



UNIVERSIDAD VERACRUZANA

INSTITUTO DE GENETICA FORESTAL

Evaluación del polen de la población de *Pinus hartwegii*
Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, México.

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN

ECOLOGÍA FORESTAL

PRESENTA

Yamilet Tivo Fernández

DIRIGIDA POR

Dra. Lourdes G. Iglesias Andreu

Xalapa, Veracruz, México

Septiembre del 2004

CONTENIDO

RESUMEN	ix
SUMMARY	x
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	4
3. HIPÓTESIS	4
4. REVISIÓN DE LITERATURA	5
4.1. Distribución y diversidad del género <i>Pinus</i> en México.	5
4.2. <i>Pinus hartwegii</i> Lindl.	8
4.2.1. Nombres comunes.	8
4.2.2. Ubicación taxonómica.	9
4.2.3. Distribución en México.	11
4.2.4. Características ecológicas.	14
4.2.5. Importancia.	18
4.2.6. Descripción botánica.	20
4.2.7. Ciclo de vida de la especie.	29
4.2.7.1. Principales causas que originan el aborto de las semillas durante su formación y desarrollo.	35
4.2.8. Variación.	36
4.3. Población de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, México.	39
4.3.1. Características edafoclimáticas.	39
4.3.2. Situación actual de la población.	49
4.4. Descripción botánica del polen.	55
4.4.1. Estudios palinológicos del polen en distintas especies forestales con referencia especial a <i>Pinus</i>	62
4.4.2. Caracterización de la viabilidad del polen en distintas especies forestales con referencia especial a <i>Pinus</i>	66
4.4.3. Capacidad germinativa del polen en diferentes especies forestales con referencia especial a <i>Pinus</i>	69
5. MATERIALES Y MÉTODOS	73
5.1. Área de estudio.	73
5.2. Selección de los árboles.	74

5.3. Colecta y beneficio del polen. -----	75
5.4. Análisis del polen de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	77
5.4.1. Estudios morfométricos. -----	77
5.4.2. Estudios de viabilidad. -----	81
5.4.2.1. Determinación de la viabilidad por métodos colorimétricos. ----	81
5.4.2.2. Determinación de la capacidad germinativa. -----	83
5.4.2.2.1. Determinación de la longitud del tubo polínico. -----	84
5.5. Análisis estadístico. -----	85
6. RESULTADOS -----	86
6.1. Análisis del polen de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	86
6.1.1. Análisis de la variación de las características morfométricas. -----	86
6.1.1.1. Análisis microestructural. -----	94
6.1.2. Análisis en la viabilidad. -----	95
6.1.2.1. Análisis de la variación en la viabilidad por métodos colorimétricos. -----	95
6.1.2.2. Análisis de la variación en la capacidad germinativa. -----	98
6.1.2.2.1. Análisis de la variación en el tubo polínico. -----	101
6.1.2.3. Análisis de correspondencias entre indicadores de viabilidad y capacidad germinativa del polen. -----	102
6.2. Análisis integral. -----	104
6.2.1. Análisis de conglomerado. -----	104
7. DISCUSIÓN -----	106
8. CONCLUSIONES -----	110
9. RECOMENDACIONES -----	111
10. LITERATURA CONSULTADA -----	112
11. ANEXO 1. Artículo publicado en Foresta Veracruzana. Revista semestral. Instituto de Genética Forestal, Universidad Veracruzana de Xalapa, Veracruz, México. Septiembre, 2003. Vol. 5 No. 2. pp 41-48. -----	146

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tipos de vegetación de México. -----	6
Figura 2. Árbol de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	9
Figura 3. Distribución de las poblaciones de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. en México. -----	11
Figura 4. Población de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. del Pico de Orizaba, Veracruz, México. -----	13
Figura 5. Árboles de la población de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. afectadas por las nevadas. -----	14
Figura 6. Bosque de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. del Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz, México. -----	15
Figura 7. Bosque de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. erosionado en el Pico de Orizaba, Veracruz, México. -----	16
Figura 8. Estructura del suelo del Cofre de Perote, Veracruz, México. -----	17
Figura 9. Población de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. del Pico de Orizaba ubicada a los mayores niveles altitudinales. -----	18
Figura 10. Características de la madera de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	19
Figura 11. Aprovechamiento de la madera de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	19
Figura 12. Corteza y anillos de crecimiento de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	20
Figura 13. Características del tronco y fuste de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	21
Figura 14. Bosque achaparrado de la población de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. del Pico de Orizaba, Veracruz, México. -----	22
Figura 15. Ramillas de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	23
Figura 16. Acículas y fascículos de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	23
Figura 17. Cono y primordio de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	24
Figura 18. a) y b) Conos de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	25
Figura 19. Tamaño del cono de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	25
Figura 20. Cono y semillas de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	26
Figura 21. Semilla de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	27
Figura 22. Características de las alas y semillas de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	27
Figura 23. a) y b) Almacenaje de las semillas de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	28
Figura 24. Microsporangios de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	30
Figura 25. Ciclo de vida del género <i>Pinus</i> . -----	32
Figura 26. Etapas en el desarrollo de los pinos. -----	33

Figura 27. Representación esquemática de posibles procesos de no disyunción meiótica a) No disyunción primaria y b) No disyunción secundaria. -----	36
Figura 28. Desastres ocasionados por factores naturales en la población de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	38
Figura 29. Distribución de los árboles en la población de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. en el Cofre de Perote, Veracruz, México. -----	38
Figura 30. Volcán del Cofre de Perote, Veracruz, México. -----	39
Figura 31. Bosque de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, México. -----	40
Figura 32. Localización del Cofre de Perote, Veracruz en México. -----	41
Figura 33. Población de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, México afectada por las heladas. -----	42
Figura 34. Nubosidad y precipitaciones en la población de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, México. -----	43
Figura 35. Escurrimientos superficiales en milímetros de la República Mexicana. -----	44
Figura 36. Vista del Volcán Cofre de Perote desde el ejido El Rosario. -----	45
Figura 37. La Peña en el Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz, México. -----	46
Figura 38. Tipo de vegetación presente en la región del Cofre de Perote, Veracruz, México. --	47
Figura 39. Perfil de vegetación del Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz, México. -----	47
Figura 40. a) y b) Deforestación de la población de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. en el Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz, México. -----	48
Figura 41. a) y b) Deforestación en el Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz, México. ---	49
Figura 42. a) y b) Perturbación natural del bosque de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	50
Figura 43. a) y b) Efecto de las talas clandestinas e incendios en la población de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, México. -----	51
Figura 44. a) y b) Bajo porcentaje de germinación y de viabilidad de las semillas de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	52
Figura 45. Subpoblaciones de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	54
Figura 46. Grano del polen binucleado. -----	55
Figura 47. Estados de germinación del grano del polen y desarrollo del tubo polínico. -----	56
Figura 48. Características estructurales del polen. -----	57
Figura 49. Eje polar y eje ecuatorial del grano de polen. -----	57
Figura 50. Sacos aéreos del polen que favorecen su dispersión en la naturaleza. -----	60
Figura 51. Polen de <i>Pinus</i> . -----	65

Figura 52. Grano de polen de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	66
Figura 53. Ubicación del área de estudio. -----	74
Figura 54. Colecta y manejo del polen. -----	76
Figura 55. Procedimiento experimental. -----	77
Figura 56. Método para acetólisis de polen. -----	78
Figura 57. Medición del polen de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	79
Figura 58. a) y b) Microscopio óptico Zeiss West Germany Fommy III; c) Microscopio electrónico de barrido JSM-5600LV. -----	80
Figura 59. a) y b) Medición del tubo polínico de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. en un microscopio marca Zeiss West Germany Fommy III. -----	81
Figura 60. Tinciones ocupadas para la determinación de la viabilidad del polen de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	82
Figura 61. Capacidad germinativa de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	83
Figura 62. Longitud del tubo polínico de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	84
Figura 63. a), b) y c) Variabilidad en el eje polar, eje ecuatorial y relación eje polar/eje ecuatorial del grano de polen evaluado en 15 árboles de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	89
Figura 64. a) y b) Granos de polen de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. con el mayor eje polar y eje ecuatorial del polen completo. -----	89
Figura 65. a) y b) Variabilidad en el eje polar y eje ecuatorial de las alas del polen evaluado en 15 árboles de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	90
Figura 66. a) y b) Polen de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. con el mayor eje polar y eje ecuatorial de las alas. -----	91
Figura 67. a), b) y c) Variabilidad en el eje polar, eje ecuatorial y espesor de la célula principal del grano de polen evaluado en 15 árboles de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	92
Figura 68. a), b) y c) Polen de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. con el mayor eje polar, eje ecuatorial y espesor de la célula principal. -----	93
Figura 69. Microfotografías al microscopio electrónico de barrido marca JSM-5600LV del polen de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. con aumento de 1 600x. -----	94
Figura 70. Viabilidad del polen de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. detectado por siete métodos de tinción (azul de toluidine en etanol, azul de algodón en lactofenol, aceto orceína, aceto carmín, solución iodada, cloruro de tetrazolio y pirogalol). -----	95
Figura 71. Microfotografías del polen con los diferentes métodos colorimétricos a un aumento de 200 x. -----	97

Figura 72. Capacidad germinativa del polen de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. a un aumento de 200x. ---	
-----	99
Figura 73. Representación gráfica de la viabilidad del polen con azul de toluidine en etanol y la capacidad germinativa durante los años 1 y 2. -----	100
Figura 74. Variabilidad en la longitud del tubo polínico evaluado en 15 árboles de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	102
Figura 75. Representación gráfica de los métodos empleados para determinar la viabilidad del polen en <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. mediante análisis de correspondencias simple. --	103
Figura 76. Dendrograma de la agrupación de los árboles sobre la base de características morfológicas y de viabilidad evaluadas en el primer año. -----	104
Figura 77. Análisis de distribución entre los grupos formados del año 1, mediante el método PAST. -----	105

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ubicación y rangos de altitud de las poblaciones de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	12
Tabla 2. Modelos del polen de acuerdo con su polaridad. -----	58
Tabla 3. Tipos de pólenes según la razón eje polar/eje ecuatorial (P/E). -----	58
Tabla 4. Tipos de pólenes según la longitud del eje mayor. -----	59
Tabla 5. Tipos de esculturas del polen. -----	60
Tabla 6. Estudios palinológicos realizados en distintas especies forestales. -----	63
Tabla 7. Empleo de diferentes indicadores de viabilidad del polen en distintas especies forestales. -----	67
Tabla 8. Capacidad germinativa del polen en diversas especies forestales. -----	71
Tabla 9. Modelo para determinar la variación morfométrica del polen de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. - -----	80
Tabla 10. Modelo estadístico empleado en los indicadores de viabilidad de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	83
Tabla 11. Estadísticas descriptivas para las características morfométricas del polen evaluadas en <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	86
Tabla 12. Valores de los cuadrados medios del ANOVA para las variables morfométricas evaluadas en el polen de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	87
Tabla 13. Valores de los cuadrados medios del ANOVA entre los métodos de tinción utilizados para evaluar la viabilidad del polen de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	96
Tabla 14. Comparación de medias para la viabilidad del polen de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. por siete métodos de tinción. -----	96
Tabla 15. Valores de los cuadrados medios del ANOVA evaluado con el método azul de toluidine en etanol durante dos años. -----	97
Tabla 16. Comparación de medias para la viabilidad del polen de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. por el método de tinción azul de toluidine en etanol evaluado durante dos años. -----	98
Tabla 17. Análisis descriptivo de la capacidad germinativa del polen en <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -- -----	98
Tabla 18. Valores de los cuadrados medios del ANOVA para el porcentaje de polen germinado y entre árboles de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. en los dos años del estudio. -----	99
Tabla 19. Comparación de medias para el porcentaje de polen germinado en 15 árboles de <i>Pinus</i> <i>hartwegii</i> Lindl. evaluado durante dos años. -----	100

Tabla 20. Valores de los cuadrados medios del ANOVA para evaluar la longitud del tubo polínico del polen de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. -----	101
Tabla 21. Características de los grupos formados, árboles y las variables que contribuyeron a su conformación durante el primer año. -----	105

RESUMEN

La población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote en Veracruz ubicada entre 3 200 a 4 282 metros, ha sufrido en los últimos años serias afectaciones por incendios y talas clandestinas que entre otros han ocasionado una disminución en el tamaño de la misma. Todo ello puede estar ocasionando la presencia de afectaciones en la tasa reproductiva de esta población. Con el objetivo de contribuir al esclarecimiento de las causas que pueden estar ocasionando esta problemática se emprendió el presente estudio para evaluar la variación en las características morfométricas y de viabilidad en muestras de polen colectadas de 15 árboles de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote. En el primer año fueron evaluadas las características morfométricas (eje polar, eje ecuatorial y relación eje polar/eje ecuatorial del polen, eje polar y eje ecuatorial de las alas y de la célula principal, además del espesor de este último) y la viabilidad del polen mediante el empleo de siete métodos de tinción (azul de toluidine en etanol, azul de algodón en lactofenol, aceto orceína, aceto carmín, solución iodada, cloruro de tetrazolio y pirogalol), capacidad germinativa y longitud del tubo polínico a las 24 horas (solución sacarosa al 20%). Una vez obtenido el mejor método de tinción se evaluó la viabilidad y la capacidad germinativa en un segundo año. Los resultados mostraron la existencia de diferencias significativas entre árboles para las variables morfométricas evaluadas. Se constató que el tamaño del polen de *Pinus hartwegii* Lindl. es grande de acuerdo con la longitud del eje mayor, reticulado de acuerdo a la escultura del polen, heteropolar radiosimétrico de acuerdo a su polaridad, suboblado de acuerdo a la razón eje polar/eje ecuatorial, vesiculado, monoporado y con área delgada en la exina. No se detectaron diferencias significativas entre árboles para las características de viabilidad y de germinación del polen, pero sí entre métodos de tinción. Los métodos azul de toluidine en etanol seguido de la solución iodada fueron los que mostraron los mayores porcentajes de viabilidad, superiores al 80%. Los árboles con mayor índice de viabilidad y germinación son los que presentaron la mayor longitud del tubo polínico. Los resultados de los análisis multivariados efectuados mostraron que los árboles en estudio se agruparon en tres grupos. El grupo III conformado por los árboles 7, 8, 10, 11, 12 y 14, mostraron valores relativamente mas elevados en cuanto al tamaño del polen. El análisis integral de los resultados mostraron que el polen de la población presenta un alto porcentaje de viabilidad que favorece polinización, por ello se descarta que sea ésta una de las causas que estén provocando las serias afectaciones en la biología reproductiva observada en la población.

SUMMARY

The population of *Pinus hartwegii* Lindl. of the Cofre de Perote in the state of Veracruz located between 3 200 and 4 282 altitude, it has suffered in the last years serious affectations for fires and secret prunings that have caused a decrease in the size of the same one among other factors. Everything can be causing it the presence of affectations in this population's reproductive rate. With the objective of contributing to the clarification of the causes that it can be causing this problem the present study was undertaken to evaluate the variation in the characteristic morphometrics and of viability in collected samples of pollen of the population's of *Pinus hartwegii* Lindl. 15 trees of the Cofre de Perote. In the first year the characteristic morphometrics was evaluated (polar axis, equatorial axis and relationship polar axis/equatorial axis of the pollen, polar axis and equatorial axis pollen of the wings of the pollen and of the main cell of the grains of pollen, besides the thickness of this last one) and the viability of the pollen by means of the employment of seven tint methods (blue of toluidine in ethanol, cotton blue of lactofenol, aceto orceina, aceto carmin, solution of lugol, tetrazolium chloride and pirogalol), germinative capacity and longitude of the pollen tube growth to the 24 hours (solution sucrose to 20%). Once obtained the best tint method was evaluated the viability and the germinative capacity in a second year. The results showed the existence of significant differences among trees for the variable evaluated morphometrics. It was verified that the size of the pollen of *Pinus hartwegii* Lindl. it is big of agreement with the longitude of the biggest axis, reticulado according to the sculpture of the pollen, heteropolar radiosymmetrical according to their polarity, suboblado according to the reason polar axis/equatorial axis, vesiculado, monoporado and with thin area in the exina. Significant differences were not detected among trees for the characteristics of viability and of germination of the pollen, but yes among tint methods. The blue methods of toluidine in ethanol followed by the solution of lugol were those that showed the biggest percentages of viability, superiors to 80%. The trees with bigger index of viability and germination are those that presented the biggest longitude in the pollen tube. The results of the analyses made multivariados showed that the trees in study grouped in three groups. The group III conformed by the trees 7, 8, 10, 11, 12 and 14, they showed values relatively but high as for the size of the pollen. The integral analysis of the results showed that the population's pollen presents a high percentage of viability that favors pollination, for it is discarded it that it is this one of the causes that are causing the serious affectations in the reproductive biology observed in the population.

1. INTRODUCCIÓN

En México, los ecosistemas forestales han sufrido un grave deterioro y transformación, especialmente en el estado de Veracruz (Toledo y Ordóñez, 1993). Por consecuencia, varias poblaciones naturales de pinos se han fragmentado por diversos factores naturales y antropogénicos. Lo anterior, ha ocasionado que se presenten poblaciones reducidas geográfica y ecológicamente aisladas (López *et al.*, 1993; Ledig *et al.*, 2001).

Pinus hartwegii Lindl. es una especie que muestra una elevada tolerancia a las bajas temperaturas. En México, es la única que se encuentra en el límite de la vegetación arbórea entre los 2 800 a 4 300 msnm (Campos, 1993). Esta especie cumple funciones de protección a otros recursos, amortiguan los efectos de contaminación ambiental y contribuye como regulador del ciclo hidrológico producto del deshielo de los volcanes que alimenta de agua a los mantos freáticos (Caballero, 1967; Solís, 1994). Por otra parte los bosques de esta especie resultan una fuente importante tanto biológica como socioeconómica.

En el estado de Veracruz *Pinus hartwegii* Lindl. se encuentra ubicada en las localidades del Pico de Orizaba y Cofre de Perote. En el Pico de Orizaba, la población de esta especie se halla en la parte oeste a una altitud entre 3 500 y 3 800 metros, en donde la densidad de los árboles es menor; esto puede ocasionar una mayor proporción de individuos producto de cruzamientos consanguíneos que elevan los niveles de endogamia y reducen el tamaño efectivo de la población que participa en el mecanismo de la polinización (Lewandowski y Burczyk, 2000).

La población en estudio, esta ubicada en el Cofre de Perote en el estado de Veracruz, a una altura entre los 3 200 a 4 282 metros. Se desarrolla como un bosque poco denso y monoespecífico en su estrato arbóreo (Narave y Taylor, 1997). Esta población ha sufrido en los últimos años serias afectaciones por incendios y talas clandestinas, que han ocasionado una disminución en el tamaño de la misma. Es de esperar que poblaciones como la mencionada, se dirijan hacia el aislamiento genético, deriva genética al azar y endogamia, que conlleve a una pérdida de la diversidad genética, a la diferenciación de poblaciones y al incremento de la probabilidad de extinción de la misma (Ledig *et al.*, *op. cit.*).

Una problemática asociada con esta situación que ha sido observada, en algunas poblaciones de *Pinus hartwegii* Lindl. es la presencia de un elevado porcentaje de semillas vacías y una baja viabilidad, además de una sensible disminución en su tasa reproductiva (Iglesias *et al.*, 1999a; Solís, 2002). Esto constituye al parecer manifestaciones del fenómeno de depresión consanguínea, bastante común en especies de coníferas (Williams y Savolainen, 1996).

Diversos factores genéticos y ambientales pueden estar operando en las poblaciones de *Pinus hartwegii* Lindl. y ocasionando una baja tasa reproductiva. Los factores que contraresten los mecanismos que promueven un apareamiento al azar efectivo en las poblaciones (autoincompatibilidad, maduración desigual y/o esterilidad de los gametos) aunado a los que afecten el establecimiento de un flujo genético adecuado en las mismas y que puedan conllevar a una baja diseminación de los genes (Hamrick *et al.*, 1995; Stacy *et al.*, 1996; Ledig, 1997) pueden afectar el equilibrio genético de las poblaciones y ocasionar serias afectaciones en las mismas.

Los cambios en los procesos reproductivos inducidos por la contaminación atmosférica no son tan fácilmente observables o reconocibles en los ecosistemas forestales, como ocurre con los síntomas foliares en las especies arbóreas. Sin embargo, se ha comprobado que este factor puede influir sobre la reproducción de las plantas al inhibir en mayor o menor grado la fotosíntesis y a la vez ocasionar cambios en la distribución de los metabolitos; además, los eventos críticos en los ciclos reproductivos pueden afectarse directamente por la exposición a los contaminantes atmosféricos. Asimismo y de acuerdo con los resultados encontrados en *Pinus strobus*, la exposición al ozono puede causar una reducción en la viabilidad del polen (Benoit *et al.*, 1983).

Sin embargo, pese a la seria problemática reproductiva que presentan las poblaciones de *Pinus hartwegii* Lindl. en México, la especie no ha sido aún incluida en el catálogo de especies en peligro de extinción de la NOM-059-ECOL-2001 (SEMARNAT e Instituto de Ecología, 2003). Tampoco se han desarrollado hasta la fecha, suficientes estudios genéticos que permitan no sólo conocer la dimensión de la problemática (Solís, 1994), sino también comprender las causas que la están provocando.

Bajo este contexto, adquiere una especial relevancia el desarrollo de estudios como el que se aborda en este trabajo, para contar con información valiosa que permita establecer estrategias apropiadas de conservación de este importante recurso genético. Además en México y en particular en el estado de Veracruz, resulta prioritario disponer de información precisa sobre el grado de diversidad genética existente de especies como la mencionada, ya que como apuntara Iglesias *et al.* (1999a), no se dispone hasta la fecha de suficiente información al respecto.

En el caso de *Pinus hartwegii* Lindl. se conocen principalmente sus características ecológicas, morfológicas, de viabilidad de las semillas y calidad de la madera (Pérez, 1984; Bonilla, 1993; Solís, 1994). Más recientemente se han llevado a cabo estudios citogenéticos, bioquímicos y moleculares en esta población para tratar de explicar las causas que ocasionan la elevada letalidad embrionaria en la misma (Iglesias *et al.*, 2002; Solís, 2002; Tivo, 2002). No obstante, no se cuenta aún con suficiente información sobre otras posibles causas que pudieran estar contribuyendo a las afectaciones observadas en su biología reproductiva en esta especie.

A pesar de la importancia que puede jugar dentro de este contexto el polen, no se cuentan con suficientes estudios encaminados a evaluar el efecto del mismo sobre la baja tasa reproductiva detectada en diversas especies de coníferas. Por tal motivo y teniendo en cuenta todo lo antes expuesto, se desarrolló el presente trabajo con el objetivo central de evaluar la variación en las características morfométricas (eje polar, eje ecuatorial y relación eje polar/eje ecuatorial del grano de polen completo, eje polar y eje ecuatorial de las alas del polen y de la célula principal así como el espesor de esta última) y de viabilidad (por métodos de tinción: azul de toluidine en etanol, azul de algodón en lactofenol, aceto orceína, aceto carmín, solución iodada, cloruro de tetrazolio y pirogalol y por capacidad germinativa con sacarosa al 20% y longitud del tubo polínico a las 24 horas) del polen de 15 árboles provenientes de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote en el estado de Veracruz, con el fin de contribuir a los trabajos que actualmente se desarrollan, con el propósito de dilucidar las causas que motivan esta seria problemática reproductiva.

2. OBJETIVOS

Objetivo General.

Evaluar el efecto de las características morfométricas y de viabilidad del polen en la población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, México a fin de contribuir a esclarecer las causas que motivan la baja tasa reproductiva en esta población.

Objetivos Particulares.

Ø Efectuar la caracterización morfométrica (eje polar, eje ecuatorial, relación eje polar/eje ecuatorial del polen, eje polar y eje ecuatorial de las alas del polen y de la célula principal así como el espesor de esta última) del polen de *Pinus hartwegii* Lindl.

Ø Evaluar la viabilidad del polen de la población de *Pinus hartwegii* Lindl., mediante el empleo de diversos indicadores de viabilidad (métodos de tinción: azul de toluidine en etanol, azul de algodón en lactofenol, aceto orceína, aceto carmín, solución iodada, cloruro de tetrazolio y pirogalol, y capacidad germinativa con sacarosa al 20% y longitud del tubo polínico a las 24 horas).

Ø Determinar el grado de correspondencia entre los indicadores de viabilidad por tinción con la capacidad germinativa del polen, que puedan ser de uso predictivo de la viabilidad del polen y en la selección de fuentes parentales en los programas de hibridación que se desarrollen.

Ø Clasificar a los árboles de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. en base a las características del polen evaluadas en los dos años en estudio.

3. HIPÓTESIS

Las características morfológicas y de viabilidad del polen de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, contribuyen al aumento del grado de consanguinidad y a la baja tasa reproductiva de semilla viable presente en la población.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Distribución y diversidad del género *Pinus* en México.

El género *Pinus* es uno de los más grandes e importantes géneros de coníferas en el mundo (Niembro-Rocas, 1986). Las coníferas tienen más de 290 millones de años de antigüedad. Aparecieron en el periodo pérmico de la era paleozoica (la cual se inició hace 290 millones de años y finalizó hace 245 millones de años, duró 45 millones de años) (Mirov, 1967). De acuerdo con Rzedowski *et al.* (1977), las coníferas existieron en México desde el Paleozoico y finales del Mesozoico formando bosques, cuya composición y extensión variaron mucho a lo largo de las épocas geológicas. Se ha considerado que probablemente el hemisferio norte fué el lugar de origen de la familia *Pinaceae*, por este motivo, nunca se han encontrado fósiles de estas plantas al sur del Ecuador (Eguiluz, 1988; Domínguez, 1998). Aunque en otras épocas ha habido más especies que ahora, siguen siendo un grupo botánico de distribución muy amplio y uno de los más importantes recursos renovables del mundo (Mirov, *op. cit.*).

La República Mexicana presenta una gran variedad de condiciones ecológicas que hacen que existan numerosas comunidades vegetales (Toledo y Ordóñez, 1993) (Figura 1). La distribución de los bosques de coníferas comprende todos los estados de la República, salvo los correspondientes a la Península de Yucatán, Campeche y Tabasco, coincidiendo aproximadamente desde el punto de vista fisiográfico con las principales cordilleras del país (Shaw, 1909; Standley, 1920-25; Martínez, 1948; Loock, 1950; INIF/FAO, 1967; Rzedowski *et al.*, *op. cit.*; Eguiluz, 1978; Niembro-Rocas, *op. cit.*).



Figura 1. Tipos de vegetación de México. FUENTE. Encarta (2003).

Los bosques de coníferas son comunidades cuya distribución abarca la Sierra Madre Occidental y la Sierra Madre Oriental. La primera se encuentra paralela a la costa oeste, continúa en la Sierra Madre del Sur y Sierra de Chiapas y la segunda, continúa en la Sierra de Oaxaca y la Cordillera Neovolcánica (Sánchez y Huguet, 2003).

Las coníferas ocupan una área de 21 millones de hectáreas en toda la República Mexicana (Anónimo, 1976; CONAF, 1998; Guevara, 1999), donde el 85% del total de las especies de pinos son endémicas (Dvorak y Donahue, 1996; Segura, 1997).

México es considerado centro secundario de especiación de los pinos, ocupando el cuarto lugar en el mundo en términos de biodiversidad (Romeu, 2004). Se calcula que solamente del 5 al 7% de su superficie terrestre, o sea alrededor de 100 a 150 000 km², está cubierta de auténticos bosques de coníferas, pero el área real de distribución de éstas es mucho más vasta, abarcando alrededor de 500 000 km², o sea la cuarta parte del país (Sánchez y Huguet, *op. cit.*).

Los pinares forman comunidades vegetales típicas de las regiones montañosas de México, entre los 1 500 y 4 000 metros de altitud (Rzedowski *et al.*, 1977; Eguiluz, 1988; Romeu, 2004). Junto con otros árboles como los oyameles, los encinos y los cipreses, forman los llamados bosques de coníferas, que cubren alrededor de 17 millones de hectáreas del territorio nacional, es decir, 34% de la superficie arbolada del país (Romeu, *op. cit.*). En el país las coníferas están representadas por diez géneros: *Abies*, *Cupressus*, *Juniperus*, *Libocedrus*, *Picea*, *Pinus*, *Podocarpus*, *Pseudotsuga*, *Quercus*, *Taxus* y *Taxodium* (Rzedowski *et al.*, *op. cit.*).

Desde el punto de vista cuantitativo, *Pinus* es mucho más abundante en México que todas las demás gimnospermas juntas y las superficies arboladas en que interviene, constituyen más del 90% del área de los bosques de coníferas del país (Rzedowski *et al.*, *op. cit.*). El género *Pinus* es el de mayor importancia, tanto biológica como económica (Robert, 1979).

Los botánicos han podido distinguir para el género *Pinus* hasta 70 especies y subespecies, o sea aproximadamente 70% de las 90 a 120 especies de pinos que existen en el mundo (Zamudio y Castro, 2001; Romeu, *op. cit.*), 27 variedades y 9 formas (Eguiluz, 1977; Vargas *et al.*, 1994), pero hay buenas razones para pensar que todavía existen otras (Martínez, 1953; Mirov, 1957; Mirov, 1967; Romeu, *op. cit.*).

Se ha indicado (Martínez, 1978; Vargas *et al.*, *op. cit.*; Ledig *et al.*, 2001) que el género *Pinus* en México ocupa el undécimo lugar en superficie forestal. Sin embargo, en cuanto a producción forestal ocupa el vigésimo sexto lugar en el mundo, ya que únicamente aprovecha alrededor de 12 millones de m³, menos del 25% del potencial productivo de las masas forestales naturales en el país (Vargas *et al.*, *op. cit.*), donde el 17% de las especies forestales mexicanas se encuentran en vías de desaparecer (Rzedowski, 1983; Perry, 1991; Merino, 1992; Ledig *et al.*, *op. cit.*; Romeu, *op. cit.*).

La mayoría de especies mexicanas de *Pinus* poseen afinidades de climas templados a fríos, semihúmedos y sobre suelos ácidos. Existen por otra parte, especies que no se ajustan a estas características y prosperan en lugares cálidos, húmedos, semiáridos o sobre suelos alcalinos (Rzedowski *et al.*, *op. cit.*; Narave, 1985), donde prosperan sobre todas las clases de roca madre existente, pero las de tipo volcánico les son más favorables (Rzedowski *et al.*, *op. cit.*).

De hecho, la similitud en las exigencias ecológicas de los pinares y de los encinares ha dado como resultado que sus bosques ocupen nichos similares, desarrollándose con frecuencia uno al lado del otro, formando intrincados mosaicos y complejas interrelaciones sucesionales, que a menudo se presentan en forma de bosque mixto, todo lo cual dificulta su interpretación y cartografía precisa (Rzedowski, 1978; Rzedowski, 1981).

|
El rango altitudinal en que se encuentran distribuídas las especies de *Pinus* en México, oscila desde el nivel del mar en las especies tropicales y subtropicales (*Pinus caribaea*), que crece a lo largo de la costa en Quintana Roo, hasta el límite de la vegetación arbórea, alrededor de los 4 282 metros donde se localizan a *Pinus hartwegii* y *Pinus rudis* (Mirov, 1954; Little, 1967; Robert, 1979; Rzedowski, *op. cit.*; Niembro-Rocas, 1986; Eguiluz, 1988; Pérez y Olvera, 1990; Solís, 2002).

4.2. *Pinus hartwegii* Lindl.

4.2.1. Nombres comunes.

La especie *Pinus hartwegii* Lindl. se le conoce con el nombre de pino “hartwegi”, “ocote” o “pino de las alturas” (Figura 2). Cabe mencionar que su nombre fué asignado en honor al botánico Karl Theodor Hartweg (1812-1871) (Eguiluz, 1978; Eguiluz, *op. cit.*).



Figura 2. Árbol de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Tivo (2004).

4.2.2. Ubicación taxonómica.

Pinus hartwegii Lindl. fué descrito por Lindley en 1839 (Martínez, 1948). En 1880, Engelmann lo incluyó como variedad de *Pinus montezumae* (Martínez, *op. cit.*). De esta manera, se le consideró en un inicio como *Pinus montezumae* variedad *hartwegii* (Martínez, *op. cit.*; Loock, 1977).

En 1909, Shaw aceptó la reubicación propuesta por Engelmann, *op. cit.*; sin embargo, Martínez, *op. cit.* concluyó que la especie *Pinus hartwegii* Lindl. presentaba características muy distintas tanto de hábitats como en sus estructuras internas y conos de las de *Pinus montezumae* (Loock, *op. cit.*). Por lo que propuso, que no debía considerarse como una variedad de *Pinus montezumae*, sino como una especie.

Sin embargo, Standley y Steyermark (1958) publicado por Narave y Taylor (1997), basándose en material originario de Guatemala, sugirieron que *Pinus hartwegii* Lindl. era una variedad de *Pinus montezumae*. Más tarde, Sandley (1961) citado por Narave y Taylor, *op. cit.*, apoyándose en los trabajos de Martínez (1948) y Loock (1977) la restableció a su categoría original de especie.

Estudios posteriores revelaron la existencia de notables similitudes entre las especies *Pinus hartwegii* Lindl. y *Pinus rudis* Lindl. Sin embargo, Caballero (1967), encontró diferencias significativas entre las mismas, lo que llevó a Eguiluz (1988) a ubicar a *Pinus rudis* en el subgrupo *Rudis*.

De acuerdo con la clasificación de Little y Critchfield (1971), la especie *Pinus hartwegii* Lindl., pertenece al género *Pinus*, subgénero *Pinus* (pinos duros), a la sección *Pinus* y subsección *Ponderosae* Loud. que incluye también a la especie de *Pinus rudis* Lindl.

Según la clasificación de Shaw (1914) y Martínez (1955), modificada y citada por Eguiluz *op. cit.*, *Pinus hartwegii* Lindl. pertenece al reino *Plantae*, phylum *Traqueófitas*, clase *Coniferópsidos*, grupo *Montezumae*, subgrupo *Rudis*, familia *Pinaceas*, subfamilia *Abietíneas*, subgénero o sección *Diploxilon*, subsección *Pinaster* y género *Pinus*.

Narave y Taylor (1997) consideraron a *Pinus hartwegii* Lindl. y a *Pinus montezumae* como taxa bien definidos a ambas especies, ya que las dos presentan una gran discontinuidad morfológica. Estos autores mencionan que la posición, color y forma de los conos ameritan una separación de especies, además de las diferentes condiciones ecológicas en que ambas crecen.

Más recientemente, Frankis (1999) y Earle (2004) propusieron una subdivisión del género *Pinus* que ubica a la especie *Pinus hartwegii* Lindl. dentro del subgénero *Pinus*, sección *Trifoliis*, subsección *Ponderosae* Loudon. y grupo *Montezumae*, tomando en cuenta para ello los criterios taxonómicos propuestos por los autores antes mencionados.

4.2.3. Distribución en México.

Se ha reportado la presencia de poblaciones de *Pinus hartwegii* Lindl. en el Distrito Federal y en los estados de Chiapas, Coahuila, Colima, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas (Figura 3) (Martínez, 1948; Zobel y Franklin, 1957; Eguiluz, 1988; Perry, 1991; Narave y Taylor, 1997).



Figura 3. Distribución de las poblaciones de *Pinus hartwegii* Lindl. en México. FUENTE. Encarta (2003).

Sus poblaciones se localizan en los picos y montañas más altas de México, a una altura que varía entre los 2 400 a 4 282 metros (12 140 pies) (Tabla 1) (Eguiluz, 1977; Franco y Dirzo, 1978; Eguiluz, 1982; Rzedowski, 1983; Bauer *et al.*, 1985; Solórzano, 1987; Bonilla, 1993; Solís, 1994; PROCYMAF y SEMARNAP, 2003).

Tabla 1. Ubicación y rangos de altitud de las poblaciones de *Pinus hartwegii* Lindl.
FUENTES. Hernández *et al.* (2001); Méndez-Guzmán *et al.* (2001).

LUGAR	COORDENADAS	ALTITUD (msnm)
Parque Nacional Izta- Popo. Municipio de Amecameca, Estado de México.	19°05'40'' latitud Norte y 98°39'20'' longitud Oeste.	3 700 - 3 900
Zoquiapan, México.	19°19'24'' latitud Norte a 98°43'08'' longitud Oeste, 19°18'28'' latitud Norte a 98°42'32'' longitud Oeste y 19°17'24'' latitud Norte a 98°42'28'' longitud Oeste.	3 125 – 3 320
Ajusco. Delegación Tlalpan, Distrito Federal.	19°11'55'' a 19°12'08'' latitud Norte y 99°14'30'' a 99°15'33'' longitud Oeste.	3 300 – 3 400
Parres. Delegación Tlalpan, Distrito Federal.	19°08'58'' a 19°09'10'' latitud Norte y 99°12'20'' a 99°13'20'' longitud Oeste.	3 350 – 3 450
Topilejo. Delegación Tlalpan, Distrito Federal.	19°05' latitud Norte y 99°04' longitud Oeste.	3 300
Desierto de los Leones, Distrito Federal.	19°16'44'' latitud Norte a 99°19'36'' longitud Oeste y 19°16'20'' latitud Norte a 99°19'34'' longitud Oeste.	3 370 – 3 540
Parque Nacional del Cofre de Perote, Veracruz.	19°03'18'' latitud Norte y 97°09'34'' longitud Oeste.	3 200 – 4 282
Pico de Orizaba, Veracruz.	19°01' latitud Norte y 97°11' longitud Oeste.	3 500 – 3 800
La Malinche, Tlaxcala.	19°30' latitud Norte y 98°01' longitud Oeste.	4 461

Se presentan en los volcanes más altos de la Región Central (Cofre de Perote, Iztaccihuatl, La Malinche, Pico de Orizaba, Popocatepetl), donde ya no prosperan otras especies de *Pinus*, o bien se encuentran asociadas a otras coníferas o encinos a altitudes menores a 2 400 metros (Santillán, 1991).

De acuerdo con Heilprin (1982) y Solís e Iglesias (2001), en la localidad de Sierra Negra, ubicada en el Pico de Orizaba en el estado de Veracruz, *Pinus hartwegii* Lindl. excede los 4 300 metros. A esta altitud, la especie de *Pinus hartwegii* Lindl. domina las comunidades debido a las bajas temperaturas y la pobreza del suelo, por lo que ya no compite con el estrato arbustivo y herbáceo (Figura 4) (Beaman, 1962; Santillán, *op. cit.*).



Figura 4. Población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Pico de Orizaba, Veracruz, México. FOTO. Tivo (2004).

Las poblaciones *Pinus hartwegii* Lindl. se pueden encontrar conformando masas puras, monoespecíficas o uniespecíficas de decenas de Km² (Santillán, 1991). Se han encontrado poblaciones de esta especie mezcladas con *Pinus rudis* Lindl., *Pinus ayacahuite* var. *Veitchii* Shaw., *Pinus pseudostrobus* Lindl., *Abies religiosa* Schl. et. Cham. y *Alnus firmifolia* Ferm. (Susano, 1976; Rzedowski, 1983; Santillán, *op. cit.*; Matos, 1995).

En el Cerro del Potosí, en el estado de Nuevo León, se han encontrado rodales monoespecíficos de *Pinus hartwegii* Lindl. que se extienden desde los 3 000 a 3 600 metros, donde empiezan a asociarse con la especie *Pinus culminicola* (Matos, *op. cit.*).

Por otra parte, se han detectado en el centro del país poblaciones de esta especie asociadas con *Pinus rudis* Lindl., *Pinus montezumae* Lamb., *Pinus ayacahuite* var. y *Pinus pseudostrobus* Lindl. (Eguiluz, 1988). La misma, se desarrolla acompañado de pastos amacollados conocidos como zacatones del género *Festuca*, *Calamagrostis* y *Muhlenbergia*. Además, pueden abundar algunas especies de *Lupinus* en condiciones frecuentes de incendios (Rzedowski, 1978; Rzedowski, 1981; Matos, *op. cit.*).

4.2.4. Características ecológicas.

La especie *Pinus hartwegii* Lindl. se desarrolla en climas templados, subhúmedos, mesotermos, con lluvias deficientes en invierno del tipo Cwc (templados húmedos con veranos cortos) (García, 1973) y precipitaciones entre 700 y 1 800 milímetros (Eguiluz, 1988; Santillán, 1991).

Las poblaciones de esta especie se desarrollan bajo condiciones de temperatura media de 12°C, con extremas máximas de 38°C y mínimas hasta de -20°C en los volcanes (Figura 5) (Santillán, *op. cit.*).



Figura 5. Árboles de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. afectadas por las nevadas. FOTO. Tivo (2004).

Aún cuando el viento no afecta aparentemente el crecimiento y/o reproducción de la especie, se sabe que este fenómeno atmosférico, ha provocado daños severos en algunos rodales de *Pinus hartwegii* Lindl. en la Sierra Nevada en España (Franco y Dirzo, 1978; Franco *et al.*, 1984; Bauer *et al.*, 1985).

Se tiene reportes de que *Pinus hartwegii* Lindl. resiste muy bien a las heladas y se le considera como la especie de pino más tolerante a las bajas temperaturas (Solís, 1994). No obstante, con excepción por el rompimiento de las ramas producto del peso de la nieve, es posible afirmar que el hielo y la nieve no lo afectan, al menos aparentemente en la fase de establecimiento y crecimiento (Santillán, 1991; Solís, *op. cit.*).

Lo mencionado anteriormente, se refiere a los rangos medios donde se desarrolla la especie de *Pinus hartwegii* Lindl. ya que en sus extremos altitudinales se ve afectada, en sus límites inferiores, por la temperatura excesiva para su desarrollo y en el límite máximo, por la altura en donde solamente se desarrolla en forma de manchones (Figura 6) (Rzedowski, 1983; Eguiluz, 1988; Santillán, *op. cit.*; Solís, *op. cit.*).



Figura 6. Bosque de *Pinus hartwegii* Lindl. del Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz, México.
FOTO. Tivo (2004).

Pinus hartwegii Lindl. habita en terrenos planos, ondulados o escarpados (Figura 7) (Loock, 1977). Se le encuentra en exposiciones cenitales (Loock, *op. cit.*), pero desafortunadamente, se desconoce las preferencias topográficas de la especie (PROCYMAF y SEMARNAP, 2003).



Figura 7. Bosque de *Pinus hartwegii* Lindl. erosionado en el Pico de Orizaba, Veracruz, México.
FOTO. Tivo (2004).

Se tienen reportes de que *Pinus hartwegii* Lindl. crece por lo regular sobre suelos profundos, ricos en materia orgánica, buen drenaje, texturas franca, migajón arenoso, negros de praderas o de tipo chernozem, con un pH de 5.5 a 7.1 (Loock, 1977; Solís, 1994; Sánchez y Huguet, 2003). Los elementos asimilables en el horizonte en partes por millón (ppm) son: P de 1.3 a 5.2; K de 552 a 819; Ca de 3 a 770 a 5 330 y Mg de 95 a 166 (Eguiluz, 1988).

Al respecto, cabe señalar que esta especie se desarrolla muy bien en los suelos de los volcanes de Colima y Jalisco en México, constituidos por arenas migajosas y migajones arenosos que aunque pobres en Ca, K, Mn y P, son ricos en Mg y presentan un pH de 5.2 a 6.9 (Rey, 1975; Santillán, 1991).

Los suelos de Zoquiapan en México, donde abunda la especie de *Pinus hartwegii* Lindl., se caracterizan por presentar contenidos bajos en P y altos de Ca, Mg, Na, K y Al (Rey, *op. cit.*; Santillán, *op. cit.*).

Así también, en los suelos de La Malinche en el estado de Tlaxcala y el Ajusco en México, donde abunda esta especie, son de textura arenosos, profundos, con pH de 5.8 a 6.5 y ricos en materia orgánica, medios en N, K y Ca, pero más o menos bajos en P (Eguiluz, *op. cit.*).

Los suelos del Pico de Orizaba en Veracruz fueron identificados como suelos de Ando (Cryandept), de acuerdo a un análisis de un perfil del suelo efectuado en la ladera suroeste al Pico de Orizaba por Gómez-Pompa (1982).

Los suelos del Cofre de Perote en Veracruz, donde habita la especie de *Pinus hartwegii* Lindl. presenta una profundidad media pedregosa y son de color negro (Boege *et al.*, 1995) (Figura 8). Las rocas de esta zona, tienen una composición mineralógica y una estructura muy constante, con muy poca materia orgánica, un pH de 5.8 y una densidad de 1 a 1.2 (Servicio Meteorológico Nacional, 1984; Narave, 1985; de la Torre, 2002).



Figura 8. Estructura del suelo del Cofre de Perote, Veracruz, México. FOTO. Tivo (2004).

4.2.5. Importancia.

Pinus hartwegii Lindl. tiene un gran valor desde el punto de vista ecológico como socioeconómico. Conforman uno de los pilares más fuertes de la economía sobre todo de algunos países americanos y eurasiáticos (Eguiluz, 1988).

Los bosques de *Pinus hartwegii* Lindl. resultan de gran interés recreativo. Su importancia radica en que se desarrollan a las mayores elevaciones sobre el nivel del mar (Figura 9), cumplen funciones de protección a otros recursos, amortigua los efectos de la contaminación ambiental y contribuye como regulador del ciclo hidrológico producto del deshielo de los volcanes (Caballero, 1967; Solís, 1994).



Figura 9. Población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Pico de Orizaba ubicada a los mayores niveles altitudinales. FOTO. Tivo (2004).

La madera de *Pinus hartwegii* Lindl. es dura y resinosa (Figura 10) (Solórzano, 1987). Su resina se usa para producir brea y trementina (PROCYMAF y SEMARNAP, 2003). La utilización primordial de la especie es para la producción de celulosa, papel, pulpa química y pasta mecánica. Además, *Pinus hartwegii* Lindl. resulta de gran importancia para la producción de chapa, triplay, tableros, durmientes, postes para cercas, pilotes, trozos para combustible y para carbón (Martínez, 1948; Eguiluz, 1978; Hernández y Honorio, 1985; Solórzano, *op. cit.*; Eguiluz, *op. cit.*; Bonilla, 1993; Villareal, 1993; Castillo, 1997).



Figura 10. Características de la madera de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Tivo (2004).

Este tipo de aprovechamiento esta regulado por la NOM-012-RECNAT-1996, en la cual se establecen algunas medidas prácticas para el aprovechamiento de leña de cualquier especie (Figura 11) (PROCYMAF y SEMARNAP, 2003). La corteza de *Pinus hartwegii* Lindl. es utilizada para composta, el cual se añade como fertilizante natural a los suelos (Mirov, 1954).



Figura 11. Aprovechamiento de la madera de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Tivo (2004).

Asimismo, se ha explotado la especie de *Pinus hartwegii* Lindl. para la producción de aguarrás y colofonia en México (Mirov, 1954; Solís, 1994; Romeu, 2004). Esta especie ha sido también recomendada para el establecimiento de plantaciones comerciales y para uso como ornamental en campos deportivos (Solórzano, 1987).

Por último, cabe mencionar que los bosques de *Pinus hartwegii* Lindl., al igual que otras masas boscosas, ofrecen un refugio natural para la conservación de la fauna silvestre, tan perseguida en nuestro medio y cuya existencia por sí sola constituye un valioso recurso de gran importancia para la alimentación y el desarrollo del turismo. Además, de contribuir a la dispersión de semillas de muchas especies forestales (Solís, 1994).

4.2.6. Descripción botánica.

La especie de *Pinus hartwegii* Lindl. posee una corteza gruesa y agrietada, de color grisáceo, pardo rojizo o blanco amarillento, sin diferencia aparente entre albura y duramen (Narave y Taylor, 1997; SERMANAT, 1999). Presenta olor y sabor resinoso, textura fina, dura y pesada en cuanto a gravedad específica. Los anillos de crecimiento se encuentran dispuestos de manera regular, aproximadamente dos por centímetro (Figura 12) (Solórzano, *op. cit.*).



Figura 12. Corteza y anillos de crecimiento de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Tivo (2004).

La madera de esta especie en la época de la primavera, resulta de color amarillo claro y de mayor grosor; en verano presenta un color café. Los canales resiníferos se encuentran distribuidos en todo el anillo, pero son más abundantes en la madera de verano (Solórzano, 1987; Eguiluz, 1988).

Los troncos de los pinos de la especie de *Pinus hartwegii* Lindl. son generalmente derechos. Cuando estos árboles establecen un bosque, sólo suelen persistir las ramas superiores que a menudo forman una copa más o menos hemisférica (Caballero, 1967). La altura de los árboles de la especie, puede alcanzar de 7 a 30 metros de altura (Solís, 1994; Narave y Taylor, 1997). El grosor de los fustes en algunos lugares no explotados pasa de un metro, pero más comúnmente varía entre 20 y 75 centímetros (Figura 13) (Caballero, *op. cit.*).

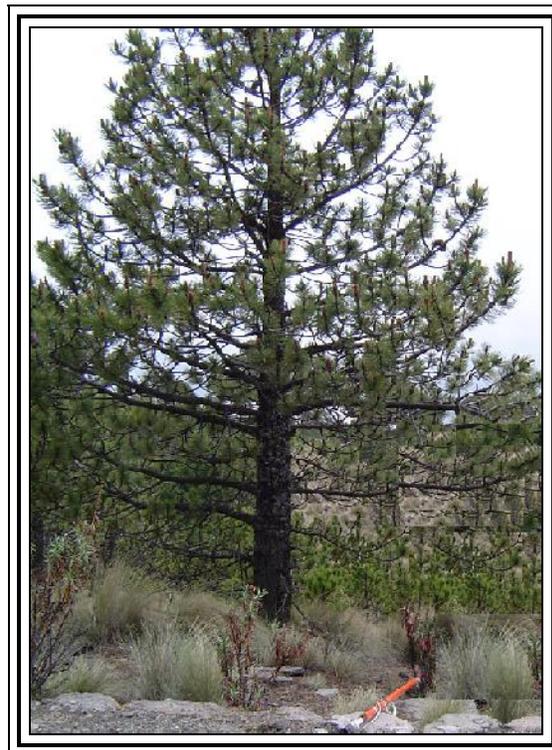


Figura 13. Características del tronco y fuste de *Pinus hartwegii* Lindl. Foto. Tivo (2004).

En los más bajos estratos altitudinales los pinares de *Pinus hartwegii* Lindl. logra alcanzar alturas elevadas; sin embargo, hacia los 4 000 metros de altitud con frecuencia constituyen bosques achaparrados (de 5 a 8 metros de alto) más bien abiertos (Figura 14) (Martínez, 1948; Rzedowski, 1983). Su tamaño y forma del árbol, varía principalmente con la variación del clima y comúnmente con la acción de los vientos (Narave y Taylor, *op. cit.*).

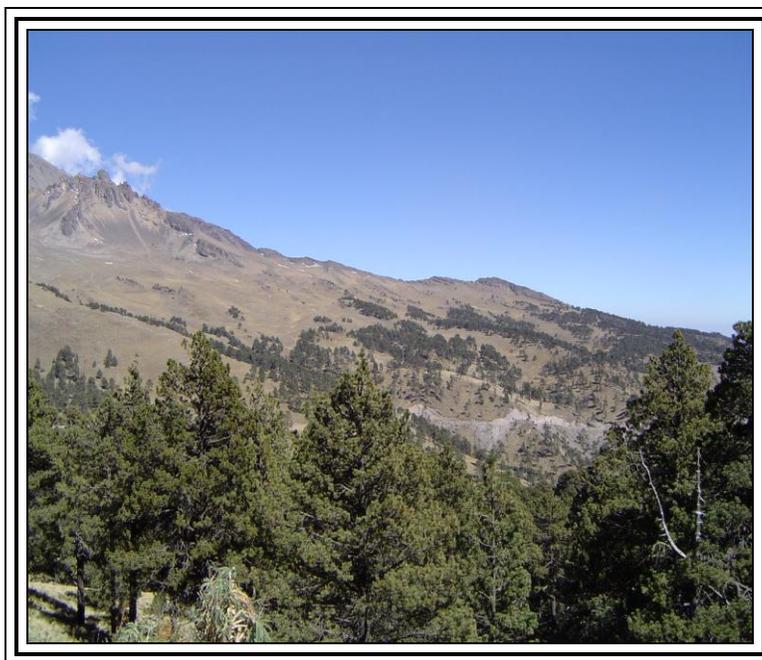


Figura 14. Bosque achaparrado de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Pico de Orizaba, Veracruz, México. FOTO. Tivo (2004).

Las vainas de las hojas de *Pinus hartwegii* Lindl. son de color castaño al principio, luego se tornan de tono moreno grisáceo y finalmente adquieren una coloración muy oscura. Estas vainas son por lo regular, escamosas abajo y anilladas arriba. El tamaño de las vainas varía de 10 a 17 milímetros de largo, aunque pueden llegar a medir hasta 25 milímetros. Al envejecer las vainas, suelen acortarse hasta alcanzar una longitud entre 5 a 15 milímetros (Narave y Taylor, 1997). Las yemas de la especie son por lo regular ovoides, agudas y de tono moreno rojizo (Martínez, 1948; Reiche, 1977; Rzedowski, 1983; Solórzano, 1987; Jiménez *et al.*, 1994).

El follaje de la especie de *Pinus hartwegii* Lindl. es de color verde oscuro, rígido, erecto o esparcido. Esta especie presenta ramas extendidas algo colgantes. Sus ramillas son muy ásperas, de color moreno rojizo oscuro o algo grisáceas (Figura 15) (Narave y Taylor, *op. cit.*).



Figura 15. Ramillas de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Iglesias (2002).

En la forma más típica se observan de tres hasta cinco acículas por fascículos. Cada fascículo mide de 10 a 18 centímetros de largo. Por lo regular, estos fascículos son de color verde claro, medianamente gruesas, algo tiesas, carinadas, es decir, con la cara dorsal muy ancha y la costilla media apenas levantada (Figura 16) (Martínez, 1948; Manceras, 1956; Ortega, 1962; Caballero, 1967; Eguiluz, 1978; Larios, 1979; Rzedowski, 1983; Eguiluz, 1985; Solórzano, 1987; Eguiluz, 1988; Jiménez *et al.*, 1994; Solís, 1994; SERMANAT, 1999; PROCYMAF y SEMARNAP, 2003).



Figura 16. Acículas y fascículos de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Tivo (2004).

Las bases de las brácteas de *Pinus hartwegii* Lindl. son largas y fuertes, a veces agudas y salientes que con frecuencia se desescaman. Los bordes de las acículas son aserrados, con dientecillos muy pequeños y próximos. Presentan estomas en las tres caras. Tiene dos haces vasculares, muy aproximados o casi contiguos, rodeados de células de refuerzo. Los canales resiníferos de *Pinus hartwegii* Lindl. son medios, presentes en número de dos a once, más comúnmente alrededor de seis (Martínez, 1948; Manceras, 1956; Ortega, 1962; Caballero, 1967; Eguiluz, 1978; Larios, 1979; Rzedowski, 1983; Eguiluz, 1985; Solórzano, 1987; Eguiluz, 1988; Jiménez *et al.*, 1994; Solís, 1994; SERMANAT, 1999; PROCYMAF y SEMARNAP, 2003).

Los conillos de *Pinus hartwegii* Lindl., presentan una forma casi oblonga y una coloración azul intenso casi violáceo. La característica principal de esta especie es la de desarrollar conos o estróbilos, que son primitivas estructuras de reproducción (Figura 17) (Planthogar, 2003).



Figura 17. Cono y primordio de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Tivo (2004).

Los conos de la especie de *Pinus hartwegii* Lindl. son por lo regular, de forma ovoide acuminado, ligeramente oblicuos, algunas veces casi cilíndricos y en ocasiones levemente encorvados o extendidos, de color rojizo oscuro, casi negros (Figura 18a y Figura 18b) (Martínez, 1953; Patiño, 1973; Rzedowski, *op. cit.*; Solórzano, *op. cit.*; Eguiluz, *op. cit.*; Musálem *et al.*, 1991; Santillán, 1991; Jiménez *et al.*, *op. cit.*; Narave y Taylor, 1997; SERMANAT, 1999; PROCYMAF y SEMARNAP, 2003). Los conos masculinos del aparato reproductor de la especie, están dispuestos en amentos (Zamudio y Castro, 2001).



Figura 18. a) y b) Conos de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTOS. Tivo (2004).

Los conos se presentan por regular en pares, pero en ocasiones pueden encontrarse en número variable de 3 a 5, con una longitud de 5 a 14 centímetros por 4 a 7 centímetros de ancho, de 3.73 centímetros de diámetro y un peso fresco de 54.19 gramos (Figura 19) (Martínez, 1953; Patiño, 1973; Rzedowski, 1983; Solórzano, 1987; Eguiluz, 1988; Musálem *et al.*, 1991; Santillán, 1991; Jiménez *et al.*, 1994; Narave y Taylor, 1997; SERMANAT, 1999; PROCYMAF y SEMARNAP, 2003).



Figura 19. Tamaño del cono de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Tivo (2004).

De acuerdo con Styles y Hughes (1988), los conos maduran entre los meses de noviembre a enero. Por otra parte, aunque no ha sido precisada la causa, se sabe que *Pinus hartwegii* Lindl. atraviesa por un estado cespitoso que dura entre dos y cinco años (Solís, 1994).

Se ha estimado que la producción de conos y semillas de *Pinus hartwegii* Lindl. alcanza en promedio de 146.78 gramos por cono y de 53 065 a 58 000 semillas por kilogramo (Patiño, 1973; Musálem *et. al.*, 1991). Cada cono proporciona alrededor de 147 semillas, donde 100 semillas de esta especie pesan 1.88 gramos (Figura 20) (Musálem *et al.*, *op. cit.*).



Figura 20. Cono y semillas de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Tivo (2004).

Se desconoce el ciclo semillero de la especie, pero se estima que es cada 6 o 7 años (Peña, 1988). Se considera que su tasa de crecimiento en rodales puros oscila entre 1 a 4 m³/ha/año (Musálem *et al.*, *op. cit.*).

Las semillas de esta especie son de forma triangular, articuladas y negruzcas (Niembro-Rocas, 1986), de 5 a 8 milímetros con alas de 12 de largo por 5 de ancho (SERMANAT, 1999). De acuerdo con Méndez-Guzmán *et al* (2001), las semillas de *Pinus hartwegii* Lindl. miden 4.9 milímetros de largo, 3.38 milímetros de ancho y 0.016 gramos de peso (Figura 21).



Figura 21. Semilla de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Iglesias (2004).

Sus alas de las semillas miden de 12 a 20 milímetros de largo por 5 milímetros de ancho, presentan dos ganchos basales y son de un tono café oscuro, articuladas, delgadas, translúcida, membranosa o papirácea de tamaño variado la cual favorece su dispersión (Figura 22) (Patiño, 1973; Eguiluz, 1978; Eguiluz, 1985; Niembro-Rocas, 1986; Solórzano, 1987; Solís, 1994).



Figura 22. Características de las alas y semillas de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Tivo (2004).

Oropeza (1984) ha indicado que es posible almacenar las semillas de esta especie por periodos de hasta 13 meses sin que haya pérdida significativa en el poder de germinación. De acuerdo con este autor, se pueden almacenar en envases de vidrio, papel, tela, plástico o aluminio y su viabilidad no se altera si se mantienen las mismas bajo condición de refrigeración (Figura 23a y Figura 23b) (Rzedowski, 1983; Oropeza, 1984).



Figura 23. a) y b) Almacenaje de las semillas de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTOS. Tivo (2004).

Así mismo, diferentes autores (Musálem *et al.*, 1991; Santillán, 1991; Badillo *et al.*, 1992; Jiménez *et al.*, 1994) han citado que la semilla no reduce significativamente su viabilidad durante el periodo que transcurre entre su dispersión hasta su germinación bajo condiciones naturales.

De igual forma, se ha indicado (Musálem *et al.*, *op. cit.*; Santillán, *op. cit.*; Badillo *et al.*, *op. cit.*; Jiménez, *op. cit.*) que la apertura del dosel no tiene influencia en la pérdida de viabilidad. Sin embargo, de acuerdo con Wilson y Burley (1983) citado por Musálem *et al.*, *op. cit.*, la producción de semillas viables se puede limitar por la escasa deposición de granos del polen sobre los estigmas de los árboles parentales.

4.2.7. Ciclo de vida de la especie.

El viento es efectivamente un agente transportador del polen de *Pinus hartwegii* Lindl., pero el transporte es azaroso. La consecuencia es que para garantizar el éxito de la polinización, los pinos tienen que producir grandes cantidades de polen para dar lugar a las semillas (Güemes, 2001).

Es importante mencionar que para que se produzca el desarrollo de una semilla normalmente es necesario la fertilización de un óvulo, acto que sigue a la deposición del polen. Este polen puede proceder del mismo árbol y se le conoce como autopolinización o autofecundación. Cuando el polen procede de otro árbol se denomina polinización cruzada o fecundación cruzada (Lycos, 2004).

Sin embargo, para evitar la autofecundación, *Pinus hartwegii* Lindl. al igual que todos los pinos, presentan una disposición de los conos muy particular, arriba los femeninos y abajo los masculinos, intentando que el polen de una planta no llegue a sus primordios por gravedad (Güemes, *op. cit.*).

La especie de *Pinus hartwegii* Lindl. al igual que todas las especies de pino y los helechos es un esporofito, pero produce dos clases de esporas (microsporas y megasporas). Estas se desarrollan en conos llamados estróbilos (Katherine, 1981; Bost *et al.*, 1985; Umanitoba, 2000).

Los conos microsporangiados (estaminados o “masculinos”) son estructuras pequeñas y de vida corta que aparecen cerca de los ápices de las ramas. Los conos femeninos se producen en la parte superior, o bien, en la misma rama cerca del ápice. De esta manera, se asegura la fertilización cruzada, pues el polen de otros árboles viene a fertilizar a los óvulos de los conos femeninos (Figura 24) (Katherine, *op. cit.*; Bost *et al.*, *op. cit.*; Umanitoba, *op. cit.*).

Uno de estos conos consta de una serie de microsporofilos acomodados en espiral, estructuras escamosas en el envés o superficie inferior, de cada una de las cuales hay dos microsporangiados o sacos polínicos. La pared del esporangio consta de varias capas de células, el más interior de las cuales es un tapetum nutritivo. El contenido de cada saco se divide en un gran número de células madre de las microsporas, formándose una tétrada de esporas, las cuales

son granos de polen. La pared de cada una consta de dos capas, una interior (intina) y una exterior (exina) (Figura 24) (Katherine, 1981; Bost *et al.*, 1985; Umanitoba, 2000).

En todos los pinos (a diferencia del caso de la mayoría de las plantas) las cubiertas están separadas en dos regiones, formándose protuberancias globosas que ayudan a la dispersión del viento; produciendo enormes cantidades de polen (Figura 24) (Katherine, *op. cit.*; Bost *et al.*, *op. cit.*). El proceso de formación y desarrollo de los granos de polen o microsporas recibe el nombre de microsporogénesis (Mergen *et al.*, 1963).



Figura 24. Microsporangios de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Tivo (2004).

Sin embargo, antes de su liberación la microspora comienza a convertirse en el gametofito masculino reducido. El núcleo de la espóra se divide primero dos veces, degenerando rápidamente en dos de los núcleos resultantes. Se cree que éstos representan los últimos vestigios de los tejidos vegetativos del gametofito y por ello se llaman algunas veces las células protaliales. El núcleo resultante se divide en una célula generativa, alrededor de la cual se forma una pared y un núcleo del tubo, que queda libre en el resto del citoplasma (Katherine, *op. cit.*; Bost *et al.*, *op. cit.*).

En esta etapa se rompe la pared del esporangio y los granos de polen liberados son arrastrados por el viento. Si uno de ellos se deposita en el nucelo de un óvulo, se revienta o

germina, emitiendo un delicado tubo polínico que crece penetrando en el tejido nuclear en el proceso de polinización (Katherine, 1981; Bost *et al.*, 1985; Umanitoba, 2000; Lycos, 2004).

Cerca del extremo del tubo y aparentemente regulando su desarrollo se mueve el núcleo del tubo. Mientras tanto, la célula generativa se ha dividido en una célula pedicular y una célula espermatógena. La célula espermatógena asciende por el tubo polínico y en su camino se divide en dos núcleos, los gametos masculinos. Finalmente, el tubo alcanza un arquegonio en el que descarga su contenido y uno de los gametos se une con el núcleo del huevo para efectuar la fecundación (Katherine, *op. cit.*; Bost *et al.*, *op. cit.*; Umanitoba, *op. cit.*).

Las megasporas se producen también en conos, pero estos conos megasporangios (óvulos o “femeninos”) son más grandes y de vida más larga. Se cree que cada escama del cono o megasporofilo, es una rama reducida creciendo en la axila de una bráctea estéril (Figura 24) (Katherine, *op. cit.*; Bost *et al.*, *op. cit.*).

En la superficie superior de la escama hay dos óvulos. Cada uno rodeado por un tegumento excepto en un punto, el micrópilo, frente a la base de la escama. La masa principal del óvulo está constituida por el nucelo o megasporangio. Dentro de éste se desarrolla una sola célula madre de las megasporas que se divide en una hilera de cuatro megasporas. Tres de éstas degeneran, pero la cuarta comienza a dividirse rápidamente para formar una masa grande de células, el gametofito femenino (Katherine, *op. cit.*; Bost *et al.*, *op. cit.*).

En el extremo de la nucela o megasporangio, hacia el micrópilo, se desarrollan varios arquegonios. Las ovocélulas son grandes, pero los cuellos se desarrollan mal y no sobresalen, de manera que el gametofito femenino está maduro (Figura 25) (Katherine, *op. cit.*; Bost *et al.*, *op. cit.*).

En la mayoría de los pinos, la fecundación no tiene lugar hasta cerca de un año después de que el polen ha sido depositado sobre el núcleo y pueden pasar dos o más años entre la aparición del cono ovulado joven y el desarrollo de la semilla madura. Sin embargo, en algunas gimnospermas todo el proceso se efectúa en una sola estación (Figura 25) (Katherine, *op. cit.*; Bost *et al.*, *op. cit.*).

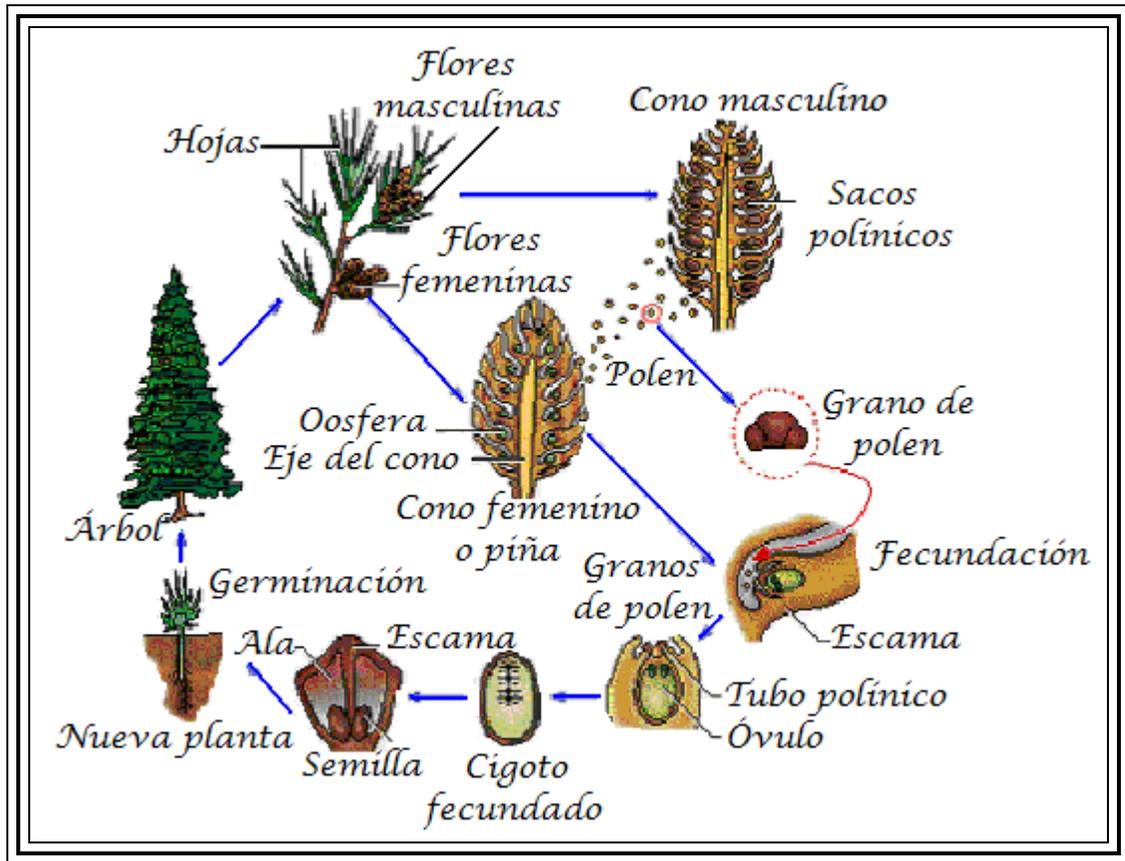


Figura 25. Ciclo de vida del género *Pinus*. FUENTE. Encarta (2003).

La meiosis tiene lugar en una de las divisiones en las que se forman las esporas de las células madres, de modo que las células de los gametofitos tienen toda la mitad o número haploide de cromosomas. Uno de los gametos masculinos se une con el núcleo de la ovocélula, restaurándose el número doble de cromosomas, formando el cigoto fertilizado que es la primera célula de la generación esporofítica. Esta célula se divide en un pequeño grupo de células, el proembrión (Figura 26) (Katherine, 1981; Bost *et al.*, 1985).

Algunas de las células, los suspensotes, se alargan mucho y empujan un grupo de células que dividen rápidamente dentro del tejido del gametofito. Este grupo se convierte en el embrión, que en el pino tiene varios cotiledones. El tejido del gametofito se llena de almidón y forma el endosperma. El cono se agranda, el tegumento se endurece formando la cubierta de la semilla de la especie, que está lista para ser liberada (Figura 26) (Katherine, *op. cit.*; Bost *et al.*, *op. cit.*; Umanitoba, 2000).

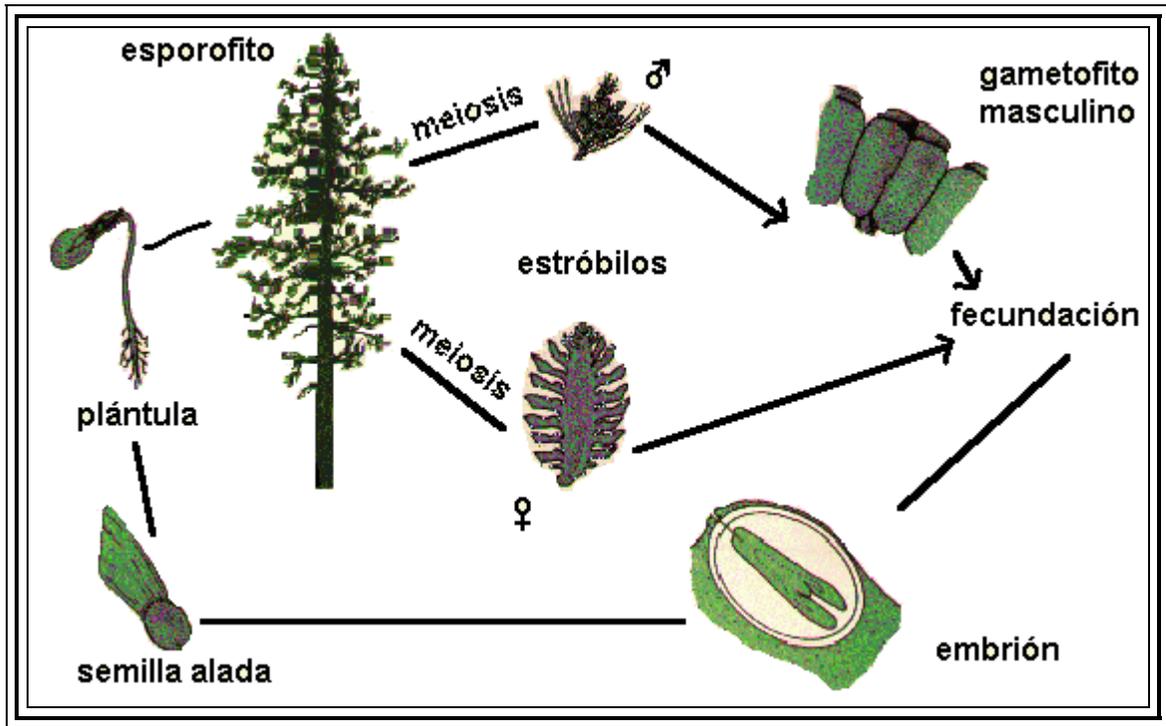


Figura 26. Etapas en el desarrollo de los pinos. FUENTE. Encarta (2003).

El ciclo de vida de las gimnospermas se apoya en gran parte en el género *Pinus*. Difiere de los ciclos de vida de otros géneros principalmente porque requiere de tres veranos para completarse (Katherine, 1981; Bost *et al.*, 1985).

Hay etapas importantes de la polinización, fecundación y maduración de las semillas que se llevan a cabo a pocos decímetros de distancia unas de otras, en determinada rama, por lo que constituyen perspectivas ideales para su estudio (Katherine, *op. cit.*; Bost *et al.*, *op. cit.*).

Sin embargo, las condiciones ambientales donde se desarrollan los pinos como la intensidad, duración y calidad de la luz, la temperatura, la humedad, el tipo de suelo y nutrientes entre los más importantes, determinan en gran medida la duración de su periodo de juvenilidad así como su tasa de producción de estróbilos (Campbell, 1955; Mirov, 1956; Dewers y Moehring, 1970; Jackson y Sweet, 1972; Boyer, 1973; Krugman *et al.*, 1974; Sweet, 1975; Boyer, 1978; Sprague *et al.*, 1978; Niembro-Rocas, 1986).

Patiño (1975) menciona que aquellos árboles que crecen aislados en lugares soleados, por lo general comienzan a producir estróbilos a temprana edad. Por el contrario, aquellos árboles de

su misma especie que por diversas razones se encuentran suprimidos en el interior del bosque, pueden llegar a pasar toda su vida sin producir un sólo estróbilo (Baker, 1950).

Baldwin (1942) hace mención que los árboles que crecen tanto en la parte sur de su rango natural de distribución, como en lugares con exposición sur, presentan la tendencia a producir estróbilos con mayor precocidad, que aquellos de su misma especie localizados en la parte norte de su rango de distribución, o bien en lugares con exposición norte. El mismo fenómeno ocurre con aquellas especies de pinos con amplia distribución altitudinal. Los árboles de las regiones bajas se desarrollan primero que los que se localizan a mayores alturas.

Los árboles que han llegado a la madurez no necesariamente tienen que producir estróbilos. Si ellos se encuentran genéticamente predispuestos a la esterilidad, permanecerán indefinidamente en estado vegetativo, independientemente de las condiciones bajo las cuales se encuentren creciendo (Cecich, 1981).

Una vez que los pinos han comenzado a producir estróbilos de manera normal, se dice que han entrado a la etapa de madurez. El desarrollo en los pinos maduros se mantiene activa por espacio de muchos años, especialmente en aquellos árboles dominantes, siendo común que se presente a través de su ciclo de vida cierto ritmo o periodicidad en la producción de estróbilos, las cuales se conocen en el medio como años semilleros (Baldwin, *op. cit.*; Wenger, 1957; Fowells, 1965; Krugman y Jenkinson, 1974; Niembro-Rocas, 1986).

Las causas de este ritmo o periodicidad en la producción de estróbilos no son del todo bien conocidas, pero de acuerdo con Niembro-Rocas, *op. cit.* menciona que existen evidencias que demuestran que después de haber tenido lugar una polinización abundante, el nivel general de nutrimentos aprovechables para el crecimiento del árbol se reduce notablemente. Esto se puede observar en una reducción del grosor de los anillos de crecimiento, en aquellos años en que se presentó una gran producción de estróbilos (Sweet, 1975).

Finalmente, a medida que los pinos van sobremadurando, su habilidad para producir estróbilos va decreciendo paulatinamente, hasta que llega el momento en que termina por completo (Baker, *op. cit.*).

De manera natural, la época de polinización para una especie en particular, generalmente presenta variaciones año con año debido sobre todo a las variaciones climáticas. En aquellas especies con amplio rango de distribución natural localizadas en cadenas montañosas, la época de iniciación, desarrollo y producción de polen varía considerablemente entre las poblaciones de árboles. Siendo más significativa esta variación, cuando entre las poblaciones se interponen barreras naturales que dificultan el intercambio de material genético (Dorman, 1976).

4.2.7.1. Principales causas que originan el aborto de las semillas durante su formación y desarrollo.

Sin lugar a dudas, no todos los óvulos que son polinizados llegan a ser fertilizados, ni todos aquellos que son fertilizados llegan a formar una semilla, debido a que gran número de ellos abortan durante las diferentes etapas de su formación y desarrollo, causando grandes pérdidas en la tasa de producción de semillas (Niembro-Rocas, 1986).

Los primeros en abortar son todos aquellos óvulos rudimentarios localizados en las regiones distal y proximal del cono (Lyons, 1956). Así como aquellos óvulos que no fueron polinizados en su oportunidad (Sweet, 1975). Posteriormente al tiempo de la fertilización, una gran cantidad de óvulos abortan por diversas causas, entre ellas a la imposibilidad del gametofito masculino para sintetizar sustancias de crecimiento necesarias para completar su crecimiento y desarrollo (Kamienska y Pharis, 1975).

Las cruces autoincompatibles ocasionan también aborto de los óvulos (Fechner, 1978). Otro factor sucede durante el desarrollo embrionario, debido a la ruptura del óvulo después de la singamia en polinizaciones interespecíficas (Kriebel, 1970; Krugman, 1970) y autoincompatibilidad núcleo-citoplasma (Hagman y Mikkola, 1963).

Desde el punto de vista genético, la consanguinidad pone de manifiesto la presencia de alelos letales, subletales o deletereos que se encuentran enmascarados en condición heterocigótica en las poblaciones (Ledig, 1998), esto puede traer como consecuencias afectaciones en la viabilidad de las semillas y supervivencia de las plántulas.

Por otra parte, dada la elevada carga genética que presentan los Pinos (Ledig, 1998) se han detectado numerosas aberraciones cromosómicas (deleciones, inserciones, inversiones y translocaciones) que pueden afectar la viabilidad de los gametos en Pinos (Gustafsson y Mergen, 2002; Wesley, 2004). Una meiosis irregular con procesos de no disyunción meiótica (Figura 27) puede traer como consecuencia afectaciones en la viabilidad de los gametos (Wesley, *op. cit.*).

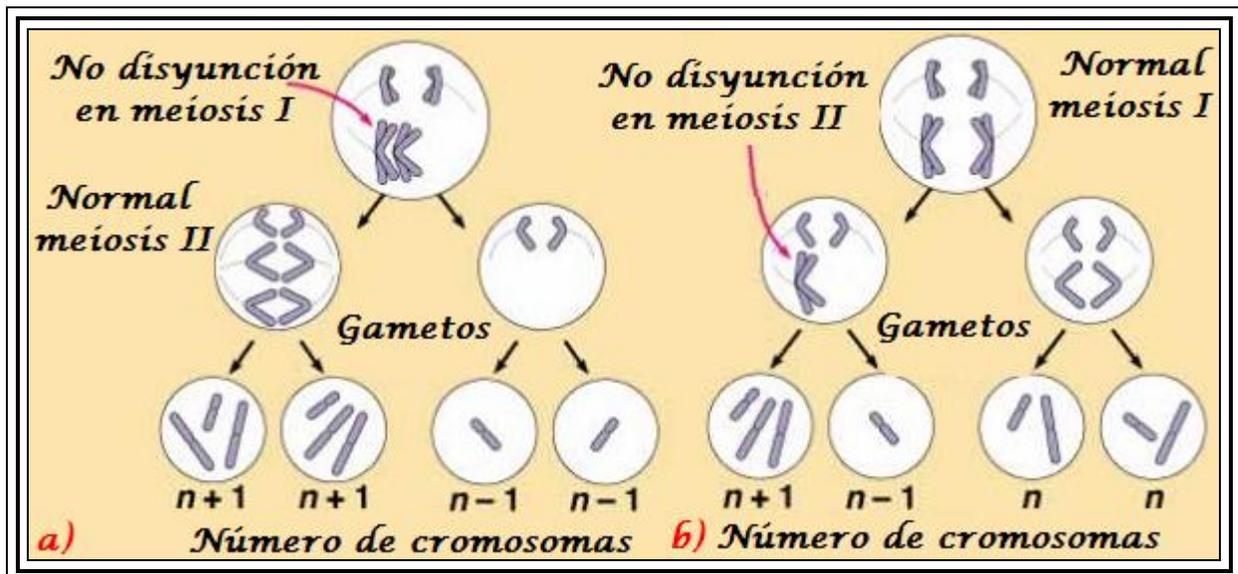


Figura 27. Representación esquemática de posibles procesos de no disyunción meiótica. a) No disyunción primaria y b) No disyunción secundaria. FUENTE. Wesley (2004).

Por último cabe mencionar que algunos insectos como los pertenecientes a los géneros *Leptoglossus* y *Tetyra* pueden ocasionar aborto de una gran cantidad de óvulos y semillas (Krugman y Koeber, 1969; De Barr y Ebel, 1974). Estas chinches al posarse en los conillos o en los conos, introducen su estilete hacia el interior de los óvulos y/o de las semillas, secretando una enzima que se digiere su contenido el cual sirve de alimento (De Barr y Ebel, 1973).

4.2.8. Variación.

La variación es el grado de diferencias fenotípicas y genotípicas presentes en los árboles forestales (Hernández, 1988). Esta debe ser heredable y estar disponible en forma tal que pueda, tarde o temprano dar origen a los siguientes árboles (Keiding y Gradual, 1995).

Existen dos causas fundamentales de la variación: una genética y la otra ambiental; la primera está dada por cuatro factores que son la mutación, la recombinación, la migración y la deriva genética y la segunda puede ser controlada por el silvicultor mediante prácticas culturales como: preparación del sitio de plantación, espaciamiento, fertilización, etc. (Hernández, 1988).

La variación se refiere a las diferencias en la composición genética que existen entre individuos o entre grupos de individuos (poblaciones). Cuando se toma en cuenta toda la variación entre especies, poblaciones dentro de especies e individuos se describe a la diversidad genética (Keiding y Gradual, 1995).

Cabe esperar, que las poblaciones de especies de tamaño reducido y rangos geográficos disjuntos, diverjan a causa de una disminución del flujo de genes interpoblacional y a la influencia de la deriva génica (Lesica y Allendorf, 1994). Es por ello de esperar que en las poblaciones reducidas geográficamente, periféricas o ecológicamente aisladas como *Pinus hartwegii* Lindl., se presenten incrementos en los niveles de consanguinidad que conlleven a una reducción en la variación genética (Bucci *et al.*, 1997).

La pérdida de hábitat, distribución restringida, aislamiento y endogamia conducen al deterioro de la variabilidad genética, pérdida de genes, extinción de poblaciones y por último, ponen en peligro a las especies (Rehfeldt, 1999). Por todo ello, la conservación de especies en peligro depende en gran medida de mantener un tamaño adecuado de la población (Carson, 1990).

Las pérdidas debidas a la extinción son irreversibles y representan un grave problema ambiental en nuestro país. Además de la extinción de especies, existe una pérdida continua de poblaciones únicas de diversidad genética, de hábitat y ecosistemas singulares, como en el caso de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. (Figura 28) (Ouédraogo, 2001). A nivel de especie, se ha puesto en evidencia la relación entre el aislamiento, la divergencia y la variación genética entre poblaciones (Bucci *et al.*, 1997).

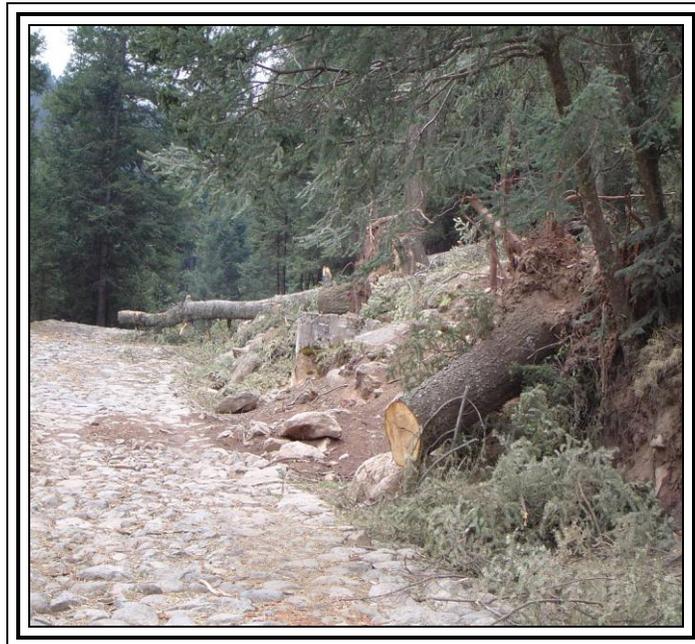


Figura 28. Desastres ocasionados por factores naturales en la población de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Tivo (2004).

Solís (2002) indicó que la densidad de los árboles en las poblaciones de *Pinus hartwegii* Lindl. disminuye en los límites de distribución, por ejemplo, en elevaciones más altas o más hacia el norte. Esto puede reducir la densidad y el movimiento de polen, lo que causa una mayor proporción de las progenies resultantes de cruzamientos consanguíneos (Figura 29) (Solís, *op. cit.*).



Figura 29. Distribución de los árboles en la población de *Pinus hartwegii* Lindl. en el Cofre de Perote, Veracruz, México. FOTO. Tivo (2004).

Lo apuntado por Lewandowski y Burczyk (2000) apoya lo anterior en relación a que los árboles de esta especie al crecer en grupos, relativamente cerrados, provoca que la dispersión de semillas y el movimiento de polen resulten limitados. Si el apareamiento ocurre primeramente entre árboles cercanos, es de esperar grupos de parientes y resultan un alto nivel de endogamia y reducción efectiva del tamaño de la población (Lewandowski y Burczyk, *op. cit.*).

4.3. Población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, México.

4.3.1. Características edafoclimáticas.

El volcán del Cofre de Perote es también conocido como Nauhcampatepetl (que significa en náhuatl “nahuí”, cosa que tiene cuatro lados o cuatro veces señor y “tépetl” cerro, es decir, cerro cuadrado o volcán de cuatro lados) (Narave, 1985; Aceves y Nava, 2004) (Figura 30). Se aplica dicho nombre a uno de los dioses del agua Tlaloques, que se venera en esa cumbre por ser el punto donde las nubes cargadas de vapor de agua se convierten en aguaceros, granizadas y nevadas, formándose las importantes cuencas hidrográficas (Figura 30) (Narave, *op. cit.*; Investigaciones Geográficas, 1998; Hernández *et al.*, 2000; INEGI, 2004).



Figura 30. Volcán del Cofre de Perote, Veracruz, México. FOTO. Tivo (2004).

En la parte más alta del Cofre de Perote, hay un gran banco cuadrangular erosionado, debido a lo cual recibe su nombre. Su cima suele cubrirse de nieve durante el invierno (Figura 31). Este volcán, es la octava cumbre mayor de México (Narave, 1985).



Figura 31. Bosque de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, México. FOTO. Tivo (2004).

Se localiza en el estado de Veracruz cerca del límite con el estado de Puebla. Entre las coordenadas 19°03'18'' latitud Norte y 97°09'34'' longitud Oeste (Méndez-Guzmán *et al.*, 2001). El cerro alcanza una altura de 4 282 metros (Aceves y Nava, 2004) (Figura 32). El área del Cofre de Perote se encuentra situado en la parte sur de la Sierra Madre Oriental, en el extremo centro oeste del estado de Veracruz (Narave, *op. cit.*; Investigaciones Geográficas, 1998; INEGI, 2004).



Figura 32. Localización del Cofre de Perote, Veracruz en México. FUENTE. Encarta (2003).

El cerro del Cofre de Perote presenta condiciones edafoclimáticas particulares. El clima de esta zona es frío/semifrío subhúmedo con temperatura media anual entre 12.7 y 18°C, la del mes más frío entre -3 y 18°C y la del mes más caliente mayor de 18°C (BS1: seco o árido, k': templado con veranos cortos, w'': canícula, i': con poca oscilación, entre 5.1 y 7.0°C, g: el más cálido ocurre en el primer semestre del año, tipo Ganges) (Figura 33) (García, 1973; Narave, 1985; Investigaciones Geográficas, 1998).



Figura 33. Población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, México afectada por las heladas.
FOTO. Tivo (2004).

El cerro del Cofre de Perote tiene una superficie de 735.35 kilómetros cuadrados, cifra que representa un 1.01% total del estado (Narave, 1985). De acuerdo con cifras presentadas por el INEGI y trabajos realizados anteriormente en el Parque Nacional, se estima que presenta una extensión territorial de aproximadamente 259 677 hectáreas, que representa el 3.55% del total estatal (Aceves y Nava, 2004). El municipio de mayor extensión es Las Minas con 5 640 hectáreas. La altitud promedio es de 1 913.4 metros con una máxima de 2 465 metros en el municipio de Perote y una mínima de 1 280 metros en el municipio de Xico (Aceves y Nava, *op. cit.*).

Este cerro constituye una barrera para los vientos cálidos provenientes del Golfo de México (Figura 34). Estos pasan por la planicie costera sin descargar su humedad, pero al chocar con la montaña suben rápidamente y se enfrían propiciando humedad hacia la ladera, este en forma de lluvia o neblina principalmente entre 1 000 a 3 500 metros de altitud (Servicio Meteorológico Nacional, 1984; Narave, *op. cit.*; Investigaciones Geográficas, 1998; Subsecretaría Forestal y de Fauna Silvestre, SARH (INIFAP), 1998).



Figura 34. Nubosidad y precipitaciones en la población de *Pinus hartwegii* del Cofre de Perote, Veracruz, México. FOTO. Tivo (2004).

De acuerdo con el Servicio Meteorológico Nacional (1984) y el INEGI (2004), la región del Cofre de Perote en el estado de Veracruz, presenta una precipitación pluvial media anual de 519.1 milímetros (Figura 35).

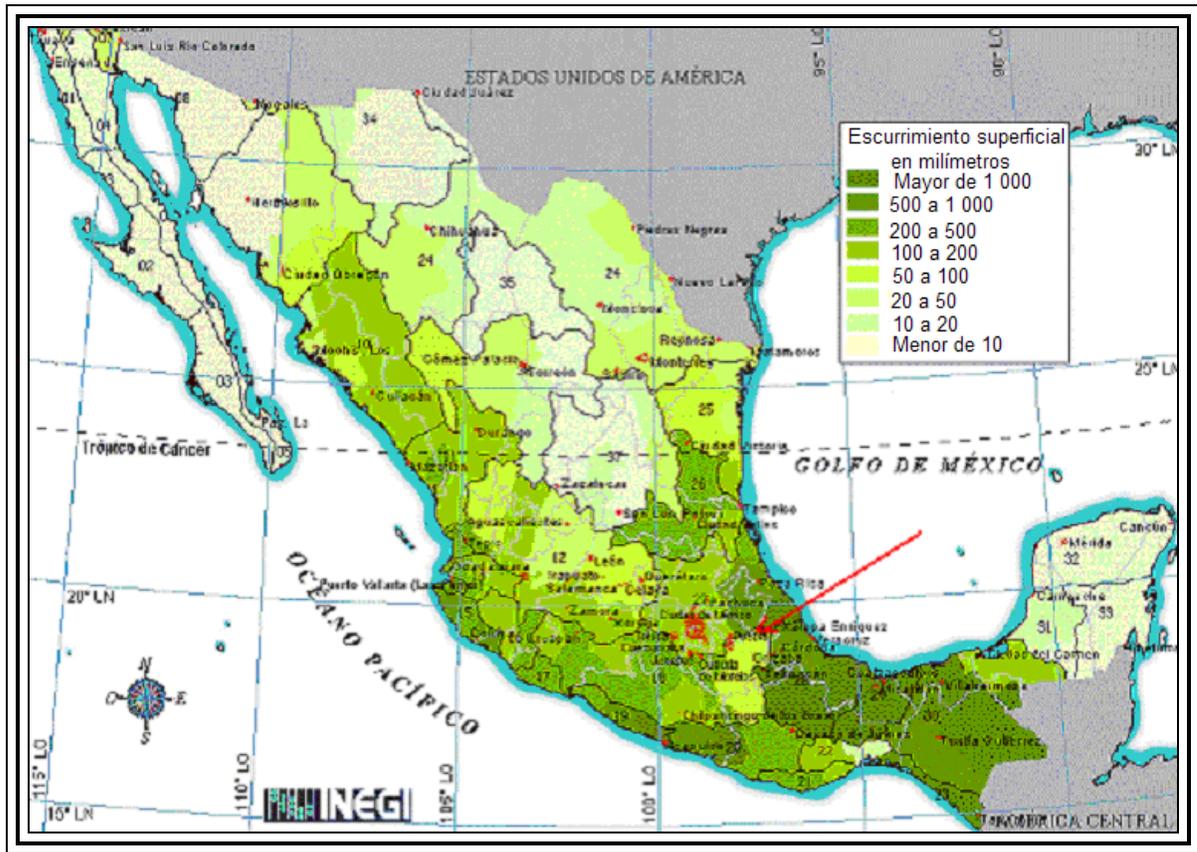


Figura 35. Escurrecimientos superficiales en milímetros de la República Mexicana. FUENTE. INEGI (2004).

Algunos ríos de lava aún son visibles a medio camino entre Perote y Xalapa. Sus faldas muestran profundas barrancas, pedregosas y con basalto, cuyas corrientes están cubiertas por bosques de pino y encino. El cerro se encuentra constituido por poca materia orgánica. Presenta rocas andesitas y augitas. Su riqueza está representada por minerales como la calera de Perote Santa Emilia, oro, banco de material, plata y cal (Narave, 1985; Investigaciones Geográficas, 1998; Hernández *et al.*, 2000).

En este volcán convergen tres vertientes hidrográficas: la del río Huitzilapan o Antigua, la de Actopan y la del curso fluvial de Naútla, que abastecen de agua a poblaciones importantes como Xalapa, Coatepéc, Perote y Xico, entre otras. Existen numerosos arroyos de corto caudal, como son el Coccozotla, Tinimil, Aninilla, Obispo y el Venero de Pinaguztepec; entre otros destacan el Tilaza, Tecajete, Carnestolenda, Tonaco y Negra (García, 1973; Narave, *op. cit.*; Investigaciones Geográficas, *op. cit.*; Subsecretaría Forestal y de Fauna Silvestre, SARH (INIFAP), 1998; Hernández *et al.*, *op. cit.*).

La montaña se extiende aproximadamente cuatro kilómetros en una dirección norte y sur a tres kilómetros en su eje este–oeste (Figura 36). Sus límites se presentan de la siguiente manera: al norte el pueblo de Las Vigas de Ramírez, Altotonga, Villa Aldama, Jalacingo; al sur los pueblos de Ayahualulco e Ixhuacán de los Reyes, al sureste con Xico; al este Acajete, Tlalnelhuayocan, Xalapa, Teocelo y Coatepec, al oeste el Valle de Perote y el estado de Puebla (Investigaciones Geográficas, 1998; Aceves y Nava, 2004).



Figura 36. Vista del volcán Cofre de Perote desde el ejido El Rosario. FOTO. Tivo (2004).

En sus 1 200 km², el Cofre de Perote presenta acentuados cambios de altitud que van desde 1 200 a 4 282 metros. Como consecuencia de los derrames del volcán sobre una porción de la Sierra Madre Oriental, se ha conformado un paisaje abrupto con pendientes que varían de 5° a 30°. El punto más alto lo constituye La Peña a 4 282 metros (Figura 37), lugar masivo de derrames de lava de unos 40 metros de altura a partir de su base y de unos 100 metros de longitud, cuyos contornos hacia el franco este y norte dan la apariencia de una gran caja de cofre, la que puede observarse desde distancias lejanas. Siendo este motivo, por el cual se le asignó el nombre de Cofre (Investigaciones Geográficas, *op. cit.*).



Figura 37. La Peña en el Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz, México. FOTO. Tivo (2004).

Unos 5 000 metros al sureste de La Peña se encuentra un gran pico conocido como el Pico de Fraile. Hacia el norte y el oeste se presentan pendientes con algunas barrancas como las de Domingo Hernández, La Toma y El Rosillo, entre otras. Hacia el este y el sur, la montaña se encuentra muy ramificada y deprimida, con enormes quebraduras que descienden abruptamente dando lugar a profundas barrancas como la de Morei, Infiernillo, Caracol y Pixquiac. También hacia el noreste se presentan corrientes de lava, una de las cuales se encuentra cerca del pueblo de La Joya (Ordóñez, 1904; Narave, 1985).

Los principales cráteres se localizan en el Volcancillo cerca de Las Vigas, el Macuiltépetl en Xalapa, el Cerro de las Culebras en Coatepec y el Volcán de Xico (Cerro de San Marcos) en Xico (Ordóñez, *op. cit.*; Narave, *op. cit.*).

Los tipos de vegetación que se encuentran en el Parque Nacional del Cofre de Perote son páramo de altura, pinar de *Pinus hartwegii* Lindl., *Pinus rudis* Lindl., *Pinus ayacahuite* var. *Veitchii* Shaw., *Pinus pseudostrobus* Lindl., bosque de *Abies religiosa* Schl. et. Cham. y *Alnus firmifolia* Ferm. (Figura 38) (Ordóñez, *op. cit.*; Susano, 1976; Rzedowski, 1983; Narave, *op. cit.*; Santillán, 1991; Matos, 1995).



Figura 38. Tipo de vegetación presente en la región del Cofre de Perote, Veracruz, México. FOTO. Tivo (2004).

En los alrededores del Parque Nacional se observan pinares, bosque de pino-encino y bosque caducifolio. Los últimos tipos de vegetación existen solamente en el lado este (Figura 39) (Ordóñez, 1904; Narave, 1985).

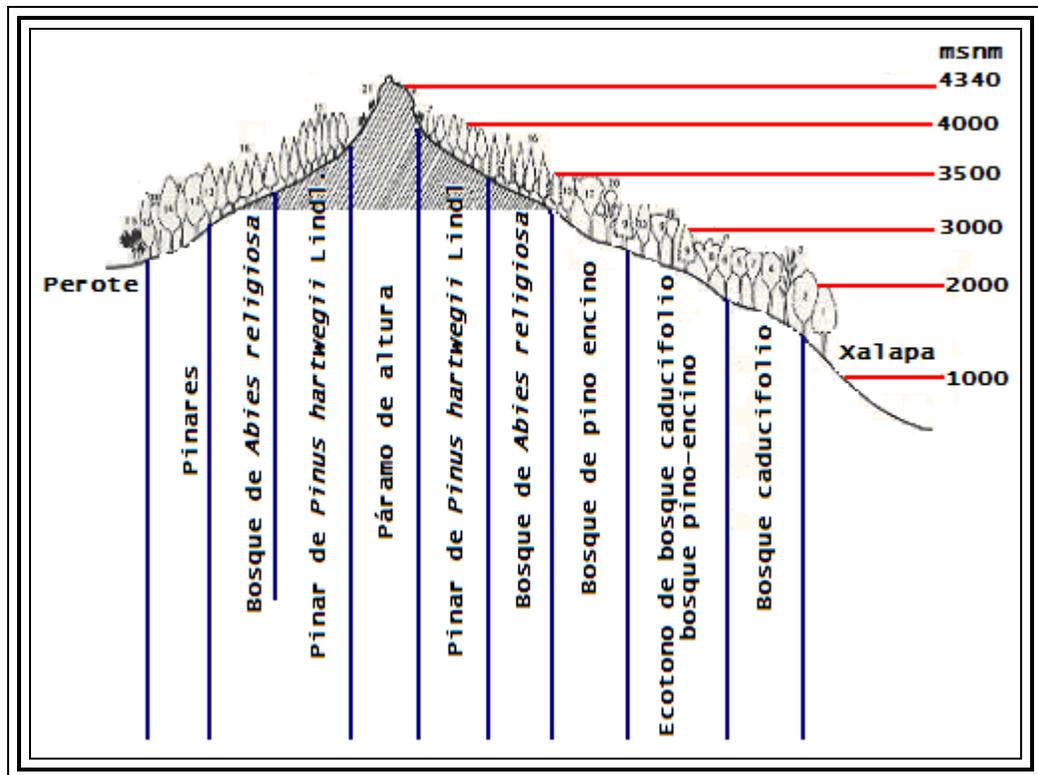


Figura 39. Perfil de vegetación del Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz, México. FUENTE. Narave (1985).

Todas estas características le dan a la sierra de Perote representación biogeográfica a nivel nacional de variados ecosistemas de gran valor escénico, científico, educativo, de recreo, histórico, biodiverso en flora y fauna y aptitud para el desarrollo turístico (Aceves y Nava, 2004).

La cuenca semiárida del Cofre de Perote colinda con una zona boscosa y presenta gran diversidad de vegetación, que va desde bosque de coníferas de alta montaña hasta matorrales en la llanura o en la parte más seca. Sin embargo, el panorama que se ha observado en esta zona es la deforestación sistemática, erosión de tierras, escasez de agua y de fuentes de trabajo (Figura 40a y Figura 40b) (Ortíz–Arcos, 1972 citado por Gérez, 1982).



Figura 40. a) y b) Deforestación de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. en el Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz, México. FOTOS. Tivo (2004).

Esta situación ha llevado cada vez más hacia un proceso de desertificación en esta zona, proceso que ha sido definido por la ONU como una disminución del potencial biológico de la tierra, que ha desembocado en condiciones de tipo desérticas (Medellín, 1978), así como de los programas de reforestación sin continuidad y con especies poco tolerantes a las condiciones existentes en esta región (Menchaca, 2000).

Por tal motivo, Aceves y Nava, *op. cit.* preveen para la zona un programa de manejo que incluya la participación de los habitantes, propietarios y poseedores de los predios en él incluidos, así como a las dependencias involucradas, los gobiernos municipal estatal y federal, conjuntamente con las organizaciones sociales, públicas, privadas y a las personas interesadas,

para lograr la restauración y conservación del área, pero además su aprovechamiento y desarrollo sostenible y sustentable.

4.3.2. Situación actual de la población.

La población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Parque Nacional del Cofre de Perote del estado de Veracruz en México decretado desde el 9 de mayo de 1937, se encuentra seriamente deteriorada (Martínez, 1948; Rzedowski, 1983; Solórzano, 1987; Paré y Alatorre, 1993; Iglesias *et al.*, 1999a; Aceves y Nava, 2004). Los bosques de esta especie están amenazados, a causa de prácticas inapropiadas en el manejo y la extracción forestal (Figura 41a y Figura 41b). Hoy en día, la deforestación de *Pinus hartwegii* Lindl. persiste a ritmos muy elevados, que ubica a nuestro país entre los primeros en el planeta (SEMARNAT, 2001).



Figura 41. a) y b) Deforestación en el Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz, México. FOTOS. Tivo (2004).

La perturbación natural es un componente fundamental del proceso de renovación de los bosques. Ésta puede ser causada por un conjunto variado de sucesos tales como fuegos, caídas de árboles por viento, senectud y herbivoría (Figura 42a y Figura 42b) (Goldammer, 1993).



Figura 42. a) y b) Perturbación natural del bosque de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTOS. Tivo (2004).

En estudios recientes en que se ha tratado de conocer y evaluar la importancia y las pérdidas económicas (Caballero, 1968; Caballero, 1970), se ha llegado a la conclusión de que son los incendios los que mayor daño ocasionan a los bosques de coníferas (Mirov, 1967; Rzedowski *et al.*, 1977; Sinnott y Katherine, 1977; Rzedowski, 1983; Perry, 1991; Puig, 1991; Bonilla, 1993; Matos, 1995; Auñón *et al.*, 2003). Asimismo, el turismo no ha sido una fuente de ingresos para la gente de la zona, sino fuente de basura, incendios, etc. para el volcán (Paré y Alatorre, 1993).

El bosque de *Pinus hartwegii* Lindl. ha sufrido afectaciones serias por incendios con efectos catastróficos, talas clandestinas que han ocasionado una disminución en el tamaño de la misma (Paré y Alatorre, *op. cit.*; Solís, 1994) y la destrucción del entorno con mucha frecuencia (Figura 43a y Figura 43b) (Mirov, *op. cit.*; Rzedowski *et al.*, *op. cit.*; Sinnott y Katherine, *op. cit.*; Rzedowski, *op. cit.*; Perry, *op. cit.*; Puig, *op. cit.*; Bonilla, *op. cit.*; Matos, *op. cit.*; Auñón *et al.*, *op. cit.*). Estos incendios ocasionan cambios en el suelo donde crece esta especie, lo que se conoce como sucesión ecológica (Kimming, 1996).



Figura 43. a) y b) Efecto de las talas clandestinas e incendios en la población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, México. FOTOS. Iglesias (2001) y Tivo (2004).

Los fuegos ocasionan otras consecuencias funestas como son: la degradación de los suelos, el debilitamiento de los árboles que quedan en pie y la destrucción del microclima fresco y húmedo. Sin embargo, de acuerdo con Sánchez y Huguet (2002), cinco años de protección integral contra los fuegos son suficientes en general para que se instale un renuevo de pinos jóvenes y de otras especies arbustivas o herbáceas.

El uso del fuego libera altos niveles de nutrientes y crea una variedad de camas semilleras que beneficia a la especie y generalmente es aceptable para su regeneración (Velásquez, 1984). Sin embargo, cuando las quemas son severas la regeneración natural no siempre es exitosa (Velásquez, *op. cit.*).

Se tienen reportes en *Pinus banksiana*, donde sus conos femeninos se cierran ante la presencia del calor, como consecuencia del fuego, lo que ocasiona que éstos se separen del árbol (Umanitoba, 2000). En general, el efecto de una perturbación depende de su intensidad, magnitud, frecuencia y periodicidad.

Según la SEMARNAT, en 1998 se dañaron 121 hectáreas del Parque Nacional Cofre de Perote, lo cual significa más del 20% del área total protegida en la actualidad (SERMANAT, 2001). Esta problemática se debe en parte, a que no se cuenta con programas adecuados de manejo ni de protección en esta zona (Sarukhán y Franco, 1981; Matos, 1995).

Aunado a ello, en *Pinus hartwegii* Lindl. se ha podido constatar la presencia de un bajo porcentaje de germinación (10%) como consecuencia de un elevado número de semillas vacías que sobrepasa la cifra del 50% (Figura 44a y Figura 44b) (Iglesias *et al.*, 2001; Solís e Iglesias, 2001; Solís, 2002), que constituyen al parecer, manifestaciones del fenómeno de depresión consanguínea, que es bastante común en especies de coníferas (Williams y Savolainen, 1996; Kuang *et al.*, 1998).



Figura 44. a) y b) Bajo porcentaje de germinación y de viabilidad de las semillas de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTOS. Tivo (2004).

Lo anterior está ocasionando una sensible disminución en la producción y calidad de la semilla, así como sería reducción de la tasa reproductiva en dicha población (Iglesias *et al.*, *op. cit.*). Por tal motivo, se considera que tanto la población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote como la del Pico de Orizaba en el mismo estado, se encuentran seriamente perturbadas (Iglesias *et al.*, *op. cit.*; Solís, *op. cit.*). Sin embargo, esta problemática no ha sido aún reconocida por el CONABIO (CONABIO, 2002; Romeu, 2004), dado que la especie de *Pinus hartwegii* Lindl. no se encuentra incluida en la Norma Oficial de especies en riesgo (SERMANAT e Instituto de Ecología, 2003).

La reducción en la producción de semillas llenas de la especie de *Pinus hartwegii* Lindl. constituye al parecer una de las más severas manifestaciones de la consanguinidad en coníferas (Kuang *et al.*, 1998). La severidad en el efecto de la depresión consanguínea varía entre especies, poblaciones e individuos (Remington y O'Malley, 2000).

Lo anterior constituye una de las características que ha sido bien estudiada y en la actualidad se cuenta con estimados del número de equivalentes de letalidad embrionaria en muchas especies (Williams y Savolainen, 1996). Como indicara Ledig (1998), los pinos cuentan con barreras pre y postcigóticas que reducen la oportunidad de que los cigotos derivados de cruzamientos consanguíneos sobrevivan y se reproduzcan. Algunas de ellas conllevan entre otros a la presencia de mecanismos de autoincompatibilidad y desfasamiento entre la producción del polen y la receptividad de las flores femeninas.

En las áreas de interés existe una pobre o nula regeneración de los bosques de *Pinus hartwegii* Lindl, debido a causas tan comunes como: colecta excesiva de semilla, el combate ineficiente de plagas y enfermedades forestales y a la falta de un plan estratégico de manejo forestal (Hernández *et al.*, 2001).

La tasa de endogamia que presenta esta especie, aumenta con el grado de parentesco y se puede expresar como la disminución de la heterocigosis (asociada a la viabilidad o habilidad para reproducirse) por generación de endogamia (Keiding, 1995; Willian *et al.*, 1995).

Se han encontrado evidencias directas en relación a que la depresión consanguínea que se manifiesta en coníferas, se debe mas bien a mutaciones letales que a mutaciones deletéreas (Griffin y Lindgreen, 1985; Husband y Schemske, 1996; Remington y O' Malley, 2000).

Por otro lado, la ubicación de esta especie en los mayores niveles altitudinales conlleva a una limitada dispersión de polen y de semillas; esto contribuye a que se produzca en las mismas, cambios en su estructura genética, que resulta en poblaciones consistentes de grupos de individuos estrechamente relacionados (Figura 45) (Nason *et al.*, 1997).



Figura 45. Subpoblaciones de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Tivo (2004).

Wolters y Martens (1987) establecieron que la germinación y el crecimiento del tubo polínico de los granos de polen son impactados por los contaminantes atmosféricos tanto *in vivo* como *in Vitro*. Estos autores mencionaron que la estimulación o inhibición de ambos parámetros de viabilidad del polen, dependen de la especie, así como del tipo contaminante y su concentración del tiempo y de la exposición y de la humedad relativa. La reducción de la capacidad germinativa y del crecimiento del tubo polínico de los granos de polen obviamente afecta de manera negativa la producción de semillas y, por lo tanto, la capacidad reproductiva de los árboles (Wolters y Martens, *op. cit.*).

Sin embargo, Cox (1989) afirmó que independientemente de la manera en que los contaminantes afectan al polen, la repercusión genética de la contaminación atmosférica también induce cambios en la competencia entre los granos de polen sobre el estilo, lo que da como resultado una reducción en la variación de los genotipos de la próxima generación.

Smith (1981) aseguró que la reproducción sexual en las especies forestales es muy importante para mantener su flexibilidad genética y la persistencia de la mayoría de las especies en comunidades forestales naturales.

4.4. Descripción botánica del polen.

Los granos de polen proceden del término latino *pollen* (Domínguez, 2000) y son el elemento germinal masculino, indispensable para la fecundación (Valdés *et al.*, 1987). Se presenta como un polvo cuyo color varía en relación con la especie de que procede, siendo generalmente amarillo o café claro, aunque también se puede encontrar blanco, rosado, anaranjado, verde, rojizo, violáceo e incluso negro (Valdés *et al.*, *op. cit.*).

Al igual que el color de los pólenes, el sabor y olor de los mismos son también variables según su procedencia. El sabor varía desde el dulce al amargo. El olor resulta característico de cada especie (Valdés *et al.*, *op. cit.*).

Presentan tres capas: la sexina, la nexina y la intina (Valdés *et al.*, *op. cit.*; Weber, 1998; Ulriksen, 2003; Ibarra, 2004). La mayoría de granos de polen pueden ser identificados por las estructuras de la superficie en la sexina. La sexina y la nexina crean la exina. Esta última puede ser lisa o estar adornada de surcos o verruguitas y resistente a la degradación (Figura 46). Esta capa resiste a la exposición del ácido-calor (un proceso llamado el acetólisis) (Weber, *op. cit.*; Domínguez, *op. cit.*).

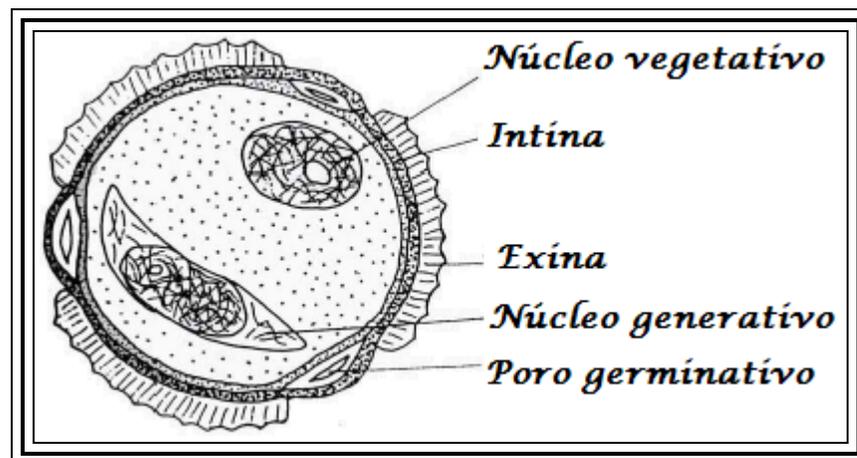


Figura 46. Grano de polen binucleado. FUENTE. Valdés *et al.* (1987).

La sexina presenta numerosos microsporos y aberturas grandes: poros y surcos. Estas aberturas son áreas adelgazadas que actúan como los puntos de salida para el tubo polínico durante la polinización exitosa (Figura 47) (Weber, *op. cit.*).

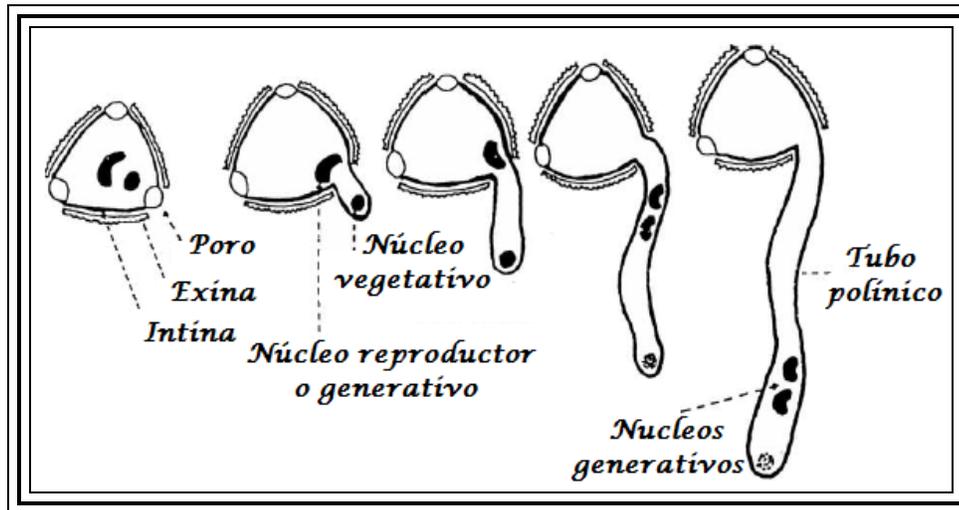


Figura 47. Estados de germinación del grano del polen y desarrollo del tubo polínico.
 FUENTE. Valdés *et al.* (1987).

La sexina generalmente consiste en dos partes: una capa y una vacuola (Lewis *et al.*, 1983). La intina esta compuesta de celulosa. El número de poros del polen varía de acuerdo a los diferentes grupos de plantas (Murray, 1997). Los granos de polen pueden presentarse como monoides o en tetradas (Weber, 1998).

Las estructuras del polen poros y surcos, son los medios primarios de identificación al nivel del taxonómico de género y a veces puede delinear las especies. Los poros son principalmente redondos, pero a veces son de forma elíptica. Éstos pueden estar sólo o múltiples. El prefijo mono, di, tri o periporados, especifica si hay un solo poro, dos, tres o numerosos poros (Weber, *op. cit.*).

De acuerdo con Murray, *op. cit.*, el polen puede clasificarse en esferoidal si no se encuentran hidratados los granos y elipsoidal si se encuentran hidratados. Si el polen tiene solo un poro o surco se define como distal. Si presenta tres poros o un anillo de poros alrededor del grano es equidistante. Los granos de polen son generalmente elípticos o esféricos, pero existen otras formas de acuerdo con lo reportado por GEOS en el 2004 (Figura 48).

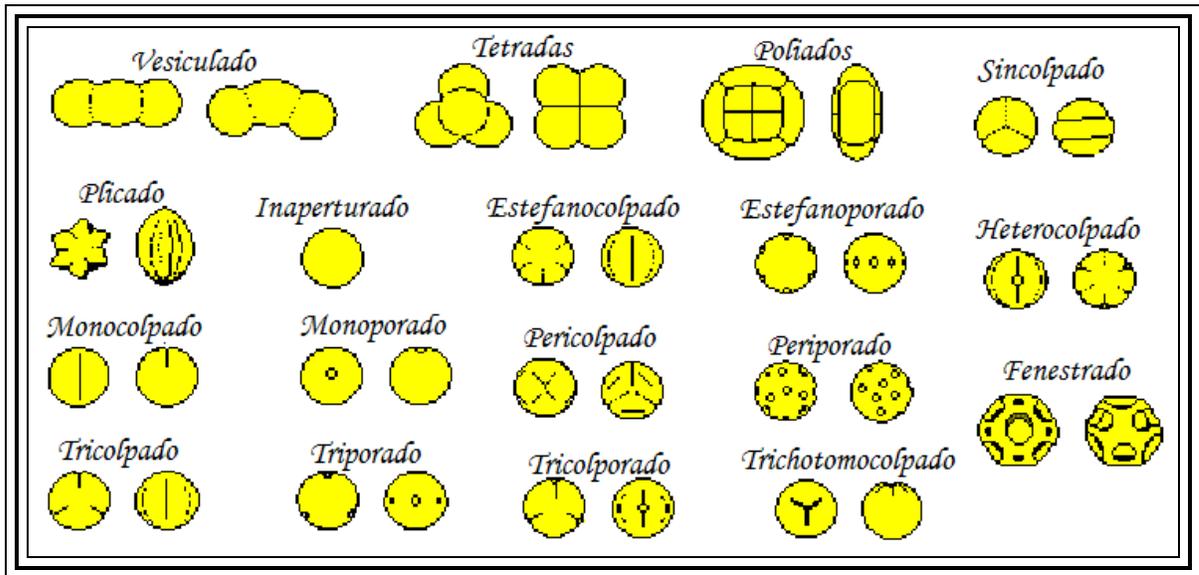


Figura 48. Características estructurales del polen. FUENTE. GEOS (2004).

La tétrada juega un papel importante, pues ella es responsable de la disposición del grano de polen, de su polaridad y de su forma, así como también de la situación de las aperturas. En cuanto a la polaridad, cada grano de polen presenta una área proximal que corresponde a la zona más cercana al centro de la tétrada y una zona distal que corresponde al lado externo opuesto. El centro de cada una de las zonas se denomina polo, habiendo por tanto un polo proximal y otro distal. La línea imaginaria que une ambos polos se denomina eje polar. Además existe otra línea perpendicular al eje polar por el ecuador, llamada eje ecuatorial o diámetro ecuatorial (Figura 49) (Ulriksen, 2003).

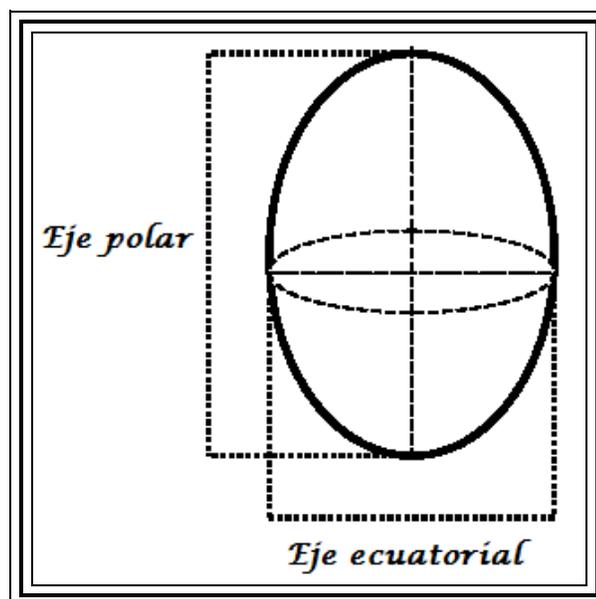


Figura 49. Eje polar y eje ecuatorial del grano de polen. FUENTE. Valdés *et al.* (1987).

Según su polaridad, se denomina apolar al polen en el que una vez liberado de la tétrada no pueden reconocerse las zonas polares y polar al que presenta dos zonas polares más o menos bien definidas. En este último caso, es isopolar el polen cuyas zonas polares son semejantes, lo que ocurre normalmente y heteropolar el que presenta zonas polares diferentes; se denomina subisopolar al que tiene zonas polares ligeramente diferentes (Valdés *et al.*, 1987).

Los granos de polen pueden ser simétricos o asimétricos y de acuerdo con la polaridad de los mismos se pueden distinguir cinco modelos (Tabla 2) (Valdés *et al.*, *op. cit.*).

Tabla 2. Modelos del polen de acuerdo con su polaridad. FUENTE. Valdés *et al.* (1987).

POLEN ISOPOLAR RADIOSIMÉTRICO	Con un plano horizontal y dos o más planos verticales de simetría de igual dimensión.
POLEN HETEROPOLAR RADIOSIMÉTRICO	Sin plano horizontal de simetría.
POLEN ISOPOLAR BILATERAL	Con tres planos de simetría, uno horizontal y dos verticales, los últimos de distintas dimensiones, por lo que se reconocen dos diámetros ecuatoriales.
POLEN HETEROPOLAR BILATERAL	Con dos planos de simetría, ambos verticales y de distintas dimensiones.
POLEN ASIMÉTRICO	Con ningún plano de simetría, pueden ser tanto apolares como heteropolares.

Según Valdés *et al.*, *op. cit.* la forma del polen se define de dos maneras: utilizando la razón de los ejes polar y ecuatorial (P/E) y describiendo el contorno del mismo, tanto en visión polar, como ecuatorial (Tabla 3).

Tabla 3. Tipos de pólenes según la razón eje polar/eje ecuatorial (P/E). FUENTE. Valdés *et al.* (1987).

<2.00	PERPROLADO
1.33 – 2.00	PROLADO
1.14 – 1.33	SUBPROLADO
1.00 – 1.14	PROLADO-ESFEROIDAL
1.00	ESFEROIDAL
0.88 – 1.00	OBLADO-ESFEROIDAL
0.75 – 0.88	SUBOBLADO
0.50 – 0.75	OBLADO
<0.50	PEROBLADO

De acuerdo con Heusser (1971), los pólenes bilateralmente simétricos son clasificados como plano-convexo, concavo-convexo y biconvexo. Cuando son mirados lateralmente o ecuatorialmente y son generalmente elípticos en vista polar. Los tipos radiosimétricos caen dentro de varias clases, dependiendo de los radios de sus ejes polares y ecuatoriales, de ahí la razón eje polar/eje ecuatorial (P/E) (Tabla 3). El contorno del polen en vista polar es circular, triangular y poligonal o representado por alguna modificación de estas formas (Heusser, *op. cit.*).

Para Valdés *et al.* (1987) y Heusser, *op. cit.*, según la longitud del eje más largo (eje polar), se pueden distinguir seis grupos de pólenes (Tabla 4). En cuanto al número de granos de polen que originan las anteras se puede decir que es muy variable y, por lo general, muy elevado (Valdés *et al.*, *op. cit.*).

Tabla 4. Tipos de pólenes según la longitud del eje mayor. FUENTE. Valdés *et al.* (1987).

MICRAS (μ)	TIPO DE POLEN
<10	MUY PEQUEÑO
10 - 25	PEQUEÑO
25 - 50	MEDIANO
50 - 100	GRANDE
100 - 200	MUY GRANDE
>200	GIGANTE

Los granos de polen pueden tener un tamaño muy variable, desde 2.5 micras (la micra es la milésima parte del milímetro) a 250 micras los más grandes, como los del maíz y la yuca. Lo normal es que tengan un tamaño entre 20 y 50 micras (Domínguez, 2000).

Los términos ornamentación y escultura del grano de polen son sinónimos, siendo empleados indistintamente por muchos autores. Estos términos se refieren únicamente a los caracteres geométricos externos de la exina, la superficie del téctum y los elementos supratectales, no considerando la estructura interna (Valdés *et al.*, *op. cit.*).

La ornamentación del grano de polen es enormemente variada. De acuerdo con Heusser, *op. cit.*, existen diferentes tipos de escultura del polen (Tabla 5).

Tabla 5. Tipos de escultura del polen. FUENTE. Heusser (1971).

BACULADA	Tipo de escultura que consiste en baculas.
CLAVADA	Tipo de escultura que expone clavos o elementos en forma de garros.
ECHINADA	Tipo de escultura con punteado de por lo menos una micra de altura. Sus componentes son llamados echinis.
ESTRIADA	Tipo de escultura que consiste en lomas paralelas, llamadas vallas, y estrías.
FOSSULADA	Tipo de escultura ranurada o surcada.
FOVEOLADA	Tipo de escultura donde los pits son por lo menos de una micra de diámetro. Estos pits se denominan foveas.
GEMMADA	Tipo de escultura consistente en gemmas.
PSILADA	Tipo de escultura que posee una superficie lisa o con pits menores a una micra en tamaño.
RETICULADA	Escultura que expone un diseño de red o de retículo. Esta puede ser homobrochada cuando los brochis del retículo son uniformes en tamaño o heterobrochada cuando los brochis del retículo no son uniformes en tamaño.
RUGULADA	Tipo de escultura que contiene rugulas.
SCABRADA	Tipo de escultura con elementos menores a una micra de tamaño y radialmente más o menos isodiamétricas.
VERRUCADA	Escultura que contiene verrucas.

La naturaleza del polen está determinada por el medio de transporte (Domínguez, 2000). Las plantas superiores usan dos métodos en la dispersión de polen: el viento o los insectos. Sólo aproximadamente el 10% de plantas utilizan la polinización por viento, éstas se llaman el anemófilas (Weber, 1998; Domínguez, *op. cit.*).

Los pinos presentan polinización típicamente anemógama y su polen tiene una gran capacidad de dispersión como consecuencia de la presencia en ellos de dos sacos laterales al cuerpo que favorecen su movimiento (Figura 50) (Galicia, 2004).

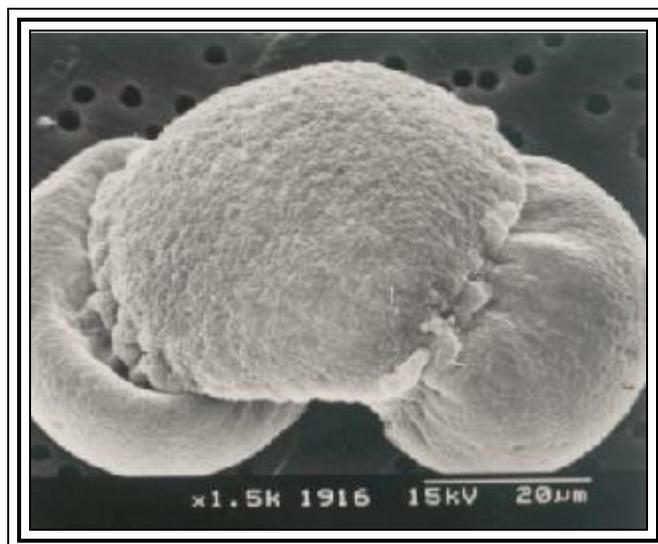


Figura 50. Sacos aéreos del polen que favorecen su dispersión en la naturaleza. FUENTE. Galicia (2004).

Los granos destinados a ser transportados por el viento son lisos y ligeros. El polen es el vector dominante del intercambio gamético de la mayoría de las especies forestales (Ennos, 1994; Lindgren *et al.*, 1995), su movimiento influye en la creación, mantenimiento y erosión de la estructura gamética en las poblaciones naturales resulta de gran importancia lograr una adecuada comprensión de sus características morfométricas y de viabilidad.

Asimismo, se encuentran los transportados por corrientes de agua y adheridos a los pelos de ciertos mamíferos y, por supuesto, los depositados en el suelo. Este último puede permanecer durante largos periodos de tiempo si las condiciones físico-químicas les son favorables. Los cuales pueden ser útiles en los estudios de las condiciones paleoambientales de determinadas regiones del país (Ibarra, 2004).

Los científicos han descubierto que los estróbilos femeninos, receptores de los granos de polen, han desarrollado diversas estrategias para favorecer la aproximación y captura de los mismos. Así, se ha comprobado que la estructura de los conos femeninos de los pinos y su ubicación en el extremo de las ramillas, permite crear turbulencias en las corrientes de aire, con lo que los granos de polen que flotan en dichas corrientes pierden velocidad y caen hacia el cono femenino (Domínguez, 2000).

El polen de pino ha sido considerado como de bajo nivel de sensibilidad. A pesar de que producen grandes cantidades de polen y que éstos son fácilmente dispersados por el aire, los pinos no se han considerado como serios productores de alergias respiratorias. Probablemente, esta baja incidencia se debe fundamentalmente al gran tamaño de sus pólenes (poca penetración en el tracto respiratorio) y también a su naturaleza hidrofóbica y su bajo contenido en proteínas. Sin embargo, en un estudio llevado a cabo con polen de *Pinus radiata*, muy abundante en la atmósfera de Nueva Zelanda, se han encontrado proteínas alergénicas y se han evidenciado reactividad cruzada con el polen de una especie de gramínea (*Lolium perenne*). Recientemente, otros autores han encontrado un fuerte aumento de la alergenicidad de este polen por el efecto de la polución. Por tanto, respecto a este tipo de polen, no se sabe realmente cuál es la importancia alergénica que pueda tener (UMA, 2004).

Sin embargo, en *Pinus* son poco frecuentes las informaciones relativas a la capacidad alergénica. Alemany (1954) citado por Galicia (2004), lo considera como inductor casual de procesos alérgicos. Lewis *et al.* (1983) citado por Galicia, *op. cit.* lo consideran de bajo nivel alergénico, al igual que Surinyach (1950), Pla (1958) y López Botet *et al.* (1965) citados por Galicia, *op. cit.* Asimismo, es citado como especie alergógena por Wodehouse (1971), Izco *et al.* (1972), Stanley y Linskens (1974), Saenz (1978), Martin y Seoane (1980), Ciampolini y Cresti (1981), Yman (1982) y Zerboni *et al.* (1987) citados por Galicia, *op. cit.*

4.4.1. Estudios palinológicos del polen en distintas especies forestales con referencia especial a *Pinus*.

La variabilidad morfométrica del polen en diversas especies forestales ayuda a delimitar las bases genéticas de la variación fenotípica y explicar los aspectos relacionados con los procesos evolutivos, así como estudiar la heredabilidad de la variación fenotípica y la influencia con el ambiente (Marque, 2000).

La morfología del polen es muy amplia, por lo que no todos los granos de polen son iguales, esto es debido a las diferentes estrategias de dispersión adoptadas por las diversas familias de plantas. Los pinos tienen un grano de polen muy característico, ya que se trata de un cuerpo central donde se encuentran incluidos la parte citoplasmática y un par de sacos aéreos que le ayudan a transportarse por el viento. Otros granos presentan estructuras parecidas a espinas o ganchos que les permiten adherirse al cuerpo de diversos insectos, que les sirven como vectores en la diseminación del polen a otras plantas. El polen de plantas como cactáceas es grande y pesado; puede ser transportado únicamente por los insectos y murciélagos. También existen plantas que crecen en lagos, estanques y a orillas de los ríos cuyos granos son finos y delicados y se transportan por medio del agua (Ibarra, 2004).

El polen es una interesante fuente de información en Paleocología. La Paleocología es una rama de la Ecología que estudia los ecosistemas del pasado a través de los fósiles. Los granos de polen que se encuentran fósiles en los sedimentos son la mejor fuente de información sobre la vegetación que existió en el pasado en una determinada región y de ahí pueden deducirse otros

factores como los climáticos (Domínguez, 2000). Además se encarga de estudiar y clasificar todas las formas y estructuras polínicas (Ibarra, 2004).

En las últimas décadas, diversos autores han efectuado estudios palinológicos en distintas especies forestales (Tabla 6) con el propósito de contribuir al conocimiento de la morfología del polen; lo que puede ser de utilidad en los estudios paleo-botánicos, lluvias de polen actual y fósil, en la interpretación taxonómica y evolutiva de los diferentes géneros y especies (Palacios-Chávez y Quiroz-García, 1985a; Palacios-Chávez y Quiroz-García, 1985b; Palacios-Chávez *et al.*, 1996).

Tabla 6. Estudios palinológicos realizados en distintas especies forestales.

FAMILIA	ESTADO	AUTOR(ES)
Leguminosae	Morelos	Palacios-Chávez, 1968.
Martyniaceae.	Veracruz	Ludlow-Wiechers y Ayala-Nieto, 1983 y Ludlow-Wiechers y Roldán-Ramos, 1984.
Agavaceae.	Mérida	Ojeda <i>et al.</i> , 1984.
Boraginaceae. Género: <i>Cynoglossum</i> .	Veracruz	Ludlow-Wiechers y Ayala-Nieto, <i>op. cit.</i> y Ludlow-Wiechers y Palacios-Chávez, 1985.
Boraginaceae. Género: <i>Cordia</i> .	Veracruz	Nowick y Ridgway, 1973; Ludlow-Wiechers y Ayala-Nieto, <i>op. cit.</i> y Palacios-Chávez y Quiroz-García, 1985a.
Boraginaceae. Género: <i>Hackelia</i> .	Veracruz	Ludlow-Wiechers y Ayala-Nieto, <i>op. cit.</i> y Palacios-Chávez y Quiroz-García, 1985b.
Boraginaceae. Género: <i>Borago</i> .	Veracruz	Pla Dalmau, 1961; Nash y Moreno, 1981 y Quiroz-García y Palacios-Chávez, 1985a.
Boraginaceae. Género: <i>Cryptantha</i> .	Veracruz	Nash y Moreno, <i>op. cit.</i> y Quiroz-García y Palacios-Chávez, 1985b.
Convolvulaceae. Grupo: <i>Psiloconiae</i> .	Estado de México	Hallier, 1893; Pedraza, 1983 y Pedraza, 1985.
Erythroxylaceae, Theophrastaceae y Turneraceae.	Jalisco	Lott, 1985 y Palacios-Chávez <i>et al.</i> , 1996.
Polygalaceae (<i>Monnina ciliolata</i> DC., <i>Polygala alba</i> Nutt., <i>Polygala appressipilis</i> Blake, <i>Polygala compacta</i> Rose, <i>Polygala myrtilloides</i> Willd, <i>Polygala mexicana</i> Moc. y <i>Polygala subalata</i> S. Wats.).	Estado de México	Arreguín-Sánchez <i>et al.</i> , 1988.
Achatocarpaceae, Basellaceae, Caricaceae, Chrysobalanaceae, Julianiaceae, Moringaceae, Opiliaceae, Plumbaginaceae y Simaroubaceae.	Jalisco	Palacios-Chávez <i>et al.</i> , 1989.
Aceraceae, Aquifoliaceae, Geraniaceae, Resedaceae, Sabiaceae y Saxifragaceae.	Estado de México	Arreguín-Sánchez <i>et al.</i> , 1990.
Acanthaceae, Vitaceae y Violaceae.	Estado de México	Erdtman, 1966; Huang, 1972 y Palacios-Chávez <i>et al.</i> , <i>op. cit.</i>
Boraginaceae. <i>Drimys granadensis</i> vas. mexicana.	Jalisco	Quiroz-García <i>et al.</i> , 1997.
	Estado de México	Vilela y Acosta, 1995 y Acosta y Vilela, 1998.
Cistaceae.	Estado de México	Palacios-Chávez <i>et al.</i> , 1999.
Cobaea, Bonplandia, Loeselia y Gilia.	Querétaro	Quiroz-García y Arreguín, 2002.
Phyllostomidae.	Costa Rica y México	Quesada <i>et al.</i> , 2002.

En coníferas se han realizado pocos estudios palinológicos con el fin de describir las características cuantitativas y cualitativas de los granos de polen. Entre ellos se encuentra el estudio realizado por Iglesias *et al.*, (1999b). Estos autores evaluaron la variabilidad en las características del polen de tres especies de *Pinus* (*Pinus patula*, *Pinus teocote* y *Pinus montezumae*) del Cofre de Perote en el estado de Veracruz. Para ello, utilizaron un microscopio de campo claro con un aumento de 200x para evaluar en una muestra de 30 granos de polen de cada especie las características morfométricas (largo, ancho, relación largo/ancho del polen y de la célula principal). Los resultados obtenidos mostraron la existencia de diferencias significativas para los caracteres morfométricos evaluados en las especies estudiadas.

Similares resultados han sido reportados por Bagnall (1975), quien menciona que las dimensiones del polen de los pinos oscilan entre los 50 y 70 micras y en general con lo reportado por Weber (1998), quien indica que la mayoría de los granos de polen dispersados por el viento como los provenientes de especies de pinos poseen tamaños que oscilan entre los 20 y 60 micras, así como un tipo de forma elongada (prolada), dada la presencia de relaciones eje polar/eje ecuatorial (P/E) en el rango de 1.3 a 2.0. Generalmente, las coníferas presentan una forma de polen vesiculada y en algunas ocasiones se observan en forma de tetradas (Weber, *op. cit.*).

De acuerdo con Galicia (2004), el polen de *Pinus* es heteropolar, con simetría radial, analeptomado, provisto de dos sacos aeríferos o flotadores laterales. En visión ecuatorial, el cuerpo del grano es plano-convexo y sacos casi circulares. En visión polar, el cuerpo es casi circular o elipsoidal y sacos elípticos. El tamaño de los granos de polen son grandes, aunque con grandes diferencias entre las especies, siendo el más pequeño *Pinus sylvestris* (aproximadamente 70 micras) y el mayor tamaño *Pinus pinaster* (aproximadamente 100 micras). Presenta apertura tipo leptoma, es decir un área delgada de la exina que funciona como apertura (Figura 51). Su superficie varía según se trate del cuerpo del grano o de los flotadores. El polen presenta el cuerpo psilado-perforado, *Pinus sylvestris* tiene el cuerpo liso, rugado-insulado o nanoverrugado.



Figura 51. Polen de *Pinus*. FUENTE. Galicia (2004).

Sin embargo, Urg (2004) indica que el polen de los pinos es analeptomado, heteropolar, de simetría bilateral, con dos vesículas o sacos aeríferos laterales; corpus subcircular a elíptico en visión polar y plano convexo en visión ecuatorial; de oblato a oblato esferoidal. Con una superficie del corpus granulada verrugosa y de las vesículas aeríferas psilado micoperforada (Urg, *op. cit.*).

El polen de *Pinus hartwegii* Lindl. es una célula de forma y de dimensiones variables, generalmente son redondas u ovoides (Weber, 1998; GEOS, 2004). Suele tener un tamaño muy variable. Por lo general, presenta un tamaño entre 40 y 80 micras, similar a lo que reporta Bagnall (1975) y Weber, *op. cit.* (Figura 52). El polen de *Pinus hartwegii* Lindl. se disemina por el viento durante los meses de marzo y abril (Domínguez, 1998; Zamudio y Castro, 2001) por medio de sus dos sacos aeríferos o flotadores laterales conocidas también como alas del polen (Galicia, 2004; Urg, *op. cit.*).

De acuerdo con la clasificación publicada por Weber, *op. cit.* y GEOS, *op. cit.*, el polen de *Pinus hartwegii* Lindl. es de forma vesiculada y en raras ocasiones se presenta en tetradas. De acuerdo con la posición de sus poros son monoporado y raramente se presenta diporados o triporados (Figura 52).



Figura 52. Grano de polen de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Láez (2003).

4.4.2. Caracterización de la viabilidad del polen en distintas especies forestales con referencia especial a *Pinus*.

La calidad del grano de polen constituye un factor crítico en el éxito de los programas de hibridación que se realizan en el campo forestal (Moody y Jett, 1990; Jett *et al.*, 1993). Se ha reportado, que la viabilidad del polen es fundamental antes de emprender un programa de mejora genética por hibridación en forestales (Merlo *et al.*, 2003).

Conocer la viabilidad del polen es fundamental antes de su utilización en polinizaciones controladas o suplementación polínica en los planes avanzados de mejora de las especies forestales (Merlo *et al.*, *op. cit.*).

En la actualidad, se cuenta con diferentes métodos directos e indirectos para determinar la fertilidad del polen. Los métodos de tinción ubicados en la categoría de indirectos han sido empleados por Bamberg y Hanneman (1991) y González *et al.* (1995b). Mientras que como método directo, Pickert (1988) y Lindgren *et al.* (1995) determinaron la germinación del polen *in Vitro*.

Según lo planteado por Stanley y Linskens (1974), los colorantes utilizados en las pruebas de tinción no son específicas, pues no todos los granos de polen que se colorean son capaces de germinar por lo que se sobreestima la viabilidad polínica (González *et al.*, 1999a).

Así mismo, se han utilizado diversos métodos colorimétricos en especies forestales para determinar la viabilidad del grano de polen (Tabla 7). Sin embargo, algunos de estos métodos no detectan el polen que no es viable (Norton, 1966).

Tabla 7. Empleo de diferentes indicadores de viabilidad del polen en distintas especies forestales.

ESPECIE	MÉTODO	AUTOR(ES)
Fam. Rosáceas. Género <i>Prunus</i> . <i>Prunus persica</i> . Melocotonero.	Aceto carmín.	Norton, <i>op. cit.</i> ; Werner y Chang, 1981; Daulta y Singh, 1985.
Fam. Rosáceas. Género <i>Prunus</i> . <i>Prunus armeniaca</i> L. Albaricoquero.	Aceto carmín.	Parfitt y Ganeshan, 1989; Burgos, 1991; Andrés <i>et al.</i> , 1999.
Fam. Verbenacea. <i>Aloysia polistachia</i> , <i>Aloysia gratissima</i> y <i>Lippia fissicalyx</i> .	Reactivo de Mutzing.	Andrada <i>et al.</i> , 1998.
Fam. Pedaliaceae. <i>Sesamum indicum</i> L.	Azul de algodón en lactofenol al 1%.	Berlingeri <i>et al.</i> , 1999.
Fam. Solanaceae. <i>Solanum tuberosum</i> .	Aceto carmín y azul de algodón en lactofenol al 1%.	Bamberg y Hanneman, 1991; González, 1992; González <i>et al.</i> , 1992; González <i>et al.</i> , 1995a; González <i>et al.</i> , 1999a; González <i>et al.</i> , 1999b.
Fam. Solanaceae. <i>Lycopersicum esculentum</i> .	Azul de algodón en lactofenol.	Labourdette, 1985; Bamberg y Hanneman, <i>op. cit.</i> ; González <i>et al.</i> , <i>op. cit.</i>
Fam. Leguminosae. Género <i>Arachis</i> .	Aceto carmín con glicerina.	Lavia <i>et al.</i> , 2000.

En coníferas, se ha indicado que el polen del género *Pinus* debe manejarse adecuadamente, porque de lo contrario, se deteriora rápidamente su viabilidad (Aparicio, 1999).

Dada la importancia de ésta temática se han desarrollado desde hace varios años diversos trabajos encaminados al estudio de la viabilidad del polen en diferentes especies de coníferas (Bramlett y Bridgwater, 1989; Moody y Jett, 1990; Owens, 1993).

No obstante, en México son escasos los estudios sobre el manejo de polen de coníferas y más aún los referidos al almacenamiento prolongado (Martínez y de la Garza, 1994). Además, no se cuenta con suficiente información sobre las características de viabilidad del polen de las principales especies de *Pinus* de que dispone.

Entre los estudios realizados caben señalar los efectuados por Simón en 1972 citado por Iglesias *et al.* (1999b), quien llevara a cabo una caracterización de la viabilidad del grano de polen mediante la solución azul de algodón en lactofenol al 1% como tinción, para diferenciar los granos de polen fértiles, llenos e intensamente coloreados, de los infértiles que fueron los incoloros y vacíos. Este autor obtuvo altos porcentajes de viabilidad con esta solución.

Iglesias *et al.*, *op. cit.*, reportaron la viabilidad del polen en tres especies de *Pinus* (*Pinus patula*, *Pinus teocote* y *Pinus montezumae*). En su metodología estos autores ocuparon los métodos de lugol (Edwardson y Corbett, 1961) y azul de anilina al 1% en lactofenol (Hauser y Morrison, 1964) para observar la viabilidad del polen en cuatro campos en el microscopio por preparación. Finalmente procedieron a realizar un recuento de 300 granos de polen de cada especie; consideraron polen fértil aquel que presentó citoplasma coloreado y una morfología normal. Los resultados obtenidos indicaron que el porcentaje de polen fértil por los dos métodos de tinciones examinados permitieron constatar la existencia de diferencias significativas entre los métodos y las especies, mas no así para la interacción métodos y especies. De hecho, constataron los mayores porcentajes de viabilidad con el método de lugol. En *Pinus patula* se ha detectado asimismo la presencia en general de porcentajes de viabilidad del polen relativamente elevados (González *et al.*, 1995b).

Estos estudios concuerdan con lo apuntado por numerosos autores en relación a que los métodos indirectos de determinación de la fertilidad del polen, son menos efectivos que las pruebas de germinación, pero tienen la ventaja de que permiten hacer predicciones rápidas de la fertilidad masculina (Adiwilaga y Brown, 1991; Bamberg y Hanneman, 1991; González *et al.*, *op. cit.*).

Otro aspecto que se ha puesto de manifiesto en estos estudios es la existencia de diferencias significativas entre los métodos de tinción empleados para evaluar la viabilidad del polen. Esto subraya la necesidad de emprender estudios metodológicos que permitan definir el método más adecuado en cada caso para evaluar la viabilidad del polen (Mulugeta *et al.*, 1994; Firmage y Dafni, 2001).

4.4.3. Capacidad germinativa del polen en diferentes especies forestales con referencia especial a *Pinus*.

El éxito de las hibridaciones depende en gran medida de la capacidad del polen para germinar (Huaman, 1995), por lo que es necesario, el desarrollo de métodos de evaluación de la calidad del polen, que sean confiables y de rápida ejecución; se requiere asimismo el ajuste de los medios de cultivos para una óptima germinación del polen (Singh, 1993), ya que los requerimientos varían entre las diferentes especies vegetales (Demeke y Hughes, 1991).

La germinación tiene lugar en dos fases; durante la primera fase, el polen se hincha por la toma de humedad y a partir de ahí se elonga y expande (Allens y Owens, 1972). El polen permanece en estado de elongación hasta una semana antes de la fertilización en que inicia la segunda etapa con la formación del tubo polínico (Allens y Owens, *op. cit.*).

En la mayoría de las especies de pinos de nuestro país, la polinización ocurre en la primavera (Niembro-Rocas, 1986). En ese momento, las brácteas de los estróbilos femeninos están ligeramente separadas y los granos de polen penetran entre las brácteas y se anidan en el exudado micropilar (Mirov, 1969). El estado de receptividad por lo general dura de uno a tres días, al cabo de los cuales las escamas se cierran como resultado de su crecimiento (Niembro-Rocas, *op. cit.*). La mayoría de los granos de polen que entran a la cámara polínica inician su germinación unos días después, especialmente si la temperatura del óvulo es de 30 a 32°C (McWilliam, 1959); sin embargo, solo unos cuantos sobreviven y llegan a emitir su tubo polínico (Stockwell, 1939, citado por Niembro-Rocas, *op. cit.*).

De acuerdo con Andrés *et al.* (1999), consideraron que el polen germina cuando el tubo polínico es igual o superior al diámetro del polen. Sin embargo, Botto (1997) considera que el polen germina, no únicamente cuando los granos emiten el tubo polínico, sino también cuando los granos cambian de forma, presentando un aspecto casi triangular, con los vértices ensanchados.

El crecimiento de esta última estructura sucede en completa oscuridad y posiblemente con baja concentración de oxígeno, debido a que el micrópilo se cierra después de terminada la polinización (McWilliam, 1960). El grano de polen crece muy lentamente durante los siguientes once meses posteriores a la polinización. Al llegar el invierno el proceso se detiene para reanudarse en la primavera del siguiente año (Niembro-Rocas, 1986).

Se ha indicado (Ostapenko, 1958; Vasil, 1958; Visser y Tillekeratre, 1958; Singh, 1961; Leal, 2003) que la germinación de los granos de polen *in Vitro* constituye una prueba confiable para determinar su viabilidad. La mayoría de los granos de polen germinan adecuadamente en soluciones azucaradas; por ello se ha vuelto conveniente el uso de la solución de sacarosa con este fin. Muchos investigadores (Herrero-Egaña y Álvarez-Laviada, 1935; Zacharia, 1951; Ostapenko, *op. cit.*; Vasil, *op. cit.*; Visser y Tillekeratre, *op. cit.*; Singh, *op. cit.*; Leal, *op. cit.*), han llegado a la conclusión de que el uso de la solución de sacarosa resulta eficaz para evaluar la capacidad germinativa del polen en comparación con otros métodos.

Otro método que se ha empleado para determinar la germinación del polen, esta basado en el cultivo *in Vitro* del polen (Wocior, 1976; Vachun, 1981; Hill *et al.*, 1985; Burgos, 1991). Las pruebas *in Vitro* pueden resultar sencillas y rápidas para determinar algunos aspectos relacionados con la fisiología del grano del polen. Este método requiere contar con un medio de cultivo adecuado. Generalmente, se utiliza agar y sacarosa en el medio de germinación del polen (Montalti y Selli, 1984; Burgos, *op. cit.*); sin embargo, las concentraciones óptimas de sacarosa pueden variar dependiendo de la especie.

Porta y Roselli (1991) opinan que si bien en teoría la germinación *in Vitro* podría dar una estima próxima a lo que ocurre en la realidad, al evaluar el porcentaje de germinación y el crecimiento del tubo polínico. En la práctica este método dá resultados de viabilidad inferiores, debido a la dificultad de encontrar el medio de cultivo adecuado para la germinación de cada genotipo y a la influencia de las variables microambientales, las cuales son difíciles de controlar.

Hasta la fecha se han realizado diferentes estudios en cítricos y forestales con el fin de determinar la capacidad germinativa de los granos de polen de forma artificial (Tabla 8).

Tabla 8. Capacidad germinativa del polen en diversas especies forestales.

ESPECIE	MÉTODO DE GERMINACIÓN	AUTOR(ES)
Naranja Shamouti, naranja Temple, <i>Poncirus trifoliata</i> , toronja Marsh, limón Meyer, limón Eureka y Kumquat (<i>Fortunella</i> sp.).	Sacarosa 5%, 10%, 15% y 20%.	Resnir, 1958.
Limón y cidra	Sacarosa 15%.	Randhawa <i>et al.</i> , 1961.
<i>Solanum chacoense</i> , <i>Solanum simplicifolium</i> , Spunta y Atlantic.	Medio 1: Sacarosa 12%, Cu(NO ₃) ₂ 300 ppm, MgSO ₄ 200 ppm, KNO ₃ 100 ppm y ácido bórico 100 ppm. Medio 2: Brasinoesteroides.	González <i>et al.</i> , 1999a y González <i>et al.</i> , 1999b.
<i>Poncirus trifoliata</i> y <i>Citrus sinensis</i> .	Gota colgante, agar 0.5%, sacarosa 20% y 30%.	Leal, 2003.
<i>Eucalyptus</i> .	Medio 1: Sacarosa 30%, ácido bórico 1.5 ppm. Medio 2: Sacarosa 15%, ácido bórico 300 ppm. Método de la gota suspendida con gelatina 1.5% y sacarosa 20%.	Boden (1958) citado por Botto, 1997; Griffin <i>et al.</i> , 1982; Gocha y Gea, 1988 citado por Botto, <i>op. cit.</i> ; Espejo <i>et al.</i> , 1993 y Schenone (comunicación personal) citado por Botto, <i>op. cit.</i>
<i>Elaeis guineensis</i> Jacq. y <i>Elaeis oleifera</i> HBK, Cortés.	Agar 1.2% y sacarosa 11%.	Schwediman, 1983 citado por Alvarado <i>et al.</i> , 1998 y Alvarado <i>et al.</i> , <i>op. cit.</i>
<i>Prunus armeniaca</i> L.	Sacarosa 15% y agar 1%.	Vachun, 1981, Burgos, 1991 y Andrés <i>et al.</i> , 1999.
<i>Alnus incana</i> y <i>Nicotiana tabacum</i> .	Calcio.	Steiner y Hans-Rolf, 1998.
<i>Pseudotsuga</i> y <i>Larix</i> .	Sacarosa, polietilen glicol y flavonoides.	Brewbaker y Kwack, 1963; Ho y Sziklai, 1972; Dumont-Béboux y Von Aderkas, 1997 y Merlo <i>et al.</i> , 2003.

En coníferas se han realizados diferentes estudios para evaluar la capacidad germinativa de algunas especies *Pinus sylvestris* (Kyrychenko y Deshko, 1999) y *Pinus yunnanensis* (Mazhula, 1999), las cuales han mostrado valores de germinación que oscilan entre 45 al 65%. En estas dos últimas especies, se han hecho investigaciones para evaluar el efecto de diferentes concentraciones de calcio. Los resultados obtenidos mostraron que el calcio es indispensable para la germinación del polen y el crecimiento del tubo polínico; no obstante, se concluyó que la adición de este al medio de cultivo no siempre es necesaria, debido a que el calcio, es tomado en la fase temprana de la germinación. Esto conlleva a suponer que el calcio podría ser un factor conductor de la germinación de polen y un regulador del crecimiento del tubo polínico.

Sin embargo, Martínez y de la Garza (1994) evaluaron la viabilidad del polen almacenado de 300 a 375 días de tres especies de coníferas (*Pinus pseudostrobus*, *Pinus teocote* y *Abies religiosa*) y la relación con sus contenidos de humedad. Para evaluar la viabilidad, sembraron los

granos de polen de cada especie, en 2% de agar y 4% de sacarosa a $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ por cinco días. Finalmente encontraron que existe un efecto del contenido de humedad en la viabilidad del polen en las tres especies de coníferas estudiadas.

Hernández *et al.* (2001) determinaron el efecto del ozono sobre el crecimiento del tubo polínico y la germinación de los granos de polen de *Pinus hartwegii* Lindl. procedentes del Desierto de los Leones, Ajusco y Zoquiapan. Los granos de polen los depositaron en un medio de cultivo de tejidos (solución Brewbaker) más un solidificante Gelrite. El polen fué fumigado artificialmente durante tres horas diarias, durante tres y seis días consecutivos. Los resultados que obtuvieron, indicaron que los granos de polen fueron afectados por el ozono con la misma intensidad, independientemente de su procedencia. La inhibición de la germinación y el crecimiento del tubo polínico del polen de *Pinus hartwegii* Lindl. fue mayor en altas concentraciones de ozono; asimismo, el porcentaje de germinación decreció significativamente al prolongarse el periodo de exposición a ozono.

5. MATERIALES Y METODOS

La presente Tesis se desarrolló durante los meses de agosto 2002 a julio 2004, en el Instituto de Genética Forestal de la Universidad Veracruzana, ubicado en el Parque Ecológico “El Haya”, kilómetro 1.5 carretera vieja Xalapa–Coatepec, Veracruz, México. La Institución se ubica entre las coordenadas 19°31’18’’ de latitud Norte y 96°56’37’’ de longitud Oeste, a una altitud de 1 360 metros.

5.1. Área de estudio.

El material biológico fué colectado de árboles de *Pinus hartwegii* Lindl. del volcán Cofre de Perote en el estado de Veracruz (Figura 53) cerca del límite con el estado de Puebla (Narave, 1985; Investigaciones Geográficas, 1998). La población en estudio se localiza entre las coordenadas 19°03’18’’ latitud Norte y 97°09’34’’ longitud Oeste en la parte sur de la Sierra Madre Oriental, a una altura de 4 282 metros (Narave, *op. cit.*; Investigaciones Geográficas, *op. cit.*; Méndez-Guzmán *et al.*, 2001).



Figura 53. Ubicación del área de estudio. FUENTE. Encarta (2003).

5.2. Selección de los árboles.

Las colectas fueron efectuadas en abril del 2003 y 2004, época en la que los estróbilos masculinos comienzan a liberar el polen de sus escamas (Patiño, 1973; Niembro-Rocas, 1986; Aparicio, 1999; Ugr, 2004). Para ello, en el primer año se realizó un recorrido por toda la población para lograr una muestra representativa. Se seleccionaron 15 árboles sanos, vigorosos y

de buena calidad del fuste (López *et al.*, 1993), la cual se encuentra entre las cifras recomendadas por Callaham (1964) y Kioko *et al.* (1993) para aquellos casos en los que no se conoce la variación fenotípica de los árboles. Los mismos estuvieron espaciados entre sí a una distancia de 80 a 100 metros, a fin de evitar el efecto de coancestría (Auñón *et al.*, 2003). Posteriormente, se elaboró un croquis de ubicación de los mismos en la población, el cual sirvió como guía para la segunda colecta.

5.3. Colecta y beneficio del polen.

De cada árbol en estudio se tomaron al azar los estróbilos de la parte media de la copa del árbol, con la ayuda de un colector experto, equipado con cuerdas y espolones metálicos, se utilizó una tijera especial con extensión de aluminio para desprenderlos de las ramas, de acuerdo a la metodología recomendada por Alba (1993). Los estróbilos se depositaron en bolsas de papel para su transporte y facilitación del secado (Figura 54) (Martínez y de la Garza, 1994; Aparicio, 1999).

Posteriormente, en el laboratorio del Instituto de Genética Forestal el polen se extrajo manualmente de los estróbilos con la ayuda de un pincel. El polen extraído se almacenó en frascos tapados con algodón para permitir el intercambio de gases, debidamente sellados y etiquetados por árbol bajo condiciones de refrigeración (Figura 54) (Mora *et al.*, 1980; Aparicio, *op. cit.*; Ibarra, 2004).



Figura 54. Colecta y manejo del polen. FOTOS. Tivo (2004).

Para el desarrollo del presente trabajo de investigación, se empleó la metodología que se indica en la Figura 55.

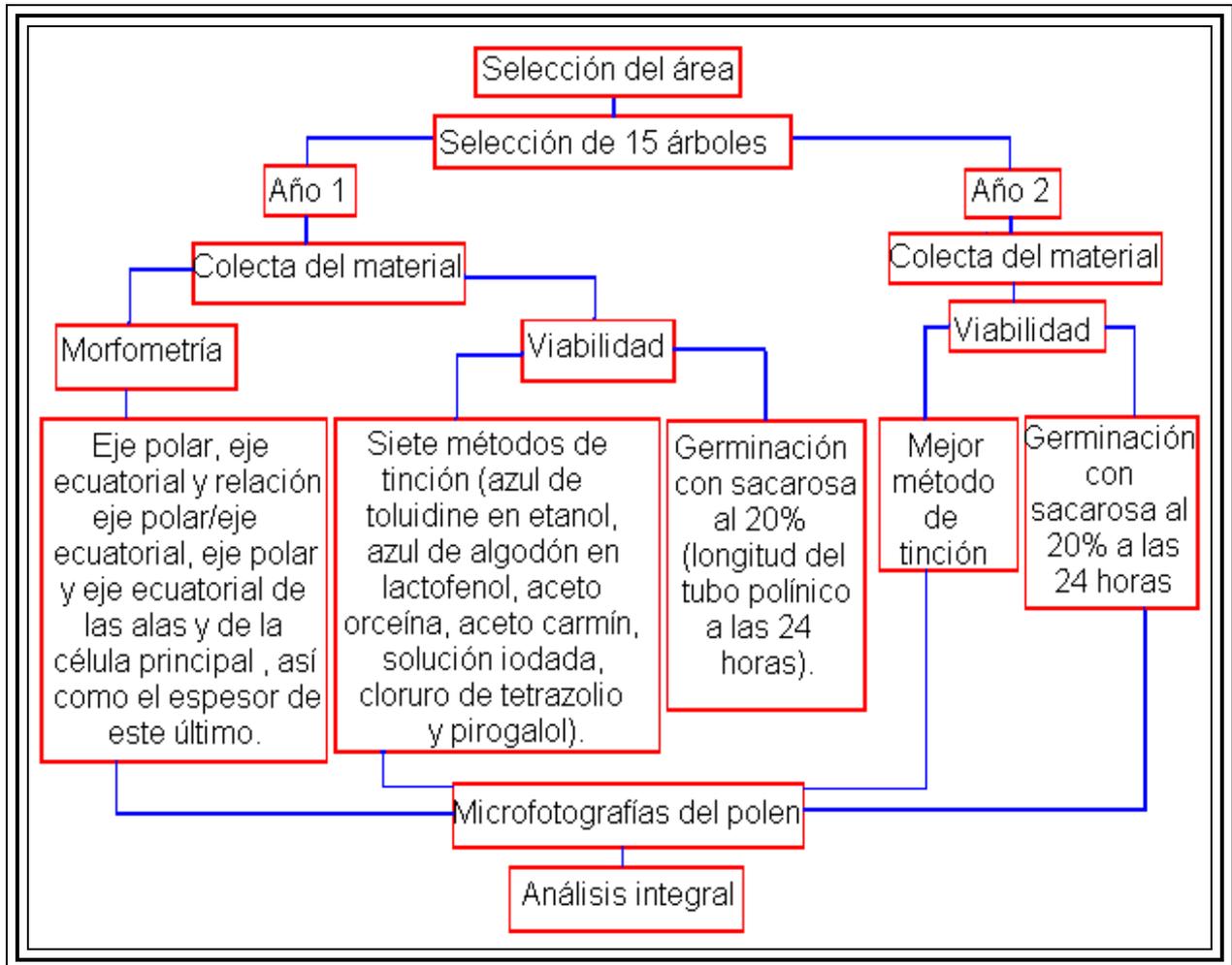


Figura 55. Procedimiento experimental.

5.4. Análisis del polen de *Pinus hartwegii* Lindl.

5.4.1. Estudios morfométricos.

Para la evaluación morfométrica del polen se realizó primeramente el método de acetólisis, el cual permite definir más claramente su forma (Figura 56) (Moore y Webb, 1978). Con este fin se tomaron 0.1 gramo de polen por cada árbol en estudio en un tubo de ensaye. Se calentaron las muestras en baño maría a 100°C por 20 minutos con dos mililitros de solución hidróxido de potasio. Posteriormente las muestras se centrifugaron a 3 000 rpm por tres minutos en agua destilada, durante tres repeticiones continuas. Las muestras se resuspendieron en 50 microlitros de ácido acético glacial y se centrifugaron a 3 000 rpm por tres minutos; seguidamente fueron calentadas en baño maría a 100°C con un mililitro de solución acetólica

durante un minuto, luego se centrifugaron las mismas a 3 000 rpm por tres minutos y se resuspendió el polen en ácido acético glacial. Se efectuó una nueva centrifugación a 3 000 rpm durante tres minutos para luego decantar el ácido y adicionar agua destilada a las muestras. Por último, las muestras se centrifugaron en dos ocasiones a 3 000 rpm por tres minutos y se le adicionó solución de glicerina al 20% antes de proceder al análisis microscópico del polen (Moore y Webb, 1978) (Figura 56).

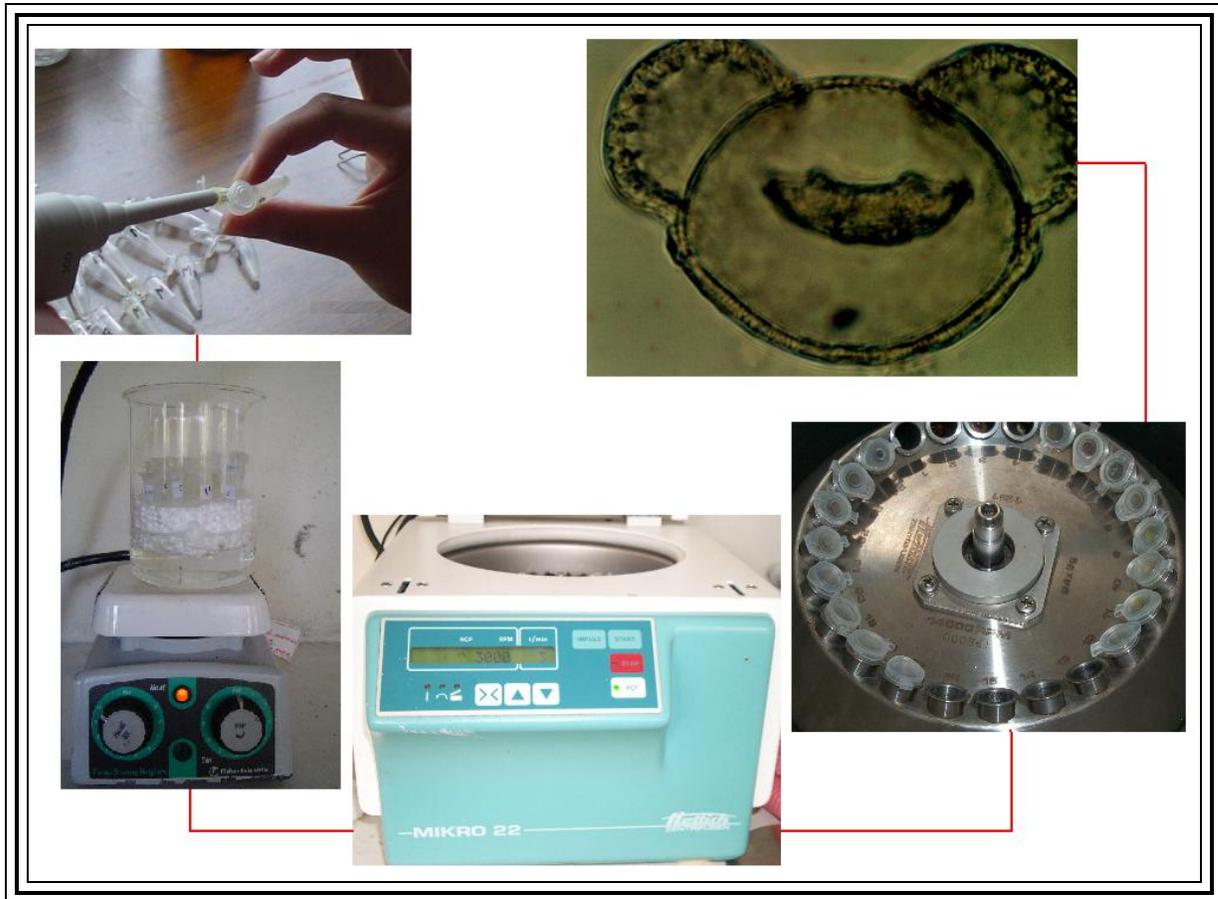


Figura 56. Método para acetólisis de polen. FOTOS. Iglesias (2003) y Tivo (2003).

Una vez obtenido el polen acetolizado, se tomaron al azar tres muestras de polen de cada árbol para evaluar las características del eje polar, eje ecuatorial y relación eje polar/eje ecuatorial del polen completo, eje polar y eje ecuatorial de las alas y de la célula principal, así como el espesor de este último (Figura 57). La relación eje polar/eje ecuatorial se obtuvo de la división de la variable eje polar y eje ecuatorial, con el fin de evaluar la forma del polen de la especie (Weber, 1998; Iglesias *et al.*, 1999b).

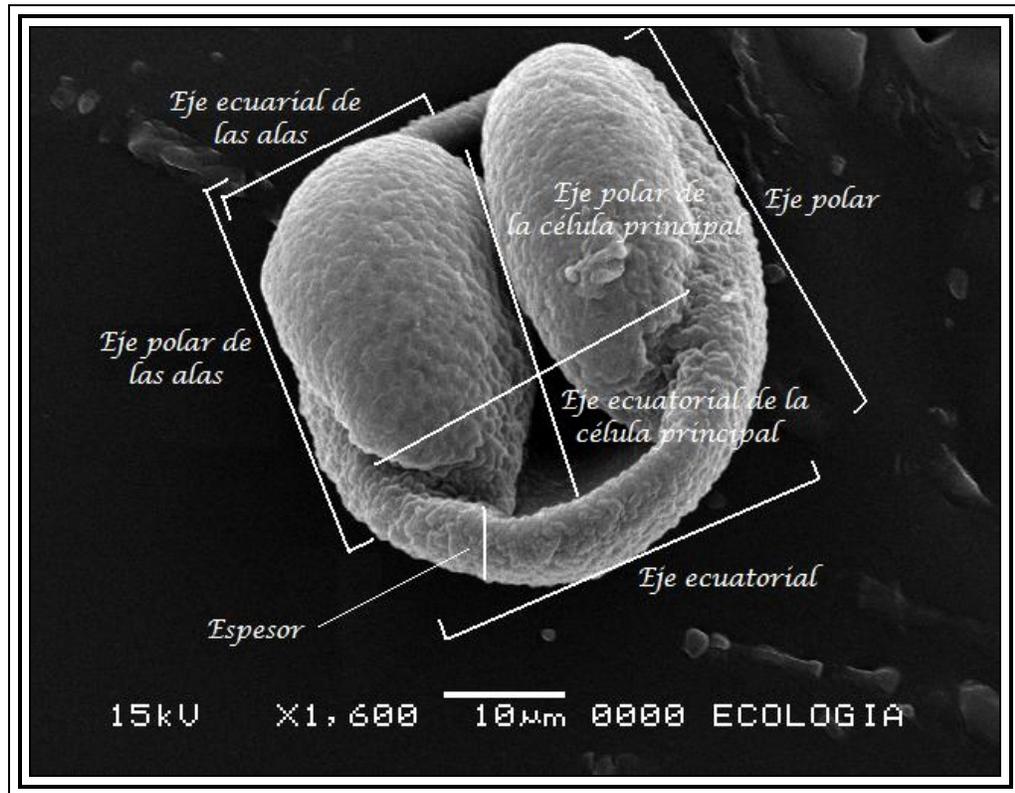


Figura 57. Medición del polen de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Láez (2003).

Para ello, se evaluaron 30 granos de polen de cada una de las tres muestras por árbol en estudio, de acuerdo con las cifras recomendadas por Callaham (1964) (Ledig, 1998; Iglesias *et al.*, 1999b).

En las evaluaciones morfométricas se utilizó un microscopio óptico modelo Zeiss West Germany Fommy III con un aumento de 200x y se empleó una reglilla micrométrica (Figura 58a y Figura 58b), así como un microscopio electrónico de barrido modelo Jeol JSM-5600LV (Figura 58c).



Figura 58. a) y b) Microscopio óptico Zeiss West Germany Fommy III, c) Microscopio electrónico de barrido JSM-5600LV. FOTOS. Tivo (2004).

Los datos fueron procesados estadísticamente mediante el paquete de Software Statistica (1998, versión 5). Se obtuvieron las estadísticas descriptivas: media general, error estándar, coeficiente de variación y amplitud de variación por cada variable. Posteriormente, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple (Modelo I) para determinar la existencia de diferencias significativas entre los árboles para los caracteres morfométricos en estudio. Mediante la prueba de Duncan se efectuaron las comparaciones de las medias.

En la Tabla 9 se presenta el modelo propuesto para determinar la existencia de variación morfométrica en las características evaluadas en relación con el árbol.

Tabla 9. Modelo para determinar la variación morfométrica del polen de *Pinus hartwegii* Lindl.

VARIABLES RESPUESTA	
CARACTERÍSTICAS MORFOMÉTRICAS	
$Y_{ij} = \mu + B_i + \epsilon_{j(i)}$	
Donde:	$i = 1, 2, \dots, 15$
	$j = 1, 2, \dots, 90$
Y_{ij} = Variables respuesta μ = Media general B_i = Efecto del i-ésimo árbol $\epsilon_{j(i)}$ = Error aleatorio	

5.4.2. Estudios de viabilidad.

El estudio de viabilidad del polen se realizó de dos formas, mediante la evaluación de siete métodos de tinción para conocer el porcentaje de polen viable y mediante la capacidad germinativa para estimar el porcentaje de polen germinado y la longitud del tubo polínico alcanzado.

En las evaluaciones de la viabilidad del polen se utilizó un microscopio óptico modelo Zeiss West Germany Fommy III con un aumento de 200x, usando una reglilla micrométrica para la medición de los tubos polínicos (Figura 59a y Figura 59b).



Figura 59. a) y b) Medición del tubo polínico de *Pinus hartwegii* Lindl. en un microscopio marca Zeiss West Germany Fommy III. FOTOS. Tivo (2004).

5.4.2.1. Determinación de la viabilidad por métodos colorimétricos.

Los métodos de tinción examinados para la determinación de la viabilidad del polen de *Pinus hartwegii* Lindl. fueron: azul de toluidine en etanol (Iglesias *et al.*, 1999b), azul de algodón en lactofenol (Hauser y Morrison, 1964; Simón, 1972 citado por Iglesias *et al.*, *op. cit.*; Kasten, 1981; Bamberg y Hanneman, 1991; González *et al.*, 1995a; Berlingeri *et al.*, 1999; González *et al.*, 1999a; González *et al.*, 1999b), aceto orceína (González *et al.*, *op. cit.*), aceto carmín (Daulta

y Singh, 1985; Burgos, 1991; Andrés *et al.*, 1999; González *et al.*, 1999a; Lavia *et al.*, 2000), solución iodada (Edwardson y Corbett, 1961; Iglesias *et al.*, 1999), cloruro de tetrazolio (Vásquez y Morillo, 1964; Leadem, 1984, Esparza, 1990; García *et al.*, 1995, CMA, 2004) y pirogalol (IPCS y Comisión de las Comunidades Europeas, 1994) (Figura 60).



Figura 60. Tinciones ocupadas para la determinación de la viabilidad del polen de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Tivo (2003).

Cada método de tinción se evaluó en tres muestras por cada árbol. En cada muestra se evaluaron 300 granos de polen y se obtuvo el porcentaje de polen fértil. Se consideró como polen fértil aquel que presentó citoplasma coloreado y una morfología normal (González *et al.*, *op. cit.*; Iglesias *et al.*, 1999b).

Una vez determinado el método de tinción adecuado, éste se evaluó en un segundo año con otra colecta para apreciar la variación con este método.

Posteriormente, se realizó la comparación de la fertilidad del polen por árbol mediante un análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple (Modelo I) para el primer y segundo año. Para ello, se empleó el siguiente modelo estadístico de un criterio de clasificación (Tabla 10).

Tabla 10. Modelo estadístico empleado en los indicadores de viabilidad de *Pinus hartwegii* Lindl.

VARIABLE RESPUESTA	
INDICADORES DE VIABILIDAD	
$Y_{ij} = \mu + B_i + \epsilon_{j(i)}$	
Donde:	$i = 1, 2, \dots, 15$ $j = 1, 2, \dots, 900$
Y_{ij} = Variable respuesta	
μ = Media general	
B_i = Efecto del i-ésimo método	
$\epsilon_{j(i)}$ = Error aleatorio	

5.4.2.2. Determinación de la capacidad germinativa.

La capacidad germinativa del polen se determinó utilizando los métodos propuestos por Resnir (1958) y Steiner y Hans-Rolf (1998). Para ello, se calculó el porcentaje de germinación a las 24 horas con solución en sacarosa al 20% (Andrés *et al.*, 1999; Merlo *et al.*, 2003). Con este fin, se evaluaron tres réplicas por árbol. Se contabilizó por réplica 300 granos de polen y se obtuvo el porcentaje de polen germinado (Figura 61) (Resnir, *op. cit.*; Steiner y Hans-Rolf, *op. cit.*).



Figura 61. Capacidad germinativa de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Iglesias (2004).

Se consideraron no germinados aquellos granos de polen que no fueron capaces de emitir el tubo polínico y germinados aquellos granos de polen que emitían el tubo polínico con una longitud mayor o igual al diámetro del polen (McWilliam, 1959; Andrés *et al.*, 1999; Merlo *et al.*, 2003).

Este procedimiento se evaluó en la segunda colecta realizada en el 2004, con el fin de observar la existencia de posibles variaciones en la capacidad germinativa del polen de la especie.

5.4.2.2.1. Determinación de la longitud del tubo polínico.

Se midió durante el transcurso de la mañana, la longitud del tubo polínico de los granos de polen germinados en sacarosa al 20% a las 24 horas (McWilliam, *op. cit.*; Andrés *et al.*, *op. cit.*; Merlo *et al.*, *op. cit.*). Para ello, se evaluaron tres muestras por árbol. En cada muestra se midieron 30 tubos polínicos, midiéndose 90 tubos polínicos por cada árbol en estudio (Figura 62).

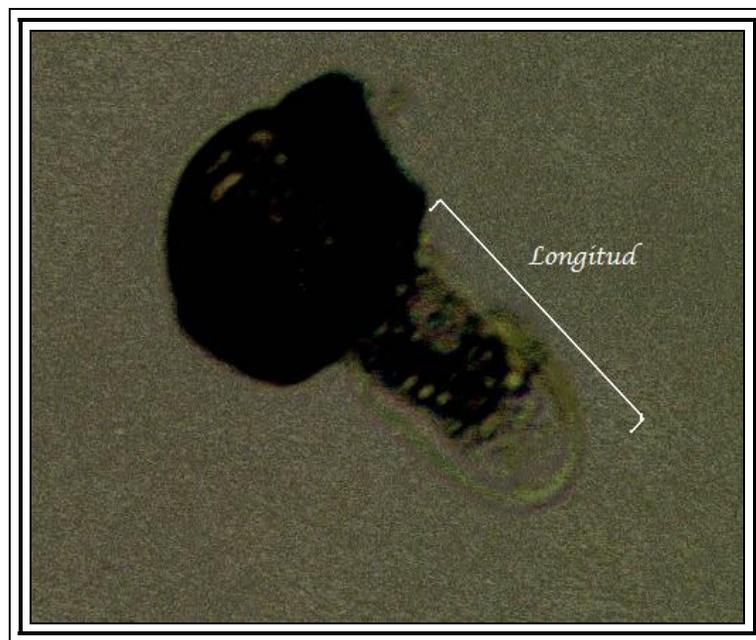


Figura 62. Longitud del tubo polínico de *Pinus hartwegii* Lindl. FOTO. Iglesias (2004).

5.5. Análisis estadístico.

Los datos de viabilidad, evaluados por tinción y germinación expresados en porcentajes fueron procesados estadísticamente mediante el paquete Software Statistica (versión 5; 1998). En todos los casos se empleó el programa Microsoft Excel (2000) y PAST (Hammer *et al.*, 2001) para presentar los diferentes resultados obtenidos.

Primeramente se obtuvieron las principales estadísticas descriptivas (media general, error estándar, amplitud de variación y coeficiente de variación) para cada variable evaluada. Posteriormente los datos expresados en porcentaje fueron transformados mediante la función arco coseno $\sqrt{\%}$ a fin de ajustar los datos a una distribución normal (González *et al.*, 1999a; González *et al.*, 1999b).

Para determinar la existencia de diferencias significativas entre árboles y evaluar con ello la variabilidad intrapoblacional, se realizaron análisis de varianza de clasificación simple para los caracteres evaluados de acuerdo a los modelos lineales descritos anteriormente. Las variables que resultaron significativas fueron sometidas a comparaciones múltiples de medias, mediante la prueba de Duncan. Para conocer metodológicamente cual método de tinción resulta el mejor indicador para predecir la capacidad germinativa en esta población se realizó un análisis de correspondencia simple, empleando el estadístico de Chi cuadrado.

Mediante análisis de conglomerado jerárquico, usando la distancia de Euclidiana como índice de disimilitud y el método de UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Mean) como algoritmo de ligamiento (Sneath y Sokal, 1973), se efectuó en cada año la clasificación de los árboles sobre la base de las características que mostraron diferencias significativas en los análisis de varianzas realizados a los caracteres morfométricos y de viabilidad evaluados.

6. RESULTADOS

6.1. Análisis del polen de *Pinus hartwegii* Lindl.

6.1.1. Análisis de la variación de las características morfométricas.

Los resultados obtenidos en cuanto al tamaño del polen de los 15 árboles de *Pinus hartwegii* Lindl., se describen en la Tabla 11.

Tabla 11. Estadísticas descriptivas para las características morfométricas del polen evaluadas de *Pinus hartwegii* Lindl.

VARIABLES MORFOMÉTRICAS	AMPLITUD DE VARIACIÓN (μ)	MEDIA (μ)	ERROR ESTÁNDAR	COEFICIENTE DE VARIACIÓN (%)
Eje polar del polen completo	42.3–79.9	53.82	1.20	8.40
Eje ecuatorial del polen completo	42.3–89.3	62.61	2.00	11.90
Relación eje polar/eje ecuatorial del polen completo	0.50-1.33	0.87	0.03	12.60
Eje polar de las alas de polen	23.5-70.5	46.11	0.17	16.38
Eje ecuatorial de las alas de polen	18.8-79.9	39.70	0.13	14.13
Eje polar de la célula principal	32.9-84.6	56.15	0.23	15.67
Eje ecuatorial de la célula principal	37.6-89.3	64.59	0.22	12.70
Espesor de la célula principal	2.95-4.33	3.53	0.10	11.43

De acuerdo con estos resultados, el polen de *Pinus hartwegii* Lindl. es más ancho (eje ecuatorial) que largo (eje polar), las alas del polen son también más anchas (eje ecuatorial) que largas (eje polar) al igual que el ancho de la célula principal (eje ecuatorial) del mismo.

Por otra parte, los resultados del análisis de varianza efectuado a los caracteres evaluados mostraron la existencia de diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre árboles para la variable eje ecuatorial del polen y espesor de la célula principal y altamente significativas ($p \leq 0.01$) para las variables eje polar y relación eje polar/eje ecuatorial del polen completo, eje polar y eje ecuatorial de alas, eje polar y eje ecuatorial de la célula principal del polen (Tabla 12).

Tabla 12. Valores de los cuadrados medios del ANOVA para las variables morfométricas evaluadas en el polen de *Pinus hartwegii* Lindl.

FUENTES DE VARIACIÓN	POLEN COMPLETO			ALAS DEL POLEN		CÉLULA PRINCIPAL		
	Eje polar	Eje ecuatorial	Relación eje polar/eje ecuatorial	Eje polar	Eje ecuatorial	Eje polar	Eje ecuatorial	Espesor
Árbol	148.66**	711.49*	0.089**	817.49**	816.87**	2834.90**	2380.89**	193.77*
Error	18.99	49.11	0.013	39.70	37.93	48.55	43.12	162.35
$\bar{X} \pm ES$	53.82 $\mu \pm 0.12$	62.61 $\mu \pm 2.0$	3377.90 $\mu \pm 55.56$	46.11 $\mu \pm 0.17$	39.70 $\mu \pm 0.13$	56.15 $\mu \pm 0.23$	64.59 $\mu \pm 0.22$	3.87 $\mu \pm 0.34$

Nota. \bar{X} =Media; ES=Error estándar; *Diferencias significativas ($p \leq 0.05$);
**Diferencias altamente significativas ($p \leq 0.01$).

Mediante pruebas de Duncan efectuadas a las características eje polar, eje ecuatorial y relación eje polar/eje ecuatorial del polen de *Pinus hartwegii* Lindl., mostraron que los árboles que presentaron más largo (eje polar) en el polen (8 y 9) no presentaron el mayor ancho (eje ecuatorial) y viceversa (Figura 63a y Figura 63b). Esto se corroboró al obtener la forma del polen (relación eje polar/eje ecuatorial) donde los árboles 2 y 9 fueron los que presentaron el mayor tamaño del polen (Figura 63c).

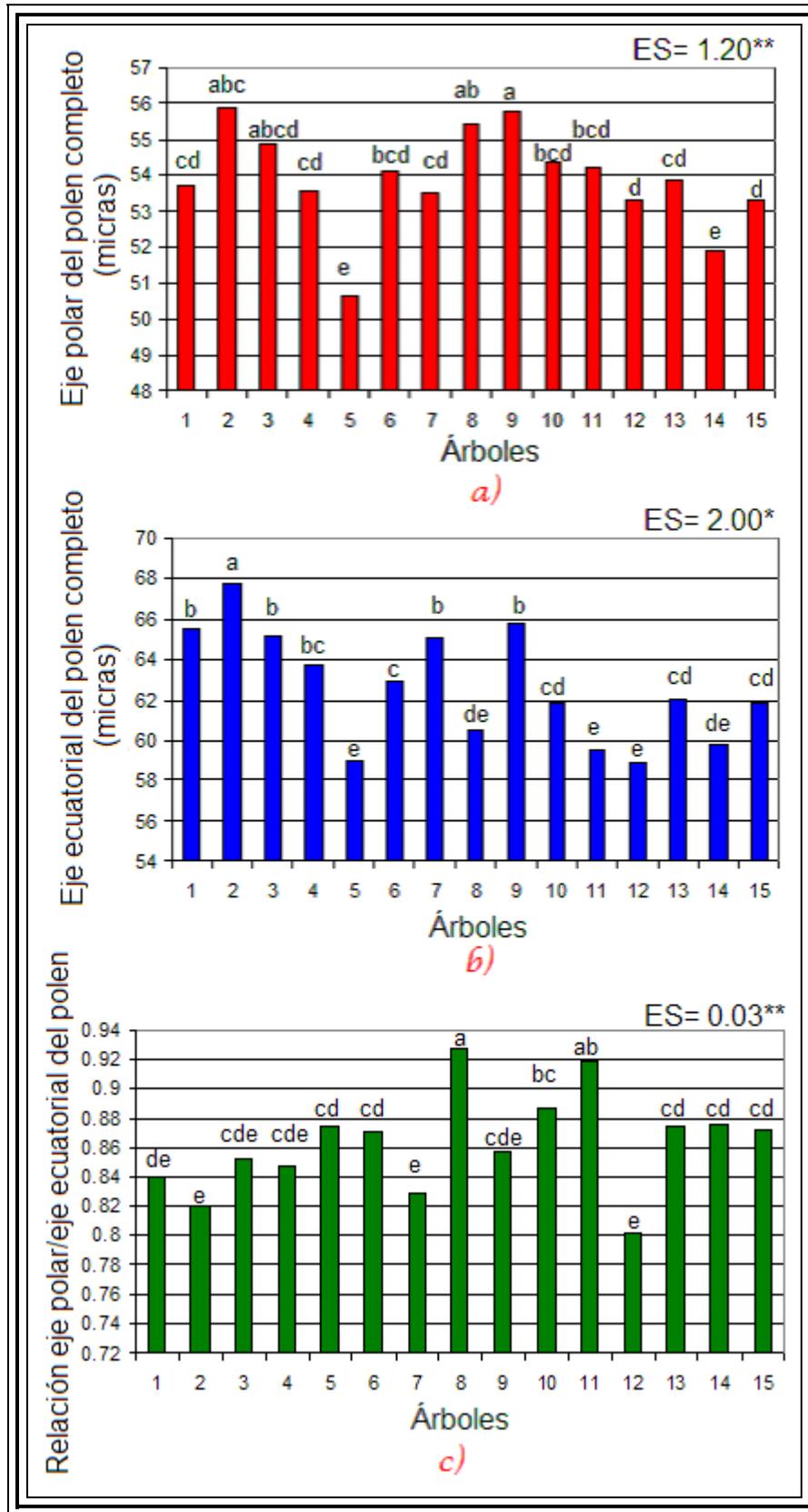


Figura 63. a), b) y c) Variabilidad en el eje polar, eje ecuatorial y relación eje polar/eje ecuatorial del grano de polen completo evaluado en 15 árboles de *Pinus hartwegii* Lindl. ES= Error estándar. *Diferencias significativas y **Diferencias altamente significativas (1...15: árboles). Letras diferentes difieren según la prueba de Duncan,

$p \leq 0.05$ y $p \leq 0.01$.

Lo anterior se ilustra en la Figura 64a donde el árbol 9 fué uno de los árboles de *Pinus hartwegii* Lindl. que presentó la mayor longitud del polen (eje polar) y el árbol 2 presentó la mayor anchura del polen (eje ecuatorial) (Figura 64b).

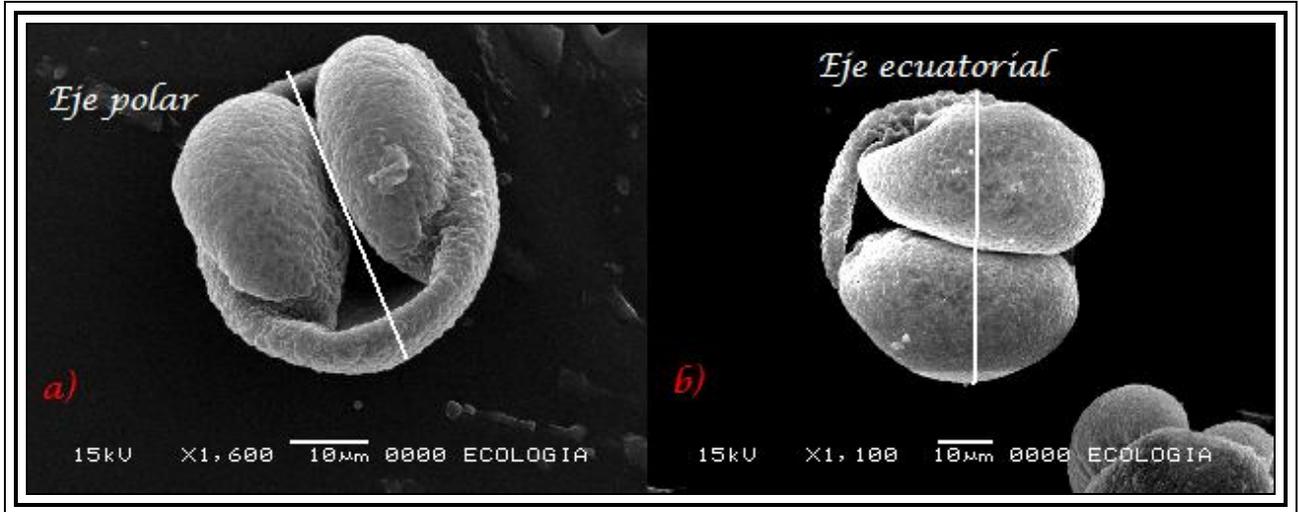


Figura 64. a) y b) Granos de polen de *Pinus hartwegii* Lindl. con el mayor eje polar y eje ecuatorial del polen completo. FOTOS. Láez (2003).

De igual forma se detectó diferencias altamente significativas ($p \leq 0.01$) para el eje polar y eje ecuatorial de las alas del grano de polen en *Pinus hartwegii* Lindl. (Figura 65a y 65b).

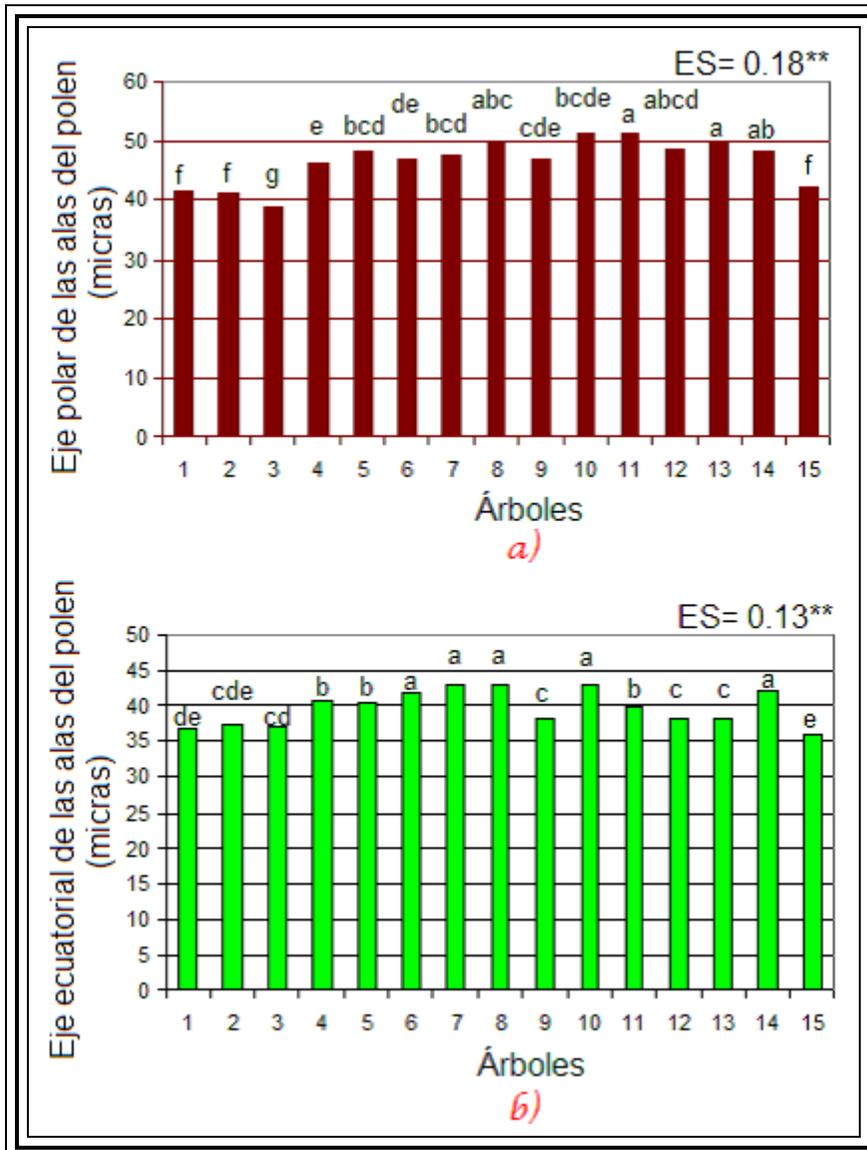


Figura 65. a) y b) Variabilidad en el eje polar y eje ecuatorial de las alas del polen evaluado en 15 árboles de *Pinus hartwegii* Lindl. ES= Error estándar. **Diferencias altamente significativas (1... 15: árboles). Letras diferentes difieren según la prueba de Duncan, $p \leq 0.01$.

De acuerdo al análisis de Duncan los árboles que presentaron el mayor eje polar de las alas del polen (11 y 13) no fueron los mismos que presentaron el mayor eje ecuatorial de las alas del polen y viceversa (Figura 65a y 65b).

En la Figura 66a y Figura 66b se muestran el polen del árbol 11 y el árbol 8 que presentaron el mayor eje polar y eje ecuatorial de las alas del polen de *Pinus hartwegii* Lindl. respectivamente.

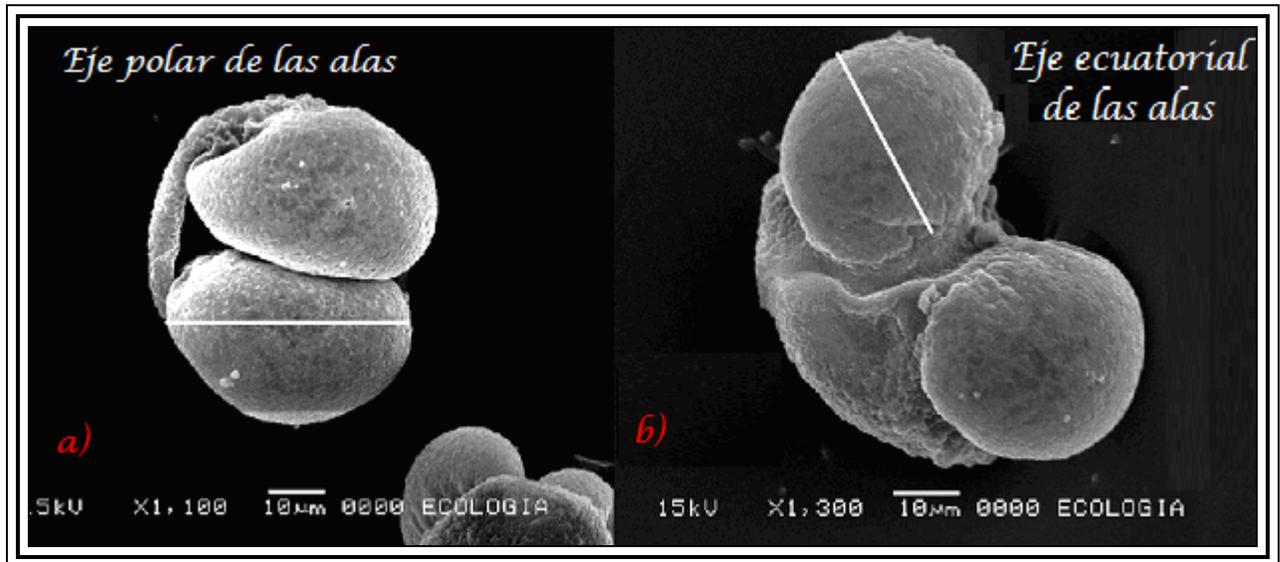


Figura 66. a) y b) Polen de *Pinus hartwegii* Lindl. con el mayor eje polar y eje ecuatorial de las alas. FOTOS. Lález (2003).

Resultados similares se observaron al analizar la variable eje polar y eje ecuatorial de la célula principal del polen de *Pinus hartwegii* Lindl. En este caso se pudo apreciar la existencia de diferencias altamente significativas ($p \leq 0.01$) entre árboles (Figura 67a y Figura 67b). Para la variable espesor de la célula principal del polen de la especie, se pudo apreciar la existencia de diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre árboles, donde se observó una variabilidad entre árboles examinados para la variable en estudio (Figura 67c).

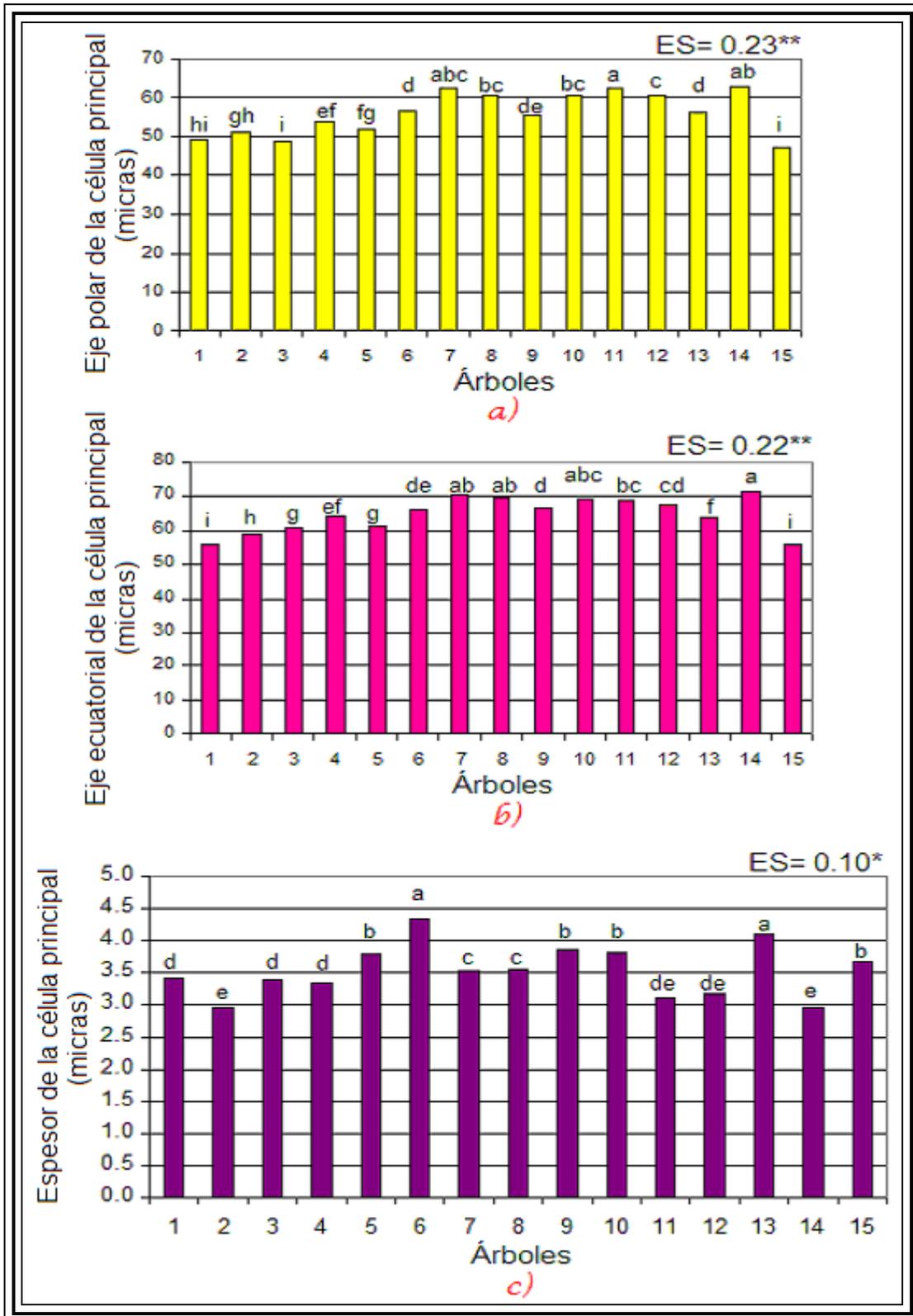


Figura 67. a), b) y c) Variabilidad en el eje polar, eje ecuatorial y espesor de la célula principal del grano de polen evaluado en 15 árboles de *Pinus hartwegii* Lindl. ES= Error estándar. *Diferencias significativas; **Diferencias altamente significativas (1...15: árboles). Letras diferentes difieren según la prueba de Duncan, $p \leq 0.01$ y $p \leq 0.05$.

Los resultados de los análisis de Duncan efectuado a las características morfométricas eje polar, eje ecuatorial y espesor de la célula principal del polen de *Pinus hartwegii* Lindl., indicaron que los árboles que presentaron el mayor eje polar de la célula principal del polen no presentaron el mayor eje ecuatorial ni mayor espesor de la célula principal del polen (Figura 67a, Figura 67b y Figura 67c).

En la Figura 68a y Figura 68b muestra el polen del árbol 11 y el árbol 14 de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. que presentaron el mayor eje polar y eje ecuatorial de la célula principal del mismo respectivamente. Asimismo el polen del árbol 7 que presentó el mayor espesor de la célula principal (Figura 68c).

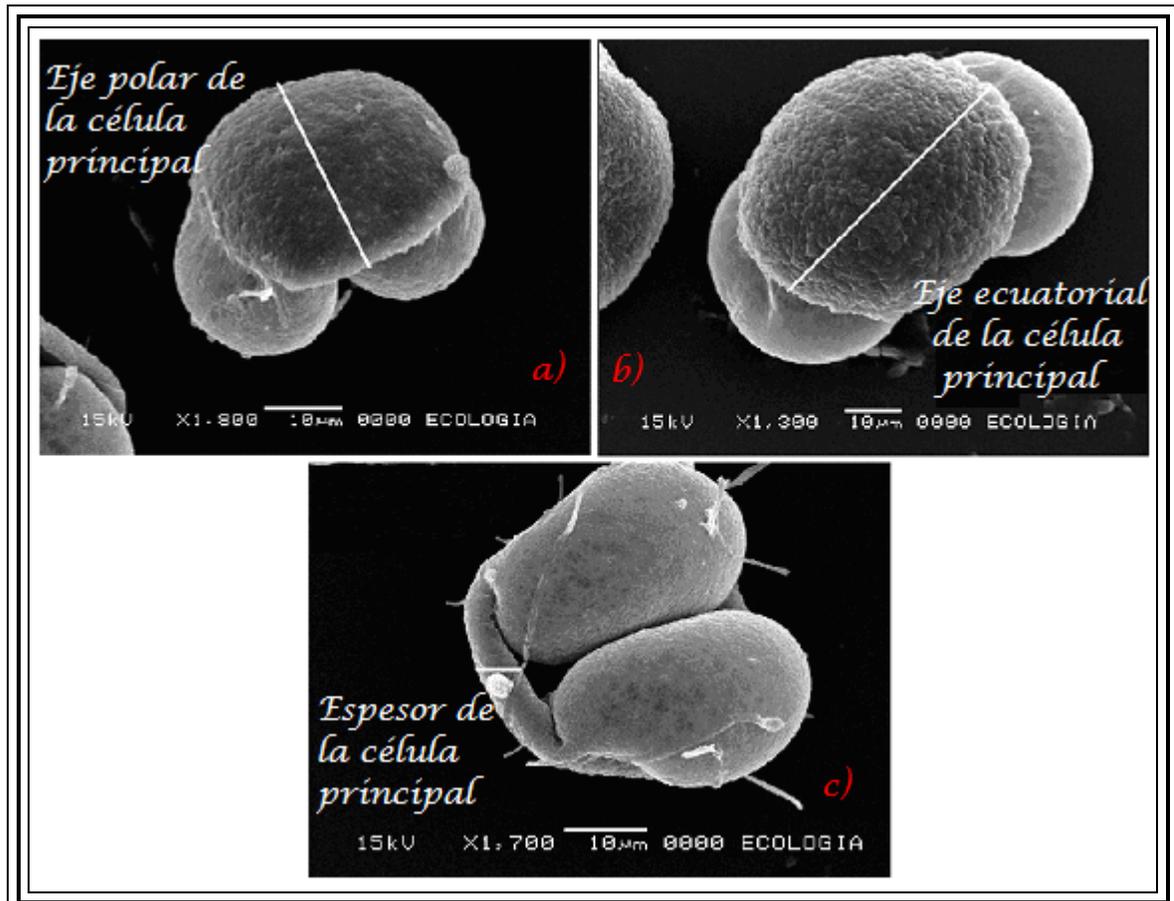


Figura 68. a), b) y c) Polen de *Pinus hartwegii* Lindl. con el mayor eje polar, eje ecuatorial y espesor de la célula principal. FOTOS. Láz (2003).

6.1.1.1. Análisis microestructural.

Se constató que el polen de *Pinus hartwegii* Lindl. (Figura 69) presenta una forma elíptica con dos sacos aéreos y verrugoso, similar a lo reportado por Galicia (2004) y Urg (2004). Al igual que lo detectado por Weber (1998) y GEOS (2004) se apreció que los mismos presentan una forma vesiculosa. De igual manera, se confirmó que la polaridad y la relación eje polar/eje ecuatorial del polen de esta especie es de tipo heteropolar radiosimétrico y suboblado respectivamente, lo que concuerda con lo indicado por Heusser (1971), Valdés *et al.* (1987), Galicia, *op. cit.* y Urg, *op. cit.* De acuerdo con la escultura del polen y la longitud del eje polar, el polen de *Pinus hartwegii* Lindl. se considera que es reticulada y de tamaño grande respectivamente (Valdés *et al.*, *op. cit.*; Galicia, *op. cit.*). Presenta además un área delgada de exina conocida como leptoma, lo que concuerda con lo reportado por Galicia, *op. cit.* y Urg, *op. cit.* para las especies de *Pinus*.

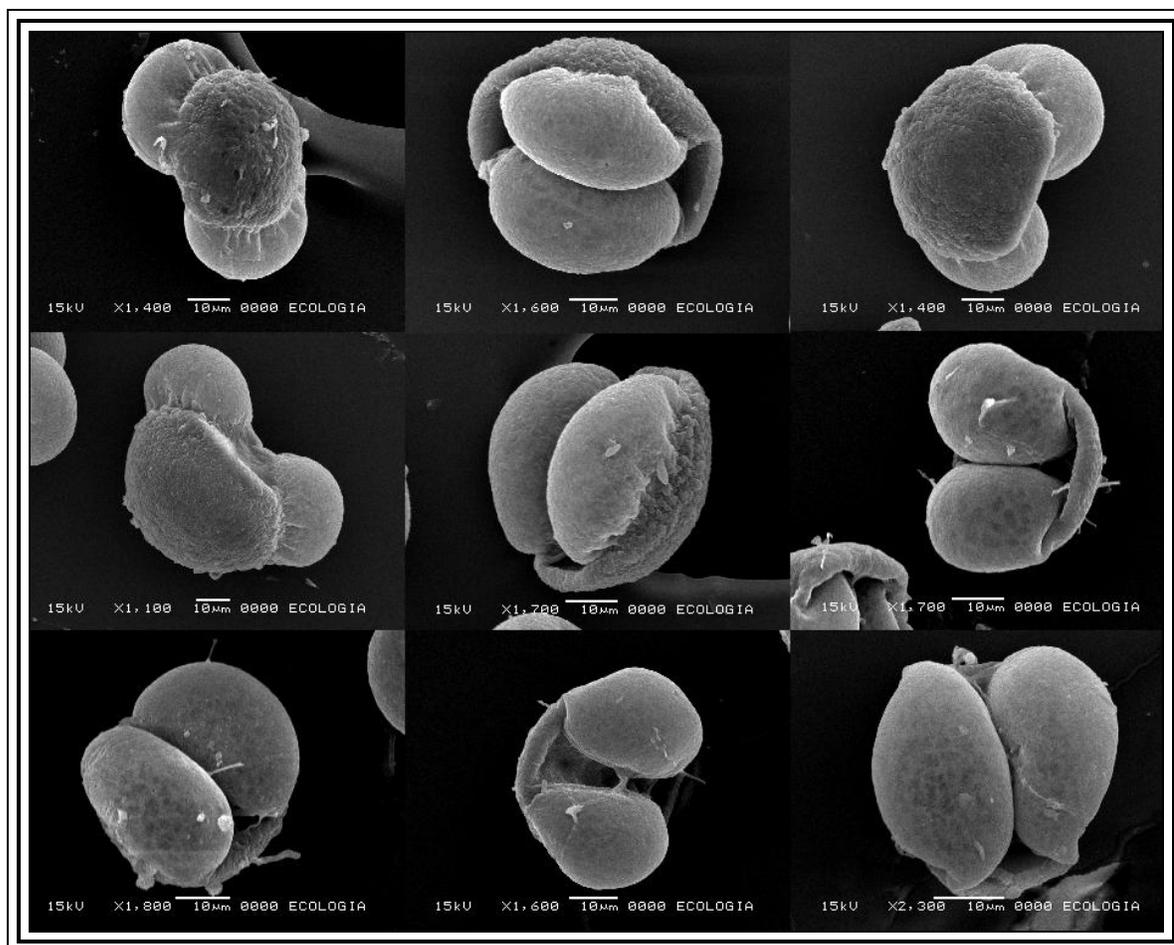


Figura 69. Microfotografías al microscopio electrónico de barrido marca JSM-5600LV del polen de *Pinus hartwegii* Lindl. con aumento de 1 600x. FOTOS. Láz (2003).

6.1.2. Análisis en la viabilidad.

6.1.2.1. Análisis de la variación en la viabilidad por métodos colorimétricos.

Los resultados del análisis descriptivo de viabilidad del polen de *Pinus hartwegii* Lindl. al comparar todos los métodos de tinción, mostró una amplitud de variación que oscila de 11 a 96.66% con una media de 57.09%. El error estándar y el coeficiente de variación fué de 1.34 y 41.78% respectivamente. En la Figura 70 se puede apreciar la variación en los promedios de viabilidad del polen por cada método colorimétrico examinado.

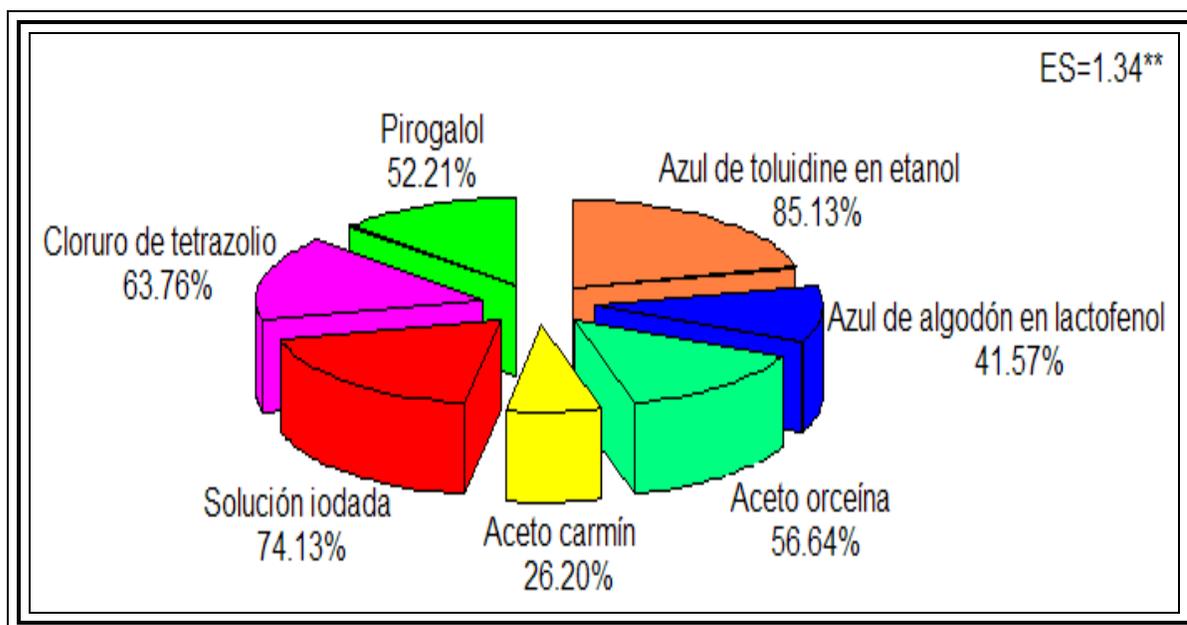


Figura 70. Viabilidad del polen de *Pinus hartwegii* Lindl. detectado por siete métodos de tinción (azul de toluidine en etanol, azul de algodón en lactofenol, aceto orceína, aceto carmín, solución iodada, cloruro de tetrazolio y pirogalol). ES= Error estándar. **Diferencias altamente significativas (1...7: tinciones).

Por otra parte, los resultados del análisis de varianza efectuado para determinar la existencia de diferencias significativas entre los métodos de tinción examinados (Tabla 13) reveló la existencia de diferencias altamente significativas ($p \leq 0.01$) entre los siete métodos empleados.

Tabla 13. Valores de los cuadrados medios del ANOVA entre los métodos de tinción utilizados para evaluar la viabilidad del polen de *Pinus hartwegii* Lindl.

FUENTE DE VARIACIÓN	VIABILIDAD
Métodos de tinción	0.13**
Error	0.11
$\bar{x} \pm ES$	57.09%±1.34

Nota: \bar{x} =Media. ES=Error estándar. **Diferencias altamente significativas (1...7: tinciones) ($p \leq 0.01$).

Los resultados del análisis de Duncan mostraron que todos los métodos empleados revelaron diferentes porcentajes de polen viable y el método de azul de toluidine en etanol fué el que detectó los mayores porcentajes de células fértiles (Tabla 14).

Tabla 14. Comparación de medias para la viabilidad del polen de *Pinus hartwegii* Lindl. por siete métodos de tinción.

MÉTODOS DE TINCIÓN	ORIGINAL (%)		TRANSFORMADA
Azul de toluidine en etanol	85.13	a	0.49
Azul de algodón en lactofenol	41.57	f	1.12
Aceto orceína	56.64	d	0.94
Aceto carmín	26.20	g	1.30
Solución iodada	74.13	b	0.69
Cloruro de tetrazolio	63.76	c	0.86
Pirogalol	52.21	e	1.01

Nota. Letras diferentes difieren según la prueba de Duncan ($p \leq 0.01$).

Lo anterior se comprueba en la Figura 71 mediante las observaciones obtenidas al microscopio.

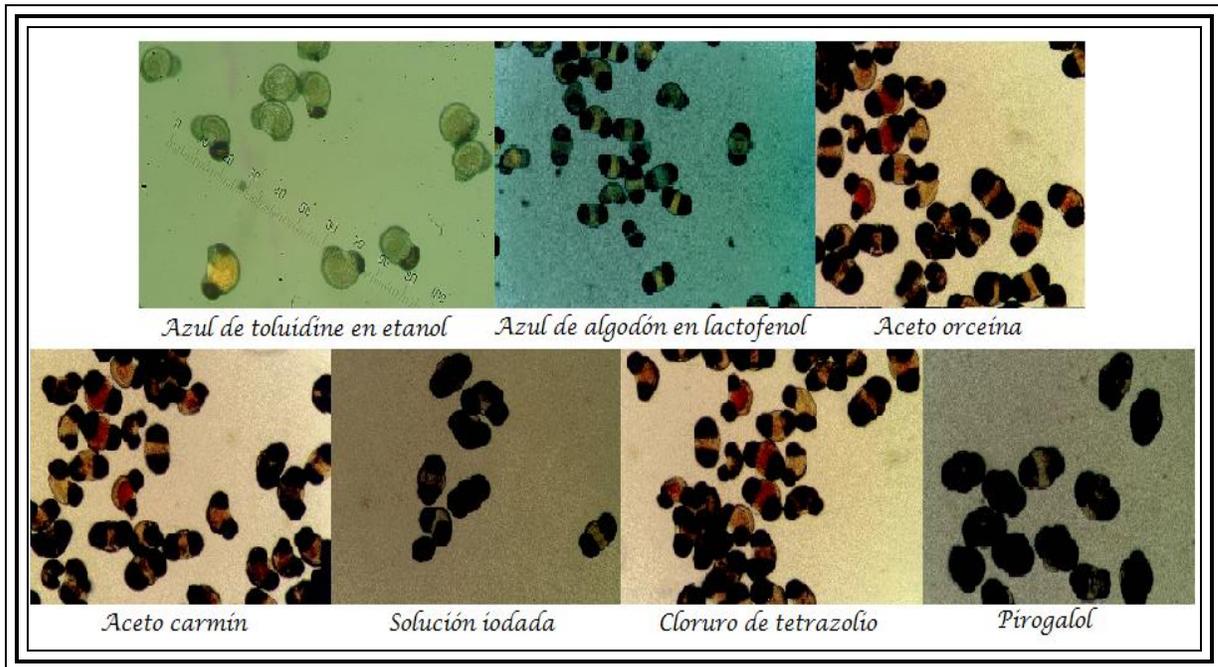


Figura 71. Microfotografías del polen con los diferentes métodos colorimétricos a un aumento de 200x. FOTOS. Iglesias (2003).

Teniendo en cuenta que el método con azul de toluidine en etanol fué el que mejores resultados mostró, se evaluó la existencia de diferencias significativas con los árboles en estudio durante el siguiente año. Los resultados obtenidos mostraron la existencia de diferencias altamente significativas ($p \leq 0.001$) durante el primer año y significativas para el segundo año ($p \leq 0.05$) entre los árboles (Tabla 15) con el método con azul de toluidine en etanol evaluado.

Tabla 15. Valores de los cuadrados medios del ANOVA evaluado con el método de azul de toluidine en etanol durante dos años.

FUENTE DE VARIACIÓN	VIABILIDAD	
	Año 1	Año 2
Árboles	0.20***	0.07*
Error	0.02	0.03
$\bar{x} \pm ES$	85.13%±2.09	80.46%±1.82

Nota. \bar{x} =Media; ES=Error estándar; *Diferencias significativas ($p \leq 0.05$);
***Diferencias altamente significativas ($p \leq 0.001$).

En la Tabla 16 se muestran los resultados del análisis de comparación de medias por el método de Duncan, donde se puede apreciar los grupos diferentes entre árboles para la viabilidad evaluada por el método azul de toluidine en etanol durante dos años de evaluación del estudio.

Tabla 16. Comparación de medias para la viabilidad del polen de *Pinus hartwegii* Lindl. por el método de tinción azul de toluidine en etanol evaluado durante dos años.

ÁRBOLES	AÑO 1			AÑO 2		
	Original (%)		Transformada	Original (%)		Transformada
1	95.46	ab	0.26	92.64	a	0.31
2	90.55	abc	0.43	78.77	abc	0.66
3	98.42	a	0.17	79.72	abc	0.63
4	95.80	ab	0.27	80.67	abc	0.62
5	97.57	a	0.19	84.16	ab	0.55
6	92.94	abc	0.36	83.46	ab	0.55
7	82.55	cd	0.58	81.49	abc	0.61
8	94.12	ab	0.33	70.98	bc	0.77
9	92.63	abc	0.36	84.97	ab	0.55
10	59.90	f	0.96	88.60	ab	0.46
11	90.61	abc	0.41	79.83	abc	0.64
12	85.33	bc	0.53	76.85	abc	0.69
13	65.35	ef	0.85	60.86	c	0.91
14	64.15	f	0.86	70.32	bc	0.77
15	74.55	de	0.72	93.49	a	0.36

Nota. Letras diferentes difieren según la prueba de Duncan $p \leq 0.001$ y $p \leq 0.01$.

De esta manera, se observó (Tabla 16) que no todos los árboles evaluados de *Pinus hartwegii* Lindl. que dieron polen viable en el primer año (árbol 3 y 5) fueron viables en el segundo año (árbol 1 y 15) de la evaluación.

6.1.2.2. Análisis de la variación en la capacidad germinativa.

Al analizar la capacidad germinativa del polen en los 15 árboles en estudio durante el primer y segundo año se pudo observar una marcada amplitud de variación (Tabla 17).

Tabla 17. Análisis descriptivo de la capacidad germinativa del polen en *Pinus hartwegii* Lindl.

AÑO	AMPLITUD DE VARIACIÓN (%)	MEDIA (%)	ERROR ESTANDAR	COEFICIENTE DE VARIACIÓN (%)
1	26-95	62.74	2.74	29.4
2	27-92	56.85	2.11	14.20

Los resultados de la evaluación de la capacidad germinativa del polen, en el primer año muestran mayor amplitud de variación que en el segundo año de su evaluación.

De acuerdo con las observaciones detectadas en el microscopio *Pinus hartwegii* Lindl. presenta una alta capacidad germinativa en el polen (Figura 72).

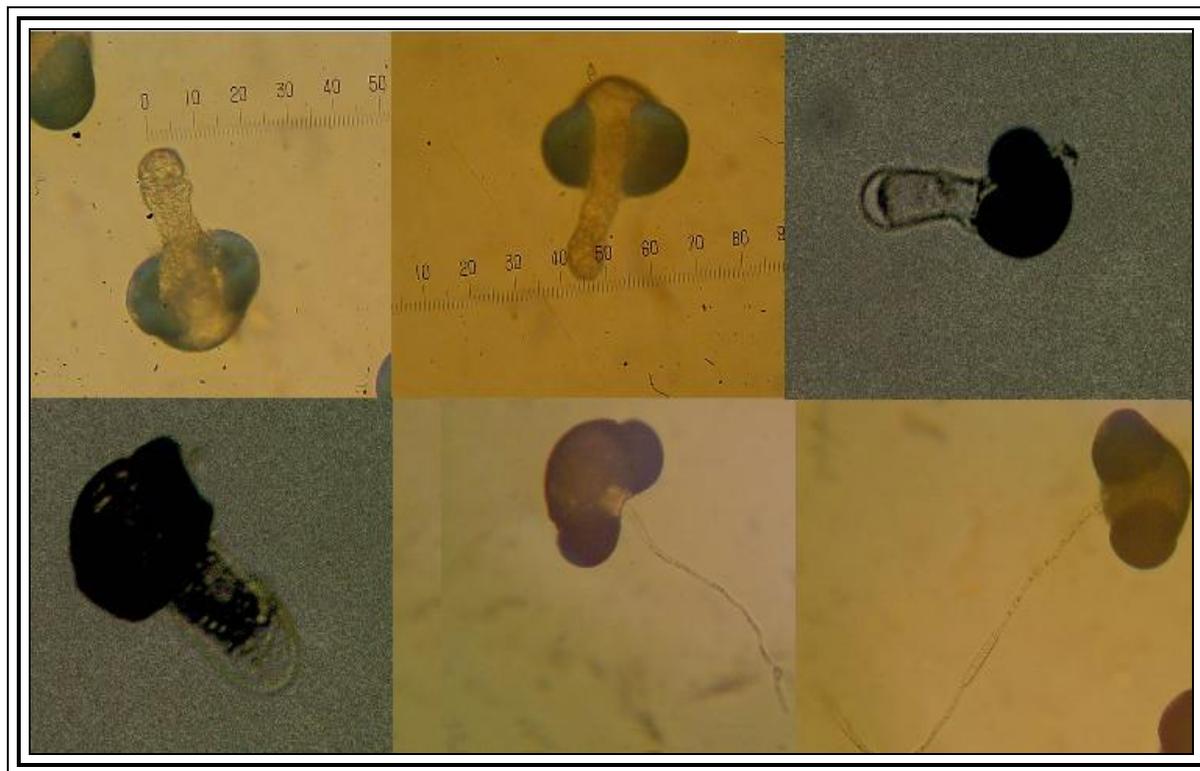


Figura 72. Capacidad germinativa del polen de *Pinus hartwegii* Lindl. a un aumento de 200x. FOTOS. Iglesias (2004).

El análisis de varianza realizado a los valores de germinación obtenidos durante el primer año, arrojaron diferencias ($p \leq 0.05$) en la capacidad germinativa entre los árboles examinados, sin embargo para el segundo año arrojaron diferencias altamente significativas ($p \leq 0.0001$) entre los mismos árboles del estudio (Tabla 18).

Tabla 18. Valores de los cuadrados medios del ANOVA para el porcentaje de polen germinado y entre árboles de *Pinus hartwegii* Lindl. en los dos años del estudio.

FUENTE DE VARIACIÓN	VIABILIDAD	
	Año 1	Año 2
Árboles	0.11*	0.09***
Error	0.05	0.007
$\bar{x} \pm ES$	62.74%±2.74	56.85%±2.11

Nota. \bar{x} =Media; ES=Error estándar; *Diferencias significativas ($p \leq 0.05$); ***Diferencias significativas ($p \leq 0.001$).

En la Tabla 18 se muestran los resultados del análisis de Duncan durante el primer y segundo año donde se puede apreciar las diferencias entre los árboles en estudio para el porcentaje de germinación del polen.

Tabla 19. Comparación de medias para el porcentaje de polen germinado en 15 árboles de *Pinus hartwegii* Lindl. evaluado durante dos años.

ÁRBOL	AÑO 1			AÑO 2		
	Original (%)		Transformada	Original (%)		Transformada
1	58.22	abc	0.94	31.73	g	1.25
2	66.92	abc	0.81	52.21	def	1.02
3	51.42	bc	1.01	47.74	ef	1.07
4	53.08	bc	1.00	56.68	cdef	0.97
5	48.01	c	1.06	44.52	f	1.11
6	63.21	abc	0.87	72.95	b	0.75
7	48.82	c	1.05	45.23	f	1.10
8	58.76	bc	0.96	63.35	bc	0.84
9	57.90	abc	0.95	66.6	bc	0.84
10	87.03	a	0.50	88.07	a	0.49
11	76.96	abc	0.66	61.47	bcd	0.91
12	80.79	ab	0.59	51.34	def	1.03
13	56.71	abc	0.95	54.82	cdef	0.99
14	82.63	ab	0.57	58.63	cde	0.99
15	54.60	bc	0.97	54.52	cdef	0.99

Nota. Letras diferentes difieren según la prueba de Duncan $p \leq 0.05$ para el año 1 y $p \leq 0.001$ para el año 2.

De esta manera, en la Tabla 18 se ejemplifica que el árbol 10 fué el que dió mayor capacidad germinativa del polen de *Pinus hartwegii* Lindl. durante los dos años de la evaluación.

Mediante la Figura 73 se ejemplifica los porcentajes obtenidos en la viabilidad del polen con el método de tinción azul de toluidine en etanol y la capacidad germinativa obtenido empleando solución de sacarosa al 20% durante la evaluación en el año 1 y 2.

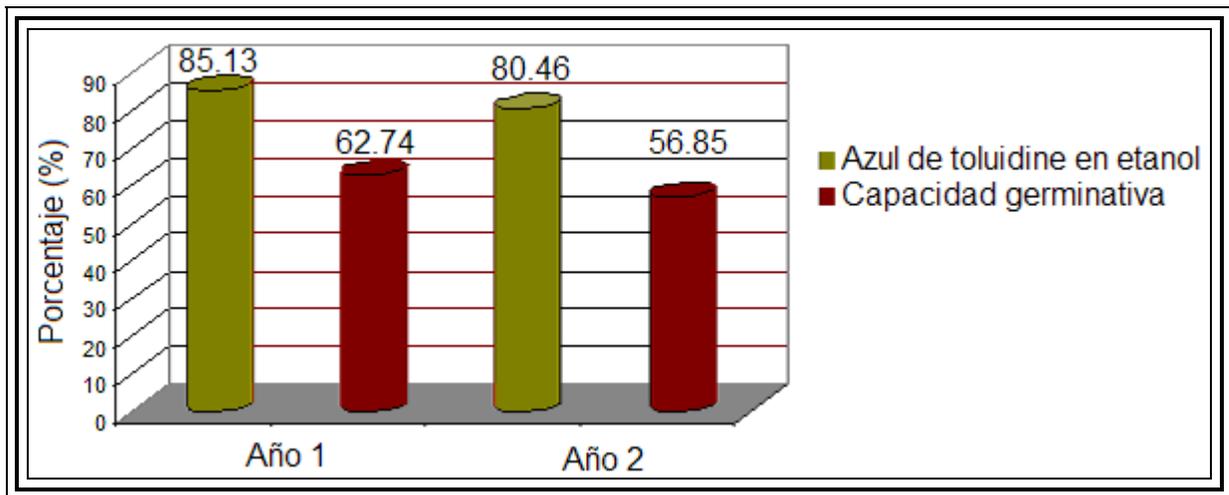


Figura 73. Representación gráfica de la viabilidad del polen con azul de toluidine en etanol y la capacidad germinativa durante los años 1 y 2.

En la Figura 73, se observa que la viabilidad del polen de *Pinus hartwegii* Lindl. fue similar en los dos años del estudio, lo que explica que el polen no tiene problemas de baja viabilidad, aunque se presentaron bajos porcentajes tanto de viabilidad como de germinación en el segundo año.

6.1.2.2.1. Análisis de la variación en el tubo polínico.

Asimismo, los resultados del análisis descriptivo de la longitud del tubo polínico varió entre las 94 a 681.5 micras con una media de 249.43 micras. Los valores de error estándar y de coeficiente de variación para esta variable fueron de 3.1 y 45.95% respectivamente.

Cabe destacar que los resultados del análisis de varianza de esta variable evaluada a las 24 horas, mostró la existencia de diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los árboles en estudio (Tabla 20).

Tabla 20. Valores de los cuadrados medios del ANOVA para evaluar la longitud del tubo polínico del polen de *Pinus hartwegii* Lindl.

FUENTE DE VARIACIÓN	LONGITUD DEL TUBO POLÍNICO
Árbol	30442.99*
Error	12951.80
$\bar{x} \pm ES$	249.43 \pm 3.11

Nota. \bar{x} =Media. ES=Error estándar. *Diferencias significativas (1...15: árboles) ($p \leq 0.05$).

Los resultados del análisis de Duncan efectuado a los árboles en estudio mostraron que el árbol 5 mostró la mayor longitud del tubo polínico seguido de los árboles 6 y 4 respectivamente (Figura 74).

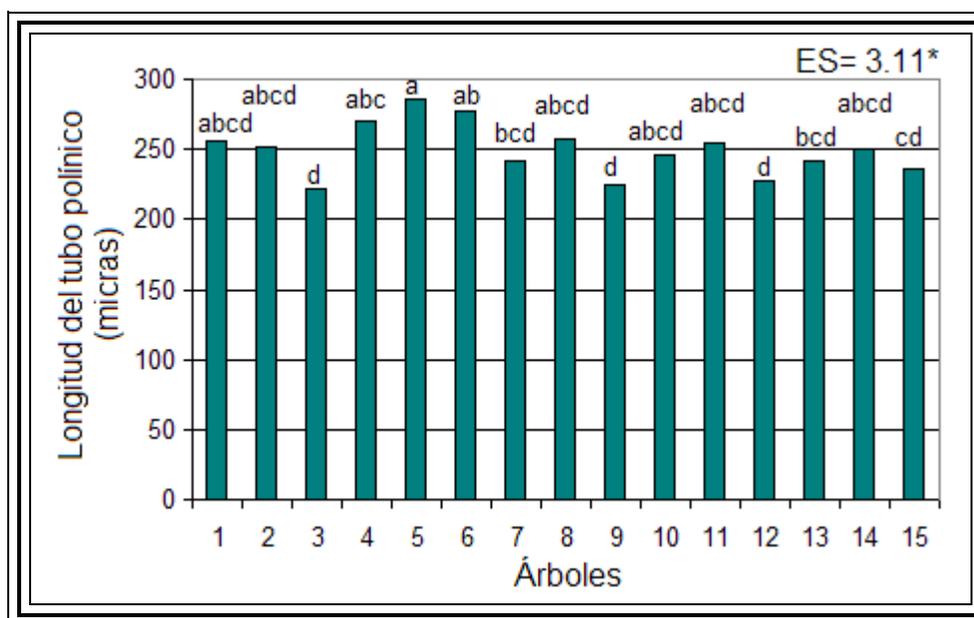


Figura 74. Variabilidad en la longitud del tubo polínico evaluado en 15 árboles de *Pinus hartwegii* Lindl. ES= Error estándar. *Diferencias significativas (1...15: árboles). Letras diferentes difieren según la prueba de Duncan, $p \leq 0.05$.

Los resultados obtenidos, muestran que los árboles que presentan una mayor viabilidad muestran también las mayores longitudes de los tubos polínicos.

6.1.2.3. Análisis de correspondencia entre indicadores de viabilidad y capacidad germinativa del polen.

Los resultados del análisis de correspondencias efectuado a los indicadores de viabilidad por tinción y capacidad germinativa del polen analizados a los 15 árboles seleccionados durante el primer año, reveló que el porcentaje de polen viable y no viable depende significativamente del método utilizado ($X^2 = 100.91$; $p \leq 0.01$).

En general, los resultados mostraron que con un solo eje (eje 1) se puede explicar las diferencias entre los métodos de viabilidad empleados. De hecho el eje 1, con un valor propio de

0.126 explicó significativamente el 100% ($p < 0.01$) de la inercia presente en los métodos de viabilidad examinados (Figura 75).

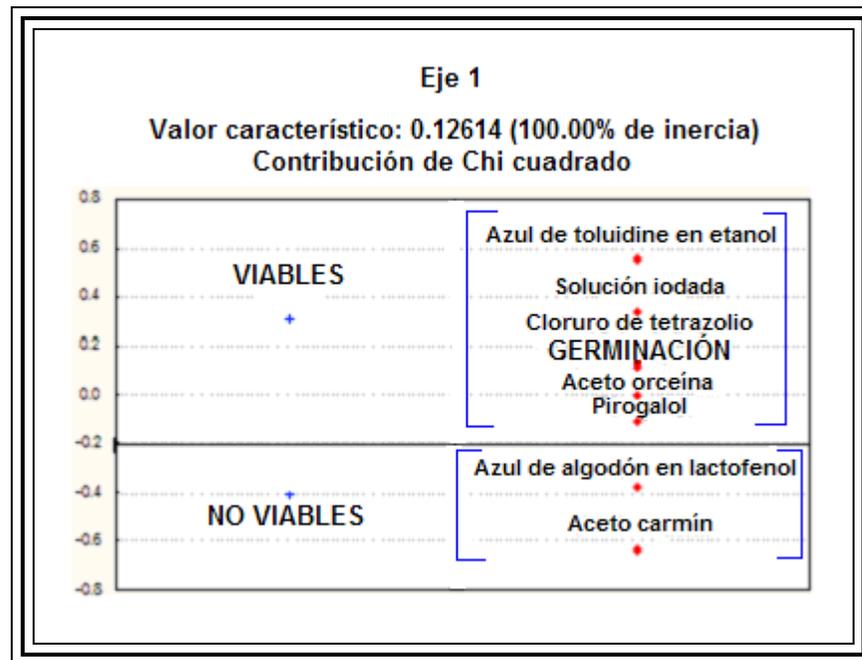


Figura 75. Representación gráfica de los métodos empleados para determinar la viabilidad del polen en *Pinus hartwegii* Lindl. mediante análisis de correspondencias simple.

En base a estos resultados (Figura 75) se pudo apreciar que los indicadores de viabilidad obtenidos mediante la tinción con las soluciones: azul de toluidine en etanol, solución iodada, cloruro de tetrazolio, aceto orceína y pirolgalol, fueron los mejores para detectar polen viable en *Pinus hartwegii* Lindl. Esto se debe a que los mismos mostraron comportamiento similar en cuanto a granos de polen viables y a lo detectado en la prueba de germinación. No se apreció similar comportamiento al evaluar la viabilidad del polen a través de las soluciones de tinción con: solución azul de algodón en lactofenol y aceto carmín.

De acuerdo con estos resultados, se concluye la utilidad del empleo de los indicadores de viabilidad: azul de toluidine en etanol, solución iodada, cloruro de tetrazolio, aceto orceína y pirolgalol, como métodos indirectos para predecir la capacidad germinativa del polen en esta población.

6.2. Análisis integral.

6.2.1. Análisis de conglomerado.

Los resultados del análisis de conglomerado efectuado a las características morfométricas (eje polar, eje ecuatorial y relación eje polar/eje ecuatorial del polen, eje polar y eje ecuatorial de las alas y de la célula principal del polen así como el espesor de este último) y de viabilidad (porcentaje de polen viable con azul de toluidine en etanol, capacidad germinativa y longitud del tubo polínico) evaluadas en la población durante el primer año, permitió clasificar a los árboles examinados en tres grupos (Figura 76). De acuerdo a los resultados obtenidos la mayor parte de los árboles en estudio, fueron clasificados en el grupo III y con menor cantidad de árboles se presentó el grupo I y II (Figura 76).

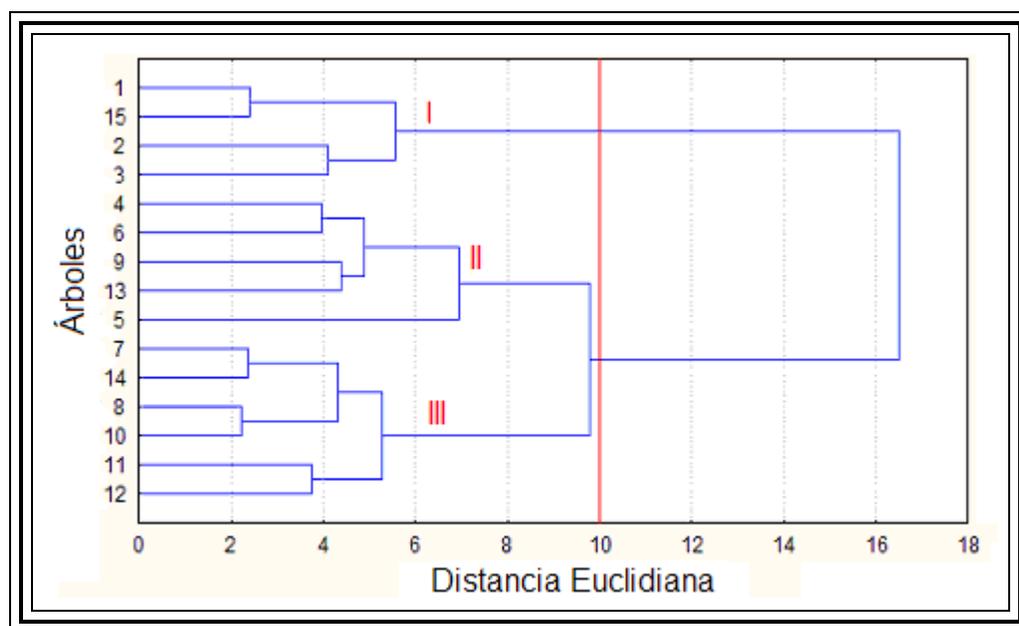


Figura 76. Dendrograma de la agrupación de los árboles sobre la base de características morfométricas y de viabilidad evaluadas en el primer año.

En la Tabla 21, muestra los árboles que conforman cada grupo, con las medias y desviaciones estándar de las variables evaluadas que resultaron altamente significativas ($p \leq 0.001$) en la formación de dicha agrupación (eje polar y eje ecuatorial del ala y de la célula principal y porcentaje de germinación).

Tabla 21. Características de los grupos formados, árboles y las variables que contribuyeron a su conformación durante el primer año.

GRUPO	ÁRBOLES	ÁRBOLES POR GRUPO	ALA DEL POLEN		CÉLULA PRINCIPAL		GERMINACIÓN	
			Eje polar	Eje ecuatorial	Eje polar	Eje ecuatorial		
I	1, 2, 3 y 15	4	Prom.	40.95	36.87	49.05	57.76	0.82
			Desv.	1.36	0.68	1.57	2.48	0.19
II	4, 5, 6, 9 y 13	5	Prom.	47.45	39.93	54.91	64.29	0.97
			Desv.	1.33	1.71	1.99	2.06	0.07
III	7, 8, 10, 11, 12 y 14	6	Prom.	49.43	41.53	61.74	69.40	0.97
			Desv.	1.51	2.04	1.07	1.37	0.07

Los árboles 4, 5, 6, 9 y 13 del grupo II y los árboles 7, 8, 10, 11, 12 y 14 del grupo III (Tabla 21) son los que presentaron un tamaño de polen más grande y con mejor capacidad germinativa de la población de *Pinus hartwegii* Lindl.

En la Figura 77 se muestra los resultados obtenidos mediante el análisis PAST en la que se representa la distribución espacial de los árboles en las coordenadas 1 y 2, sobre la base de los resultados obtenidos en el primer año del estudio. Se pudo apreciar que el grupo I estuvo formado por los árboles 1, 2, 3, y 15, el grupo II estuvo integrado por los árboles 4, 5, 6, 9 y 13 y el grupo III incluyó a los árboles 7, 8, 10, 11, 12 y 14, similar a lo obtenido en el análisis de conglomerado (Figura 76). Este método es otra vía para demostrar la distribución de los árboles estudiados.

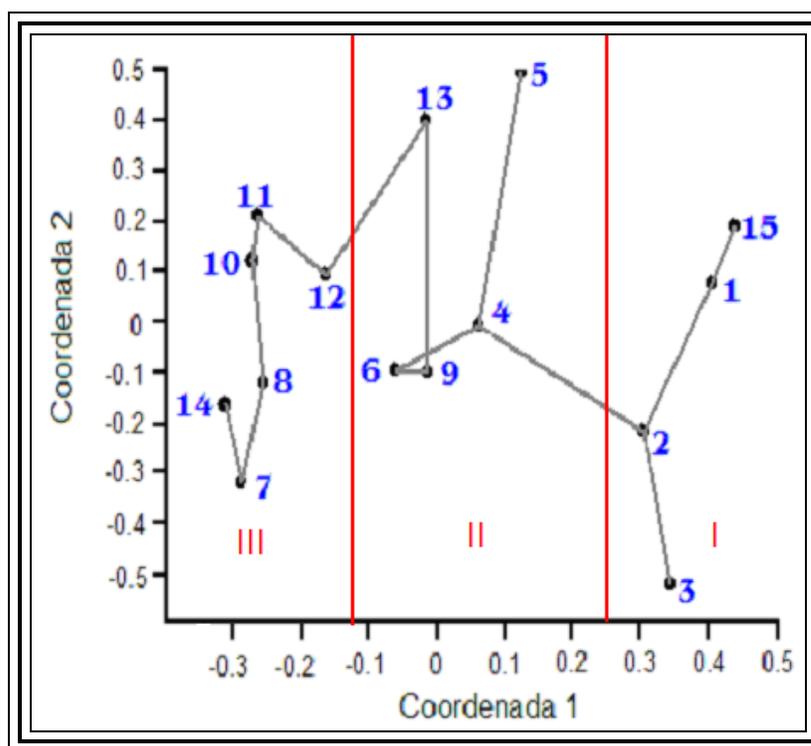


Figura 77. Análisis de distribución entre los grupos formados del año 1, mediante el método PAST.

7. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos del análisis de las características descriptivas del polen de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote en el estado de Veracruz en México, concuerdan con estudios anteriores realizados en *Pinus* (Heusser, 1971; Bagnall, 1975; Valdés *et al.*, 1987; Murray, 1997; Weber, 1998; Iglesias *et al.*, 1999b; Galicia, 2004; GEOS, 2004; Urg, 2004).

Se constató que el polen de *Pinus hartwegii* Lindl. presenta una forma elíptica, vesiculada, con un área delgada de exina; raramente se encuentra monoporado y en tetradas. Presenta dos sacos aéreos, un tamaño grande de 42.3 a 79.9 del eje polar por 42.3 a 89.3 del eje ecuatorial, por lo que favorece su transporte y permite establecer al parecer un flujo genético efectivo en las poblaciones (Bagnall, *op. cit.*; Weber, *op. cit.*; GEOS, *op. cit.*; Galicia, *op. cit.*; Urg, *op. cit.*). De acuerdo con la escultura del polen y a la relación eje polar/eje ecuatorial, el polen de esta especie es reticulado y suboblado respectivamente (Valdés *et al.*, *op. cit.*; Galicia, *op. cit.*). En base a la polaridad del mismo se clasificó como heteropolar radiosimétrico lo que concuerda con lo reportado por Heusser, *op. cit.*; Valdés *et al.*, *op. cit.*; Galicia, *op. cit.*; Urg, *op. cit.*

Estos resultados de forma general, concuerdan además con lo obtenido por Iglesias *et al.*, *op. cit.* al evaluar las características morfométricas del grano de polen de tres especies de pinos (*P. patula*, *P. teocote* y *P. montezumae*). Similares resultados han sido reportados por Bagnall, *op. cit.*, quien menciona que las dimensiones del polen de los pinos oscilan entre los 50 a 70 micras. Weber, *op. cit.* señala que el polen dispersado por el viento oscila de 20 a 60 micras. Por esta razón, se concluye que *Pinus hartwegii* Lindl. se encuentra en el rango de tamaños que permite mantener un adecuado flujo genético en la población, debido a que el polen presenta adaptaciones para la anemofilia (Galicia, *op. cit.*; Urg, *op. cit.*). Pero sin embargo, hay que resaltar que esto depende de las condiciones meteorológicas del sitio, ya que si es cálido y seco es más fácil que se lleve a cabo el fenómeno de la polinización (Dorman y Barber, 1956; Boyer, 1966, Niembro-Rocas, 1986).

La marcada amplitud de variación detectada en los datos de viabilidad (11 a 96.6%) evaluada por los diferentes métodos de tinción (azul de toluidine en etanol, azul de algodón en

lactofenol, aceto orceína, aceto carmín, solución iodada, cloruro de tetrazolio y pirogalol) concuerda con lo reportado por Edwardson y Corbett (1961), Hauser y Morrison (1964), Simón (1972) citado por Iglesias *et al.* (1999b), Daulta y Singh (1985), Labourdette (1985), Bramlett y Bridgwater (1989), Moody y Jett (1990), Adiwilaga y Brown (1991), Bamberg y Hanneman (1991), Burgos (1991), Owens (1993), Mulugeta *et al.* (1994), González *et al.* (1995b), Andrada *et al.* (1998), Andrés *et al.* (1999), Berlingeri *et al.* (1999), González *et al.* (1999a), Iglesias *et al.*, *op. cit.*, Lavia *et al.* (2000) y Firmage y Dafni (2001) en base a la efectividad diferencial de los mismos para detectar polen fértil.

De acuerdo con estos resultados de viabilidad, el método de azul de toluidine seguido con la solución iodada, fueron los que mejores resultados mostraron para detectar la viabilidad del polen de esta especie, lo que coincide con lo detectado por Iglesias *et al.*, *op. cit.* al analizar la viabilidad del polen de otras especies de Pinos.

Lo anterior puede deberse a que como se ha reportado mayores niveles de contenido de almidón en polen de especies anemófilas (Calvino, 1952; Baker y Baker, 1979), lo que pudo haber influido en los elevados porcentajes de viabilidad detectados mediante la solución iodada. La presencia de contenidos relativamente mas elevados de almidón en el polen de estas especies favorece igualmente el proceso de formación del tubo polínico (Niembro-Rocas, 1986), lo que puede explicar asimismo que en este estudio se detectaran valores relativamente elevados de germinación del polen, similar a lo reportado por Porta y Roselli (1991).

Por otro lado, la presencia en general de porcentajes por arriba del 80% de viabilidad del polen en la población, concuerda con lo apuntado por Simón *op. cit.* citado por Iglesias *et al.*, *op. cit.*, Adiwilaga y Brown, *op. cit.*, Bamberg y Hanneman, *op. cit.*, González *et al.*, *op. cit.* y Berlingeri *et al.*, *op. cit.*, en relación a que los métodos indirectos para la determinación de la fertilidad del polen, como son los métodos de tinción empleados en este estudio, son menos efectivos que las pruebas directas de germinación, pero tienen la ventaja de que permiten hacer predicciones rápidas de la fertilidad masculina. Lo anterior se debe a que los métodos de tinción tiñen citoplasmas tanto vivos como muertos, por lo que sobreestiman la fertilidad del polen. No obstante, constituyen una vía rápida para predecir la germinación de ésta (Parfitt y Ganeshan, 1989; González *et al.*, 1995a; González *et al.*, *op. cit.*).

Sin embargo, a diferencia de lo obtenido por González *et al.* (1999a), en su estudio de la fertilidad del polen en especies forestales, el porcentaje de viabilidad del polen alcanzado en este trabajo (11-99.66%) resulta mayor que lo obtenido en germinación (26-95% en el primer año y 27-92% en el segundo año evaluado). La mayor amplitud de variación en la expresión de éste carácter con relación a lo detectado por los métodos de tinción, se debe a que estos últimos por lo regular sobreestiman la viabilidad verdaderamente existente.

Los resultados de viabilidad en su conjunto evidencian que la meiosis transcurre en esta especie normalmente en los microesporangios, dado que de presentar cualquier anomalía conllevaría a la formación de granos no viables. Lo que nos sugiere que la viabilidad del polen no constituye un factor limitante en el proceso de polinización cruzada de esta población. Es por ello, que la baja viabilidad de las semillas detectadas en esta población no puede atribuirse al parecer a un componente polínico. Por lo que sería importante realizar estudios futuros encaminados al análisis de la viabilidad femenina de la especie para arribar a resultados concluyentes en torno a si las afectaciones producidas se deben a factores genéticos operando a nivel de gametos.

En este estudio, se consideró como polen germinado a todo aquél que presentó una longitud del tubo polínico igual o superior al diámetro (Andrés *et al.*, 1999). Al igual que lo observado por Andrés *et al.*, *op. cit.*, la longitud del tubo polínico aumenta desde las dos horas hasta las 48 horas de incubación, alcanzando longitudes diferentes. Sin embargo, en este estudio no fué necesario esperar 48 horas, debido a que en 24 horas fué el tiempo suficiente para empezar a evaluar la capacidad germinativa del polen de *Pinus hartwegii* Lindl. Esto evidencia el alto grado de viabilidad presente en el polen producido en esta población.

De acuerdo con los resultados del análisis de correspondencias, los métodos para detectar polen viable (azul de toluidine en etanol, solución iodada, cloruro de tetrazolio, aceto orceína y pirogalol) son similares a lo reportado por Edwardson y Corbett (1961), Hauser y Morrison (1964), Simón (1972) citado por Iglesias *et al.* (1999b), Labourdette (1985), Bamberg y Hanneman (1991), González *et al.* (1992), Berlinger *et al.* (1999), Iglesias *et al.*, *op. cit.*

Sin embargo, es importante señalar que aunque el polen sea viable no es un indicador de la calidad de la semilla, ni es un indicador de buena producción de semillas, si los mecanismos de polinización no son efectivos o adecuados o si el polen no llega a coincidir con la receptividad de los estróbilos megasporangiados, etc. (Niembro-Rocas, 1986).

Estos resultados concuerdan además con lo reportado por Solís (2002), quien detectó una marcada variación intrapoblacional para diferentes características morfométricas y bioquímicas en la población de esta especie ubicada en el Pico de Orizaba del mismo estado. Esto puede deberse, a que la especie exhibe la mayor variación regional en relación con otras especies de pinos, en virtud de que crecen a la mayor altitud, circunstancia que ha permitido la formación de razas geográficas y altitudinales con cierto grado de aislamiento genético entre unas y otras (Solís, 1994).

Teniendo en cuenta todo lo antes expuesto, resulta necesario emprender otros estudios que evalúen la incidencia de otros factores en los bajos porcentajes de viabilidad de las semillas existentes. Entre ellos se sugiere considerar entre otros: la viabilidad del gameto femenino, factores edafoclimáticos de la región, agentes de polinización, posibles fenómenos de incompatibilidad, aberraciones cromosómicas, que pueden estar operando en dicha población (Paré y Alatorre, 1993; Güemes, 2001; Lycos, 2004).

Los resultados obtenidos en este estudio son de gran importancia ya que contribuyen a esclarecer los problemas relacionados con la biología reproductiva de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote, además que pueden ser muy útiles para el desarrollo de futuros trabajos de mejora genética por hibridación que se realicen en la misma.

8. CONCLUSIONES

1. Se observó que el tamaño del polen de *Pinus hartwegii* Lindl. es grande de acuerdo con la longitud del eje mayor, reticulado de acuerdo a la escultura del polen, heteropolar radiosimétrico de acuerdo a su polaridad, suboblado de acuerdo a la relación eje polar/eje ecuatorial, vesiculado, monoporado y con área delgada en la exina, similar a lo reportado para otras especies de Pinos.
2. Se constató la existencia de una marcada variación intrapoblacional para las características morfométricas del polen evaluadas. El tamaño del polen se mantuvo en el rango reportado para otras especies anemófilas de *Pinus*.
3. El método colorimétrico empleando la solución de azul de toluidina en etanol fue el que mostró los mejores resultados para evaluar la viabilidad del polen. Este método y el de la solución iodada sobreestimaron la viabilidad del polen presente en esta población. Los árboles con mayor índice de viabilidad y germinación fueron los que presentaron la mayor longitud del tubo polínico.
4. Los resultados de los análisis multivariados efectuados mostraron que los árboles en estudio se conjuntaron en tres grupos. El grupo III conformado por los árboles (7, 8, 10, 11, 12 y 14), mostraron valores relativamente más elevados en cuanto al tamaño del polen.
5. La presencia de características morfométricas del polen similares a las reportadas para otras especies de pinos y aunado a una fertilidad del polen elevada, sugiere que la baja viabilidad de la semilla de esta especie no pueda ser atribuible al polen.

9. RECOMENDACIONES

1. Emplear los caracteres del polen evaluados en esta Tesis, en futuros estudios palinológicos que se desarrollen en *Pinus hartwegii* Lindl.
2. Utilizar el método con azul de toluidine en etanol y solución iodada como indicador de viabilidad del polen en *Pinus hartwegii* Lindl., que puede ser de utilidad en la selección de fuentes parentales en los programas de hibridación que se desarrollen.
3. Realizar otros estudios en esta especie, donde se evalúen otros factores que puedan estar incidiendo en la baja viabilidad de las semillas en esta población y que consideren los mecanismos pre y post cigóticos durante la polinización, la fisiología de las semillas (estado de latencia, dormancia, etc.) y daños causados por plagas para identificar las verdaderas causas de la baja viabilidad de las semillas de la población.

10. LITERATURA CITADA

- ACEVES, R.J.L. y NAVA, V.N.A. 2004. Plan de manejo del Parque Nacional “Cofre de Perote” o “Nauhcampatepetl”. [En Línea]. (Consultado: Julio 1, 2004).
[<http://www.uv.mx/iiesca/revista2/aceves.html>]
- ACOSTA, C.S. y VILELA, A.E. 1998. Anatomía foliar y morfología del polen de *Drimys granadensis* var. *mexicana* (Winteraceae: Magnoliales). Polibotánica. 8.1-8.
- ADIWILAGA, K.D. and BROWN, C.R. 1991. Use of 2n pollen producing triploid hybrids to introduce tetraploid mexican wild species germplasm to cultivated tetraploid potato gene pool. Theor. Appl. Genet. 81:645–652.
- ALBA, L.J. 1993. Manejo de semillas forestales. Centro de Genética Forestal. Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, México. 63 p.
- ALLEN, G.S. and OWENS, J.N. 1972. The life history of Douglas-fir. Information. Ottawa, Canada. 100 p.
- ALVARADO, J.; BULGARELLI y MOYA, B. 1998. Germinación del polen en poblaciones derivadas de un híbrido entre *Elaeis guineensis* Jacq. y *Elaeis oleifera* HBK, Cortés. Costa Rica. 5 p.
- ANDRADA, A.B.; PASTORIZA, A. y MARTÍNEZ, P. 1998. Citogenética en tres especies de Verbenáceas. Argentina. 15:312–318.
- ANDRÉS, M.V; RODRÍGUEZ, J. y DURÁN, J.M. 1999. Viabilidad del polen del Albaricoquero (*Prunus armeniaca* L.) Invest. Agr.: Prot. Veg. 14(1–2):25–26:31.
- ANÓNIMO. 1976. Estadísticas del recurso forestal de la República Mexicana. Dirección General del Inventario Nacional Forestal. Subsecretaría Forestal y de la Fauna. S.A.G. México, D.F. 5 p.

- APARICIO, R.A. 1999. Polinización controlada. Instituto de Genética Forestal. Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, México. 5 p.
- ARREGUÍN-SÁNCHEZ, M.L.; PALACIOS-CHÁVEZ, R.; QUIROZ-GARCÍA, D.L. y RAMOS-ZAMORA, D. 1988. Morfología de los granos de polen de la familia Polygalaceae del Valle de México. Acta Botánica Mexicana. México, D.F. 4:21-27.
- ; QUIROZ-GARCÍA, D.L. y PALACIOS-CHÁVEZ, R. 1990. Morfología de los granos de polen de las familias Aceraceae, Aquifoliaceae, Geraniaceae, Resedaceae, Sabiaceae y Saxifragaceae del Valle de México. Acta Botánica Mexicana. México, D.F. 10:3-13.
- AUÑÓN, F.J.; NICOLÁS, J.L. y MARTÍN, S. 2003. Conservación de recursos genéticos de *Pinus*: Banco de semillas de la dirección general para la conservación de la naturaleza del ministerio del medio ambiente. México. 3 p.
- BADILLO, M.; ACOSTA, M. y MUSÁLEM, M.A. 1992. Efecto de almacenamiento en campo en la viabilidad de las semillas de *Pinus hartwegii* Lindl. Revista Ciencia Forestal, INIFAP. 12 p.
- BAGNALL, C.R. JR. 1975. Species identification among pollen grains of *Abies*, *Picea* and *Pinus* in the Rocky Mountain area (A scanning electron microscope study). Rev. Palaeobotany Palynology. 19:203–220.
- BAKER, F.S. 1950. Principles of silviculture. McGraw-Hill Book Co., N.Y. 100 p.
- BAKER, H.G. and BAKER, I. 1979. Starch in angiosperm pollen grains and its evolutionary significance. Am. J. Bot. 66: 591-600.
- BALDWIN, H.I. 1942. Forest tree seed of the north temperate regions. Chronica Botanica Co., Waltham, Mass. 100 p.

- BAMBERG, J.B. y HANNEMAN, R.E. 1991. Rapid ploidy screening of tuberbearing *Solanum* (potato) species through pollen diameter measurement. Amer. Potato Jour. 68:279–285; 373-379.
- BARNES, B.V.; BINGHAM, R.T. and SQUILLACE, A.E. 1962. Selective fertilization in *Pinus monticola* Dougl. II. Results of additional tests. Silvae genet. 11:103–111.
- BAUER, L.L.; HERNÁNDEZ, T. and MANNING, W.J. 1985. Ozone causes needle injury and tree decline in *Pinus hartwegii* Lindl. at high altitudes in the mountains around Mexico city. J. Air pollut control assoc. 35(8):838.
- BEAMAN, J.H. 1962. The timberlines of Iztaccihuatl and Popocatepetl, México. Ecology. 43(3):337–385.
- BENOIT, L.F.; SKELLY, J.M.; MOORE, L.D. and DOCHINGER, S. 1983. The influence of ozone on *Pinus strobus* L. pollen germinations. Can. J. For. Res. 13:184-187.
- BERLINGERI, C.; JÁUREGUI, D. y QUIJADA, P. 1999. Estudio comparativo de algunos aspectos de la biología reproductiva del ajonjolí indehisciente (*Sesamum indicum* L.). Rev. Facultad de Agronomía. 16:256-265.
- BOEGE, E.; GARCÍA, H. y GERÉZ, P. 1995. Las sierras de Veracruz y las opciones de manejo de los recursos naturales. In: Alternativas de manejo de laderas en Veracruz. SEMARNAP/FES. México, D.F. pp. 9-31.
- BONILLA, A.V.O. 1993. Variación natural en *Pinus hartwegii* Lindl.: longitud de traqueidas de la madera a lo largo del Eje Neovolcánico. Tesis de Ingeniería Forestal. Universidad Autónoma de Chapingo. División de Ciencias Forestales. México. 75 p.
- BOST, T.; BARBOUR, M.; THORNTON, R.; WEIER, E. y STOCKING, R. 1985. Botánica. Introducción a la biología vegetal. Editorial Limusa. México. 15:359, 364–369.

- BOTTO, O.V. 1997. Cruzamientos interspecíficos en *Eucalyptus* sp. XI Congreso Forestal Mundial. Octubre 13-22, 1997. Natalia, Turquía. 8:8.
- BOYER, W.D. 1966. Longleaf pine pollen dispersal. *Forest Science*. 12:367-368.
- , 1973. Air temperature, heat sums and pollen shedding phenology of longleaf pine. *Ecology*. 54: 420-426.
- , 1978. Heat accumulations: an easy way to anticipate flowering of southern pines. *Journal of Forestry*. 76: 20-23.
- BRAMLETT, D.L. and BRIDGWATER, F.E. 1989. Pollen development classification system for loblolly pine. In: proceeding 20 southern forest tree improvement. Conference, June, 1989. Charleston, SC. pp 116–121.
- BREWBAKER, J.L. and KWACK, B.H. 1963. The essential role of calcium ion pollen germination and pollen tube growth. *American Journal of Botany*. 28, 175–177, 50:859-869.
- BUCCI, G.; VENDRAMIN, G.G.; LELLI, L. and VICARIO, F. 1997. Assessing the genetic divergence of *Pinus leucodermis* Ant. Endangered populations: use of molecular markers for conservation purposes. *Theor. Appl. Genet.* 95:1138–1146.
- BURGOS, L. 1991. Biología floral de variedades de Albaricoquero (*Prunus armeniaca* L.). Tesis Doctoral. Universidad de Murcia, España. 260 p.
- CABALLERO, D.M. 1967. Estudio comparativo de *Pinus rudis* Endl. y *Pinus hartwegii* Lindl. Tesis Profesional. Escuela Nacional de Agricultura. Departamento de Bosques. Chapingo, México. 139 p.

- . 1968. Los principales enemigos del bosque en los estados de Baja California, Chihuahua, Nayarit y Sonora. Bosque de clima templado y frío. Dirección General del Inventario Nacional Forestal. S.A.G. México, D.F. 5:19.
- . 1970. La frecuencia de los daños del bosque (áreas de coníferas en Zacatecas, Sinaloa y Jalisco). Dirección General del Inventario Nacional Forestal. S.A.G. México, D.F. 14:28.
- CALLAHAM, R.Z. 1964. Investigación de procedencias: estudio de la diversidad genética asociada a la geografía. *Unasylva*. 18(2-3):40-50.
- CALVINO, E.M. 1952. Le sostanze di riserva dei pollini e il loro significato, filogenético, ecológico, embriológico. *Nuovo Giornale Botánico Italiano*. 59:1-26.
- CAMPBELL, T.E. 1955. Freeze damages shortleaf pine flowers. *Journal of Forestry*. 53:452.
- CAMPOS, J.L. 1993. Claves para la determinación de los pinos mexicanos. Universidad Autónoma Chapingo, México. 22:70 p.
- CARSON. 1990. Increasing genetic variante alter a population botteneck. *Trends Ecol. Evol.* 5:228-231.
- CASTILLO, D. 1997. Índice de calidad morfológica de *Pinus montezumae* Lamb. y *Pinus hartwegii* Lindl. producidas en vivero. Tesis. Ing. Agrónomo. Universidad Autónoma de Chapingo, México. División de Ciencias Forestales. 125 p.
- CECICH, R.A. 1981. Forestry Sciences Laboratory. North Central Forest Experiment Station, Rhinelander, Wisconsin. Comunicación personal.
- CMA. 2004. El banco de semillas forestales. [En Línea]. (Consultado: Julio 17, 2004).
[http://www.cma.gva.es/areas/estado/bosques/bosq/banco_semillas/el_banco_de_semillas_forestales.html]

- CONABIO. 2002. Los pinos mexicanos. Récord mundial de biodiversidad. [En Línea].
(Consultado: Abril 17, 2002).
[http://www.conabio.gob.mx/institucion/conabio_español/doctos/pino.html]
[<http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/ise/fichas/doctos/introducción.html>]
- CONAF. 1998. El subsector forestal de México. Consejo Técnico Nacional Forestal (CONAF).
México. 1 p. [En Línea]. (Consultado: Noviembre 16, 1998).
[<http://www.semarnap.gob.mx/ssn/pronare/pronare.htm>].
- COX, R.M. 1989. Natural variation in sensitivity of reproductive processes in some boreal forest trees to acidity. In: Scholds, F., Gregorious, R. and Rudin, D. (Eds). Genetic effects of air pollutants in forest tree populations. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, Germany. pp. 77-88.
- DAULTA, B.S. and SINGH, D. 1985. *In Vitro* pollen viability germination and tube growth by different media in peach *Prunus persica* cultivar Sharbati. Indian J. Agric. Res. 19, 69-72.
- DE BARR, G.L. and EBEL, B.H. 1973. How seedbugs reduce the quantity and quality of pine seed yields. Proc. 12th South. For. Tree Improv. Conf. 100 p.
- . 1974. Conelet abortion and seed damage of shortleaf and loblolly pines by a seedbug. Forest Science. 20:165-170.
- DE LA TORRE, R. Ma. 2002. Comunicación personal: Abril 20, 2002. Técnico del Laboratorio de Suelos. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Peñuela, Veracruz. Municipio de Amatlán de los Reyes, Veracruz.
- DEMEKE, H. and HUGHES, H. 1991. Germination and storage of pollen of *Phytolacca doceccandra* L. Botany. 68:13-15.
- DEWERS, R.S. and MOEHRING, D.M. 1970. Effect of soil water stress on initiation of ovulate primordia in loblolly pine. Forest Science. 16:219-221.

- DOMÍNGUEZ, J.A. 1998. El polen: primavera en el viento. Boreas natural. Desert museum. Arizona–Sonora. [En Línea]. (Consultado: Agosto 19, 2004).
[www.desert.net/htbin/pop.pl?p=http/desert.net/designs]
- , 2000. El polen: primavera en el viento. Boreas natural. Fundación Boreas. 1 p.
- DORMAN, K.W. 1976. The genetics and breeding of southern pines. Agriculture Handbook No. 471. USDA. Forest Service. 100 p.
- and BARBER, J.C. 1956. Time of flowering and seed ripening in southern pines. Southeastern For. Exp. Sta. Pap. No. 72. 100 p.
- DUMONT–BÉBOUX, N. & VON ADERKAS, P. 1997. *In Vitro* pollen tube growth in Douglas Fir. Can. J. For. Res. 27:674–678.
- DVORAK, W.J. y DONAHUE J.K. 1996. Reseña de investigaciones de la cooperativa. CAMPORE 1980–1992. Traduc. Meneses, J. Departamento Forestal, Colegio de Recursos Forestales, Universidad Estatal de Carolina del Norte. 94 p.
- EARLE, C. 2004. Gymnosperm. [En Línea]. Última versión: Febrero 4, 2004. (Consultado: Junio 14, 2004). [www.conifers.org/pi/pin/index.html]
- EDWARDSON, J.R. and CORBETT, M.R. 1961. Asexual transmission of cytoplasmic male sterility. Proc. Nat. Acad. Sci. (USA). 47:339-396.
- EGUILUZ, P.T. 1977. Los pinos del mundo. Publicaciones especiales. Departamento de Bosques. Escuela Nacional de Agricultura. Chapingo, México. 1:74.
- , 1978. Ensayo de integración de los conocimientos sobre el género *Pinus* en México. Tesis Profesional de Licenciatura. Departamento de Bosques. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México. 571 p.

- . 1982. Clima y distribución del género *Pinus* en México. Ciencia Forestal. México. 38(7):38-45.
- . 1985. Reunión Nacional sobre Plantaciones Forestales. INIF. México. 48 p.
- . 1988. Distribución natural de los pinos en México. Centro de Genética Forestal A.C. Nota Técnica. Chapingo, México. 1(2):6.
- ENCARTA. 2003. Biblioteca de consulta Encarta. Enciclopedia Microsoft Encarta. Centro de mapas. Atlas dinámico.
- ENNOS, R.A. 1994. Estimating the relative rates of pollen and seed migration among plant populations. *Heredity*. 72:250-259.
- ERDTMAN, G. 1966. Pollen morphology and plant taxonomy. Angiosperms. Hafner Publishing Company. Nueva York. 553 p.
- ESPARZA, H. 1990. Viabilidad de las semillas. SARH. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. Campo Agrícola Experimental de la Laguna, Matamoros. Coach., México. 15 p.
- ESPEJO, J.E.; ENGLAND, N.; ROJAS, P. y GRIFFIN, A.R. 1993. Resultados de primeras temporadas de hibridación en *Eucalyptus* sp. Los Eucaliptos en el Desarrollo Forestal de Chile. Pucón, Chile. pp 51-60.
- FECHNER, G.H. 1978. The biology of flowering and fertilization. In: Proceedings flowering and seed development in trees: a symposium. Mississippi State University. 5 p.
- FIRMAGE, D.H. and DAFNI, A. 2001. Field tests for pollen viability; a comparative approach. *ISHS Acta Horticulturae*. 561:87-94. (Consultado: Mayo 15, 2003).
[http://www.actahort.org/books/561/561_13.htm]

- FOWELLS, H.A. 1965. Silvics of forest trees of the United States. U.S. Departamento de Agricultura. Agric., Handbook. 271 p.
- FRANCO, M.A. y DIRZO, R. 1978. Análisis del crecimiento diametral de *Pinus hartwegii* Lindl. en Zoquiapan, estado de México. VII Congreso Mexicano de Botánica. México. 1 p.
- ; SUZÁN, H.L. y SARUKHÁN, J. 1984. Efecto de algunas variables bióticas sobre los patrones de crecimiento de *Pinus hartwegii* Lindl. IX Congreso Mexicano de Botánica. México. 1 p.
- FRANKIS, M.P. 1999. Material contributed for this description. Clasificación del género *Pinus* por Frankis. Jesmond Park West Newcastle Upon Tyne, NE7, 7Bu. United Kingdom. Editada esta página por M. Frankis, Enero 30, 1999. [En Línea]. (Consultado: Julio 14, 2004).
[<http://www.home.informaniak.ch/arboretum/frankis.htm>]
[<http://botany.about.com/science/botany/gi/dynamic/offside.htm?site=http://home.earthlink.net/earlecj.htm>].
- GALICIA. 2004. *Pinus*. Información botánica. Red de Investigación Aerobiológica de Galicia. Flora alergógena 1 p.
- GARCÍA, E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Geografía. México. 198 p.
- GARCÍA, L.; HERNÁNDEZ, M.; GUTIÉRREZ, A. and MESA, S. 1995. A bioassay optimization for evaluating cell viability of *in Vitro* rice plants (*Oryza sativa* L.) using 2, 3, 5, Tripheniltetrazolium. Cultivos Tropicales. 16(2):45-47.

- GEOS. 2004. Quaternary palynology and plant macrofossils (2-4) II. Theory and techniques of identification and interpretation of pollen, spores, seeds, leaves, and wood of plants from sediment of lakes, marshes, caves, and archeological sites. P, Ecol. 472. (Identical with Anth. 581). pp. 481-581. [En Línea]. (Consultado: Junio 2, 2004).
[<http://www.palynology.andrelatedclassesattheUofAz/quaternarypalynologyandplantmacrofossils/palynologyseminary/GEOS.481/581.html>]
- GÉREZ, F.P. 1982. Historia del uso del suelo en la zona semiárida. Poblano–Veracruzana. Tesis UNAM. México, D.F. 99 p.
- GOLDAMMER, J.G. 1993. Fire management en: L. Pancel, Tropical Forestry Handbook. Springer–Verlag, Berlín. 2:1221–1268.
- GÓMEZ-POMPA. 1982. Ecología de la vegetación del estado de Veracruz. Instituto de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Editorial Continental, México. 91 p.
- GONZÁLEZ, M.E. 1992. Estudio de la fertilidad del polen en especies de papa. Cultivos tropicales. 13(1):70-73.
- ; ESTÉVEZ, A. y GARCÍA, D. 1995a. Métodos para la determinación de la fertilidad del polen y su relación con los resultados de las polinizaciones. Cultivos tropicales. 16(2):84–88.
- ; ----- y GARCÍA, D. 1995b. Métodos para la determinación de la fertilidad del polen y su relación con los resultados de las polinizaciones. Cultivos tropicales. 16(2):84-88.
- ; -----; RODRÍGUEZ, T. y ÁLVAREZ, M. 1992. Porcentaje de fertilidad del polen en especies y variedades de la papa. Cultivos tropicales. 12(1):5–7.
- ; -----; VERDE, G. 1999a. Métodos para la determinación de la calidad del polen en especies de papa (*Solanum* sp.). Ingeniero Agrónomo. México. 3 p.

- ; -----; -----; MORÉ, O.; CASTILLO, J. 1999b. Métodos para la determinación de la calidad del polen en especies de papa (*Solanum* sp.). Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). pp 1–4.
- GRIFFIN, A.R.; CHING, K.K.; JOHNSON, K.W.; HAND, F.C. y BURGESS, I.P. 1982. Processing *Eucalyptus* pollen for use in controlled pollination. *Silvae Genetica*. 31(5-6):198-203.
- and LINDGREEN, D. 1985. Effect of inbreeding on production of filled seed in *Pinus radiata* experimental results and a model of gene action. *Theor. Appl. Genet.* 71:334–343.
- GÜEMES, J. 2001. La sexualidad en las plantas. Jardín Botánico, Universidad de Valencia. España. 5 p. [En Línea]. (Consultado: Julio 27, 2004).
[http://www.uv.es/metode/anuario2001/87_2001.html]
- GUEVARA, S. 1999. Aspectos medioambientales y de diversidad biológica en México. Cuadernos de Biodiversidad. España. 2:2-5.
- GUSTAFSSON, A. y MERGEN, F. 2002. Algunos principios sobre genética y citología arbórea. Reunión FAO/IUFRO sobre Genética Forestal. 3 p.
- HAGMAN, M. and MIKKOLA, L. 1963. Observations on cross, self, and interspecific pollination in *Pinus peuce* Griseb. *Silvae Genetica*. 12:73-79.
- HALLIER, H. 1893. Versuch einer natürlichen gliederung der Convolvulaceen auf morphologischer und anatomischer grundlage. *Engler. Bot. Jahrb.* 16:453-591.
- HAMMER, O.; HARPER, D.A.T. y RYAN, P.D. 2001. PAST. Paquete de programas de estadística paleontológica para enseñanza y análisis de datos. Facultad de Biológicas, Universidad de Valencia, España. . [En Línea]. (Consultado: Julio 20, 2004).
[http://www.palaeo-electronica.org/2001_1/past/spain.html]

- HAMRICK, J.L.; GODT, M.J. and SHERMAN-BROYLES, S.L. 1995. Gene flow among plant populations: evidence from genetic markers. In: Hoch, P.C., Stephenson, A.G. (eds) Experimental and molecular approaches to plant biosystematics. Missouri Botanical Garden Press. St. Louis. pp. 215-232.
- HAUSER, E.J.P. y MORRISON, J.H. 1964. The cytochemical reduction of nitro tetrazolium as an index of pollen viability. *Am. J. Bot.* 51:748-752.
- HEILPRIN, A. 1982. The temperate and alpine floras of the giant volcanoes of México. *AMER. Phil. Soc. Proc.* 30:4-22.
- HERNÁNDEZ, D.J.C. 1988. Notas básicas sobre el mejoramiento genético forestal. *Rev. Ciencia Forestal.* 64(13):30-47.
- HERNÁNDEZ, H. y HONORIO, M. 1985. Variación natural de *Pinus hartwegii* Lindl., dimensiones transversales de las traqueidas en un transecto altitudinal de Zoquiapan. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo. División de Ciencias Forestales. Chapingo, México. 44 y 59 pp.
- HERNÁNDEZ, L.A.; MALDONADO, H.A.M.; VALLADARES, P.C.; MIRANDA, M.J.L.; VELÁZQUEZ, A.D.L. y RODRÍGUEZ, F.D.M. 2000. Enciclopedia de los municipios de México. Estado de Veracruz. Centro Nacional de Desarrollo Municipal. Gobierno del Estado de Veracruz. 1 p.
- HERNÁNDEZ, T.T.; COX, R.M.; MALCOLM, J.; BAUER, M.L.I.; VARGAS, H.J.; VELÁSQUEZ, M.A. y ALVARADO, R.D. 2001. Impacto del ozono sobre el polen de *Pinus hartwegii* Lindl. *Rev. Ciencia Forestal en México.* 26(89):5-18.
- HERRERO-EGAÑA, M. y ÁLVAREZ-LAVIADA, M. 1935. El poder germinativo del polen de las plantas cítricas. *Inst. Invest. (Madrid). Bol.* 1:63-79.

- HEUSSER, C. 1971. Pollen and spores of Chile. Modern types of the Pteridophyta, Gymnospermae and Angiospermae. The University of Arizona Press. Tucson, Arizona, USA. 167 p.
- HILL, S.J.; STEPHENSON, D.W. and TAYLOR, B.K. 1985. Almond pollination studies: pollen production and viability, flower emergence and cross-pollination test. *Aust. J. Exp. Agric.* 25, 697–704.
- HO, R.H. and SZIKLAI. 1972. Germination of Douglas–Fir Pollen. *Silv. Genet.* 21, 48–51.
- HUAMAN, Z. 1995. Técnicas citológicas para determinar el número cromosómico y la fertilidad de las papas. Guía de investigación. CIP Circular. 10:30.
- HUANG, T.C. 1972. Pollen flora of Taiwan. National Taiwan University. Botany Department Press. 276 p.
- HUSBAND, B.C. and SCHEMSKE, D.W. 1996. Evolution of the magnitude and timing of inbreeding depression implants. *Evolution.* 50:111–119.
- IBARRA, M.E. 2004. No todos los granos de polen son iguales. Instituto de Investigaciones Antropológicas. UNAM. 1 p. [En Línea]. (Consultado: Julio 27, 2004).
[<http://www.morgan.iaa.unam.mx/usr/humanidades/252/COLUMNAS/ibarra.html>]
- IGLESIAS, A.L.; ALBA, L.J. y ENRÍQUEZ, J.L. 1999a. Estrategias para la conservación de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. en la región del Perote, Veracruz. *Revista Monte Bravo.* (España). 4 y 5:20-22.
- ; CRUZ, H. y HERNÁNDEZ, J. 2002. Estudio de polimorfismo tisular en población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz. *Foresta Veracruzana.* Universidad Veracruzana. 4(1):53-57.

- ; GARCÍA, A.J.; CASAS, J.L. 1999b. Estudio morfométrico y de viabilidad del polen de tres especies de pinos de la región del Cofre de Perote, Veracruz. *Foresta Veracruzana*. Universidad Veracruzana. 1(2):1-5.
- ; MORA, I.; OCAMPO, V. y HERNÁNDEZ, J. 2001. Estudio de la viabilidad y variabilidad morfométrica en semillas de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. de la Región del Cofre de Perote, Veracruz. En: Resúmenes. V Congreso Mexicano de Recursos Forestales. Noviembre del 7 al 9, 2001. Guadalajara, Jalisco. pp 109–110.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática). 2004. [En Línea]. (Consultado: Junio 14, 2004). [<http://www.google.com/inegi>] [http://mapserver.inegi.gob.mx/geografia/espanol/datosgeogra/basicos/hidrologia/rios/principales_rios.cfm?c=521]
- INIF/FAO. 1967. Seminario y viaje de estudios de coníferas latinoamericanas. Pub. Esp. México. 1:20.
- INVESTIGACIONES GEOGRÁFICAS. 1998. Boletín del Instituto de Geografía. México. 36:9. [En Línea]. (Consultado: Septiembre 25, 2000). [<http://www.google/cofredeperote/investigacionesgeograficas.com.mx>] [file://A:/bol36_98.html].
- IPCS y Comisión de las Comunidades Europeas. 1994. [En Línea]. (Consultado: Julio 17, 2004). [<http://www.mtas.es/Inst./ipcnsnpn/nspn0770.html>].
- JACKSON, D.I. and SWEET, G.B. 1972. Flower initiation in temperate woody plants. New Zealand Forest Service, Reprint. 58:100.
- JETT, J.B.; BRAMLETT, D.L.; WEBBER, J.E. and ERIKSSON, U. 1993. Pollen collection storage and testing. In: Bramlett, D.L.; Askew, G.R.; Blush, T.D.; Bridgwater, F.E.; Jett, J.B. (eds). *Advances in pollen management*. Agricultura Handbook 698. U.S. Department of Agricultura. Forest Service. Washington, D.C. 5:41–46.

- JIMÉNEZ, J.; AGUIRRE, O.; NIEMBRO, M.; NAVAR, J. y DOMÍNGUEZ, P.A. 1994. Determinación de la forma externa de *Pinus hartwegii* Lindl. en el Noreste de México. Investigación Agraria. CIT-INIA. España. 3:2.
- KAMIENSKA, A. and PHARIS, R.P. 1975. Endogenous gibberelins of pine pollen. II. Changes during germination of *Pinus attenuata*, *Pinus coulteri* and *Pinus ponderosa*. Plant Physiology. 56:655-659.
- KARIEVA, P. 1987. Habitat fragmentacion and the stability of predator-prey interactions. Nature. 326:388-390.
- KASTEN, F.H. 1981. Methods for fluorescent microscopy. In: staining procedures. G. Clark, Ed. Baltimore. The Williams & Wilkins Company. pp 39-103.
- KATHERINE, S.W. 1981. Botánica. Principios y problemas. Las gimnospermas. 25:498-501.
- KEIDING, H. 1995. La conservación genética y el mejoramiento genético forestal. En: Mejoramiento Forestal y Conservación de Recursos Genéticos Forestales. Serie Técnica. Manual Técnico. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 2(14):85-108.
- y GRAUDAL, L. 1995. Introducción a la conservación de los recursos genéticos forestales. En: Mejoramiento Forestal y Conservación de Recursos Genéticos Forestales. Serie técnica. Manual técnico. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 2(14):69-83.
- KIMMING. 1996. Ecology and the Ecosystem Concept. Ecosystem change: a key attribute. 3(2):30.
- KIOKO, J.; ALBRECHT, J. and UNCOVSKY, S. 1993. Seed collection and handling. In J. Albrecht (ed.), Tree seed handbook of Kenya. GTZ Forestry Seed Centre, Muguga, Kenya. German Development Cooperation, Kenya Forestry Seed Centre, Nairobi, Kenya. pp. 30-54.

- KRIEBEL, H.B. 1970. Embryo developmental heredity barriers in the white pines. In: Sexual reproduction of forest trees. Finnish For. Res. Inst., Helsinki. 1:100.
- KRUGMAN, S.L. 1970. Incompatibility and invariability systems among some western north american pines. In: Sexual reproduction of forest trees. Finnish For. Res. Inst. Helsinki. 2:100.
- and JENKINSON, J.L. 1974. *Pinus* L. In: Seeds fo woody plants in United States. Handbook. USDA. Forest Service. 450:100.
- and KOEBER, T.W. 1969. Effect of cone feeding by *Leptoglossus occidentalis* on ponderosa pine seed development. Forest Science. 15:104-111.
- ; WILLIAM, I.; STEIN and SCHMITT, D.M. 1974. Seed biology. In: Seeds of woody plants in United States. Handbook. USDA. Forest Service. 450:100.
- KUANG, H.; RICHARDSON, T.E.; CARSON, S.D. and BONGARTEN, B.C. 1998. An allele responsible for seedling death in *Pinus radiata* D. Don. Theor. Appl. Genet. 96:640-644.
- KYRYCHENKO, O.I. and DESHKO, L.O. 1999. Study of the scots pine pollen in provenance tests. Forestry and forest melioration. Kharkiv. Original title: Vyvchennya pylku sosny zvychaynoyi u geografichnykh kulturakh. 96:47-51.
- LABOURDETTE, T. 1985. Estudio comparativo de diferentes métodos de determinación de la viabilidad del grano de polen en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Trabajo de Curso/Tutor. Gladys Verde. ISCAH. 5 p.
- LARIOS, S.P. 1979. Índice de calidad de las pulpas de dos coníferas. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo. Departamento de Bosques, Chapingo, México. 68 p.
- LAVIA, G.L.; FERNÁNDEZ, A.; SIMPSON, C. y SEIJO, G. 2000. Estudio meiótico y viabilidad del pollen del género *Arachis*. 4 p.

- LEADEM, C.L. 1984. Quick tests for tree seed viability. Ministry of Forest. Land Management. 18:45.
- LEAL, F. 2003. Germination del polen en *Citrus* y *Poncirus*. Agronomía Tropical. Fac. de Agronomía. Maracay, Venezuela. 20(5):323-329.
- LEDIG, F.Th. 1997. Conservación y manejo de recursos genéticos forestales. En: J.J. Vargas, B. Bermejo y F. Th. Ledig (eds). Manejo de Recursos Genéticos Forestales. pp: 1-21.
- . 1998. Genetic variation in *Pinus*. In: Richardson, D.M. (ed.). Ecology and Biogeography of *Pinus*. Cambridge University Press. U.S. pp. 251-280.
- ; CAPÓ-ARTEAGA, M.A.; HODGSKISS, P.; SBAY, H.; FLORES-LÓPEZ, C.; CONKLE, T. and BERMEJO-VELÁZQUEZ, B. 2001. Genetic diversity and the mating system of a rare mexican piñon, *Pinus pinceana* and a comparison with *Pinus maximartinezii* (Pinaceae). American Journal of Botany. 88:1977-1987.
- LESICA, P. and ALLENDORF, F.W. 1994. When are peripheral populations valuable for conservation?. Conserv. Biol. 9:753-760.
- LEWANDOWSKI, A. and BURCZYK, J. 2000. Mating system and genetic diversity in natural populations of European larch (*Larix deciduas*) and stone pine (*Pinus cembra*) located at higher elevations. Silvae Genetica. 49(3):158-161.
- LEWIS, W.H.; VINAY, P. and ZENGER, V.E. 1983. Airborne and allergenic pollen of North America. Baltimore: Johns Hopkins University Press. 5 p.
- LINDGREN, D.; PAULE, L.; XIHUAN, S.H.; YAZDANI, R.; SEGERSTRÖM, U.; WALLIN, J.E. and LEJDEBRO, M.L. 1995. Can viable pollen carry Scots pines genes over long distances?. Grana. 34:64-69.

- LITTLE, E.L.Jr. 1967. Variación y evolución en los pinos mexicanos. En seminario y viaje de estudios de coníferas Latinoamericanas. INIF/FAO. Pub. Esp. México. 1:1.
- LITTLE and CRITCHFIELD, B.W. 1971. Geographic distribution of the pines of the World. Subdivisions of the genus *Pinus* (Pines). Pub. Washington, D.C. 1144:17 y 51.
- LOOCK, E.E.M. 1950. The pines of Mexico and British Honduras. Dept. Agr. and for. Bull. South Africa. 26:100.
- 1977. The pines of Mexico and British Honduras. 35(2):12–133, 175–179.
- LÓPEZ, J.; JASSO, J.; VARGAS, J. y AYALA, C. 1993. Variación de características morfológicas en conos y semillas de *Pinus gregii*. Agrociencia. Serie Recursos Naturales Renovables. Montecillo, México. 1(3):81-95.
- LOTT, E. 1985. Listados florísticos de México III. La Estación de Biología de Chamela, Jalisco. Instituto de Biología, UNAM. México, D.F. 47 p.
- LUDLOW-WIECHERS, B. y AYALA-NIETO, M. 1983. Catálogo palinológico para la Flora de Veracruz. No. 15. Familia Taxodiaceae. Biótica. 8(3):407-414.
- y PALACIOS-CHÁVEZ, R. 1985. Catálogo palinológico para la Flora de Veracruz. No. 24. Familia Boraginaceae. Género *Cynoglossum*. Biótica. 10(3):277-280.
- y ROLDÁN-RAMOS, L. 1984. Catálogo palinológico para la Flora de Veracruz. No. 20. Familia Martyniaceae. Biótica. 9(4):407-414.
- LYCOS. 2004. Las semillas. [En línea] (Consultado: Julio 27, 2004). [<http://usuarios.lycos.es/fotocom/semilla.html>].

- LYONS, L.A. 1956. The seed production capacity and efficiency of red pine cones (*Pinus resinosa* Ait.). Canadian Journal of Botany. 34:27-36.
- MANCERAS, V.O. 1956. Contribución al conocimiento de la anatomía microscópica de algunas especies de pinos mexicanos. Instituto de Investigación de México. México. 80 p.
- MARQUE, E.J. 2000. Variabilidad poblacional. 12 p. [En línea] (Consultado: Febrero 25, 2001). [<http://prof.usb.ve/ejmarque/cursos/ea2181/core/varpob05.html>].
- MARTÍNEZ, F.N. y DE LA GARZA, L.L.P. 1994. Efecto del contenido de humedad sobre la viabilidad del polen de tres especies especies de coníferas. Rev. Ciencia Forestal en México. 19(75):63-76.
- MARTÍNEZ, M. 1948. Los pinos mexicanos. Editorial Botas. México. 361 p.
- , 1953. Las Pináceas mexicanas. Secretaría de Agricultura y Ganadería. México. 5 p.
- , 1978. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Fondo de Cultura Económica. México. 728 p.
- MATOS, J.A. 1995. Plant genome. III conference. Town & country conference center, San Diego. Department of Biology. California State University. 5 p. (Consultado: Mayo 25, 2002). [<http://www.geocities.com/thetropics/cove/5807/flora.htm>]
- MAZHULA, O.S. 1999. Dynamic of sexualisation and pollen productivity of scots pine clones. Original title: Dynamika seksualizatsii ta pylkova produktyvnist' kloniv sosny zvychainoyi. Forestry and forest melioration. 96:43-46.
- McWILLIAM, J.R. 1959. Effect of temperature ion pollen germination of *Pinus* and its bearing on controlled pollination. Forest Science. 5:10-17.

- . 1960. Pollen germination of *Pinus* as affected by the environment. *Forest Science*. 6:26-39.
- MEDELLÍN, L. 1978. La desertificación en México. SEP. UASLP. Instituto de Investigación de Zonas Desérticas. 50 p.
- MENCHACA, G.R. 2000. Variación de conos y semillas de *Pinus oaxacana* Mirov en tres sitios de la zona del Cofre de Perote, Veracruz. Tesis de Maestría en Ecología Forestal. Xalapa, Veracruz. 6-8, 15.
- MÉNDEZ-GUZMÁN, M.P.; MENDIZÁBAL-HERNÁNDEZ, L. y ALBA-LANDA, J. 2001. Variación de semillas de *Pinus hartwegii* Lindl. de diferentes poblaciones. *Foresta Veracruzana*. Instituto de Genética Forestal. UV. Xalapa, Veracruz, México. 3(2):19-24.
- MERGEN, F.; STAIRS, G.R. and SNYDER, E.B. 1963. Microsporogénesis in *Pinus echinata* and *Pinus taeda*. *Silvae Genetica*. 12:127-129.
- MERINO. 1992. Contrastes en el Sector Forestal Canadá, Estados Unidos y México. *El Cotidiano*. 48, 67-73.
- MERLO, E.; DELANZY, P. y BONNET-MASIMBERT, M. 2003. Estudio de la viabilidad de polen de *Pseudotsuga menziesii*. Obtención de tubos polínicos *in Vitro*. Francia. 4 p.
- MICROSOFT EXCEL, 2000. Excel for window. (Computer program manual). USA.
- MIROV, N.T. 1954. Composición de las trementinas de los pinos mexicanos. *Unasyuva*. 8:4. [En Línea]. (Consultado: Mayo 8, 2003).
[<http://www.fao.org/docrep/x5373S/x5373s06.htm> l]
- . 1956. Photoperiod and flowering of pines. *Forest Science*. 2:328-332.
- . 1957. Carta personal de 25 de noviembre de 1957.

- . 1967. The genus *Pinus*. The Ronald Press. New York. Berkeley, California. 602 p.
- . 1969. The genus *Pinus*. Ronald Press Co. New York, US. 413 p.
- MONTALTI, P. and SELLI, R. 1984. Osservazioni sulla fertilita del ciliegio acido. Riv. Frutt. Ortofl. 46, 57–62.
- MOODY, W.R. and JETT, J.B. 1990. Effects of pollen viability and vigor on seed production in loblolly pine. South. Jour. Appl. For. 14(1):33–38.
- MOORE, P.D. and WEBB, J.A. 1978. An illustrated guide to pollen analysis. Ed. Hodder and Stoughton London. 133 p.
- MORA, U.J.; MEXZÓN, R. y ARROYO, C. 1980. Técnica de polinización controlada para Pejibaye. Universidad de Costa Rica. 3 p.
- MULUGETA, D.; MAXWELL, B.; FAY, P.K. and DYERW, E. 1994. Kochia (*Kochia scoparia*) Pollen dispersion, viability and germination. Weed science. 42:548-552.
- MURRAY, L.W. 1997. Anatomy of a pollen grain. 4(2). [En Línea]. (Consultado: Septiembre 18, 2003). [<http://www.multidata.com/vol4Numb21997.html>]
- MUSALEM, M.A.; VELÁZQUEZ, M.H. y GONZÁLEZ, G.M.J. 1991. Repoblación natural de bosques templeado-fríos en la Región Central de México. Revista Agrociencia. Serie Recursos Naturales Renovables. Septiembre-diciembre de 1991. 1(3):55-75.
- NARAVE, F.H. 1985. La vegetación del Cofre de Perote, Veracruz, México. Biótica. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Xalapa, Veracruz, México. 10(1):35–64.

- y TAYLOR, K. 1997. Pinacea. Flora de Veracruz. Fascículo 98. Instituto de Ecología. A.C. Xalapa, Veracruz, México y University of California, Riverside. C.A. pp 21-25.
- NASH, D.L. y MORENO, N.P. 1981. Boraginaceae. In: Flora de Veracruz. Fascículo 18. Gómez-Pompa, A. y Sosa, V. (eds). Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Xalapa, Veracruz, México. 149 p.
- NASON, J.D.; PRESTON, R.A. and HAMRICK, J.L. 1997. Dispersal and the dynamics of genetic structure in fragmented tropical tree populations. 20:304–320.
- NIEMBRO-ROCAS, A. 1986. Mecanismo de reproducción sexual en pinos. Editorial Limusa. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Bosques. México. 130 p.
- NORTON, J.D. 1966. Testing of plum pollen viability with tetrazolium salts. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 89, 132–134.
- NOWICK, J.W. and RIDGWAY, J.E. 1973. Pollen studies in the genus *Cordia* (Boraginaceae). Amer. Jour. Bot. 60(6):484-591.
- NURUL, M.I.F. 1995. A karyotype of loblolly pine. Plant genome. Texas University. College Station. Estados Unidos. 100 p.
- OJEDA, L.; LUDLOW-WIECHERS, B. y ORELLANA, R. 1984. Palinología de la familia Agavaceae para la Península de Yucatán. Biótica. 9(4):379-398.
- ORDÓÑEZ, E. 1904. El Nahucampatépetl o Cofre de Perote. Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana. México. pp 151–169.
- OROPEZA, R.J. 1984. Estudio de almacenamiento de semillas de *Pinus hartwegii* Lindl. bajo condiciones controladas. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. 56 p.

- ORTEGA, S.V.J.H. 1962. Propiedades físicas y mecánicas de la madera de *Abies religiosa* Schl. et. Cham. y *Pinus hartwegii* Lindl. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Agricultura. Departamento de Bosques. Chapingo, México. 85 p.
- OSTAPENKO, V.I. 1958. An evaluation of different methods of determining pollen viability. *Bjul nauc-tehn. Inform. Centr. Genet. Labor. Im. I.V. Micurina.* 2:3841 (Hors. Abst. 28:2183).
- OUÉDRAOGO, A.S. 2001. La conservación y utilización de los recursos genéticos forestales. 5 p. [En Línea]. (Consultado: Mayo 21, 2002).
[http://www.fao.org/montes/foda/wforcong/publ/PDF/V2s_T8.html]
- OWENS, J.N. 1993. Pollination biology. In: Bramlett, D.L., Askew, G.R., Blush, T.D., Bridgwater, F.E. and Jett, J.B. (eds). *Advances in pollen management.* Agricultura Handbook 698. U.S. Department of Agricultura. Forest Service. Washington, D.C. 1:113.
- PALACIOS-CHÁVEZ, R. 1968. Morfología de los granos de polen de árboles del estado de Morelos. *Anales de la escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Depto. de Botánica ENCB IPN. México, D.F.* 16:1-4. [En Línea]. (Consultado: Julio 27, 2004).
[http://www.encb.ipn.mx/inicio/publicaciones_electronicas/anales/Volumen16/resumen218.html]
- ; ARREGUIN-SÁNCHEZ, M.L.; QUIROZ-GARCÍA, D.L. y RAMOS-ZAMORA, D. 1989. Flora polínica de Chamela, Jalisco (familias Achatocarpaceae, Basellaceae, Caricaceae, Chrysobalanaceae, Julianiaceae, Moringaceae, Opiliaceae, Plumbaginaceae y Simaroubaceae). *Acta Botánica Mexicana.* 7:21-31.
- PALACIOS-CHÁVEZ, R.; ARREGUIN-SÁNCHEZ, M.L.; QUIROZ-GARCÍA, D.L. 1996. Morfología de los granos de polen de las familias Acanthaceae, Vitaceae y Violaceae del Valle de México. *Acta Botanica Mexicana.* 34:1-13.

- y QUIROZ-GARCÍA, D.L. 1985a. Catálogo palinológico para la Flora de Veracruz. Familia Boraginaceae. Género *Cordia*. No. 32. Biótica. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Xalapa, Veracruz, México. 10(1):71-113.
- , 1985b. Catálogo palinológico para la Flora de Veracruz. No. 26. Familia Boraginaceae. Género *Hackelia*. Biótica. 10(3):289-292.
- y ARREGUÍN-SÁNCHEZ, M.L. 1999. Morfología de los granos de polen de la familia Cistaceae de México. Acta Botánica Mexicana. 49:1-9.
- PARÉ, L. y ALATORRE, G. 1993. La destrucción ambiental de l'état de Veracruz, Mexique. Notas: Tomado de la relatoría de la mesa "rural" en el Foro de la Sociedad Civil para el Medio Ambiental y el Desarrollo en Veracruz. Xalapa, Veracruz. Julio 25, 1992. 1 p. [En Línea]. (Consultado: Julio 27, 2004).
[<http://www.bede-asso.org/interface/encyclo/fiches/1993dph.html>]
- PARFITT, D.E. and GANESHAN, S. 1989. Comparison of procedures for estimating viability of *Prunus* pollen. Hort. Sci. 24, 354-256.
- PATIÑO, V.F. 1973. Floración, fructificación y recolección de conos y aspectos sobre semillas de pinos mexicanos. Bosques y fauna, Jul. Ago. 10(4):20-30.
- , 1975. Producción de semillas forestales. Bosques y Fauna. 12:41-45.
- PEDRAZA, P.R.A. 1983. Estudio palinológico de la familia Convolvulaceae en México. Géneros *Ipomoea* y *Turbina*. Biótica. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Xalapa, Veracruz, México. 8(4):387-411.

- . 1985. Estudio palinológico de la familia Convolvulaceae de México. II. Biótica. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Xalapa, Veracruz, México. 10(2):175-197.
- PEÑA, B.V. 1988. Comunicación personal en 1997 por Narave, 1985.
- PÉREZ, O.C.P. y OLVERA, C.L.P. 1990. La madera y su uso. Características anatómicas de la madera de catorce especies de coníferas. Boletín técnico. Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, Veracruz, México. 25:2.
- PÉREZ, R.P. 1984. Variación morfológica en acículas y conos de poblaciones naturales de *Pinus hartwegii* Lindl. del Eje Neovolcánico. Tesis. Universidad Nacional Autónoma de México. 103 p.
- PERRY, J.P. 1991. The pines of Mexico and Central America. Timber press. Portland, Oregon. USA. 231 p.
- PICKERT, M. 1988. *In Vitro* germination and storage of trinucleate *Arabidopsis thaliana* L. pollen grains of *Arabidopsis*. Information Center. 26:3942. [En Línea]. (Consultado: Octubre 28, 1998).
[<http://genomewww.stanford.edu/Arabidopsis/ais/1988/picke1988aadeg.html>]
- PLA DALMAU, J.M. 1961. Pollen. Talleres gráficos D.C.P. Gerona, España. 510 p.
- PLANTHOGAR. 2003. Las coníferas de México. [En Línea]. (Consultado: Enero 16, 2003).
[<http://www.planthogar.net.mx.html>]
- PLYM, F.C. 1953. Kottens och fröets utbildning efter själv- och krosbefroktning hos tall (*Pinus silvestris*). [The development of cones and seeds in the case of self and cross-pollination in *Pinus silvestris* L.]. Medd statens skogsforskn. Inst. Stockh. 43(10):1-42.

- PORTA, N. and ROSELLI, G. 1991. Relationship between pollen germination “*in Vitro*” and flouorochromatic reaction in cherry clone F. (121). (*Phumus avium* L.) and some of its mutans. Journal of horticultural science. 66(2):171–175.
- PROCYMAF y SEMARNAP. 2003. Especies con usos no maderables en bosque de encino, pino y pino–encino en los estados de Chihuahua, Durango, Jalisco, Michoacán, Guerrero y Oaxaca. México. 2 p. [En Línea]. (Consultado: Mayo 8, 2003).
[<http://www.semarnat.gob.mx/pfnm/pinushartwegii.html>].
- PUIG, H. 1991. Vegetación de la Huasteca (México). Estudio fitogeográfico y ecológico. México. 356 p.
- QUESADA, M.; STONER, K.E.; ROSAS-GUERRERO, C.; PALACIOS-GUEVARA and LOBO, J.A. Effects of habitat disruption on the activity of nectarivorous bats (Chiroptera: Phyllostomidae) in a dry tropical forest: implications for the reproductive success of the neotropical tree *Ceiba grandiflora*. Oecología. Líneas de Investigación. 1 p.
- QUIROZ-GARCÍA, D.L. y ARREGUÍN, S.M.L. 2002. Morfología de los granos de polen de la familia Polemoniaceae del estado de Querétaro, México. Polibotánica. 14:57-62.
- y PALACIOS-CHÁVEZ, R. 1985a. Catálogo palinológico para la Flora de Veracruz. Familia Boraginaceae. Género *Borago*. No. 21. Biótica. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Xalapa, Veracruz, México. 10(1)67-69.
- , 1985b. Catálogo palinológico para la Flora de Veracruz. Familia Boraginaceae. Género *Cryptantha*. No. 23. Biótica. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Xalapa, Veracruz, México. 10(2):211-213.
- y ARREGUÍN-SÁNCHEZ, M.L. 1997. Morfología de los granos de polen de la familia Boraginaceae de la Estación de Biología Chamela, Jalisco, México. Polibotánica. México, D.F. 4:37-45.

- RANDHAWA, G.S.; NATH, N. and CHOUDHURY, S.S. 1961. Flowering pollination studies in citrus with special reference to lemon (*Citrus lemon* Burm) Indian J. Hort. 18:135-147.
- REHFELDT, G.E. 1999. Systematics and genetic structure of washoe pine: applications in conservation genetics. *Silvae genetica*. 48(3-4):167-172.
- REICHE, C. 1977. Flora excursoria en el valle central de México. Textos politécnicos. México. 24 p.
- REMLINGTON, D.L. and O'MALLEY, D.M. 2000. Whole genome characterization of embryonic state. Inbreeding depression in a selfed loblolly pine family. *Genetics*. 155(1):337-348.
- RESNIR, M.E. 1958. Fisiología y longevidad del polen en los citrus. *Rev. Invest. Agric. Buenos Aires*. 12:3111-343.
- REY, C.J.A. 1975. Estudio de suelos de la estación de enseñanza, investigación y servicios forestales de Zoquiapan. *Bol. Téc. del Departamento de Bosques. Universidad Autónoma de Chapingo. México*. 1(4):1-63.
- ROBERT, M.F. 1979. Ensayo sobre la evolución de los bosques de coníferas de la Sierra Madre Occidental. *Ciencia Forestal. México*. 4(21):3-16.
- ROMEY, E. 2004. CONABIO. Los pinos mexicanos. Récord mundial de biodiversidad. [En Línea]. (Última actualización: Febrero 12, 2004). (Consultado: Junio 14, 2004).
[http://www.conabio.gob.mx/institucion/conabio_español/doctos/pino.html]
[<http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/ise/fichas/doctos/introducción.html>]
- RZEDOWSKI, J. 1978. Vegetación de México. Editorial Limusa. México. 431 p.
- , 1981. Flora fanerogámica del valle de México. CECSA. México. 403 p.

- . 1983. Vegetación de México. Editorial Limusa. México. 3:283–284 y 432.
- ; VELA, G.L. y MADRIGAL, S.X. 1977. Algunas consideraciones acerca de la dinámica de los bosques de coníferas en México. *Ciencia Forestal. Revista del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales*. 5(2):15-35.
- SÁNCHEZ, M.N. y HUGUET, L. 2002. Las coníferas de México. México. 1 p.
- . 2003. Las coníferas de México. [En Línea]. (Consultado: Enero 16, 2003). [<http://www.fao.org/docrep/x53905/x5390s03.html>]
- SANTILLÁN, P.J. 1991. Silvicultura de las coníferas de la región central. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma de Chapingo. División de Ciencias Forestales. Chapingo, México. 305 p.
- SARUKHÁN, K. y FRANCO B.M. 1981. Un modelo de simulación de la productividad forestal de un bosque de pino (a simulation model of the forest productivity of a pine-tree forest). Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos–Subsecretaría Forestal y de la Fauna. Unidad de apoyo técnico. Serie Premio Nacional Forestal. México. 72 p.
- SEGURA, G. 1997. The state of Mexico’s forest resources. Management and conservation. Centro de Ecología. UNAM. México. (Consultado: Diciembre 8, 1998). [<http://www.semarnap.gob.mx/conaf/statfor.html>].
- SEMARNAT. 1999. Pinaceae. *Pinus hartwegii* Lindl. [En Línea]. (Consultado: Enero 16, 2003). [<http://www.semarnat.gob.mx/pfnm/PinusHartwegii.html>]
- . 2001. Incendios forestales y deforestación en México: una perspectiva analítica. 5 p. [En Línea]. (Consultado: Enero 16, 2003). [<http://www.semarnat.com.mx>]

SERMANAT e Instituto de Ecología. 2003. NORMA OFICIAL MEXICANA. NOM-059-ECOL-2001. Protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo. Instituto Nacional de Ecología. SEMARNAT. Segunda sección. Secretaría de medio ambiente y recursos naturales. Anexo informativo II. Segunda edición. Diario oficial. Última actualización: Mayo 20, 2003. [En Línea]. (Consultado: Junio 14, 2004).

[<http://www.ine.gob.mx/ueajei/norma59a.html>]

[http://www.ine.gob.mx/ueajei/plantas11_13.html]

SERVICIO METEOROLÓGICO NACIONAL. 1984. Normas climatológicas. Dirección General de Geografía y Meteorología. México. 799 p.

SHAW. 1909. The pines of Mexico. Arnold Arboretum. No. 1. Boston, USA. 1:1-29.

SINGH., R.L. 1993. Plant cytogenetic. Boca Raton CRC. 391 p.

SINGH, S.N. 1961. Longevity of peach pollen. A.R. Hort Res. Inst. Saharanpur. 3843 pp. (Hors. Abst. 33:429).

SINNOTT, E.W. y KATHERINE, S.W. 1977. Botánica, principios y problemas. Séptima impresión. C.E.C.S.A. (México). pp 498-499.

SMITH, W.H. 1981. Air pollution and forest: interactions between air contaminants and forest ecosystems. Springer-Verlag, New York, USA. 379 p.

SNEATH, P.A. and SOKAL, R.R. 1973. Numerical taxonomy. W.H. Freeman, San Francisco. 573 p.

SOFTWARE STATISTICA. 1998. STAT SOFT, Inc. Statistica for window. Versión 5. (Computer program manual). Statistica: user guide. 2325 East 13 th Street, Tulsa ok. 74104. USA.

- SOLÍS, M.A. 1994. Monografía de *Pinus hartwegii* Lindl. Tesis Profesional para obtener el Título de Ingeniero Forestal Universidad Autónoma de Chapingo. División Ciencias Forestales. Chapingo, México. 130 p.
- SOLÍS, R.L. 2002. Contribución al conocimiento de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. en el Pico de Orizaba, Veracruz, México. Tesis de Maestría en Ecología Forestal. Instituto de Genética Forestal. Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, México. 130 p.
- e IGLESIAS, A.L. 2001. Variación en la composición isoenzimática en la población de *Pinus hartwegii* Lindley del Pico de Orizaba, Veracruz. Cuadernos de Biodiversidad. CIBIO. Publicación cuatrimestral del Centro Iberoamericano de la Biodiversidad. Universidad de Alicante, España. pp. 4–7.
- SOLÓRZANO, I.F. 1987. Efecto de algunos factores ambientales en la germinación de semillas de *Pinus hartwegii* Lindl.; bajo condiciones controladas. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo. División de Ciencias Forestales. Chapingo, México. 81 p.
- SPRAGUE, J.; JETT, J.B. and ZOBEL, B. 1978. The management of southern pine seed orchards to increase seed production. In: Proc. Flowering and seed development in trees: A symposium Mississippi State University. 100 p.
- STACY, E.A.; HAMRICK, J.L.; NASON, J.D.; HUBBELL, S.P. and FOSTER, R.B. 1996. Pollen dispersal in low-density populations of three neotropical tree species. Amer. Nat. 148(2):275-298.
- STANDLEY, P.C. 1920-25. Trees and shrubs of Mexico. U.S. Natl. Herbarium. 100 p.
- STANLEY, G.R. and LINSKENS, H.F. 1974. Pollen Biology, Biochemistry and management. Springer-Verlag. New York. 307 p.

- STEINER, W. and HANS-ROLF, G. 1998. *In Vitro* pollen germination experiments in *Alnus glutinosa* and their relevance for mating system analysis. *Forest genetics*. 5(1):1998.
- STYLES, B.T. y HUGHES, C.E. 1988. Variabilidad de los pinos centroamericanos taxonomía y nomenclatura de los pinos y otras gimnospermas. Escuela Nacional de Ciencias Forestales. Corporación Hondureña de Desarrollo Forestal. CENIFA. Honduras. 20 p.
- SUBSECRETARÍA FORESTAL Y DE FAUNA SILVESTRE. SARH (INIFAP). 1998. Artículo tomado de la Memoria de la IV Reunión Nacional de Plantaciones Forestales. México. pp 1–25.
- SUSANO, H.R. 1976. Campo experimental forestal, San Juan Tetla, Puebla, *Ciencia Forestal*. 1(3):50–60.
- SWEET, G.B. 1975. Flowering and seed production. In: *Seed orchards*. R. Faulkner. Ed. For. Comm. Bull. 54:100.
- TIVO, F.Y. 2002. Contribución al conocimiento de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. con propósitos de conservación genética. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad Veracruzana. Peñuela, Veracruz, México. 100 p.
- TOLEDO, V.M. and ORDÓÑEZ, M.J. 1993. The biodiversity scenario of Mexico: a review of terrestrial habitats. In: T.P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot. y J. Fa. *Biological diversity of Mexico: origins and distribution*. Oxford University Press, New York. pp. 754-777.
- UGR. 2004. Pinos. 3 p. [En línea]. (Consultado: Julio 27, 2004).
[<http://www.ugr.es/~aerobio/pinos.html>]

- ULRIKSEN, R.P. 2003. Análisis vegetacional y palinológico de especies dominantes de la comuna de Litueche. VI Región. Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Departamento de Ciencias Vegetales y el Laboratorio de Botánica. Tesis para optar por el título de Ingeniero Agrónomo. Santiago, Chile. 82 p.
- UMA. 2004. Pinos. UMA. Biología vegetal. Aerobiología. Acta Botánica. Malacitana. 1 p.
- UMANITOBA. 2000. The life cycle of *Pinus*. Campbell 4 th ed. 563 p. [En línea]. (Consultado: Febrero 3, 2003).
[http://www.umanitoba.ca/faculties/science/biological_sciences/lab8/biolab8_3.html]
- VACHUN, Z. 1981. Etude de quelques proprietes morphologiques et physiologiques du pollen D'abricotier. Germination et croissance des tubes polliniques a basses temperatures. Acta Hort. 85, 387–417.
- VALDÉS, B.; DIEZ, M. J. y FERNÁNDEZ, I. 1987. Atlas polínico de Andalucía occidental. Instituto de Desarrollo Regional. Universidad de Sevilla. Excelentísima diputación de Cádiz. España. 43:1000.
- VARGAS, H.J.J.; JASSO, M.J. y BASILIO, B.V. 1994. El mejoramiento genético forestal como base para el establecimiento de plantaciones forestales. Artículo tomado de la Memoria de la IV Reunión Nacional de Plantaciones Forestales. SARH. INIFAP. México. 44 p. [En Línea]. (Consultado: Septiembre 25, 2000). [file://A:/articulos2.htm].
- VASIL, I.K. 1958. A criticism of Baipai and Lal's paper entitled storage of experiments with pollens of cultivated fruti trees and vegetables. Sci. and Cult. 24:233.
- VÁSQUEZ, A. y MORILLO, A. 1964. Uso de tetrazolium en la determinación del poder germinativo de la semilla de café. Centro de Investigaciones Agronómicas. Agronomía Tropical. Maracay, Venezuela. 14(1):25-33.

- VELÁSQUEZ, A. 1984. Estudio de algunos factores que influyen en la regeneración natural de *Pinus hartwegii* Lindl., en Zoquiapan, México. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Texcoco, México. pp. 109-112.
- VILELA, A.E. y ACOSTA, S. 1995. Anatomía foliar y morfología del polen de las variedades de *Drimys winteri* (Winteraceae). An. Esc. Nac. Cienc. Biol. México. 40:117-132.
- VILLAREAL, Q.J.A. 1993. Introducción a la botánica forestal. Editorial Trillas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México. 2:60-61.
- VISSER, T. and TILLEKERATRE, L. M. W. 1958. Observations on the germination and storage of tea pollen and seed. Tea Quart. 29:30-35.
- WEBER, W.R., MD. 1998. Pollen identification. Review article. Supported by a grant from Zeneca Pharmaceuticals. 80:141-148.
- WENGER, K.F. 1957. Annual variation in the seed crops of loblolly pine. Journal of Forestry. 55:567-569.
- WERNER, J.D. and CHANG, S. 1981. Stain testing viability in stored peach pollen. Hort. Sci. 16, 522-523.
- WESLEY, L.C. 2004. Meiosis. Cadisson Longman, Inc. 5 p.
- WILLIAMS, C.G. and SAVOLAIENEN, O. 1996. Inbreeding depression in conifers: implications for breeding strategy. For. Sci. 42:102-117.
- WILLIAN, R.; OLESEN, K. y BARNER, H. 1995. La variación natural como base del mejoramiento genético forestal. En: mejoramiento forestal y conservación de recursos genéticos forestales. Serie técnica. Manual técnico. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 1(14):1-17.

- WOCIOR, S. 1976. Studies on the biology of pollen produced by sour cherry flowers at different flowering dates. *Acta agrob.* 29, 69–84.
- WOLTERS, J.H.B. and MARTENS, M.J.M. 1987. Effects of air pollutants on pollen. *The Botanical Review.* 53:372-414.
- ZACHARIA, D.B. 1951. Flowering and fruit setting of Shamouti orange trees. *Pal. Jour. Bot. Reh. Series.* 8:84-94.
- ZAMUDIO, Á.J. y CASTRO, G. Ma. E. 2001. México. 3 p. [En Línea]. (Consultado: Febrero 3, 2003). [www.conabio.gob.mx/biodiversitas/pino.htm]
- ZOBEL, B. y FRANKLIN, C. 1957. Pines from Nuevo León, México. Editorial Madroño. 14:133–144.

ANEXO 1

Artículo publicado en Foresta Veracruzana. Revista semestral. Instituto de Genética Forestal, Universidad Veracruzana de Xalapa, Veracruz, México. Septiembre, 2003. Vol. 5 No. 2. pp 41-48.