \text{Peso fresco semilla.}$$

### **Grosor de testa**

El grosor de testa se midió en cuatro repeticiones de 25 semillas por lote. Las semillas se quebraron con una prensa troqueladora C-Clamp, marca Truper, modelo 17666 PTR-2 con 50.8mm de abertura y 22.2 mm de profundidad. Cada semilla se colocó de forma vertical en la prensa con el micrópilo hacia abajo y se ejerció presión moderada hasta fracturar de manera longitudinal la testa de la semilla. La medición se hizo en el trozo mayor de testa, donde los márgenes del corte mostraran claramente el largo de la semilla. La medición del grosor se realizó en dos extremos opuestos de la testa, a una distancia de 5 mm por encima del micrópilo cerca de la parte media de la testa con un vernier digital marca Mitutoyo, modelo CD-6CS, se obtuvo el grosor promedio.



### **Imbibición de la semilla**

La curva de imbibición de la semilla de los 18 lotes se realizó a través del monitoreo de la ganancia de peso de semillas. Cuatro repeticiones de quince semillas por lote se colocaron en 100 ml agua destilada a temperatura ambiente en vasos de precipitados. Se obtuvo el peso inicial y posteriormente se monitoreó el peso cada dos horas por 24 h, posteriormente cada cuatro horas por 20 h adicionales. El peso se cuantificó en una balanza analítica marca Edam® PW124. El agua de cada muestra se cambió cada 12 h; el porcentaje de absorción que se obtuvo fue el peso acumulado de la semilla por unidad de tiempo con respecto al peso inicial de la semilla.

### **Viabilidad de la semilla**

Cuatro repeticiones de 25 semillas se utilizaron de cada lote. La testa se eliminó, y los embriones y megagametofito se remojaron por 12 h en agua destilada. En el megagametofito se realizó un corte longitudinal con un bisturí #4 para saturar el embrión en una solución al 1% de 2, 3, 5 cloruro de tetrazolio (TZ), en cajas de Petri de vidrio. Las cajas con las muestras se colocaron por 24 h en la obscuridad en bolsas aluminizadas que evitan el paso de la luz a temperatura ambiente. Las semillas se clasificaron como viables cuando el megagametofito y embrión se tiñeron en tono rojo intenso (Kolotelo *et al.*, 2001).

## Germinación

Las semillas se colocaron en un diseño completamente al azar con 20 repeticiones conformadas por diez semillas cada una. Previo a la prueba de germinación, la semilla se desinfectó en una solución de hipoclorito de sodio (0.25%), utilizando cloro comercial Cloralex® el tiempo de inmersión fue 5 minutos, seguido de un lavado abundante con agua corriente. La testa se escarificó con agua oxigenada (Peróxido de Hidrógeno al 3%) por dos minutos. Posteriormente, la semilla se dejó en remojo en agua destilada por 12 h previo a la siembra. La prueba de germinación se instaló en cajas de plástico rígido transparente de 20 x 27 x 12 con tapa de cierre hermético. Las semillas se colocaron sobre tela de algodón color blanco, se colocaron separadores plásticos entre tratamientos y se agregaron 75 ml de agua destilada, posteriormente en cada caja se asperjó una solución fungicida de Captán al 0.2%. Las cajas con la semilla se colocaron en una cámara con temperatura diurna entre 24 y 26 °C y nocturna de 22 a 24 °C.

Las semillas germinadas se registraron diariamente por 35 días. Una semilla se consideró germinada cuando el tamaño de la radícula fue similar a la longitud de la semilla. Se calcularon la capacidad de germinación (CG), valor pico (VP), día que se alcanzó el valor pico (DVP), y tiempo en lograr el 50 % de la germinación total (GERM50) con las fórmulas siguientes:

$$CG (\%) = (\text{semillas germinadas/semillas totales}) * 100$$

$$VP = \text{MAX } \sum \text{Germinación/días (Kolotelo et al., 2001)}$$

$$DVP (\text{día}) = \text{día de la prueba en que la germinación acumulada dividida entre los días transcurridos fue el máximo (Kolotelo et al., 2001).}$$

$$GERM50 (\text{días}) = \text{número de días en alcanzar el 50\% de la germinación total de la prueba.}$$

## Análisis estadístico

Previo a los análisis estadísticos se hizo la estandarización de los datos de capacidad germinativa y viabilidad, por ser información expresada en porcentaje, de tal modo que los datos de porcentaje fueron transformados con la función arcoseno de la raíz cuadrada de  $p$  ( $\theta = \arcseno\sqrt{p}$ , donde  $\theta$  es el dato transformado y  $p$  es el valor de capacidad germinativa o viabilidad). Esta transformación se aplica a datos representados entre 0 y 1, mejorando su distribución normal. (Sokal y Rohlf, 1981). Todos los análisis estadísticos se realizaron con el paquete de SAS (SAS Institute, 2003). Los modelos utilizados para el análisis fueron:

- a) Para probar diferencias entre especies y procedencias:

$$Y_{ijkl} = \mu + R_i + E_j + RE_{ij} + P_{k(j)} + RP_{ijk} + \mathcal{E}_{ijkl}$$

donde  $Y_{ijkl}$  es el valor observado del  $l$ -ésimo lote de cierto color de testa de la  $k$ -ésima procedencia de la  $j$ -ésima especie en la  $i$ -ésima repetición,  $\mu$  es la media general,  $R_i$  es el efecto aleatorio de la  $i$ -ésima repetición,  $E_j$  es el efecto fijo de la  $j$ -ésima especie,  $RE_{ij}$  es el efecto aleatorio de la interacción de la  $i$ -ésima repetición con la  $j$ -ésima especie,  $P_{k(j)}$  es el efecto fijo de  $k$ -ésima procedencia dentro de la  $j$ -ésima especie,  $RP_{ijk}$  es el efecto aleatorio de la interacción del  $i$ -ésima repetición con la  $k$ -ésima procedencia dentro de la  $j$ -ésima especie, y  $\mathcal{E}_{ijkl}$  es el error experimental-

- b) Para probar diferencias entre colores de la testa, el análisis se realizó por especie con el modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + C_j + RC_{ij} + \mathcal{E}_{ijk}$$

Donde  $Y_{ijk}$  es el valor observado del  $k$ -ésimo lote de cierta procedencia del  $j$ -ésimo color de testa de la semilla en la  $i$ -ésima repetición,  $\mu$  es la media general,  $C_j$  es el efecto fijo del  $j$ -ésimo color de testa de la semilla,  $RC_{ij}$  es el efecto aleatorio de la interacción de la  $i$ -ésima repetición con el  $j$ -ésimo color de testa, y  $\epsilon_{ijk}$  es el error experimental.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Contenido de humedad y grosor de testa

No se encontraron diferencias significativas entre especies, procedencia y color de testa. El contenido de humedad obtenido para *P. cembroides* fue 0.33% mayor que en *P. orizabensis* (Cuadro 3.3). Las semillas del género *Pinus* se clasifican como ortodoxas ya que toleran contenidos bajos de humedad (5-8%) y conservan su viabilidad en periodos prolongados de almacenamiento con temperatura controlada y embalaje adecuado (Bonner *et al.*, 1994). Los valores medios del contenido de humedad de semillas con diferente color de testa variaron en 0.5%.

Las diferencias en el grosor de testa de semilla fueron significativas ( $p < 0.01$ ) entre especies, procedencias y color de testa. El grosor de la testa fue mayor en semillas de *P. cembroides* y esto pudo influir en la menor absorción de agua, al dificultar la imbibición y evitar la desecación de la semilla (Cuadro 3.3). El grosor de la testa de las semillas negras fue menor en ambas especies por lo que posiblemente absorbieron agua con mayor facilidad.

**Cuadro 3.3.** Valores medios de grosor de testa, contenido de humedad inicial con base en el peso fresco, contenido de humedad a 44 h de imbibición, y porcentaje de absorción en semillas de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis* en general y por colores de testa en cada especie.

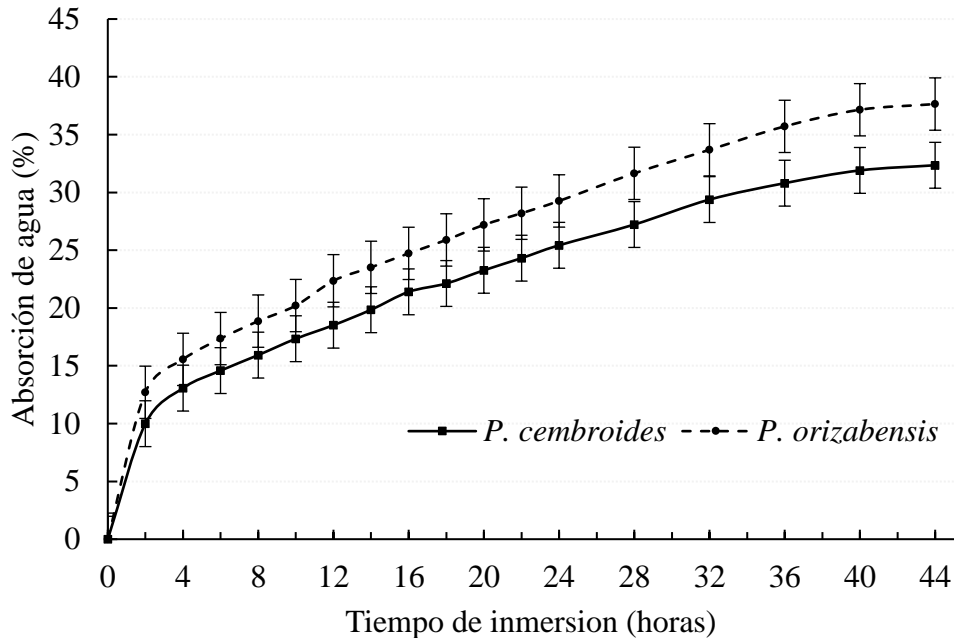
Especie / color de testa	Grosor testa (mm)	C.H. inicial (%)	C.H. 44 h (%)	Absorción (%) <sup>†</sup>
	media ± e.e.	media ± e.e.	media ± e.e.	media ± e.e.
<i>P. cembroides</i>	0.87 ± 0.007 a	7.73 ± 0.21 a	24.64 ± 0.82 b	32.97 ± 1.69 b
<i>P. orizabensis</i>	0.78 ± 0.004 b	7.40 ± 0.13 a	27.49 ± 0.50 a	38.27 ± 1.02 a
<b><i>Pinus cembroides</i></b>				
Negro	0.87 ± 0.009 b	7.94 ± 0.30 a	24.43 ± 1.26 a	32.70 ± 2.32 a
Pardo	0.91 ± 0.011 a	7.52 ± 0.36 a	24.05 ± 1.39 a	31.73 ± 2.54 a
<b><i>Pinus orizabensis</i></b>				
Bicolor	0.77 ± 0.006 b	7.24 ± 0.24 a	27.13 ± 0.80 b	37.38 ± 1.68 b
Negro	0.75 ± 0.006 c	7.38 ± 0.19 a	28.90 ± 0.80 a	41.33 ± 1.68 a
Pardo	0.84 ± 0.008 a	7.58 ± 0.19 a	26.13 ± 1.03 b	35.50 ± 2.17 b

e.e. error estándar. <sup>†</sup>Porcentaje de ganancia de peso de la semilla al final de la prueba con respecto a su peso inicial. Letras diferentes en cada sección indican diferencias, p=0.05.

### Imbibición de la semilla

La semilla absorbió agua muy rápido en las primeras dos horas, alcanzando un 10 % de su peso inicial en *P. cembroides* y 12.7 % en *P. orizabensis* en este periodo. Posteriormente, la tasa de absorción disminuyó, pero ésta fue ligeramente mayor en semillas de este último pino. Las semillas de *P. cembroides* alcanzaron el 25 % de absorción a las 24 h, mientras que las semillas de *P. orizabensis* absorbieron el mismo porcentaje de agua en 16 h. Al final de la prueba (44 h), las semillas de ambos pinos alcanzaron 32.4 % y 37.6 % de absorción respectivamente (Figura 3.1). La absorción mayor y a velocidad mayor de la

semilla de *P. orizabensis*, se puede deber al menor grosor de testa, la cual fue 0.1 mm más delgada que la de *P. cembroides*.

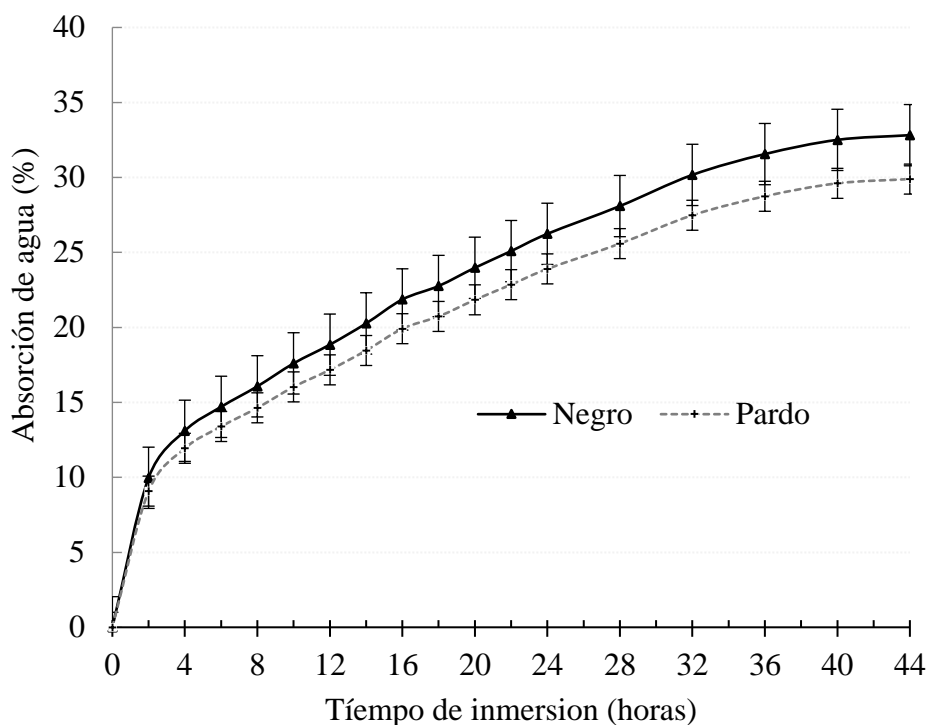


**Figura 3.1.** Curva de imbibición de semillas de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis*.

El contenido de humedad inicial puede influir en el periodo de imbibición de la semilla (Mápula *et al.*, 2008); en el presente estudio fue 7.8 % para *P. cembroides* y 7.4 % en *P. orizabensis*, por lo tanto, la absorción fue mayor en este pino, cuya semilla era menos húmeda. Comúnmente un remojo en agua corriente por 24 a 48 horas es adecuado para promover la imbibición total de las semillas, este periodo varía entre especies de coníferas, pero las semillas de algunas especies pueden sufrir daños por un remojo prolongado (Landis *et al.*, 2014). En los viveros de México la semilla se sumerge de 12 o hasta 18 h antes de la siembra. Los resultados indicaron que el periodo de imbibición debió incrementarse en estas semillas cuidando que la sobreexposición a la inmersión no tuviera un efecto adverso en las

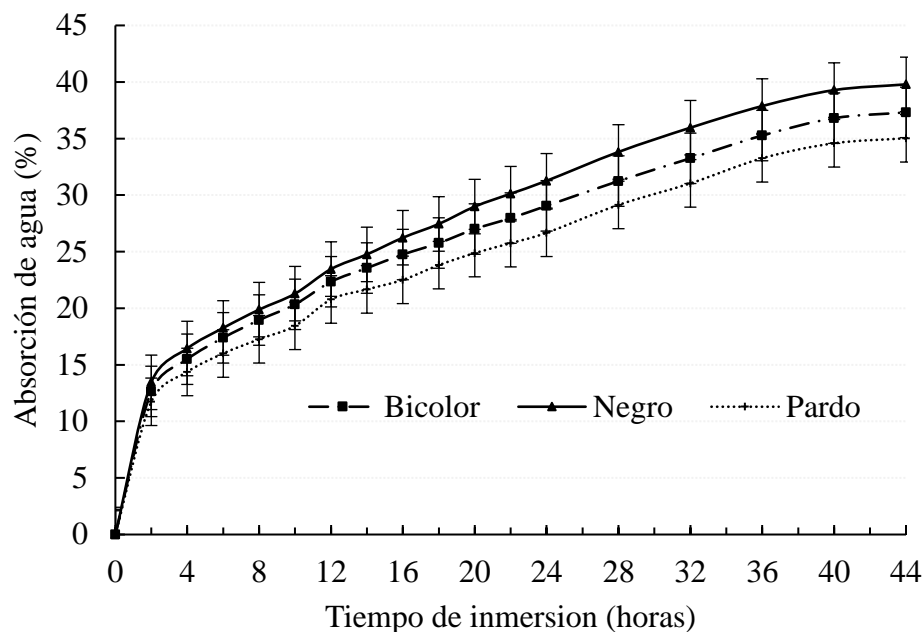
semillas como la aparición de patógenos y la falta de oxigenación (Landis *et al.*, 2014). En el caso de semillas de *Pinus edulis* Engelm. la germinación mejoró cuando las semillas se remojan en agua corriente por 48 h (Ronco, 1990).

Las semillas negras de *P. cembroides* absorbieron agua con mayor rapidez; éstas semillas alcanzaron el 25 % de absorción en 22 h mientras que las semillas pardas necesitaron 28 h; las semillas negras de *P. orizabensis* llegaron a ese porcentaje en 14 h, mientras que las parda y bicolors alcanzaron ese porcentaje en 16 h y 20 h, respectivamente.



**Figura 3.2.** Curva de imbibición de semillas de *Pinus cembroides* con testa de color diferente.





**Figura 3.3** Curva de imbibición de semillas de *Pinus orizabensis* con testa de color diferente.

### Viabilidad de la semilla

Las diferencias para viabilidad de las semillas no fueron significativas a  $p < 0.05$  entre especies, procedencias o color de la testa. Se registró alta viabilidad en semillas de ambas especies, de 93.5 % en *P. cembroides* y 90.8 % en *P. orizabensis* (Cuadro 3.4). Los valores máximo y mínimo de viabilidad entre procedencias se registraron en semillas de *P. cembroides* recolectadas en Cadereyta con 98 % y Colón con 89 %. Los valores de viabilidad fueron altos para semilla recolectada recientemente y en aquellas almacenadas en refrigeración por un año.

**Cuadro 3.4.** Porcentaje de viabilidad de semilla de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis* con color diferente de testa y procedencia diferente.

<b>Especie</b>	<b>Procedencia</b>	<b>Color de testa</b>	<b>Viabilidad (%)</b>
<i>P. cembroides</i>			93.50 ± 1.45
<i>P. orizabensis</i>			90.82 ± 1.88
<i>P. cembroides</i>	Colón		89.00 ± 3.08
	Cadereyta		98.00 ± 2.18
	Santiago de Anaya		93.50 ± 2.18
<i>P. orizabensis</i>	Tepeyahualco		90.00 ± 1.38
	El Carmen		91.67 ± 1.78
	Alzayanca		90.80 ± 1.38
<i>P. cembroides</i>		Negro	94.00 ± 1.29
		Pardo	95.00 ± 1.58
<i>P. orizabensis</i>		Negro	90.20 ± 1.55
		Pardo	92.33 ± 1.99
		Bicolor	90.20 ± 1.55

### Capacidad germinativa y vigor de la semilla

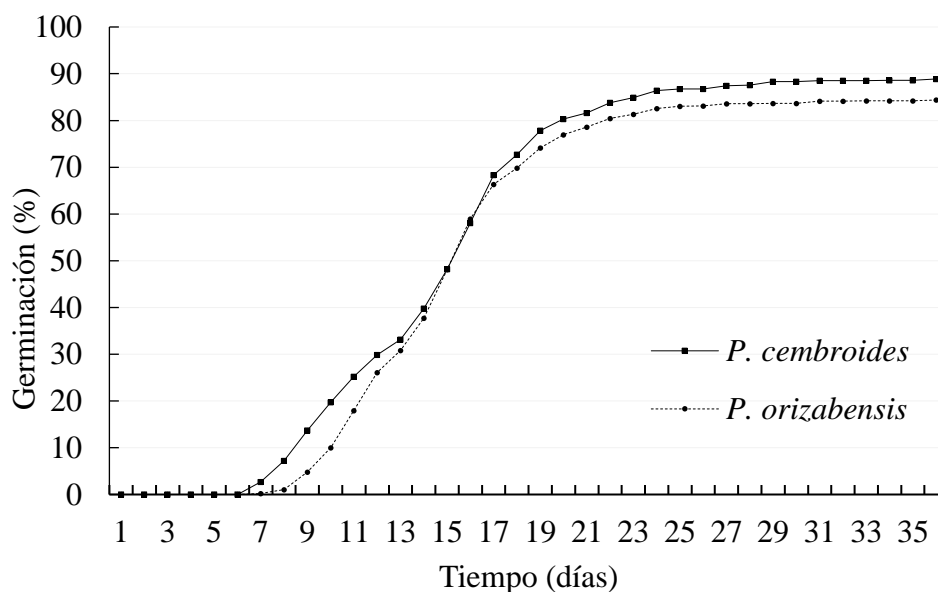
Se detectaron diferencias significativas entre especies para la capacidad germinativa (CG), valor pico (VP) y en los días para alcanzar el 50 % de germinación (GERM50) pero no para los días necesarios para alcanzar el valor pico (DVP), sin embargo las diferencias fueron significativas entre procedencias para las cuatro variables (Cuadro 3.5).

**Cuadro 3.5.** Análisis de varianza para capacidad germinativa (CG), días para alcanzar el 50 % de la germinación (GERM50), valor pico (VP) y día en que se presenta el valor pico (DVP) entre especies y procedencias de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis*.

Efecto	CG (%) <sup>†</sup>		GERM50		VP		DVP	
	Valor F	Pr > F	Valor F	Pr > F	Valor F	Pr > F	Valor F	Pr > F
Especie	4.39	0.0497	5.93	0.0249	6.73	0.0178	0.46	0.5068
Procedencia (especie)	7.96	0.0001	12.9	0.0001	6.06	0.0003	11.17	0.0001

<sup>†</sup>G.L. Grados de libertad del numerador 1 y 4 y del denominador de 19 y 76 para especie y procedencias, respectivamente.

La capacidad germinativa y la velocidad germinativa de las semillas de *P. cembroides* fue mayor que las de *P. orizabensis* (Figura 3.4). El valor pico muestra que las semillas de *P. cembroides* tienen mayor vigor, sin embargo, los días para alcanzar el valor pico, indicaron una velocidad similar (Cuadro 2.6).



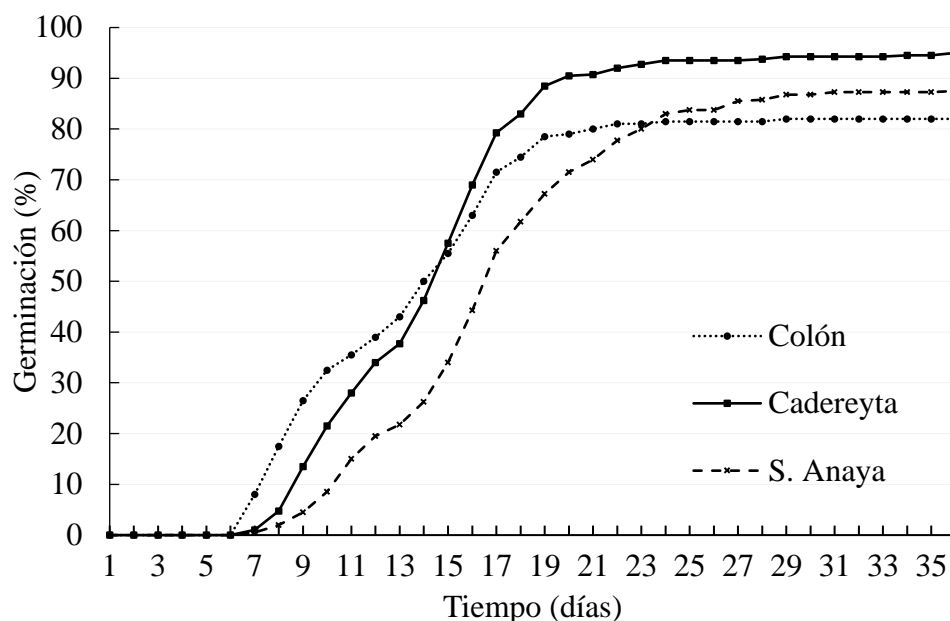
**Figura 3.4.** Germinación de semillas de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis*.

**Cuadro 3.6.** Valores medios y error estándar (e.e.) de la capacidad germinativa, valor pico y días para alcanzar la germinación de 50% y días para alcanzar el valor pico de semillas de *P. cembroides* y *P. orizabensis* y sus respectivas procedencias.

Especie / procedencia	Germinación (%)	Germ50 (días) <sup>†</sup>	VP (%/d)	DVP (días) <sup>†</sup>
	media ± e.e.	media ± e.e.	media ± e.e.	media ± e.e.
<i>P. cembroides</i>	88.17 ± 1.38 a <sup>‡</sup>	12.74 ± 0.28 b	5.02±0.12 a	16.29 ± 0.36 a
<i>P. orizabensis</i>	84.22 ± 0.86 b	13.38 ± 0.21 a	4.70±0.08 b	16.53 ± 0.26 a
<b><i>Pinus cembroides</i></b>				
Cadereyta	95.00 ± 2.03 a	12.55 ± 0.38 b	5.34±0.17 a	16.08 ± 0.50 c
Santiago de Anaya	87.50 ± 2.03 b	14.55 ± 0.38 a	4.35±0.17 c	18.60 ± 0.50 a
Colón	82.00 ± 2.85 c	11.13 ± 0.51 c	5.37±0.23 a	14.20 ± 0.67 d
<b><i>Pinus orizabensis</i></b>				
El Carmen	87.13 ± 1.46 b	14.08 ± 0.29 a	4.63±0.13 b	17.38 ± 0.38 b
Alzayanca	83.40 ± 1.31 c	13.11 ± 0.27 b	4.74±0.12 b	16.35 ± 0.35 c
Tepeyahualco	82.13 ± 1.46 c	12.95 ± 0.29 b	4.72±0.13 b	15.88 ± 0.38 c

<sup>†</sup>Valores menores indican mayor velocidad. <sup>‡</sup>Letras diferentes indican diferencias con  $p = 0.05$ , comparaciones entre las dos especies y dentro de cada especie.

En *P. cembroides*, la semilla recolectada en Cadereyta germinó notoriamente entre 8 y 13 % más que las de Santiago de Anaya y Colón (Figura 3.5). Sin embargo, la velocidad de germinación fue mayor en Colón, 1.4 días y 3.4 días de antelación para alcanzar el 50% de germinación en comparación con las otras dos localidades, el valor pico muestra mayor vigor en las semillas de Colón y Cadereyta; la semilla de Santiago de Anaya es la de menor vigor.

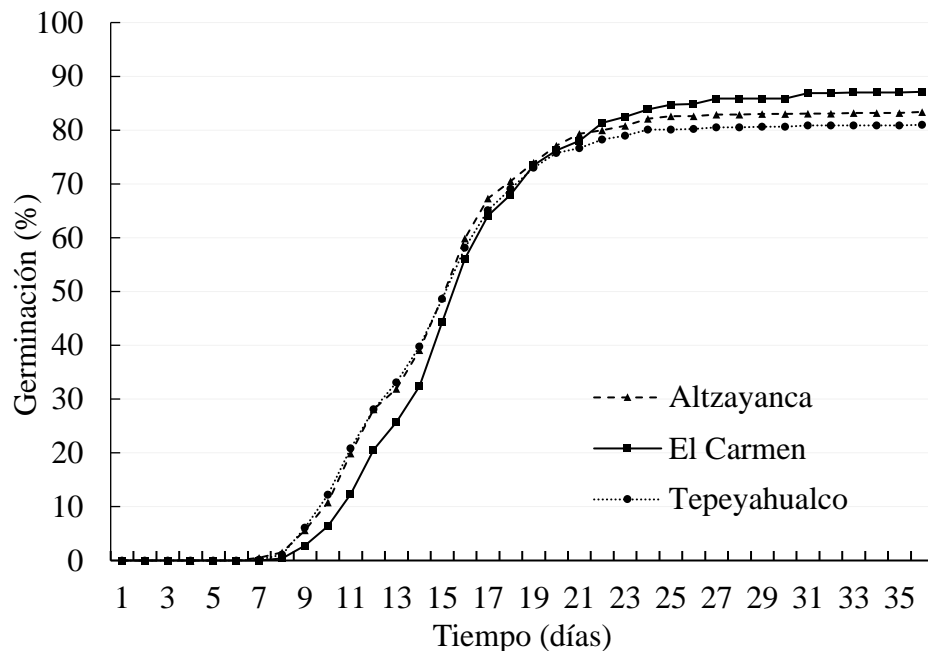


**Figura 3.5.** Germinación de semillas de *Pinus cembroides* de diferentes procedencias.

En *P. orizabensis* la germinación en promedio es más homogénea, la diferencia entre los valores extremos de CG es de 5 %, siendo El Carmen la procedencia con mayor capacidad germinativa (Figura 3.6), pero más lenta en germinar y con menor vigor, alrededor de un día de diferencia para alcanzar el 50 % de lo germinado en total. Altzayanca fue la que mostró más vigor de acuerdo al valor pico, no obstante la que presentó mayor rapidez en alcanzar el valor pico fue Tepeyahualco.

La capacidad germinativa de *Pinus cembroides* fue mayor en el estudio presente que el valor reportado para semilla de la misma especie recolectada en el Ejido la Amapola en San Luis Potosí, donde alcanzó 81 % (Sandoval-Méndez *et al.*, 2001). También la capacidad germinativa de la semilla de *P. orizabensis* en el estudio presente fue superior al reportado para la misma especie (48%) recolectada en Altzayanca Tlaxcala (Sánchez *et al.*, 2005), además señalan los autores que la germinación dio inicio en el día 30 después de instalada la

prueba en condiciones de invernadero en agrolita, a diferencia de éste ensayo dónde se inició a partir del sexto día.



**Figura 3.6.** Germinación de semillas de *Pinus orizabensis* de diferentes procedencias.

En ambos pinos se determinaron diferencias significativas en el porcentaje de germinación entre los colores de testa. Las semillas de color pardo tuvieron más germinación, 5.5 % más que las negras en *P. cembroides* y 8.4 % más en *P. orizabensis*, en esta especie las de testa bicolor son de similar germinación que las negras. Sin embargo, solo en *P. cembroides* se determinaron diferencias en los días en alcanzar el 50 % de germinación y en el valor pico (Cuadro 3.7). Las semillas con testa de color pardo tienen mayor CG, sin embargo las de testa en color negro son más vigorosas y germinan más rápido (Cuadro 3.8).

**Cuadro 3.7.** Análisis de varianza de la capacidad germinativa, valor pico, días a la germinación de 50% y días al valor pico de semillas de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis* con diferente color de testa.

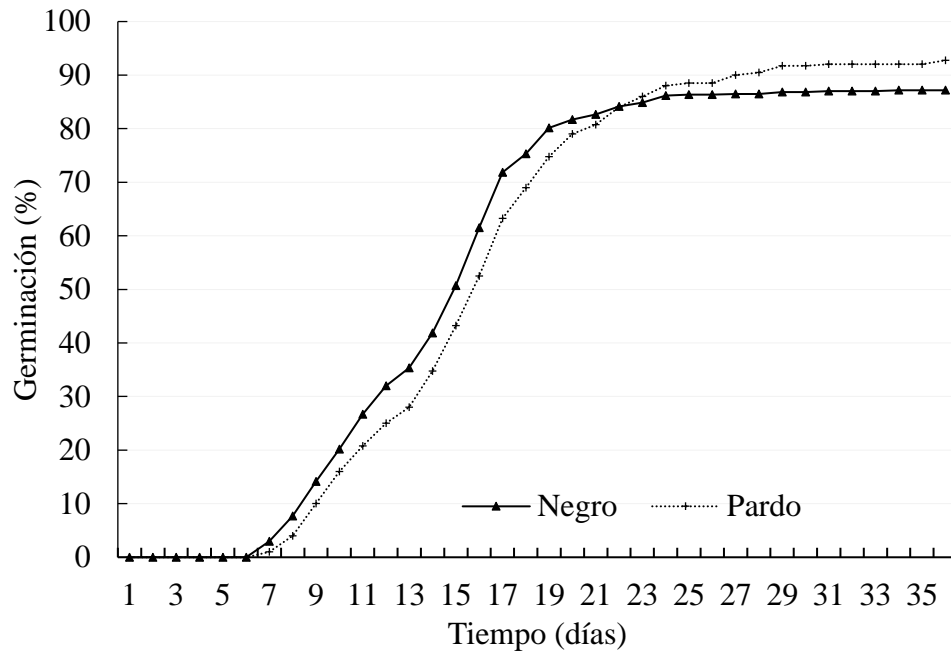
Variable	Color de testa en <i>P. cembroides</i>				Color de testa en <i>P. orizabensis</i>			
	G.L. <sup>†</sup> Núm.	G. L. Den.	Valor de F	Pr > F	G.L. Núm.	G. L. Den.	Valor de F	Pr > F
Capacidad germinativa	1	19	9.09	0.0071	2	38	6.80	0.0030
GERM50	1	19	8.12	0.0102	2	38	2.45	0.1000
DVP	1	19	2.85	0.1079	2	38	7.38	0.0020
Valor Pico	1	19	10.51	0.0043	2	38	2.18	0.1271

<sup>†</sup>G.L.= Grados de libertad del numerador y denominador. El grado de significancia se obtuvo posterior a la transformación con función arcoseno de la raíz cuadrada de los valores expresados en porcentaje.

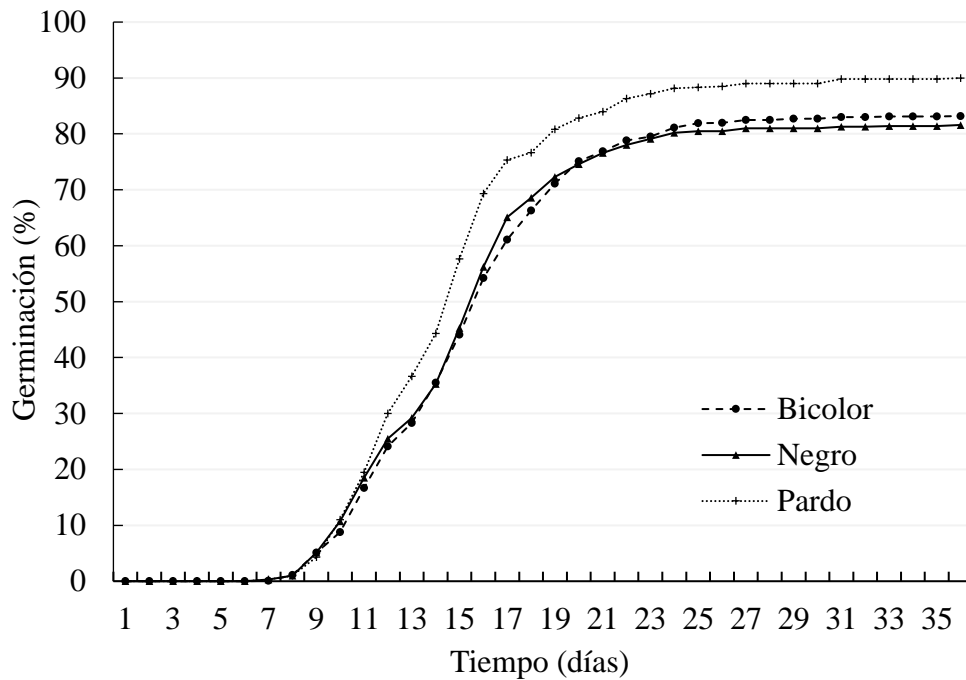
**Cuadro 3.8.** Valores medios de CG, GERM50 y VP en semillas de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis* con testa de diferente color.

COLOR	CG (%)	GERM50 <sup>†</sup> (días)	VP	DVP <sup>†</sup> (días)
	Media ± e.e.	Media ± e.e.	Media ± e.e.	Media ± e.e.
<i>Pinus cembroides</i>				
Pardo	92.75 ± 1.55 a <sup>‡</sup>	13.95 ± 0.40 a	5.09 ± 0.13 a	18.08 ± 0.54 a
Negro	87.17 ± 1.27 b	12.47 ± 0.33 b	4.74 ± 0.16 a	15.80 ± 0.44 b
<i>Pinus orizabensis</i>				
Pardo	90.00 ± 1.81 a	12.97 ± 0.32 a	5.16 ± 0.15 a	15.97 ± 0.41 a
Bicolor	83.20 ± 1.43 b	13.71 ± 0.27 a	4.58 ± 0.12 b	16.93 ± 0.33 a
Negro	81.60 ± 1.43 b	13.24 ± 0.27 a	4.55 ± 0.12 b	16.44 ± 0.33 a

<sup>†</sup> Valores menores indica mayor velocidad. <sup>‡</sup> Letras diferentes indican diferencias con p = 0.05.



**Figura 3.7.** Curva de germinación de semillas de *Pinus cembroides* con testa de color diferente.



**Figura 3.8.** Curva de germinación de semillas de *Pinus orizabensis* con testa de color diferente.



En cuanto a la respuesta de las semillas con diferente color de testa, los resultados obtenidos por Martínez *et al.* (1987), muestran que semillas con diferente color de testa de *P. johannis* no presentan diferencias significativas en pruebas de viabilidad, no obstante la germinación que reportan para semilla moteada es 36.5 %, muy por debajo de lo registrado en la prueba realizada en *P. cembroides* y *P. orizabensis*, donde la semilla de tono pardo (moteado) fue la que presentó mayor capacidad de germinación por encima de 90% en ambas especies. El mismo autor indica que en las semillas con testa clara y negra obtuvieron una germinación de 84 y 79%, en contraste con el 36.5 % registrado en la de testa moteada. Para el estudio de *P. cembroides* y *P. orizabensis* la semilla de testa color negro fue la de menor capacidad germinativa, 87 y 81%, respectivamente.

Las semillas de *P. cembroides* presentaron un grosor mayor de testa y una tasa menor de absorción de agua, y, contrario a lo esperado, germinaron en mayor cuantía y con mayor velocidad de germinación que las semillas de *P. orizabensis*. Una predicción podría ser que las semillas que absorben agua con mayor rapidez como las de *P. orizabensis*, germinen más rápido, no obstante, es posible que algún mecanismo fisiológico esté involucrado en la rápida germinación de *P. cembroides*, esta característica de respuesta fisiológica pudiera ser de carácter adaptativo oportunista. Lo anterior confirma la existencia de diferencias morfológicas y adaptativas que merecen la distinción y manejo como taxa diferentes, particularmente en las acciones de repoblación que se efectúan en el país.

Los resultados de viabilidad y germinación indicaron ausencia de latencia en la semilla de ambas especies a pesar del grosor de la testa, que se compone principalmente de células muertas y actúa como una cubierta protectora para los tejidos vivos interiores (Kolotelo *et*

*al.*, 2001), la semillas sólo presentaron quiescencia, y germinan cuando las condiciones ambientales se conjuntan adecuadamente (Baskin y Baskin, 2004).

## CONCLUSIONES

Las semillas de *P. cembroides* tienen mayor grosor de testa, menor tasa de absorción de agua, pero mayor capacidad germinativa y velocidad de germinación que las semillas de *P. orizabensis*, lo que confirma diferencias morfológicas y adaptativas que ameritan su distinción y separación correcta en campo para su utilización en reforestación.

Los valores de viabilidad y de germinación fueron altos en todas las pruebas, *P. cembroides* germinó 88 %, mientras que las semillas de *P. orizabensis* fue 84 %.

La procedencia de la semilla tuvo efectos significativos en la calidad de la semilla, en *P. cembroides* la semilla que procede de Cadereyta sobresalió con mayor capacidad germinativa (95%); en *P. orizabensis* la semilla procedente de El Carmen presenta 87 % de capacidad germinativa, superior a las procedencias de Tepeyahualco y Alzayanca. Sin embargo éstas últimas poseen mayor vigor anticipándose al menos un día para alcanzar la germinación de 50 %.

En *P. cembroides* el color de la testa de la semilla influyó en las variables de germinación, la semilla con testa de color pardo presenta 5.58 % más de capacidad germinativa que la de color negro; no obstante ésta última posee mayor vigor, anticipándose 1.48 y 2.28 días para alcanzar el 50 % de germinación y valor pico, respectivamente. En *P. orizabensis* la semilla con testa en color pardo posee en promedio 7.6 % más capacidad germinativa que las semillas con testa negra y bicolor, la semilla con testa de color negro es la que germinó menos (81.6%) y en los parámetros de vigor no se determinaron diferencia respecto al color de testa de la semilla.

**CAPÍTULO IV**  
**VARIACIÓN EN CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE PLÁNTULAS DE**  
***Pinus cembroides* Y *P. orizabensis***

**RESUMEN**

*Pinus cembroides* y *P. orizabensis* son piñoneros usados indistintamente en reforestación por aparentes similitudes morfológicas aunque son alopátricos, de hábitats diferentes. Para identificar diferencias en ambas taxa en vivero que se asocien a su desarrollo en campo se analizaron plantas de 15 meses de edad procedentes de cinco poblaciones. Se determinaron diferencias morfológicas entre ambos pinos y sus procedencias. El número de cotiledones fue de 8 a 15 en ambos pinos, mayormente de 10 y 11 en *P. cembroides*, y 11 y 12 en *P. orizabensis*, lo que genera que el promedio sea ligeramente mayor en *P. orizabensis* (11.11 vs. 10.85,  $p=0.03$ ), sin diferencias en la altura del hipocótilo, de 35-36 mm. A 6 y quince meses la altura de plantas fue menor y el diámetro a la base mayor en *P. cembroides*, lo que generó un índice de esbeltez menor en las plantas jóvenes de esta especie. En cuanto a procedencias, la mejor planta de acuerdo al índice de esbeltez en *P. cembroides* fue la de Cadereyta Qro., y en *P. orizabensis* la de Alzayanca Tlax. Aparentemente las plantas de *P. cembroides* tienen mayor capacidad de establecerse en condiciones ambientales más limitadas que las de *P. orizabensis*.

**Palabras clave:** hojas cotiledonares, índice esbeltez, piñonero, plántulas, variación morfológica.

## INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas en la repoblación artificial forestal en México es la supervivencia de las plántulas en campo, que es menor a 50 % a un año de plantadas (Vargas y Vanegas, 2012; Orozco *et al.*, 2010). Entre algunas causas se puede citar el empleo de plántulas morfológica y fisiológicamente inadecuadas (Mexal, 1996; Burney *et al.*, 2015; Aldrete *et al.*, 2005), generado principalmente por el uso de especies o sus procedencias impropios para el microclima específico del sitio de establecimiento (Birchler *et al.*, 1998; Prieto *et al.*, 1999). Parte del problema se genera por la similitud de algunos taxa difíciles de identificar, como ocurre con las especies del grupo *Cembroides* que están adaptadas a ambientes secos pero relativamente diferentes (Bailey, 1983; Perry, 1991; Romero *et al.*, 1996; Farjon y Styles 1997).

Taxonómicamente *Pinus cembroides* Zuccarini y *P. orizabensis* D.K. Bailey & F.G. Hawksworth se ubican en la sección *Parrya* del subgénero *Strobus* dentro del grupo *Cembroides* (Zavarin, 1987, Gernandt *et al.*, 2003). *P. cembroides* es de amplia distribución natural en México, conforma una vegetación de transición entre las formaciones xerofíticas de la Altiplanicie Mexicana y las vertientes internas de la sierra Madre Oriental y de la Occidental, desde los 20° a 32° L.N. y 90° a 116° L.O. (Martínez, 1948; Perry, 1991; Farjon y Styles, 1997). *P. orizabensis* se localiza en Puebla, Tlaxcala y el centro de Veracruz, principalmente en la cuenca alta al oeste del Pico de Orizaba, por debajo de los 20° L.N. Por lo tanto ambas especies son alopátricas, *P. orizabensis* está separada por el eje neovolcánico y 140 km de distancia de *P. cembroides* (Bailey, 1983; Perry, 1991; Bailey y Hawksworth, 1992).

Trabajos iniciales identificaban a ambos taxa como la misma especie, por el tamaño de sus acículas y conos, y sus semillas sin ala, de testa gruesa y megagametofito de color rosa (Martínez, 1948; Robert-Passini, 1981; Perry, 1991; Farjon y Styles, 1997). A la postre estudios detallados señalaron diferencias en varias poblaciones del sur de la distribución del piñonero (debajo de los 20° L.N.), con acículas un poco más largas, gruesas y suaves al tacto, de 2 a 5 (98 % de 3 o 4) por fascículo, y con ligeramente menor número de líneas de estomas en la parte dorsal y un poco más en la ventral que en *P. cembroides sensu lato*, el cual tiene 2 (63 %) o 3 acículas por fascículo (Bailey, 1983), lo que provocó la propuesta por este autor de separar las procedencias del sur como *P. cembroides* subesp. *orizabensis* D. K. Bailey. Además se señaló que este taxón tiene incluso más parecido a *P. discolor* Bailey et Hawksworth, ya que la parte ventral de las acículas es de color glauco y la dorsal es verde azulado, contra verde amarillento en *P. cembroides* “típico” (*P. cembroides* subsp. *cembroides*, IBUNAM, 2016), el cual tiene además hojas resinosas y hasta pegajosas y más curvadas comparadas con *P. orizabensis*. Más aún, Bailey (1983) señaló diferencias en las características de la corteza de árboles maduros, que es delgada con interior de color naranja y ligeras fisuras en *P. orizabensis*, mientras que *P. cembroides s.l.* posee corteza amarillenta y con fisuras transversales profundas.

Posteriormente, Bailey y Hawksworth (1992) con los datos anteriores y las diferencias en la composición de terpenos (Zavarin y Snajberk, 1985), propusieron elevar el taxón a nivel de especie, *Pinus orizabensis*. Este pino presenta menos del 1 % del terpeno 3-careno del total, a diferencia de *P. cembroides* donde por lo general se presenta en alrededor de 10 %

(Zavarin y Snajberk, 1985). El intervalo altitudinal en *P. cembroides* es de 1700-2400 m, en *P. orizabensis* de 2300-2700 m; (Bailey, 1983; Bailey y Hawksworth, 1992).

Ambas especies son útiles para reforestación en ecosistemas degradados en zonas semiáridas de 800 a 2800 m s.n.m. con precipitación menor a la requerida por otros pinos (Mohedano *et al.*, 1999), poseen alto potencial adaptativo, y tienen capacidad para establecerse en suelos poco profundos, de pH 4 a 8 (Carrillo, 2009). Las dimensiones óptimas para el establecimiento en campo de plantas de *P. cembroides* se han definido con diámetro  $\geq 5$  mm y altura de 15 a 20 cm por la Norma Oficial Mexicana NMX-AA-170-SCFI-2014 (Secretaría de Economía, 2014).

Las características morfológicas que se evalúan con mayor frecuencia para determinar la calidad de las plántulas son la altura, el diámetro, la arquitectura del tallo e indicadores como la relación tallo/raíz, llamado índice de esbeltez, que es una medida de vigor (Thompson, 1985; Duryea, 1984). El diámetro es la característica principal que se relaciona con la supervivencia en campo y es afectado por el sustrato, la fertilización y el riego (Hernández *et al.*, 2014; Aguilera-Rodríguez *et al.*, 2016). Los requerimientos de humedad se incrementan considerablemente si la parte aérea es grande, a mayor superficie foliar mayor transpiración, lo que implica menor capacidad de establecimiento, en comparación con plantas de menor altura y mayor diámetro (Santiago *et al.*, 2007).

El objetivo del estudio presente fue determinar diferencias entre ambas taxa y sus procedencias en las características morfológicas en las plántulas, bajo la hipótesis que a nivel de plántulas existen diferencias morfológicas entre las especies y procedencias en prueba, que ayuden a identificarlas en vivero.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El germoplasma se recolectó en cinco poblaciones naturales de *P. cembroides* y *P. orizabensis* en los años 2014 y 2015 (Cuadro 4.1). En cada procedencia se seleccionaron 15 árboles sanos con buena conformación de copa a una distancia mínima de 50 m entre ellos; el número de conos recolectados varió de 10 a 15 por individuo. Se realizó el beneficio de los estróbilos y se formaron lotes masales para cada procedencia.

**Cuadro 4.1.** Ubicación de las poblaciones de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis* incluidas en el estudio presente.

Población	Latitud N <sup>†</sup>	Longitud O	Elevación (m s.n.m.)	Temp. °C <sup>‡</sup>	Precip. mm <sup>‡</sup>
<i>Pinus cembroides</i>					
El Membrillo, Cadereyta, Qro.	20° 48' 31.95"	99° 38' 44.52"	2,633	14.8	841
El Jagüey, Zimapán, Hgo.	20° 47' 58.33"	99° 13' 49.33"	2,395	17.2	670
<i>Pinus orizabensis</i>					
Tepeyahualco, Tepeyahualco, Pue.	19° 30' 25.60"	97° 30' 26.27"	2,417	14.0	573
Rancho Domínguez, El Carmen, Tlax.	19° 24' 01.28"	97° 42' 44.39"	2,671	13.1	565
Las Cuevas, Altzayanca, Tlax.	19° 22' 44.30"	97° 43' 02.10"	2,479	13.8	491

<sup>†</sup>Coordenadas del centro de cada localidad con un geoposicionador Garmin® etREX® 10 Datum WGS84. <sup>‡</sup>Temperatura media anual y Precipitación media anual con ANUSPLIN, software para modelar datos en superficies geográficas considerando la latitud (Sáenz-Romero, 2011).



## Producción de planta

La semilla se desinfectó en una solución de hipoclorito de sodio (0.25 %), utilizando cloro comercial, con un tiempo de inmersión de 5 minutos, seguido de un lavado abundante con agua corriente. La testa se escarificó con Peróxido de Hidrógeno (al 3 % en la forma comercial) por dos minutos. Posteriormente, la semilla se dejó en remojo por 12 h en agua destilada previo a la siembra. La germinación se realizó en cajas de plástico rígido transparente de 20 x 27 x 12 cm con tapa de cierre hermético, con sustrato esterilizado de agrolita y turba en una proporción 1:1.

El trasplante se realizó 10 días después de la siembra a tubetes individuales de 310 ml suspendidos en porta tubetes de 54 cavidades, densidad de 225 plantas/m<sup>2</sup> y sustrato integrado por la mezcla 2/5 turba, 1/5 agrolita, 1/5 vermiculita, 1/5 corteza, y fertilizante de lenta liberación osmocote (15-9-12) dosis de 4 g/l. Durante seis meses se aplicó riego tres veces por semana con agua corriente de un pH 5.3 a 5.5, posteriormente dos veces por semana durante la temporada de estiaje y uno por semana en temporada húmeda, las plantas se mantuvieron los primeros seis meses en invernadero con temperatura oscilante entre 14 y 31 °C, después quedó al aire libre.

Para evitar el ataque de hongos se aplicó una solución de captan 1 g/l una vez por semana por los primeros tres meses. Para el control de larva de la mosca fungosa, *Lycoriella ingenua* Dufour, se aplicó 0.5 g/l de *Bacillus thuringiensis* Berliner en el tercer mes, en intervalos de dos semanas cada aplicación, simultáneamente para el control de adultos se aplicó sobre las planta y en las estructuras circundantes 4 ml/ de imidacloprid.

## **Variables**

El número de hojas cotiledonares se contabilizó un mes después del trasplante. A los dos meses de edad se determinó la altura del hipocótilo, midiendo la distancia desde el cuello de la raíz hasta la parte inferior de los cotiledones con aproximación a 1 mm y se observó el color de hojas primarias. A los seis y 15 meses de edad se midió la altura y el diámetro al cuello de la raíz de plántula; la primera se determinó como la distancia desde el cuello de la raíz hasta la yema apical con aproximación a 1 mm, y la segunda con un calibrador digital, con aproximaciones a 1 y 0.01 mm, respectivamente.

A los 15 meses se determinó el número de ramas y el índice de esbeltez, esto es la relación de la altura entre el diámetro (cm/mm), como una medida de vigor (Thompson, 1985), a menor valor indica mayor vigor de la plántula, ya que se considera deseable reforestar con plantas proporcionalmente grandes en diámetros (Santiago *et al.*, 2007). Además, se determinó la tasa de crecimiento mensual en altura y diámetro usando la diferencia entre las mediciones a seis y 15 meses entre nueve meses, en este caso (Sandoval *et al.*, 2000).

## **Análisis estadístico**

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, evaluándose 192 plantas de dos procedencias de *P. cembroides* y 310 de tres procedencias de *P. orizabensis*. El procedimiento MIXED del paquete SAS<sup>®</sup> se usó para el análisis estadístico (Littell *et al.*, 1996). El modelo utilizado para probar diferencias entre especies y procedencias:

$$Y_{ijk} = \mu + E_i + P_{j(i)} + E_{ijk}$$

Donde  $Y_{ijk}$  es el valor observado del k-ésima planta de la j-ésima procedencia de la i-ésima especie,  $\mu$  es la media general,  $E_i$  es el efecto fijo de la i-ésima especie,  $P_{j(i)}$  es el efecto fijo de la k-ésima procedencia dentro de la j-ésima especie, y  $E_{ijk}$  es el error experimental. El número de cotiledones resultó normal en la prueba de normalidad realizada con el procedimiento UNIVARIATE del SAS (SAS Institute, 2003). Sin embargo, se realizó además una prueba de Chi-cuadrada para probar proporciones especificadas en el número de hojas cotiledonares por tratarse de una variable numérica con valores enteros, en este caso se probó si la frecuencia en los número de cotiledones en *P. cembroides* son las mismas que en *P. orizabensis* mediante el programa INFOSSTAT/E versión 2016e (Balzarini *et al.*, 2001).

## RESULTADOS Y DISCUSION

El análisis de varianza determinó diferencias significativas en el número de hojas cotiledonares entre especies y procedencias con  $p < 0.05$  (Cuadro 4.2). *P. orizabensis* posee mayor número de cotiledones. Las plántulas de Tepeyahualco (*P. orizabensis*) fueron las de mayor número de hojas cotiledonares y las de menor número de hojas corresponden a las de la procedencia de Zimapán, que es de *P. cembroides* (Cuadro 4.3).

**Cuadro 4.2.** Análisis de varianza del número de cotiledones de plántulas y longitud del hipocótilo de plántulas de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis*.

Efecto	†G.L. Núm.	G.L. Den.	Número de cotiledones		Longitud de hipocótilo	
			Valor F	Pr > F	Valor F	Pr > F
Especie	1	497	4.71	0.0300	1.86	0.1737
Procedencia	3	497	8.57	0.0001	28.15	<0.0001

†G.L. = grados de libertad del numerador y denominador.

**Cuadro 4.3.** Número de hojas cotiledonares y longitud del hipocótilo en plántulas de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis*.

Especie / procedencia	Número de cotiledones	Longitud de hipocótilo
	media ± e.e.	media ± e.e. †
<i>P. cembroides</i>	10.85 ± 0.09 b	36.2 ± 0.60 a
<i>P. orizabensis</i>	11.11 ± 0.07 a	35.2 ± 0.46 a
<b><i>P. cembroides</i></b>		
Cadereyta	11.16 ± 0.14 b	32.1 ± 0.88 b
Zimapán	10.54 ± 0.13 c	40.3 ± 0.81 a
<b><i>P. orizabensis</i></b>		
Altzayanca	11.03 ± 0.13 b	33.8 ± 0.78 b
El Carmen	10.81 ± 0.13 b	39.1 ± 0.79 a
Tepeyahualco	11.51 ± 0.13 a	32.6 ± 0.83 b

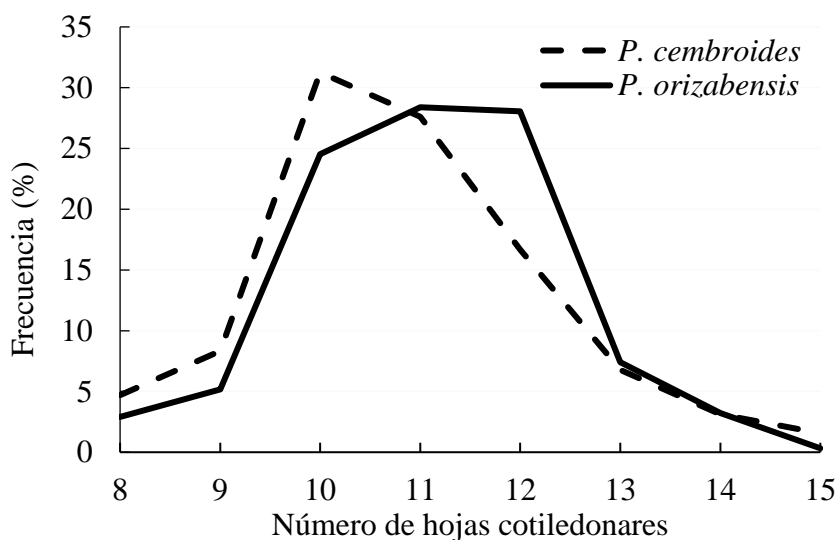
†e.e. error estándar. Letras diferentes en cada variable indican diferencias con  $p < 0.05$ .

Las plántulas de ambas especies tuvieron entre 8 y 15 cotiledones (Cuadro 4.4, Figura 4.1). Con la prueba de Chi cuadrada se detectó diferencias ( $p \leq 0.055$ ) entre las proporciones de cada cantidad, en *P. cembroides* las plantas tuvieron mayormente 10 y 11 cotiledones a diferencia de *P. orizabensis* donde presentaron principalmente 11 y 12 cotiledones, lo que explica que el promedio sea ligeramente mayor en *P. orizabensis* (Cuadro 2).

**Cuadro 4.4.** Porcentaje del número de hojas cotiledonares en plántulas de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis*.

Especie	Porcentaje por número de cotiledones							
	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>P. cembroides</i>	4.69	8.33	<b>31.25</b>	<b>27.60</b>	16.67	6.77	3.13	1.56
<i>P. orizabensis</i>	2.90	5.16	24.52	<b>28.39</b>	<b>28.06</b>	7.42	3.23	0.32

N = 192 y 310 plántulas, respectivamente por especie.



**Figura 4.1.** Frecuencia del número de hojas cotiledonares en plántulas de *Pinus cembroides* y *Pinus orizabensis*. N= 192 y 310 plántulas, respectivamente por especie.

El número promedio de cotiledones de *P. cembroides* de 10.85 es similar al reportado por Eguiluz *et al.* (1985) de 10.61. Esta cantidad es superior al reportado para *P. johannis* M.F. Robert (8.47), *P. monophylla* Torrey & Frémont (6.98) y *P. quadrifolia* Parlatores ex Sudworth (6.6), y menor que el reportado para *P. pinceana* (11.54), *P. nelsonii* Shaw (11.00) y *P. maximartinezii* Rzedowski (20.27). El número de cotiledones de *P. orizabensis* resulta más cercano al de *P. nelsonii* y *P. pinceana* Gordon (Eguiluz *et al.*, 1985).

La longitud del hipocótilo fue estadísticamente diferente sólo entre procedencias (Cuadro 4.2). En *P. cembroides* resultaron contrastantes las dos procedencias evaluadas, con 8 mm de diferencia entre ellas. En *P. orizabensis* las plantas de El Carmen fueron de mayor longitud de hipocótilo que las otras dos procedencias (Cuadro 4.3). No se determinó alguna relación entre la ubicación, elevación, y clima de estas localidades y todas las variables evaluadas.

**Cuadro 4.5.** Análisis de varianza de diámetro al cuello y altura de plántula de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis* a seis y 15 meses de edad.

Efecto	Diámetro al cuello de la raíz				Altura			
	6 meses		15 meses		6 meses		15 meses	
	Valor F	Pr >F	Valor F	Pr >F	Valor F	Pr >F	Valor F	Pr >F
Especie	61.21	0.0001	57.48	0.0001	35.70	0.0001	12.66	0.0004
Procedencia	21.52	0.0001	8.11	0.0001	12.32	0.0001	8.73	0.0001

G.L. Numerador =1 para especie y 3 procedencias, G.L. del denominador = 483 en ambos casos.

Las plantas presentaron diferencias significativas entre especies y procedencias en las variables de altura y diámetro al cuello de la raíz a seis y quince meses de edad (Cuadro 4.5). A la edad de seis meses las plantas de *P. cembroides* resultaron en promedio 0.43 mm mayor en diámetro que las de *P. orizabensis*; sin embargo, la altura fue 1.11 cm mayor en ésta última (Cuadro 4.6). Las plantas de *P. cembroides* de Cadereyta resultaron ser las de mayor diámetro en el sexto mes, y al contrario las plantas que tuvieron menor diámetro fueron las de *P. orizabensis* de Tepeyahualco. En la altura de la planta son estas mismas procedencias las que presentan los valores extremos pero en orden invertido; es decir, la planta de Tepeyahualco presentó el mayor valor y la procedente de Cadereyta el menor valor, con una diferencia de 2.34 cm entre ellas (Cuadro 4.6).

**Cuadro 4.6.** Valores promedios y error estándar del diámetro al cuello de la raíz y altura en plántulas de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis* a seis y 15 meses de edad.

Especie / procedencia	Diámetro al cuello de la raíz (mm)		Altura (cm)	
	6 meses	15 meses	6 meses	15 meses
<i>P. cembroides</i>	4.91 ± 0.04 a	8.69 ± 0.09 a	11.63 ± 0.15 b	17.70 ± 0.26 b
<i>P. orizabensis</i>	4.48 ± 0.03 b	7.92 ± 0.06 b	12.74 ± 0.11 a	18.77 ± 0.19 a
<b><i>P. cembroides</i></b>				
Cadereyta	5.21 ± 0.06 a	8.91 ± 0.12 a	10.85 ± 0.22 c	17.10 ± 0.34 c
Zimapán	4.62 ± 0.06 b	8.47 ± 0.11 b	12.40 ± 0.20 b	18.29 ± 0.33 b
<b><i>P. orizabensis</i></b>				
Altzayanca	4.65 ± 0.06 b	8.29 ± 0.11 b	12.35 ± 0.19 b	18.57 ± 0.33 b
El Carmen	4.51 ± 0.06 b	7.76 ± 0.11 c	12.67 ± 0.20 b	17.85 ± 0.33 b
Tepeyahualco	4.29 ± 0.06 c	7.71 ± 0.11 c	13.19 ± 0.20 a	19.91 ± 0.34 a

Letras diferentes en cada sección indican diferencias,  $p < 0.05$ .

A los 15 meses de edad se mantuvo la diferencia entre especies y procedencias en las variables diámetro y altura (Cuadro 4.5). El diámetro fue 0.77 mm superior en *P. cembroides*, y la altura 1 cm mayor en *P. orizabensis*. De la misma forma entre procedencias, los valores extremos se presentaron en las plantas de Cadereyta y Tepeyahualco, siendo las de la primera procedencia las de mayor diámetro pero menor altura, de manera inversa, las de Tepeyahualco fueron las plantas de menor diámetro y mayor altura (Cuadro 4.6). Estas diferencias a seis y 15 meses sugieren que si la planta invierte sus recursos en desarrollar diámetro del tallo, el crecimiento en altura se ve afectado y viceversa; en las plantas xerofíticas tienden a desarrollar diámetro con mayor rapidez ya que el tallo sirve de reservorio de agua, así mismo al minimizar el desarrollo aéreo disminuye la transpiración (González, 2012), aunque no se determinó una relación de estas variables con los valores climáticos de cada localidad.

Las diferencias entre el número de ramas fueron significativo sólo entre procedencias (Cuadro 4.7), destacando las plántulas de Altzayanca como las de mayor número de ramas, con 0.75 más que la de Tepeyahualco, la de menor número, ambas de *Pinus orizabensis* (Cuadro 4.8). Entre especies se determinaron diferencias estadísticamente significativas en el índice de esbeltez y la tasa de crecimiento en diámetro (Cuadro 4.7). El índice de esbeltez de las plántulas de *P. cembroides* indica que son más vigorosas que las de *P. orizabensis*, de la misma forma la tasa de crecimiento mensual en diámetro fue 0.037 mm superior en *P. cembroides* (Cuadro 4.8). Entre procedencias las diferencias fueron significativas entre el índice de esbeltez y la tasa de crecimiento en altura y diámetro, las plántulas más vigorosas fueron las de *P. cembroides* producidas con semilla de Cadereyta, y las que presentaron



menor vigor las producidas de Tepeyahualco de *P. orizabensis*, sin embargo la de ésta última procedencia son las que presentan mayor tasa de crecimiento mensual en altura.

**Cuadro 4.7.** Análisis de varianza de índice de esbeltez (IE), tasa de crecimiento en altura (TCA) y tasa de crecimiento en diámetro (TCD) de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis*.

Efecto	No. de ramas		IE (cm/mm)		TCA		TCD	
	Valor F	Pr > F	Valor F	Pr > F	Valor F	Pr > F	Valor F	Pr > F
Especie	0.01	0.9067	14.8	0.0002	0.05	0.8296	7.61	0.0070
Procedencia	3.45	0.0166	15.51	0.0001	4.18	0.0065	2.55	0.0499

**Cuadro 4.8.** Valores promedio y error estándar del número de ramas, índice de esbeltez (IE), tasa de crecimiento en altura (TCA) y tasa de crecimiento en diámetro (TCD) de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis* a los 15 meses de edad.

Especie / procedencia	Número de ramas	IE (cm/mm)	TCA (cm)	TCD (mm)
<i>P. cembroides</i>	3.42 ± 0.12 a	2.12 ± 0.06 b	0.677 ± 0.03 a	0.419 ± 0.01 a
<i>P. orizabensis</i>	3.44 ± 0.10 a	2.41 ± 0.06 a	0.669 ± 0.03 a	0.382 ± 0.01 b
<b><i>P. cembroides</i></b>				
Cadereyta	3.48 ± 0.18 b	1.99 ± 0.07 c	0.698 ± 0.04 a	0.411 ± 0.02 b
Zimapán	3.36 ± 0.17 b	2.24 ± 0.07 b	0.656 ± 0.04 a	0.426 ± 0.01 a
<b><i>P. orizabensis</i></b>				
Altzayanca	3.86 ± 0.17 a	2.26 ± 0.07 b	0.694 ± 0.04 a	0.409 ± 0.01 b
El Carmen	3.35 ± 0.17 b	2.34 ± 0.07 b	0.566 ± 0.04 b	0.357 ± 0.01 c
Tepeyahualco	3.11 ± 0.18 b	2.62 ± 0.07 a	0.748 ± 0.04 a	0.379 ± 0.02 c

Letras diferentes en cada variable indican diferencias significativas con  $p < 0.05$ .

La mayor cantidad de hojas cotiledonares y el mayor índice de esbeltez de *P. orizabensis* indican que su desarrollo es más propicio en zonas con mayor disposición de humedad, debido a que con mayor superficie foliar se tendrá mayor tasa de transpiración.

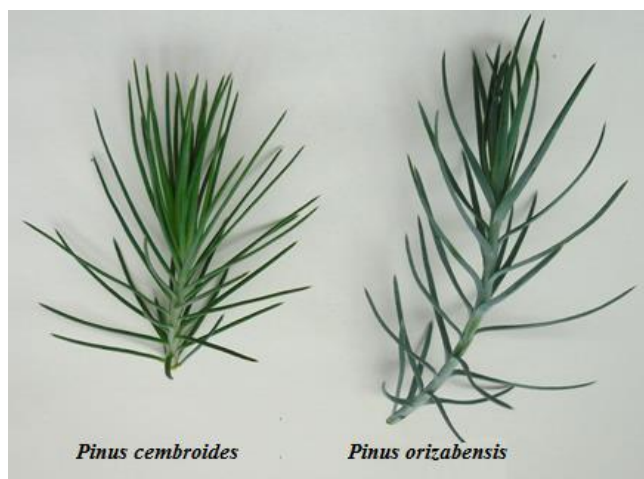
En *P. cembroides* los valores promedio obtenidos de diámetro y altura (4.91 mm y 12.74 cm respectivamente) a los seis meses fueron superiores a los reportados en un estudio donde se analizó la respuesta de seis procedencias de la misma especie a los ocho y once meses, incluso superaron los valores reportados para las plantas de once meses (González *et al.*, 2005).

La tasa de crecimiento mensual en altura de *Pinus cembroides* de éste estudio resultó menor a la registrada por Sandoval *et al.* (2000) donde planta de la misma especie producida en un vivero de San Luis Potosí alcanzó un incremento mensual de 1.52 cm, evaluada durante cuatro meses con riego no limitado y sustrato tierra lama 100 %; en el mismo experimento se registró una tasa de crecimiento en diámetro 0.03 mm/mes que es menor al desarrollo mensual en diámetro registrado en este estudio, a los 15 meses de edad de las plántulas.

*Pinus cembroides* Zuccarini y *P. orizabensis* D.K. Bailey y Hawksworth son dos pinos piñoneros alopátricos con aparentes similitudes morfológicas, no obstante los resultados de ésta investigación indican diferencias a nivel de plántulas que pueden ser útiles en su diferenciación en vivero. Ambas especies sobrepasaron los estándares de calidad indicados por la Norma Oficial Mexicana NMX-AA-170-SCFI-2014, y es probable que los valores requeridos en diámetro y altura se logren en máximo 12 meses bajos las condiciones de producción realizadas.

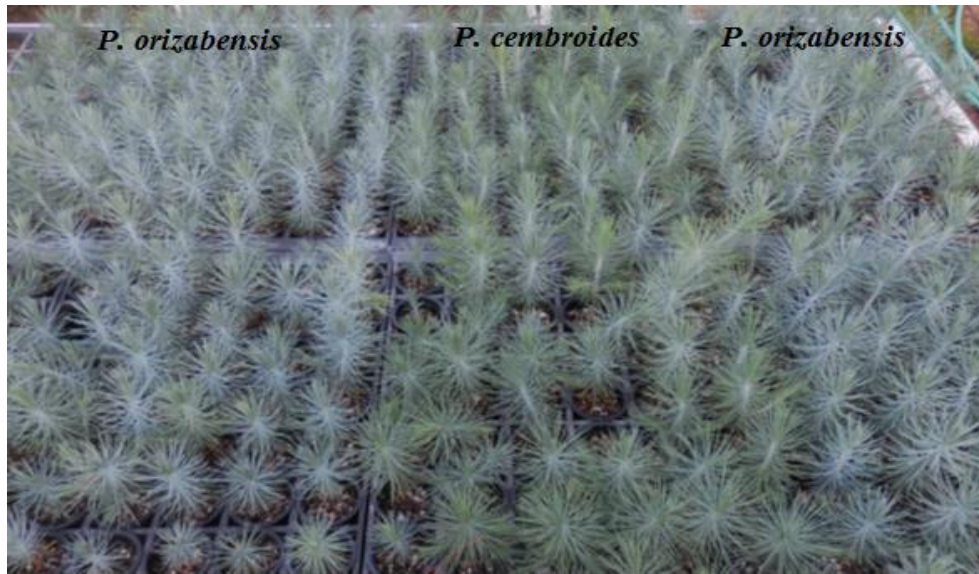
Los valores diferenciados del índice de esbeltez indican que no es recomendable utilizar estos piñoneros de manera indistinta para la reforestación. El desarrollo de las plantas fue diferente bajo las mismas condiciones, lo que sugiere que su desarrollo en campo también difiere. Es probable que las plantas de *P. cembroides* resistan condiciones más adversas que las de *P. orizabensis* ya que tienen mayor vigor y diámetro de la planta, que determina desarrollo y conformación de raíces, la resistencia al viento a las deficiencias de humedad y al ataque de plagas y enfermedades; a mayor diámetro la planta es más resistente tiene mayores posibilidades de desarrollo en campo (Santiago *et al.*, 2007).

De acuerdo con la tabla de colores de Munsell para tejidos vegetales, *P. cembroides* se clasifica en la tabla de colores 7.5GY tentativamente en los colores 5-6/4 y para *P. orizabensis* la clasificación corresponde a la tabla 2.5G en el color 7/2 (Figura 4.2)



**Figura 4.2.** Coloración de hojas primarias de plántulas de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis*.

Lo que coincide con lo reportado por Bailey y Hawksworth (1992), al observar las plantas producidas se puede diferenciar entre ambas especies por el tono de las hojas primarias (Figura 4.3), además de la textura de la hoja que hace más punzante el ápice de las hojas de *Pinus orizabensis*.



**Figura 4.3.** Diferencia de color de hojas primarias de plántulas de *Pinus cembroides* y *P. orizabensis*

## CONCLUSIONES

Se determinaron diferencias estadísticamente significativas entre especies en número promedio de cotiledones, *P. cembroides* posee 10.85, mayormente entre 10 y 11 y *P. orizabensis* 11.11, principalmente 11 y 12, aunque las dos especies tuvieron entre 8 y 15 hojas cotiledonares, con muy baja frecuencia en ambos extremos. En el diámetro del cuello de la raíz a los seis y 15 meses fue superior *P. cembroides*, en cambio la altura, fue superior *P. orizabensis*. La tasa de crecimiento mensual en diámetro fue mayor en *P. cembroides*, lo que le propició mejor índice de esbeltez; es decir las plantas de este pino mostraron mayor vigor, lo que puede asociarse a una mayor capacidad de establecimiento en condiciones más limitadas que las de *P. orizabensis*. En cuanto a procedencias se detectaron diferencias en todas las variables, la planta de mejor índice de esbeltez de *P. cembroides* es la producida con semilla recolectada en Cadereyta Qro., y la de *P. orizabensis* fue la originada con semilla de Altzayanca Tlax.

El color de las hojas primarias es diferente en ambas especies, no obstante se requiere un estudio más detallado al respecto que estudie el color, la textura y la cantidad de ceras en las hojas primarias, esto último adquiere cierta relevancia ya que las plantas de estas especies mantienen estas hojas por más de doce meses.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES GENERALES

Entre especies y procedencias se determinaron diferencias significativas en todos los indicadores reproductivos. El potencial de producción de semilla es superior en *Pinus orizabensis*, sin embargo la eficiencia reproductiva fue mayor en *P. cembroides*. El índice de endogamia fue moderado en ambas poblaciones ligeramente mayor en *P. orizabensis*.

Las semillas de *P. cembroides* poseen mayor grosor de testa y menor tasa de absorción, es decir requieren más tiempo de imbibición. Los valores de viabilidad y de germinación fueron altos en todas las pruebas, *P. cembroides* germinó 88 % y las semillas de *P. orizabensis* 84 %.

Se determinaron diferencias significativas entre especies en número promedio de cotiledones, aunque las dos especies tuvieron entre 8 y 15 hojas cotiledonares, con muy baja frecuencia en ambos extremos, *P. cembroides* posee mayormente entre 10 y 11 a diferencia de *P. orizabensis* donde la mayor incidencia es 11 y 12 hojas, En el diámetro del cuello de la raíz a los seis y 15 meses fue superior *P. cembroides*, en cambio la altura, fue superior *P. orizabensis*. La tasa de crecimiento mensual en diámetro fue mayor en *P. cembroides*, lo que le propició mejor índice de esbeltez; es decir las plantas de este pino mostraron mayor vigor, lo que puede asociarse a una mayor capacidad de establecimiento en condiciones más limitadas que las de *P. orizabensis*

*Pinus cembroides* de Cadereyta, Querétaro, resultó ser la mejor población donde se obtuvo la mejor eficiencia reproductiva, menor índice de endogamia y alta eficiencia de producción de semilla así como mayor capacidad germinativa y vigor, además la planta

producida con semilla de ésta procedencia, presentó el menor índice de esbeltez; es decir el mayor vigor de las poblaciones estudiadas.

En *Pinus orizabensis* la mejor población de acuerdo a los indicadores reproductivos fue Altzayanca, Tlaxcala, no obstante la de mayor capacidad germinativa fue la de El Carmen, Puebla, pero con menor vigor, por ello se considera mejor fuente Altzayanca. Además la planta producida con semilla de ésta procedencia fue la más vigorosa de las tres poblaciones de este pino.

La semilla con testa color pardo tiene mayor capacidad de germinación en ambas especies, la semilla con testa de color negro posee testa más delgada, se hidrata y germina con mayor rapidez. Hace falta realizar un estudio con semilla de testa bicolor en *P. orizabensis*, ya que no se consideró en éste estudio por falta de semilla para las pruebas de germinación.

## CAPÍTULO VI LITERATURA CITADA

- Alba L., J. y J. Márquez R. 2006. Potencial y eficiencia de producción de semillas de *Pinus oaxacana* Mirov de los Molinos, Perote, Veracruz. *Foresta Veracruzana* 8(1): 31-36.
- Alba L., J., A. Aparicio R., y J. Márquez R. 2003. Potencial y eficiencia de producción de semillas de *Pinus hartwegii* Lindl. de dos poblaciones de México. *Foresta Veracruzana* 5: 25-28.
- Aguilera R., M., A. Aldrete, T. Martínez T., y V.M. Ordáz Ch. 2016. Producción de *Pinus montezumae* Lamb. con diferentes sustratos y fertilizantes de liberación controlada. *Agrociencia* 50: 107-118.
- Aldrete, A., J.G. Mexal y J. López U. 2005. Variación entre procedencias y respuesta a la poda química en plántulas de *Pinus greggii*. *Agrociencia* 39(5): 563-574.
- Bailey, D. K. 1983. A new allopatric segregate from and a new combination in *Pinus cembroides* Zucc. at its southern limits. *Phytologia* 54: 90.
- Bailey, D. K., and F. G. Hawksworth. 1992. Change in status of *Pinus cembroides* subsp. *orizabensis* (Pinaceae) from central Mexico. *Novon* 2: 306 -307.
- Balzarini, G. M., F. Casanoves, J. Di Rienzo A., L. González A. y C. Robledo W. 2001. InfoStat. Software Estadístico. Manual del Usuario. Versión 1. Córdoba, Argentina.



- Birchler, T., R. W. Rose, A. Royo y M. Pardos. 1998. La planta Ideal: Revisión del concepto, parámetros definitorios e implementación práctica. *Investigación Agraria. Sistemas y Recursos Forestales* 7(1 y 2): 109-121.
- Bonner, F. T., J. A. Vozzo, W. W. Elam, and S. B. Land. 1994. Tree Seed Technology Training Course. Instructor's Manual. General Technical Report SO-106. USDA Forest Service. New Orleans, Louisiana. 160 p.
- Bramlett, D. L., E. W. Belcher, G. L. DeBarr, J. L. Hertel, R. P. Karrfalt, C. W. Lantz, T. Miller, K. D. Ware, and H. O. III Yates. 1977. Cone analysis of southern pines: a guidebook. General Technical Report SE-13. USDA Forest Service. Ashville, NC. 28 p.
- Burney, O., A. Aldrete, R. Álvarez-Reyes, J. A. Prieto-Ruíz, J. R. Sánchez-Velázquez, and John G. Mexal. 2015. México-Addressing challenges to reforestation. *Journal of Forestry* 113(4): 404-413.
- Bustamante G., V., J. Á. Prieto R., E. Merlín B., R. Álvarez Z., A. Carrillo P. y J. C. Hernández D. 2012. Potencial y eficiencia de producción de semilla de *Pinus engelmannii* Carr., en tres rodales semilleros del estado de Durango, México. *Madera y Bosque* 18: 7-21.
- Carrillo F., J. A. 2009. Estructura y regeneración de *Pinus cembroides* subsp. *orizabensis* D.K. Bailey en Santa María las Cuevas, Tlaxcala. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Estado de México 64 p.
- CATIE. 1996. Memorias de curso para profesores in: Mejoramiento Genético, Selección y Manejo de Fuentes Semilleras y de Semillas Forestales. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 238 p.

- Cibrián T., D., y T. Méndez M. 1987. Manejo de plagas forestales en la producción de piñones  
*in*: Memorias del II Simposio Nacional sobre Pinos Piñoneros. CEMCA, UACH y  
Centro de Genética Forestal, México D.F.
- Delgado V., P. 1994. Evaluación de la capacidad productiva y eficiencia de semillas para tres  
especies del género *Pinus* (*P. montezumae* Lamb., *P. pseudostrobus* Lind. y *P.*  
*leiophylla* Schl. & Cham.), en la zona boscosa de Nuevo San Juan Parangaricutiro,  
Michoacán, México. Boletín de la Sociedad Botánica de México 54: 267-274.
- Duryea, M. L. 1984. Nursery cultural practices: impacts on seedlings quality. In: Duryea, M. L.  
and T. D. Landis (eds.). Forest Nursery Manual: Production of Bareroot Seedlings. W.  
Junk Publishers. Oregon State University, Corvallis, OR. pp: 143-164.
- Eguiluz P., T., A. Niembro R., y P. M. Pérez R. 1985. Estudio morfológico de las semillas de  
siete especies de piñoneros mexicanos. *In*: Memorias del Primer Simposio Nacional  
sobre Pinos Piñoneros. Universidad Autónoma de Nuevo León. pp: 53-68.
- Farjon, A., and B. Styles. 1997. *Pinus* (Pinaceae). Flora Neotropica Monograph 75. The New  
York Botanical Garden, Nueva York. 291 p.
- Flores-López, C., y J. L. Lemus S. 2000. Maduración de conos y estimación de semillas llenas  
de *Pinus catarinae* M. F. Robert-Passini. *In*: II Simposio sobre Avances en la  
Producción de Semillas Forestales en América Latina (18-22 de octubre, 1999). Santo  
Domingo, República Dominicana pp: 17-24.
- Flores-López, C., S. Aguilar A., S. Valencia M., y E. H. Cornejo O. 2003. Potencial y eficiencia  
de semillas en tres poblaciones naturales de *Pinus johannis* M. F. Robert. *In*: Avances

- y Resultados de Proyectos de Investigación. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (Ed.). Saltillo, Coahuila. pp: 410-417.
- Flores-López, C., J. López U., y J. J. Vargas H. 2005. Indicadores reproductivos en poblaciones naturales de *Picea mexicana* Martínez. *Agrociencia* 39: 117-126.
- Flores-López, C., G. Geada L., J. López U., y E. López R. 2012. Producción de semillas e indicadores reproductivos en poblaciones naturales de *Picea martinezii* T.F. Patterson. *Revista Forestal Baracoa* 31(2): 49-58.
- Fonseca J., R. M. 2003. De piñas y piñones. Facultas de Ciencias. Universidad Autónoma de México. *Ciencias* 69: 64-65.
- García F., E., E. O. Ramírez G., L. C. Mendizábal H., J. Alba L., y J. Márquez R. 2014. Parámetros de producción de semillas de *Pinus cembroides* subsp. *orizabensis* D.K. Bailey de una plantación en la región de Perote, Veracruz México. *Foresta Veracruzana* 16(2): 37 – 42.
- Gernandt, D. S., A. Liston, and D. Piñero. 2003. Phylogenetics of *Pinus* Subsections *Cembroides* and *Nelsoniae* inferred from cpDNA sequences. *Systematic Botany* 28(4): 657 – 673.
- González A., J., E. García M., V. M. Cetina A., J. J. Vargas H., A. Trinidad S., y A. Romero M. 2005. Variación morfológica e índice de calidad en plantas de *Pinus cembroides* var. *cembroides* Zucc. *Ciencia Forestal en México* 30 (97): 29 – 44.

- González M., F. 2012. Las Zonas Áridas y Semiáridas de México y su Vegetación. Secretaria de Medio Ambiente, Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. México. pp: 53-57.
- Granados V., R. L., D. Granados S., y A. Sánchez G. 2015. Caracterización y ordenación de los bosques de pino piñonero (*Pinus cembroides* subsp. *orizabensis*) de la cuenca oriental (Puebla, Tlaxcala y Veracruz). *Madera y Bosques* 21(2): 23 – 42.
- Hernández M., M. M., J. Islas G., y V. Guerra de la C. 2011. Márgenes de comercialización del piñón (*Pinus cembroides* subsp. *orizabensis*) en Tlaxcala, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2: 265-279.
- Hernández S., P., C. Flores L., y S. Valencia M. 2006. Producción de semilla en ocho poblaciones naturales de *Pinus pinceana* Gordon. *In: XXI Congreso Nacional y Iero Internacional de Fitogenética*. 3 al 8 de septiembre del 2006. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. p. 299.
- Hernández Z., L., A. Aldrete, V.M. Ordaz Ch., J. López U. y M.Á. López L. 2014. Crecimiento de *Pinus montezumae* Lamb. en vivero influenciado por diferentes mezclas de sustratos. *Agrociencia* 48: 627-637.
- IBUNAM. 2016. Departamento de Botánica, Instituto de Biología (IBUNAM), *Pinus cembroides* subsp. *cembroides* Zucc., ejemplar de: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas Vasculares. Portal de Datos Abiertos en línea, Universidad Nacional Autónoma de México. <http://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:190809>

- ISTA International Seed Testing Association. 1999. International Rules for Seed Testing. Seed Science & Technology Supplement. Zurich, Switzerland. 333p.
- Jiménez H., L. 2015. Indicadores reproductivos de conos, semillas y plántulas para dos años de colecta de *Pinus maximartinezii* Rzedowski en Juchipila, Zacatecas. Tesis UAAAN. Saltillo, Coahuila. 59 p.
- Kolotelo, D., E. van Steenis, M. Peterson, R. Bennett, D. Trotter, and J. Dennis. 2001. Seed Handling Guidebook. Ministry of Forests, Tree Improvement Branch. British Columbia, Canada. Biometry: The Principles of Practice of Statistics in Biological Research. 106 p.
- Landis, T. D., R. W. Tinus, and J. P. Barnett. 2014. Manual de Viveros para la Producción de Especies Forestales en Contenedor. Vol. 6. Propagación de las Plantas. Comisión Nacional Forestal, Zapopan, Jal. pp: 71-96.
- Littell, R. C., G. A. Milliken, W. W. Stroup, and R. D. Wolfinger. 1996. SAS System for Mixed Models. SAS, Cary. NC. 633 p.
- López U., J., and J. K. Donahue. 1995. Seed production of *Pinus greggii* Engelm. in natural stands in México. Tree Planter's Notes 46(3): 86 – 92.
- Mápula L., M., J. López U., J.J. Vargas H., y A. Hernández L. 2008. Germinación y vigor de semillas en *Pseudotsuga menziesii* de México. Ra Ximhai 4(1): 119 – 134.
- Mápula L., M., J. López U., J. J. Vargas H., and A. Hernández L. 2007. Reproductive indicators in natural populations of *Douglas fir* in Mexico. Biodiversity and Conservation 16: 727–742.

- Martínez N., F., P. Garza L., y R. Reyes C., 1987. Caracterización radiográfica en la morfología y germinación de *Pinus cembroides* Zucc. y *P. johannis* M.-F. Robert. In: Memorias del II Simposio Nacional sobre Pinos Piñoneros. Passini M.-F. (Comp.). Centre d'Etudes Mexicaines et Centramericaines, Universidad Autónoma Chapingo, Centro de Genética Forestal, A. C. México.
- Martínez, M. 1948. Los Pinos Mexicanos. Ediciones Botas. México, D.F. 361 p.
- Mexal, J. G. 1996. Forest nursery activities in Mexico. National Proceedings, Forest and Conservation Nursery Associations. Pacific Northwest Research Station. General Technical Reports. USDA, Forest Service. 39: 228-232.
- Mohedano C., L., V. M. Cetina A., G. Vera C., y R. Ferrera. C. 1999. Micorrización y poda aérea en la calidad de planta de pino piñonero en invernadero. Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 5: 141-148.
- Morales V., M. G., C. A. Ramírez M., P. Delgado V., y J. López U. 2010. Indicadores reproductivos de *P. leiophylla* Schltdl. et Cham. en la Cuenca del Rio Angulo, Michoacán. Revista Mexicana de Ciencias Forestales 1: 31 – 38.
- Mosseler, A., J. E. Major, J. D. Simpson, B. Daigle, K. Lange, Y. S. Park, K. H. Johnsen, and O. P. Rajora. 2000. Indicators of population viability in red spruce, *Picea rubens*. I. Reproductive traits and fecundity. Canadian Journal of Botany 78: 928 – 940.
- Orozco G., G., H. J. Muñoz F., A. Rueda S., J. A. Sígala R., J. A. Prieto R., y J. J. García Magaña. 2010. Diagnóstico de la calidad de planta en los viveros forestales del estado de Colima. Revista Mexicana Ciencia Forestal 1 (2): 134 – 145.

- Perry, J. P. 1991. The Pines of Mexico and Central America. Timber Press. Portland, Oregon. 231p.
- Prieto R., J. A., G. Vera C., y E. Merlín B. 1999. Factores que Influyen en la Calidad de Brinzales y criterios para su Evaluación en Vivero. Folleto Técnico N°12. INIFAP. Durango, México. 23p.
- Robert-Passini, M. F. 1981. Deux nouveaux pins pignons du Mexique. Bulletin du Museum National d'Histoire Naturelle Paris 4e série, section B, Andersonia Botanique Phytochimie 1: 61 – 73.
- Romero G., O. G., J. González A., V. M. Cetina A., y L. Mohedano C. 2005. Variación morfológica de conos y semillas de cinco poblaciones de *Pinus cembroides* Zucc. In: VII Congreso Mexicano de Recursos Forestales. 26-28 de Octubre. Chihuahua, Chih. pp: 531 – 532.
- Romero M., A., E. García M., y M-F. Passini. 1996. *Pinus cembroides* s.l. y *Pinus Johannis* del Altiplano Mexicano: una síntesis. Acta Botánica Gallica 143: 681 – 693.
- Ronco, F. P., Jr. 1990. *Pinus edulis* Engelm. pinyon. In: Burns, R. M., B. H. Honkala (Techn. Coor.). Silvics of North America. Volume 1. Conifers. Agric. Handb. 654. USDA, Forest Service. pp: 327 – 337.
- Sáenz Romero, C. 2011. Guía para mover altitudinalmente semillas y plantas de *Pinus oocarpa*, *P. devoniana* (= *P. michocana*), *P. pseudostrobus*, *P. patula* y *P. hartwegii* para restauración ecológica, conservación, plantaciones comerciales, y adaptación al cambio climático. Grupo de Trabajo sobre Recursos Genéticos Forestales, Comisión

Forestal de América de Norte (COFAN). CONAFOR. 6 p. (<http://www.fs.fed-us/global/nafc/genetics/activities.htm>).

Sánchez R., G., S. Ledezma P., H. Suzán A. y J. Flores L. 1991. Utilización de la técnica de análisis de conos aplicada en semillas de *Pinus nelsonii* Shaw, provenientes de Miquihuana, Tamaulipas. *In: Memorias del IV Simposio Nacional sobre Pinos Piñoneros*. UAT-CTCT-UANL. pp: 89 – 95.

Sánchez T., V., L. C. Mendizábal H., y V. Rebolledo C. 2002. Variación en conos y semillas de *Pinus cembroides* subsp. *orizabensis* D.K. Bailey de Las Cuevas, Altzayanca, Tlaxcala. *Foresta Veracruzana* 4: 25 – 30.

Sánchez T., V., M. L. Nieto P., y L. C. Mendizábal H. 2005. Producción de semillas de *Pinus cembroides* subsp. *orizabensis* D.K. Bailey de Altzayanca, Tlaxcala, México. *Foresta Veracruzana* 7: 15 – 20.

Sandoval M., C., V. M. Cetina A., R. Yeaton y L. Mohedano C. 2000. Sustratos y polímeros en la producción de planta de *Pinus cembroides* Zucc. bajo condiciones de invernadero. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 6(2): 143 – 150.

Santiago O., T., V. Sánchez M., R. Monroy C. y S. García G. 2007. Manual de Producción de Especies Forestales Tropicales en Contenedor. INIFAP. CIRGOC. Campo Experimental El Palmar. Folleto Técnico No. 44. Tezonapa, Ver. México. 73 p.

SAS Institute. 2003. The SAS System for Windows 9.0. SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA.

Schemske, D. W., and R. Lande. 1985. The evolution of self - fertilization and inbreeding depression in plants. II. Empirical observations. *Evolution* 39: 41 – 52.



- Secretaría de Economía. 2014. Norma Oficial Mexicana NMX-AA-170-SCFI-2014. Certificación de la Operación de Viveros Forestales. Secretaría de Economía. México, D.F. 185 p.
- Sokal, R. R., and F. J. Rohlf. 1981. *Biometry: The Principles of Practice of Statistics in Biological Research*. W.H. Freeman and Company. San Francisco. 776 p.
- Thompson, B. E. 1985. Seedling morphology: what you can tell by looking. In: Duryea, M. L. (ed.). *Evaluating Seedling Quality: Principles, Procedures and Predictive Abilities of Major Tests*. Forest Research Laboratory, Oregon State University. Corvallis, OR. pp: 59-71.
- Vargas P., E., y M. Vanegas L. 2012. Evaluación complementaria del PROCOREF-CONAFOR Ejercicio Fiscal 2011. Universidad Autónoma Chapingo. 325 p.
- Wolf, F. 1985. Algunas propiedades de la madera de *P. cembroides* Zucc. *In: Memorias del 1er Simposio Nacional Sobre pinos piñoneros*. J. E. Flores Lara (Ed.). Nuevo León, M Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Silvicultura y Manejo de Recursos Renovables. pp. 69 – 82.
- Yazdani, R., and D. Lindgren, 1991. The impact of self-pollination on production of sound selfed seeds. In: Fineschi, S., M. E. Malvolti, F. Cannata, and H. H. Hattemer (eds.). *Biochemical Markers in the Population Genetics of Forest Trees*. SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands. pp: 143 – 147.

Zavarin, E. 1987. Taxonomy of pinyon pines. *In*: Passini, M.F., D. Cibrián T., y T. Eguiluz P. (eds.). II Simposio Nacional sobre Pinos Piñoneros. Universidad Autónoma Chapingo, México. pp: 29 – 40.

Zavarin, E., and K. Snajberk. 1985. Monoterpenoid and morphological differentiation within *Pinus cembroides*. *Biochemical Systematics and Ecology* 13(2): 89 – 104.