



Clave de identificación taxonómica con caracteres anatómicos foliares para especies de *Pinus* L. en Hidalgo

Taxonomic identification key with leaf anatomical characters for *Pinus* L. species in Hidalgo

Cristhian Espinoza-Pelcastre¹, Sergio Hernández-León^{1*}, David S. Gernandt², Oscar Arce-Cervantes¹, Rodrigo Rodríguez-Laguna¹ y José González-Ávalos¹

Abstract

Twelve pine species naturally occur in the state of *Hidalgo*, of which, *Pinus pinceana* and *P. greggii* are listed as threatened. In this context it is necessary to generate information for *Pinus* species identification specially for immature individuals without seed cones. In this study we establish an identification key based on leaf anatomy for the identification of pine species occurring in the state of *Hidalgo*. Specimens from different localities were collected from which, permanent slides were prepared from transverse leaf sections and a character matrix was codified from leaf anatomy features and analyzed with UPGMA. The matrix was used to construct an identification key. The key allow for the identification of 10 out of the 12 species, including *Pinus greggii* a species under risk category. *Pinus cembroides* can only be differentiated from *P. pinceana* when it exhibits a semicircular shape in transverse section. External resin canals were only observed in *Pinus* subgenus *Strobus* and septal resin canals were only recorded for *P. oocarpa*. The number of resin canals may only be used as complementary for identification because of its high variation. UPGMA analysis generated two principal clusters, the first group included two interior clusters corresponding with subgenus *Strobus* species and subgenus *Pinus* species, the second principal cluster included only species from subgenus *Pinus*. This study contributes with a robust identification key for pine species at a local scale exclusively using secondary leaf anatomy characters.

Keywords: Needles, leaf anatomy, resin canals, hypodermis, *Pinus greggii* Engelm. ex Parl., *Pinus pinceana* Gordon.

Resumen

En el estado de Hidalgo se distribuyen, naturalmente, 12 especies de pinos, de las cuales, *Pinus pinceana* y *P. greggii* están clasificados en categorías de riesgo. En este contexto es necesario generar información para la identificación taxonómica de *Pinus*, únicamente con base en caracteres anatómicos de acículas en individuos jóvenes que carecen de estróbilos femeninos. El objetivo del presente estudio fue establecer una clave dicotómica para la identificación de pinos de Hidalgo, a partir de su anatomía foliar. Se recolectaron ejemplares en diversas localidades, se obtuvieron cortes transversales de las acículas, con ellos se codificó una matriz de caracteres, la cual fue sometida a un análisis de similitud UPGMA; y se elaboró una clave taxonómica. Se logran diferenciar 10 de los 12 taxones, que incluyen a *Pinus greggii*, especie bajo categoría de riesgo. *Pinus cembroides* se diferencia de *P. pinceana*, solo cuando la forma de la acícula, en corte transversal, es semicircular. Los canales resiníferos externos se observaron solamente en individuos del subgénero *Strobus*; y los septales en *P. oocarpa*. El número de canales resiníferos es utilizado de manera complementaria para identificar, debido a su alta variación. El análisis UPGMA resultó en dos agrupaciones principales, en la primera se recuperaron dos subgrupos correspondientes a las especies del subgénero *Strobus* y del subgénero *Pinus*; en la segunda pertenecen al subgénero *Pinus*. Se concluye que la clave es robusta para la identificación de especies de pinos a escala local, exclusivamente mediante caracteres anatómicos foliares.

Palabras clave: Acículas, anatomía foliar, canales resiníferos, hipodermis, *Pinus greggii* Engelm. ex Parl., *Pinus pinceana* Gordon.

Fecha de recepción/Reception date: 13 de diciembre de 2017

Fecha de aceptación/Acceptance date: 30 de marzo de 2018

¹Área Académica de Ciencias Agrícolas y Forestales, Instituto de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma de Hidalgo. México.

²Departamento de Biología, Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

*Autor por correspondencia; correo-e: sergio_hernandez@uaeh.edu.mx

Introducción

Los pinos son importantes ecológicamente en los bosques tropicales cercanos al nivel del mar, en zonas desérticas y bosques de las tierras altas de México (Farjon *et al.*, 1997); país considerado como el centro secundario de diversificación del género *Pinus*, con 50 (41.3 %) de las 121 especies citadas en el mundo (Gernandt y Pérez-De La Rosa, 2014; Pérez-De La Rosa y Gernandt, 2017). En el estado de Hidalgo se distribuyen de manera natural 12 taxa: *Pinus ayacahuite* Ehrenb. ex Schltdl., *P. cembroides* Zucc., *P. devoniana* Lindl., *P. greggii* Engelm. ex Parl., *P. hartwegii* Lindl., *P. leiophylla* Schiede. ex Schltdl. & Cham., *P. montezumae* Lamb., *P. oocarpa* Schiede., *P. patula* Schiede. ex Schltdl. & Cham., *P. pinceana* Gordon., *P. pseudostrobus* Lindl. y *Pinus teocote* Schiede. ex Schltdl. & Cham. De estas especies, *Pinus greggii*, *P. patula*, *P. pinceana* y *P. teocote* son endémicas de México. *Pinus pinceana* está en el listado de especies de la Norma Oficial Mexicana 059-SEMARNAT-2010, en la categoría de Riesgo de Extinción (P) (Semarnat, 2010); y *Pinus greggii* en la categoría de Vulnerable en la lista roja de especies de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés) (Farjon, 2013).

Los pinos presentan cuatro tipos de hojas durante sus etapas de desarrollo: cotiledonares, primarias, catafilos y secundarias. Estas últimas, también conocidas como acículas, comienzan a aparecer hacia el final de la primera estación de crecimiento temprano o en algunas especies hasta la segunda estación de crecimiento. Son siempre verdes y metabólicamente activas, se desarrollan en brotes (terminales o laterales) enanos axilares a los catafilos, los fascículos están agrupados de 1-8 acículas (Farjon y Styles, 1997). El número de hojas por fascículo varía según las especies, debido a las condiciones del medio en el que se desarrollan, de tres y cinco son los más comunes (Martínez, 1945).

La anatomía de las acículas comprende tres tejidos que están definidos por su función: la dermis, el mesófilo, y el tejido vascular (Hernández-León, 2011). La dermis está constituida por la cutícula, epidermis e hipodermis; el tejido del

mesófilo está estructurado por largas células de pared delgada que llenan el espacio entre la hipodermis y la endodermis, y en él se desarrollan los conductos resiníferos que se encuentran en diferentes posiciones, en función a la variación de las especies; el tejido vascular está conformado por la endodermis (capa de células ovales que rodean al tejido vascular), y contiene a los haces vasculares (xilema y floema) (Farjon y Styles, 1997).

Los caracteres anatómicos foliares son importantes fuentes de información para la identificación de especies. La clave dicotómica es un método para identificar taxa, mediante breves descripciones, consiste en la selección de uno de dos enunciados alternos. Las claves de identificación son de dos tipos: regional o por grupo morfológico (Farjon *et al.*, 1997).

En relación a la identificación taxonómica de pinos, es importante generar información para identificar taxones con base en la anatomía de acículas, particularmente, en individuos jóvenes que carecen de estróbilos femeninos. Por esta razón, el objetivo de la presente investigación fue desarrollar una clave dicotómica para la identificación de los pinos con distribución natural en el estado de Hidalgo, a partir de la anatomía de las acículas.

Materiales y Métodos

El estado de Hidalgo cuenta con aproximadamente 20 905 km², lo que representa 1.1 % del territorio nacional, se ubica dentro de la zona de transición mexicana, incluye las provincias biogeográficas de la Sierra Madre Oriental, Altiplano Mexicano, Golfo de México y la Faja Volcánica Transmexicana (Rzedowski, 1978; Conabio, 1997; Morrone, 2005; INEGI, 2016). Gernandt y Pérez-de la Rosa (2014) proponen que la Sierra Madre Oriental es una de las regiones con mayor diversidad de coníferas.

Trabajo de campo

La colecta de ejemplares de *Pinus* se realizó en diversas localidades del estado de Hidalgo (Cuadro 1).

Cuadro 1. Datos detallados de colecta de especies de *Pinus* del estado de Hidalgo.

| Especie | Núm. de colecta | Localidad de colecta | Coordenadas | |
|-------------------------|-----------------|-----------------------|--------------|---------------|
| | | | Latitud | Longitud |
| <i>Pinus ayacahuite</i> | SHL089 | Acaxochitlán | 20°13.601' N | 98°13.351' O |
| | SHL121 | Zimapán | 20°51.991' N | 99°12.916' O |
| <i>P. cembroides</i> | SHL114 | Jacala | 20°47.377' N | 99°17.139' O |
| | SHL036 | Zimapán | 20°51.092' N | 99°15.784' O |
| <i>P. devoniana</i> | SHL092 | Huasca de Ocampo | 20°12.259' N | 98°36.995' O |
| <i>P. greggii</i> | SHL115 | Jacala | 20°48.462' N | 99°15.591' O |
| | SHL137 | Tlanchinol | 20°59.037' N | 98°38.478' O |
| | SHL095 | San Bartolo Tutotepec | 20°23.865' N | 98°14.866' O |
| <i>P. hartwegii</i> | SHL143 | Molango | 20°44.579' N | 98°42.520' O |
| | SHL149 | Singuilucan | 19°58.245' N | 98°28.314' O |
| | SHL077 | Mineral del Chico | 20°10.264' N | 98°43.873' O |
| <i>P. leiophylla</i> | SHL152 | Singuilucan | 19°58.323' N | 98°26.960' O |
| | SHL022 | Cuautepec de Hinojosa | 19°57.007' N | 98°15.6263' O |
| <i>P. montezumae</i> | SHL150 | Singuilucan | 19°58.675' N | 98°26.994' O |
| | SHL155 | Singuilucan | 19°57.348' N | 98°24.768' O |
| | EUAC002 | Zimapán | 20°50.246' N | 99°15.314' O |
| <i>P. oocarpa</i> | SHL138 | Calnali | 20°52.934' N | 98°35.247' O |
| | SHL145 | Xochicoatlán | 20°44.321' N | 98°42.443' O |
| | SHL146 | Xochicoatlán | 20°44.302' N | 98°42.461' O |
| <i>P. patula</i> | SHL144 | Molango | 20°44.581' N | 98°42.513' O |
| | SHL030 | Huasca de Ocampo | 20°09.064' N | 98°33.637' O |
| | SHL100 | San Bartolo Tutotepec | 20°23.974' N | 98°14.955' O |
| <i>P. pinceana</i> | APO001 | El Cardonal | 20°38.308' N | 98°59.436' O |
| | AAE002 | El Cardonal | 20°38.431' N | 98°59.332' O |
| | No.003 | El Cardonal | 20°38.431' N | 98°59.332' O |
| <i>P. pseudostrobus</i> | SHL123 | Zimapán | 20°51.989' N | 99°13.742' O |
| | SHL130 | Metepc | 20°28.234' N | 98°18.835' O |
| <i>P. teocote</i> | SHL154 | Singuilucan | 19°58.329' N | 98°26.312' O |
| | SHL131 | Metepc | 20°16.906' N | 98°18.939' O |
| | SHL021 | Cuautepec de Hinojosa | 19°57.026' N | 98°15.660' O |

Cortes foliares y tinción

Las acículas se fijaron en FAA (Formaldehido: Ácido acético glacial: Alcohol etílico al 50 %, en proporción 5: 5: 90) por tiempo indefinido. Se obtuvieron cortes transversales de forma manual, con una navaja de un solo filo; de ellos se seleccionaron los mejores para la tinción histológica, mediante el procedimiento utilizado por Hernández-León(2011): Citrisolv 2 (15 min); EtOH 100 % (5 min); EtOH 96 % (5 min); EtOH 70 % (5 min), EtOH 50 % (5 min); ddH₂O (5 min); *Alcian blue* (30 min); ddH₂O (5 min); EtOH 50 % (3 min); Safranina (2 hr); 50 % EtOH (3 min); 70 % EtOH (3 min); 96 % EtOH (3 min); 100 % EtOH (3 min); Citrisolv (15 min). Una vez teñidos los cortes, se montaron en preparaciones permanentes con la resina sintética *Entellan* (Merk Co., Alemania) para ser observados a diferentes aumentos en un microscopio óptico.

Codificación de caracteres

Mediante una revisión de la literatura y la observación de las preparaciones permanentes se establecieron nueve caracteres foliares y sus correspondientes estados de carácter, como se muestra en el Cuadro 2 (Coulter y Rose, 1886; Shaw, 1914; Martínez, 1945; Lanyon, 1966; Mirov, 1967; Farjon y Styles, 1997; Ortiz, 1999). Los caracteres y estados de carácter fueron descritos con observación de las preparaciones permanentes a diferentes aumentos, en un microscopio óptico *Axioscope 40* (*Carl Zeiss*). Los cortes foliares se fotografiaron con un sistema de cámara digital acoplado al microscopio, y las imágenes se editaron en *Adobe® Photoshop® CS6 Extended*, versión 13.0.1 x32 (2017), para destacar los rasgos anatómicos foliares relevantes. Se construyó una matriz de datos morfoanatómicos a partir de las observaciones.

Cuadro 2. Caracteres y estados de carácter utilizados para la descripción anatómica foliar de las especies de *Pinus* del estado de Hidalgo.

| Carácter | Estados de carácter |
|--|--|
| 1. Forma del corte transversal (FCT) | (0) Semicircular, (1) Transversalmente triangular, (2) Ampliamente triangular |
| 2. Posición de estomas en las acículas (PAE) | (0) Epistomática, (1) Amfistomática |
| 3. Espesor de las paredes de las células de la hipodermis (EPCH) | (0) Uniformemente delgadas, (1) Uniformemente gruesas, (2) Delgadas en los primeros estratos y engrosadas en el resto, (3) Aumento gradual en grosor hacia el interior |
| 4. Intrusiones hipodermales (IH) | (0) Ausentes, (1) Presentes |
| 5. Número de canales resiníferos(NCR) | (0) Cero, (1) Uno, (2) Dos, (3) Tres, (4) Cuatro, (5) Cinco, (6) Seis, (7) Siete, (8) Ocho |
| 6. Posición de los canales resiníferos(PCR) | (0) Externa, (1) Interna, (2) Media, (3) Septal |
| 7. Paredes de las células de la endodermis(PCE) | (0) Uniformemente engrosadas, (1) Externamente engrosadas |
| 8. Haces vasculares(HV) | (0) Separados, (1) Fusionados únicamente en la región del xilema, (2) Conados o fusionados |
| 9. Esclerénquima en la región vascular (ERV) | (0) Ausente, (1) Presente |

Análisis de datos

Los datos anatómicos foliares de las 12 especies fueron analizados con el método de Agrupamiento por Pares no Ponderados con Media Aritmética (UPGMA) (Sokal y Michener, 1958); con una matriz de presencia/ausencia (Cuadro 3). El análisis empleó el coeficiente de similitud de *Jaccard* utilizando la herramienta en línea DendroUPGMA (García-Vallvé et al., 1999).

Resultados y Discusión

Trabajo de campo

En total se colectaron 30 ejemplares, los que fueron procesados y depositados en la colección del Herbario del Área Académica de Ciencias Agrícolas y Forestales del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo campus Tulancingo y en el Herbario Nacional de México (MEXU). Los ejemplares corresponden de 1 - 3 individuos de las 12 especies de pinos de Hidalgo (Cuadro 1).

Cortes foliares y tinción

Las treinta preparaciones permanentes (30) de cortes transversales de acículas se incorporaron a la colección del Herbario del Área Académica de Ciencias Agrícolas y Forestales del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y están disponibles para consultas posteriores.

Codificación de caracteres

La matriz de datos de los caracteres y estados de carácter se presentan en el Cuadro 3. La forma de las células de la epidermis presentó variación intraespecífica e interespecífica, lo cual es consistente con registros previos (Farjon *et al.*, 1997).



Cuadro 3. Matriz de datos morfoanatómicos de acículas para las especies de *Pinus* naturalmente distribuidas en el estado de Hidalgo.

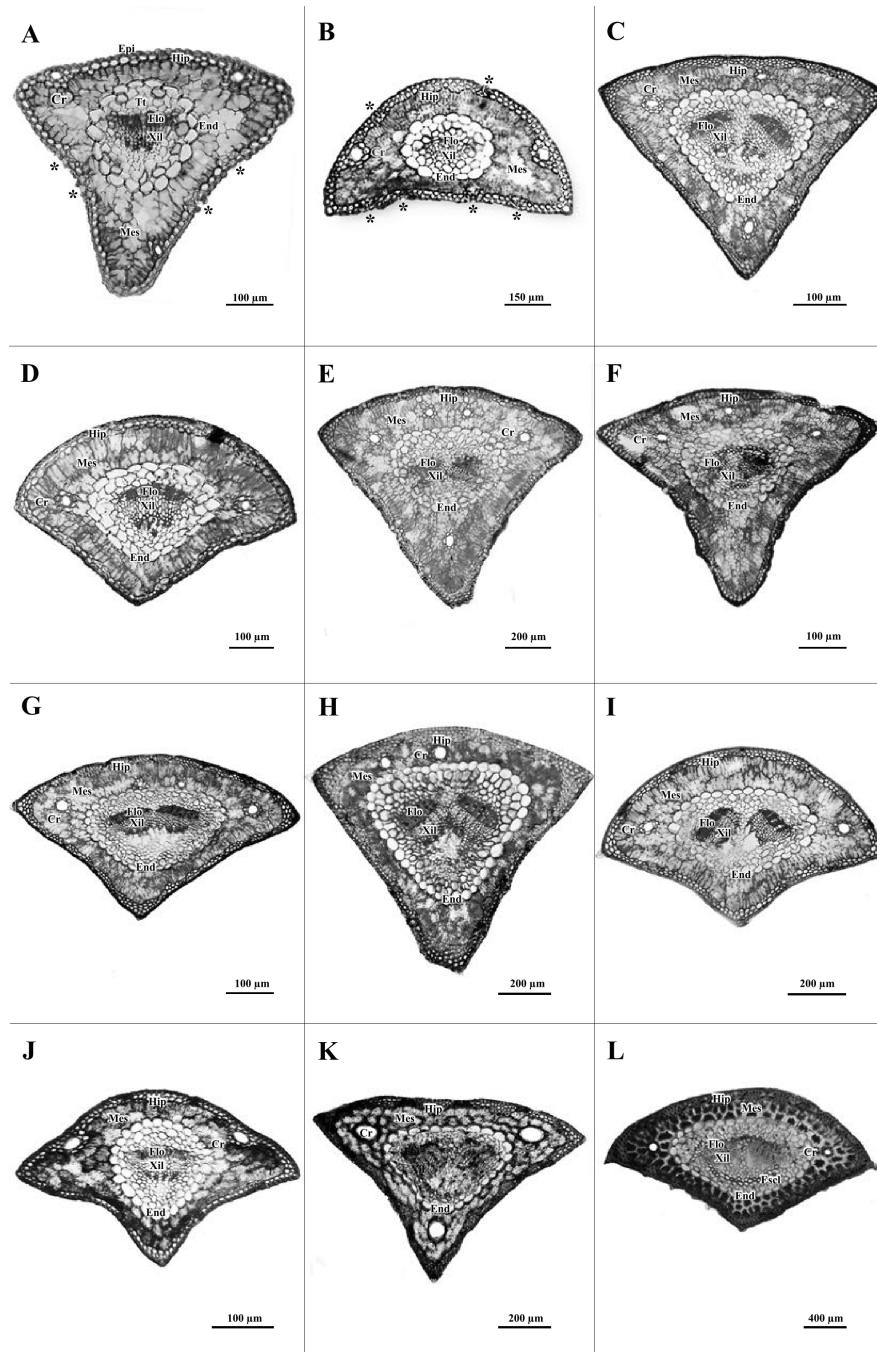
| Especie | Núm. de colecta | Clave dendrograma | Carácter | | | | | | | | |
|--------------------------|-----------------|-------------------|----------|---------|----------|--------|---------|---------|---------|--------|---------|
| | | | FCT (1) | PAE (2) | EPCH (3) | IH (4) | NCR (5) | PCR (6) | PCE (7) | HV (8) | ERV (9) |
| Subgénero <i>Strobus</i> | | | | | | | | | | | |
| <i>Pinus ayacahuite</i> | SHL089 | Pa1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| | SHL121 | Pa2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| <i>P. cembroides</i> | SHL114 | Pc1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| | SHL036 | Pc2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| <i>P. pinceana</i> | APO001 | Ppi1 | 1 | 1 | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| | AAE002 | Ppi2 | 1 | 1 | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| | No.003 | Ppi3 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| Subgénero <i>Pinus</i> | | | | | | | | | | | |
| <i>P. devoniana</i> | SHL092 | Pd1 | 2 | 1 | 3 | 1 | 4 | 2,0 | 1 | 0 | 0 |
| <i>P. greggii</i> | SHL115 | Pg1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| | SHL137 | Pg2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| | SHL095 | Pg3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| | SHL143 | Pg4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 |
| <i>P. hartwegii</i> | SHL149 | Ph1 | 2 | 1 | 2 | 0 | 5 | 2 | 1 | 0 | 1 |
| | SHL077 | Ph2 | 2 | 1 | 2 | 0 | 4 | 2 | 0 | 0 | 1 |
| <i>P. leiophylla</i> | SHL152 | Pl1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| | SHL022 | Pl2 | 2 | 1 | 0 | 0 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| <i>P. montezumae</i> | SHL150 | Pm1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 4 | 2,1 | 1 | 0 | 1 |
| | SHL155 | Pm2 | 2 | 1 | 0 | 0 | 4 | 2,1 | 1 | 0 | 1 |
| | EUAC002 | Pm3 | 2 | 1 | 0 | 0 | 4 | 2,1 | 1 | 0 | 1 |
| <i>P. oocarpa</i> | SHL138 | Po1 | 2 | 1 | 2 | 0 | 6 | 3 | 0 | 0 | 1 |
| | SHL145 | Po2 | 2 | 1 | 2 | 0 | 1 | 3 | 0 | 0 | 1 |
| | SHL146 | Po3 | 2 | 1 | 2 | 0 | 3 | 3 | 1 | 0 | 1 |
| <i>P. patula</i> | SHL144 | Ppa1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 5 | 2,1 | 1 | 0 | 1 |
| | SHL030 | Ppa2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2,1 | 1 | 0 | 1 |
| | SHL100 | Ppa3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2,1 | 0 | 0 | 1 |
| <i>P. pseudostrabus</i> | SHL123 | Pps1 | 2 | 1 | 3 | 0 | 3 | 2 | 1 | 0 | 1 |
| | SHL130 | Pps2 | 2 | 1 | 3 | 1 | 3 | 2 | 1 | 0 | 1 |
| <i>P. teocote</i> | SHL154 | Pt1 | 1 | 1 | 2 | 0 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| | SHL131 | Pt2 | 1 | 1 | 2 | 0 | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| | SHL021 | Pt3 | 1 | 1 | 2 | 0 | 4 | 2 | 0 | 0 | 0 |

FCT = Forma del corte transversal; PAE = Posición de estomas en las acículas; EPCH = Espesor de las paredes de las células de la hipodermis; IH = Intrusiones hipodermiales; NCR = Número de canales resiníferos; PCR = Posición de los canales resiníferos; PCE = Paredes de las células de la endodermis; HV = Haces vasculares; ERV = Esclerénquima en la región vascular

De las especies estudiadas, ocho presentaron la vaina basal del fascículo permanente. Los taxa con la vaina basal de fascículo decidua fueron *Pinus ayacahuite*, *P. cembroides*, *P. leiophylla* y *P. pinceana*, con la excepción de *P. leiophylla*, estos taxones pertenecen a los pinos blandos o subgénero *Strobus*. *Pinus leiophylla* es una de las pocas especies de pinos duros o subgénero *Pinus* con la vaina basal de los fascículos decidua (Gernandt *et al.*, 2005). El estado de carácter de la vaina basal del fascículo es de utilidad para la asignación de ejemplares a grupos, pero en combinación con otras características puede ser efectiva para la identificación de algunos taxa (Farjon *et al.*, 1997).

Las especies tuvieron dos, tres y hasta cinco acículas por fascículo. El número de acículas por fascículo ha sido muy utilizado para la identificación de las especies de pinos, generalmente, en combinación con otros rasgos (Farjon y Styles, 1997; Farjon *et al.*, 1997; Eckenwalder, 2009). Las acículas de un fascículo forman un cilindro, el número de acículas por fascículo determina su forma transversal, que corresponde a una sección del cilindro; por ejemplo, en fascículos con una acícula la forma transversal será circular; en fascículos con dos acículas es semicircular (Figura 1B); en fascículos de tres será transversalmente triangular (Figura 1D, G, I, J, L); y en fascículos con cuatro o más presentará un forma ampliamente triangular (Figura 1A, C, E, F, H, K) (Martínez, 1953; Farjon y Styles, 1997).





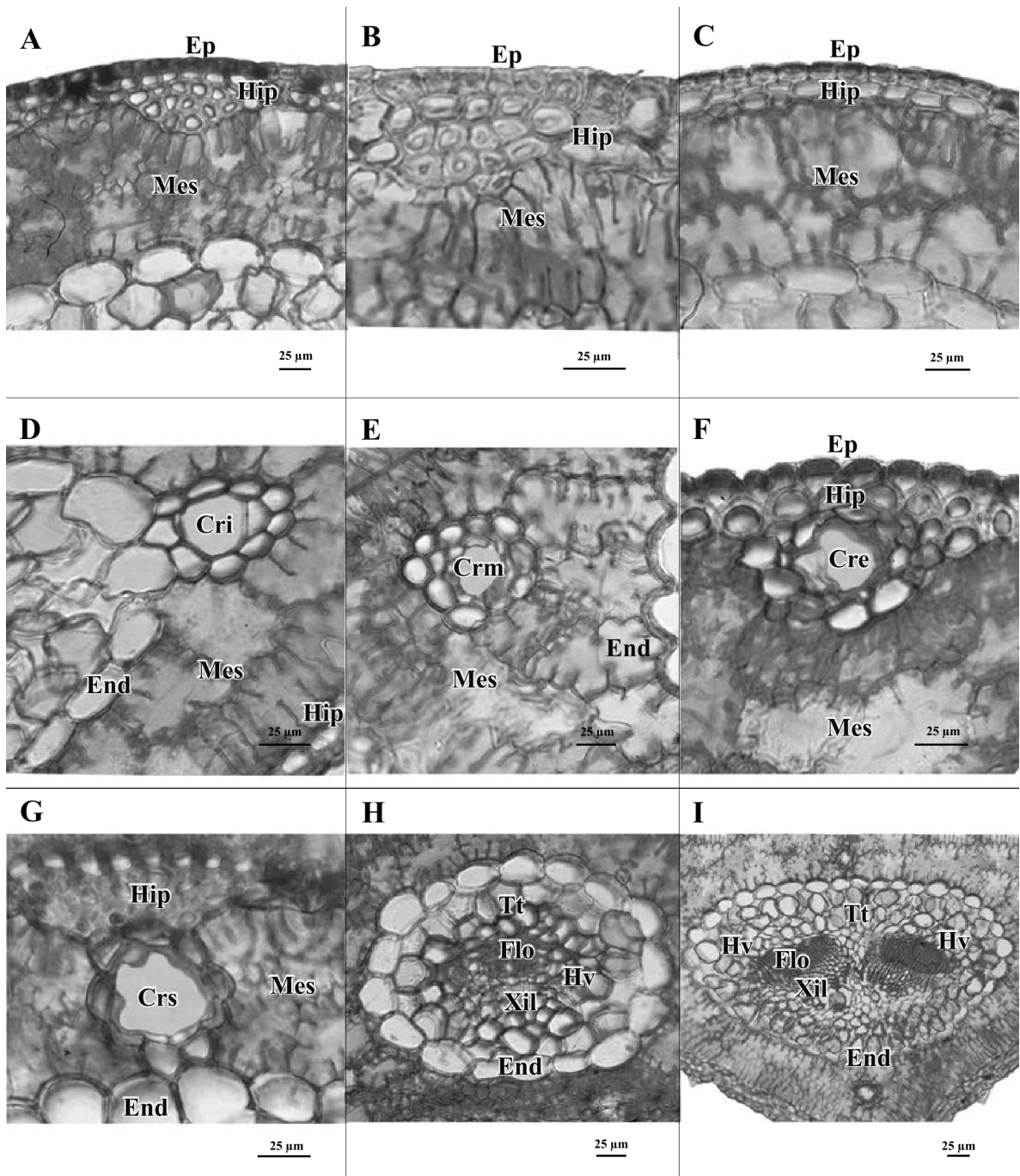
A = *Pinus ayacahuite*; B = *P. cembroides*; C = *P. devoniana*; D = *P. greggii*; E = *P. hartwegii*; F = *P. leiophylla*; G = *P. montezumae*; H = *P. oocarpa*; I = *P. patula*; J = *P. pincheana*; K = *P. pseudostrobus*; L = *P. teocote*; * = Indica la posición de los estomas; Cr = Canal resinífero; End = Endodermis; Epi = pidermis; Escl = Esclerénquima; Flo = Floema; Hip = Hipodermis; Mes = Mesófilo; Tt = Tejido de transfusión; Xil = Xilema.

Figura 1. Secciones transversales de acículas de especies de *Pinus* del estado de Hidalgo.

Pinus cembroides fue la única especie con dos formas de la hoja en corte transversal. Por su forma semicircular puede diferenciarse del resto de las especies (Figura 1B); sin embargo, cuando presenta forma transversalmente triangular resulta imposible su separación de *P. pinceana* (Figura 1J). *Pinus ayacahuite* fue la única especie en presentar la disposición de las estomas epistomática (Figura 1A), mientras que en el resto de los taxa la disposición fue anfistomática.

Para el carácter espesor de las paredes de las células de la hipodermis, se registró con mayor frecuencia el estado de carácter "espesor uniformemente delgado de las paredes de las células de la hipodermis" (*P. ayacahuite*, *P. greggii* y *P. leiophylla*; Figura 2C), mientras que el "grosor de las paredes de las células de la hipodermis aumentando gradualmente hacia el interior" fue observado con menor frecuencia (*P. devoniana* y *P. pseudostrobus*; Figura 2A). *Pinus patula* y *P. pinceana* exhibieron variación intraespecífica para este carácter (Cuadro 3). Farjon y Styles (1997) proponen que las hojas largas, con estratos de células de paredes delgadas en la hipodermis están restringidas principalmente a climas templados o subtropicales mésicos (*P. ayacahuite*, *P. greggii*, *P. patula*).





A = *Pinus devoniana*; B, E, I = *P. teocote*; C-D = *P. greggii*; F, H = *P. cembroides*; G = *P. oocarpa*; Cre = Canal resinífero externo; Cri = Canal resinífero interno; Crm = Canal resinífero medio; Crs = Canal resinífero septal; End = Endodermis; Epi = Epidermis; Flo = Floema; Hip = Hipodermis; Hv = Haz vascular; Mes = Mesófilo; Tt = Tejido de transfusión; Xil = Xilema.

Figura 2. Secciones transversales de acículas de especies de *Pinus* del estado de Hidalgo.

Se ha observado la existencia de diferentes grados de intrusiones hipodermales en el mesófilo (Martínez, 1945). De las especies incluidas en esta investigación, *Pinus devoniana* y *P. pseudostrobus* presentaron intrusiones hipodermales (Cuadro 3, figuras 1C, K y 2A); el resto de los taxa carecen de intrusiones (*P. greggii*; Figura 2C). Hay concentraciones de tejido hipodermal en áreas marginales; mientras que, en el resto de la hoja, la hipodermis persiste en dos estratos celulares (Farjon y Styles, 1997).

En algunas especies, como *Pinus oocarpa*, el número de canales resiníferos fue altamente variable, de 1-6; mientras que en *P. pinceana*, por ejemplo, se observaron dos canales resiníferos de manera constante (Figura 1J). En este último caso, el carácter puede ser de utilidad para la identificación de la especie a nivel de estado (Cuadro 3) (Perry, 1991; Farjon y Styles 1997; Cole *et al.*, 2008). Estudios previos indican un intervalo de 1-12 canales resiníferos en las hojas de especies de pinos en América Latina, y para el caso de Hidalgo, se registraron de 1-6 canales resiníferos por acícula (Farjon y Styles, 1997).

Pinus oocarpa y *P. ayacahuite* mostraron el mayor número de canales resiníferos (6), mientras que en cortes de acículas de *P. oocarpa* se observó el menor número de canales resiníferos (1). De acuerdo con Helmers (1943), el número de canales resiníferos tiene una estrecha relación con el medio ambiente. Eventualmente, algunas acículas pueden no tener canales resiníferos, pero dicha condición no está asociada con ninguna especie en particular. *P. donnell-smithii*, puede ser la excepción de ser reconocido a nivel específico, ya que muchas acículas carecen de canales de resina; Perry, (1991). Algunos autores consideran que el número de canales resiníferos, por ser altamente variable, no puede tomarse como elemento sistemático (Martínez, 1945).

La posición de los canales resiníferos constituye un carácter comúnmente utilizado para la clasificación e identificación de especies, desde Engelmann (1880) y Coulter y Rose (1886), debido a que la mayoría de las especies se caracterizan por presentar una sola posición, aunque existen combinaciones como las citadas en este estudio para *Pinus devoniana* y *P. montezumae* (Figura 1C, G). Pero nunca se han

consignado combinaciones de más de dos posiciones (Farjon y Styles, 1997). La posición y el número de los canales resiníferos usados en combinación son muy útiles para la identificación de muchos taxa (Perry, 1991). En especies con número variable de canales resiníferos se consideran primarios los de mayor tamaño y posición fija, y subsidiarios a los de menor tamaño (Farjon y Styles, 1997). Su posición al ser menos variable que su número resulta de mayor utilidad para fines de identificación (Martínez, 1945). La posición media de los canales resiníferos fue predominante para las especies de pinos del estado de Hidalgo (*Pinus leiophylla*, *P. montezumae*, *P. pseudostrobus*) (Martínez, 1945; Farjon y Styles, 1997) (Figura 1F, G, K), mientras que la posición septal solo se observó en *P. oocarpa*, por lo que este estado de caracteres es diagnóstico para esa especie, al menos dentro del estado de Hidalgo (figuras 1H, 2G).

El engrosamiento externo de la pared de las células de la endodermis (Figura 2I) ha sido utilizado como carácter diagnóstico (Farjon y Styles, 1997). Sin embargo, en las especies con múltiples individuos, como las incluidas en el presente estudio, existe polimorfismo intraespecífico e interespecífico, por lo que no es adecuado para la identificación taxonómica.

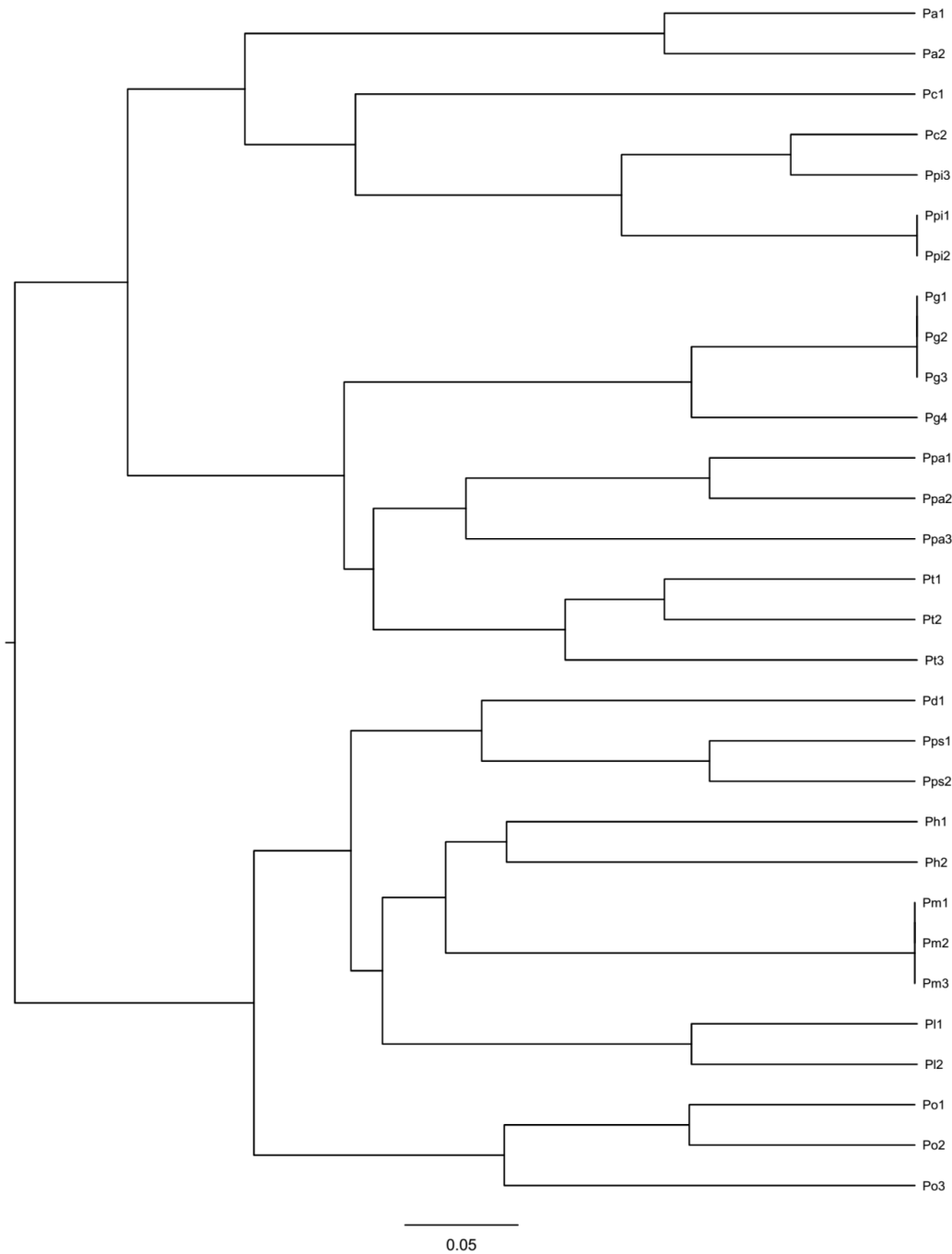
La presencia de uno (Figura 2H) o dos (Figura 2I) haces vasculares sustenta la propuesta de Koehne (1893) de dividir en dos secciones al género *Pinus*, sección Haploxilon y Diploxilon, que corresponden con los subgéneros *Strobus* y *Pinus* (Gernandt et al., 2005), lo cual fue consistente con los resultados de esta investigación.

El esclerénquima que en la región vascular rodea y en algunas ocasiones divide los haces vasculares (Farjon y Styles, 1997), se observa en algunos taxones: *Pinus oocarpa* y *P. teocote* (Figura 1L). Sin embargo, no es un carácter diagnóstico, debido a su variación.

Análisis de agrupamiento

El análisis de similitud de los caracteres morfoanatómicos de las acículas resultó en dos grupos principales (Figura 3). En el grupo uno se asocian *Pinus ayacahuite*, *P. cembroides* y *P. pinceana* del subgénero *Strobus* más relacionados que con otras especies; y por otro lado *P. greggii*, *P. patula* y *P. teocote* del subgénero *Pinus*. El segundo grupo principal está formado por taxa del subgénero *Pinus*: *P. devoniana*, *P. hartwegii*, *P. leiophylla*, *P. montezumae*, *P. oocarpa* y *P. pseudostrobus*; *P. oocarpa* se separó del resto de las especies al interior del grupo. En las terminales se forman grupos por taxón excepto para una muestra de *Pinus cembroides* que se agrupa con *P. pinceana*. De acuerdo con Eckenwalder (2009), la convergencia en las características de las hojas entre especies no relacionadas está provocada por la fuerte asociación entre los rasgos foliares con las condiciones ambientales, de tal manera que los rasgos de la hojas pueden reflejar los mecanismos de adaptación de las plantas a su ambiente (Tian *et al.*, 2015).





Coefficiente de correlación cofenético = 0.847018494508054. El número en cada terminal indica el número de ejemplares por especie.

Figura 3. Dendrograma obtenido por análisis de agrupamiento UPGMA, con el uso del coeficiente de similitud de *Jaccard* en 12 especies de *Pinus* distribuidas en el estado de Hidalgo.

Clave de identificación

A partir de la clave dicotómica producto de la investigación que se documenta es posible diferenciar 10 de las 12 especies de pinos del estado de Hidalgo. *P. cembroides* y *P. pinceana*, únicamente, se separan cuando la forma del corte transversal es semicircular en la primera especie.

- 1.- Canales resiníferos externos2
 - 2.- Posición de estomas epistomática *Pinus ayacahuite*
 - 2'.- Posición anfistomática de estomas.....3
 - 3.- Forma de la hoja transversalmente triangular..... *P. cembroides* y *P. pinceana*
 - 3'.-Forma de la semicircular..... *P. cembroides*
- 1'.- Canales resiníferos medios, internos o septales4
 - 4.- Canales resiníferos septales *P. oocarpa*
 - 4'.- Canales resiníferos medios o medio e internos5
 - 5.- Intrusiones hipodermales presentes6
 - 6.- Canales resiníferos medios *P. pseudostrobus*
 - 6'.- Canales resiníferos medios e internos *P. devoniana*
 - 5'.- Intrusiones hipodermales ausentes7
 - 7.- Hipodermis delgada en el primer estrato y engrosada en el resto8
 - 8.- Forma de la hoja ampliamente triangular *P. hartwegii*
 - 8'.- Forma de la hoja transversalmente triangular..... *P. teocote*
 - 7'.- Hipodermis uniformemente delgada.....9
 - 9.- Forma de la hoja ampliamente triangular10
 - 10.- Canales resiníferos medios *P. leiophylla*
 - 10'.-Canales resiníferos medios e internos..... *P. montezumae*
 - 9'.- Forma de la hoja transversalmente triangular11
 - 11.- Canales resiníferos medios *P. greggii*
 - 11'.- Canales resiníferos medios e internos *P. patula*

Conclusión

Se contribuye a la generación de datos anatómicos foliares para especies del género *Pinus*. La generación de herramientas de identificación taxonómica con base en caracteres anatómicos foliares es de suma importancia para la identificación de especies, si no se cuenta con otra fuente de identificación, como son plantas producidas en vivero, individuos jóvenes, plantaciones comerciales, reforestaciones con fines de restauración en etapa de brinzal y árboles sin presencia de estróbilos femeninos. Los resultados permitieron diferenciar a las especies y generar una clave de identificación robusta. Por lo que la aproximación metodológica usada es una alternativa para la identificación de especies de pinos distribuidos en otros estados o regiones del país.

Agradecimientos

Ramón Escárcega Vargas, Perla Barrón Hernández, Shamed Popoca Paredes y Edith Jiménez Muñoz por su apoyo durante el trabajo de campo. Red Temática Código de Barras de la Vida (Continuidad de Redes Temáticas) No. CONACyT: 271108 por el financiamiento para el trabajo de campo.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Contribución por autor

Todos los autores hicieron trabajo de campo y elaboraron el manuscrito en todas sus partes.

Referencias

- Cole, K. L., J. Fisher, S. T. Arundel, J. Cannella and S. Swift. 2008. Geographical and climatic limits of needle types of one and two needled pinyon pines. *Journal of Biogeography* 35(2): 257-269.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Conabio). 1997. Provincias biogeográficas de México. Escala 1:4 000 000. Conabio. México, D. F., México. s/p.
- Coulter, J. M. and J. N. Rose. 1886. Synopsis of North American pines, based upon leaf-anatomy. I. *Botanical Gazette*. 11(10): 256–269.
- Eckenwalder, J. E. 2009. *Conifers of the world: the complete reference*. Timber Press. Portland, OR, USA. 720 p.
- Engelmann, G. 1880. Revision of the genus *Pinus*, and description of *Pinus elliottii*. *Transactions of the St. Louis Academy of Science* 4: 161–190.
- Farjon, A. 2013. *Pinus greggii*. The IUCN Red List of Threatened Species 2013:e.T32630A2822678. <http://www.iucnredlist.org/details/32630/0> (2 de octubre de 2017).
- Farjon, A., J. Pérez de la Rosa y B. T. Styles. 1997. *Guía de campo de los pinos de México y América Central*. The Royal Botanic Gardens Kew. Richmond, London, England. 151 p.
- Farjon, A. and B. T. Styles. 1997. Monograph 75. *Pinus* (Pinaceae). *Flora Neotropica*. New York, NY, USA. 291 p.
- García-Vallvé, S., J. Palau and A. Romeu. 1999. Horizontal gene transfer in glycosyl hydrolases inferred from codon usage in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Molecular Biology and Evolution* 16(9):1125-1134.
- Gernandt, D. S., G. Geada López, S. Ortiz García and A. Liston. 2005. Phylogeny and classification of *Pinus*. *Taxon* 54(1): 29–42.

Gernandt, D. S. y J. A. Pérez-de la Rosa. 2014. Biodiversidad de Pinophyta (coníferas) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85(supl.): 1123-136.

Helmers, A. E. 1943. The ecological anatomy of ponderosa pine needles. *The American Midland Naturalist* 29: 55–71.

Hernández-León, S. 2011. Filogenia molecular y evolución de caracteres foliares de *Pinus* sección *Trifoliae*. Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., México. 70 p.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2016. Anuario estadístico y geográfico de Hidalgo 2016.

http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/Productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/nueva_estruc/anuarios_2016/702825083748.pdf

(25 de septiembre de 2017).

Koehne, B. A. E. 1893. *Deutsche Dendrologie I-III*. Verlag von Ferdinand Enke. Stuttgart, Baden-Württemberg. Deutschland. 602 p.

Lanyon, J. W. 1966. A card key to *Pinus* based on needle anatomy. Forestry Commission of New South Wales. Sidney, Australia. pp. 5-27.

Martínez, M. 1945. Las pináceas mexicanas. *Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional de México* 1(16): 1–35.

Martínez, M. 1953. Las pináceas mexicanas. Secretaría de Agricultura y Ganadería. Subsecretaría de Recursos Forestales y de Caza. México, D.F., México. 362 p.

Mirov, N. T. 1967. *The genus Pinus*. New York: The Ronald Press Company. New York, NY, USA. 602 p.

Morrone, J. J. 2005. Hacia una síntesis biogeográfica de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 76(2): 207–252.

Ortiz G., S. 1999. Evolución y filogenia en pinos y sus hongos endófitos: aspectos sistemáticos de la coespeciación. Tesis de doctorado. Instituto de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., México. 120 p.

Perry Jr., J. P. 1991. The pines of Mexico and Central America. Timber Press. Portland, OR, USA. 231 p.

Pérez-De La Rosa, J. A. and D. S. Gernandt. 2017. *Pinus vallartensis* (Pinaceae), a new species from western Jalisco, Mexico. *Phytotaxa* 331(2): 233–242.

Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Limusa. México, D.F., México. 432 p.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat). 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Diario Oficial de la Federación. México, D.F., México. 77 p.

Shaw, G. 1914. The genus *Pinus*. Arnold Arboretum Publications 5. Murray Printing Company. Forge Village, MA, USA. 96 p.

Sokal, R. R. and C. D. Michener. 1958. A statistical method for evaluating systematic relationships. *The University of Kansas Science Bulletin* 28 (22):1409-1438.

Tian, M., G. Yu, N. He and J. Hou. 2015. Leaf morphological and anatomical traits from tropical to temperate coniferous forests: Mechanisms and influencing factors. *Nature Publishing Group*. <https://doi.org/10.1038/srep19703> (2 de octubre de 2017).



Todos los textos publicados por la **Revista Mexicana de Ciencias Forestales**—sin excepción— se distribuyen amparados bajo la licencia *Creative Commons 4.0 Atribución-No Comercial (CC BY-NC 4.0 Internacional)*, que permite a terceros utilizar lo publicado siempre que mencionen la autoría del trabajo y a la primera publicación en esta revista.