MORFOMETRÍA, VIABILIDAD Y VARIABILIDAD DE LAS SEMILLAS DE LA POBLACIÓN DE *PINUS HARTWEGII* DEL COFRE DE PEROTE, VERACRUZ, MÉXICO

L. Iglesias[1], I. Mora[2] y J.L. Casas[3]

1. Investigador Instituto de Genética Forestal, Universidad Veracruzana
2. Encargado de la Seguridad Radiologíca del Centro Estatal de Cancerología, Veracruz, México
3. Unidad de Biotecnología Vegetal. Centro Iberoamericano de la Biodiversidad, Universidad de Alicante, España

INTRODUCCIÓN

Pinus hartwegii es la única especie de pino que en México se encuentra en el límite de la vegetación arbórea entre 3500 a 4000 m (Narave, 1997). Esta especie tiene para el estado de Veracruz un gran valor tanto socioeconómico como ecológico. De acuerdo con Solís (1994) la misma resulta una fuente importante en el proceso de transformación de la madera, que conlleva a la producción de celulosa y papel lo que representa una fuente de ingresos tanto para los industriales encargados del proceso de transformación, como para los poseedores del recurso bosque, para los que representa también una fuente de empleo. Además, cumple funciones de protección a otros recursos y amortigua los efectos de contaminación ambiental.

Sin embargo algunas de las poblaciones naturales de esta especie en México se han fragmentado por diversos factores naturales y antropogénicos, lo que ha conllevado a que las mismas se presenten, particularmente en el estado de Veracruz, como pequeñas poblaciones disjuntas conformadas por bosques poco densos y monoespecíficos en su estrato arbóreo. Algunas de ellas como la del Parque Nacional "Cofre de Perote" y el "Pico de Orizaba" han sufrido en los últimos años una sensible disminución en la producción y calidad de la semilla por lo que se encuentra seriamente perturbadas (Iglesias *et al.,* 1999; Solìs, 2002).

De acuerdo con Kuang *et al.* (1998) y Remington y O´Malley (2000) la reducción en la producción de semillas llenas constituye, entre todas, el efecto más severo de depresión consanguínea que como apuntara Williams y Savolainen (1996) resulta un fenómeno común en muchas especies forestales y en particular en coníferas.

Algunos estudios previos realizados han permitido conocer la variación en las características morfológicas, de calidad de la madera y ecológicas de algunas poblaciones de esta especie (Pérez, 1984; Bonilla, 1993; Solís, 1994, Solís, 2002) sin embargo no se cuenta con suficientes estudios que aborden de manera integral el análisis de viabilidad en relación con los niveles de variación morfométrica de las semillas particularmente

en la población del Cofre de Perote. Por todo ello resulta de crucial importancia el desarrollo de trabajos que permitan lograr una mayor comprensión de aspectos como los mencionados vinculados estrechamente con la biología reproductiva de esta especie.

Como parte de los trabajos que actualmente se desarrollan para el estudio de la diversidad genética de algunas poblaciones de esta especie en el estado de Veracruz se desarrolló el presente trabajo a fin de evaluar la viabilidad y la variación morfométrica presente en muestras de semillas que coadyuven al establecimiento de una estrategia efectiva para lograr un adecuado manejo y conservación de estos valiosos recursos forestales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo del presente trabajo se recolectaron muestras de semillas del bosque monoespecífico de *Pinus hartwegii* Lindl. situado en el Parque Nacional "Cofre de Perote" en Veracruz, México (Figura 1). El Parque se localiza en la República Mexicana, en el estado de Veracruz cerca del límite con Puebla a 19º25'33" y 19º33'52" a una altura, entre los 3,500-4,000 msnm (Narave,1997) y se caracteriza por presentar suelos con profundidad media, pedregosa y con poca materia orgánica, una precipitación media anual de 519.1 mm y una temperatura media anual de 12.7 °C (SMN,1984).

Se seleccionaron aquellos árboles sanos que presentaban conos con apariencia sana, y que se encontraban espaciados a una distancia mayor de 50 m para evitar el efecto de coancestría. De cada árbol se colectaron 30 conos y se tomaron 10 semillas de la parte media del mismo para su posterior evaluación en el Instituto de Genética Forestal de la Universidad Veracruzana.

Para la determinación de las características de viabilidad de las semillas se empleó la técnica de Rayos X en 6 muestras de 100 semillas, dispuesta en un arreglo de 10 x siguiendo la metodología propuesta por De La Garza y Nepamuceno (1986), en un equipo de rayos X marca GRF-525 a un voltaje de 49 kVp y 50 de foco y 0.16 mAs de tiempo y Chasis Kodak con pantallas ortocromáticas, en el Centro de Cancerología del Hospital Macuiltepec, en Xalapa, Ver. Las placas se procesaron en una reveladora Kónica medical film processor SRX-301, a 105 s (procesador de la placa), 35.1°C (temperatura del revelador), 34.8°C (temperatura del fijador) y 51.7°C temperatura del agua.

Las placas irradiadas con rayos X fueron posteriormente examinadas en un transiluminador de luz blancas a fin de determinar el porcentaje de semillas vacías sobre la base de la densidad de las radiografías; de este modo se identificaron las semillas viables (semillas con embriones bien desarrollados) y semillas no viables (aquellas con daños mecánicos, malformadas, con megagametofito incompleto, sin embrión o vacías).

Se determinó la capacidad germinativa de las semillas siguiendo la metodología de la Asociación Internacional de Pruebas de semillas (ISTA, 1985), disponiéndose las semillas en un diseño completamente al azar con 8 repeticiones de 50 semillas por caja petri), bajo condiciones de laboratorio. A los 30 días se evaluó la capacidad germinativa de la misma a través del porcentaje de germinación obtenido.

Se evaluó, una muestra de 30 semillas llenas, determinado por la técnica de rayos X, los siguientes caracteres morfométricos: largo (LS), ancho (AS), grosor

Figura 1. *Ubicación geográfica de la población de* Pinus hartwegii *Lindl. bajo estudio. Fuente: Microsoft Atlas (1998).*

(GS), relación Largo / Ancho (L / A) y peso de la semilla (PS) ,el peso seco de la testa (PST), el peso seco del megagametofito (PMS) y el peso seco del embrión (PES). A partir de estas últimas evaluaciones se determinó el contenido de testa (PT), el grosor de la testa (GT) y la superficie de la semilla (SS) de acuerdo con la metodología descrita por Gómez-Roldán (2000).

Con el fin de describir la población se calcularon para cada característica examinada los valores de Coeficiente de Variación (CV) y de Factor de Variación (FV). En este último caso se tomó como base el carácter que mostró una menor variación (CIAT, 1983). Finalmente se realizó un análisis de componentes principales mediante el programa STATICTF (Versión 4).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los estudios para la caracterización de la viabilidad de las semillas de esta población permitió constatar la existencia de un elevado porcentaje semillas vacías por las técnica de rayos X (48.8%), así como un relativamente bajo porcentaje (43%) de germinación (Figura 2).

Estos resultados concuerdan en general con los bajos valores de viabilidad detectada por Solís (2002) en un estudio similar efectuado en la población de esta especie ubicada en el Pico de Orizaba. Este autor encontró valores de viabilidad de las semillas por las pruebas de rayos X de un 48.6%. Sin embargo, a diferencia de lo detectado en este trabajo detectó valores muy bajos de germinación (22.5%-33%, empleando semillas sin seleccionar y semillas llenas, respectivamente).

Cabe mencionar que los pinos al igual que otras especies de coníferas presentan un comportamiento germinativo sumamente variable (Niembro y Fierros, 1990) esto explica que se hayan detectado en *Pinus hartwegii* porcentajes de germinación que varíen entre 22.5-89% (García, 1982; Solórzano, 1987; Solís, 2002).

Por otra parte se confirma en este trabajo la utilidad que reviste el empleo de los análisis radiográficos en el estudio de la viabilidad de las semillas en esta especie lo cual ha sido puesto de manifiesto para otras especies forestales entre otros por Nieto de Pascual (1995) y Solís (2002). Esta prueba proporciona un análisis rápido y bastante preciso de las estructuras internas de la semilla, identificando aquellas semillas vacías, dañadas por insectos o pobremente desarrolladas (Bonner, 1998; Cicero *et al.*, 1998). Sin embargo, no brinda tan clara resolución de las estructuras internas como el análisis de imágenes provenientes del uso de los métodos de resonancia magnética y tomografía computarizada (Vozo *et al.*, 2000) por lo que se espera complementar a futuro este estudio mediante el empleo de estos procedimientos.

Cabe significar que el elevado porcentaje de semillas vacías detectado por métodos radiográficos se encuentra en concordancia con lo apuntado por Kuang *et al.* (1998) y Remington y O´Malley (2000) en relación a la presencia en muchas especies de *Pinus* de un elevado porcentaje de letalidad embrionaria a reducción en la producción de semillas llenas constituye, entre todas, el efecto más severo de depresión consanguínea.

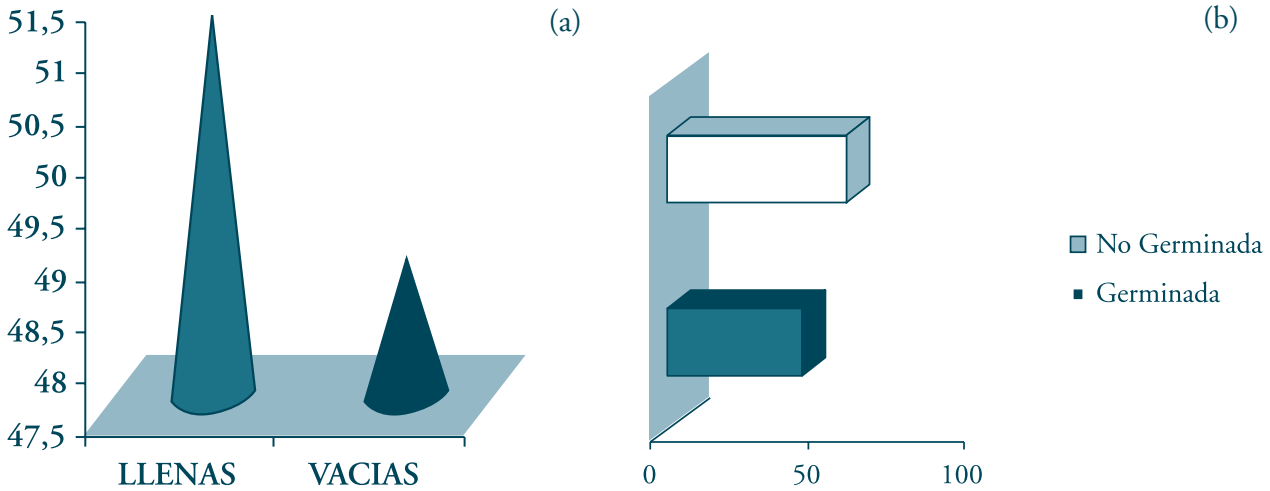

Figura 2. *Porcentaje de semillas llenas y vacías.(a): rayos X (b): prueba estándar de germinación.*

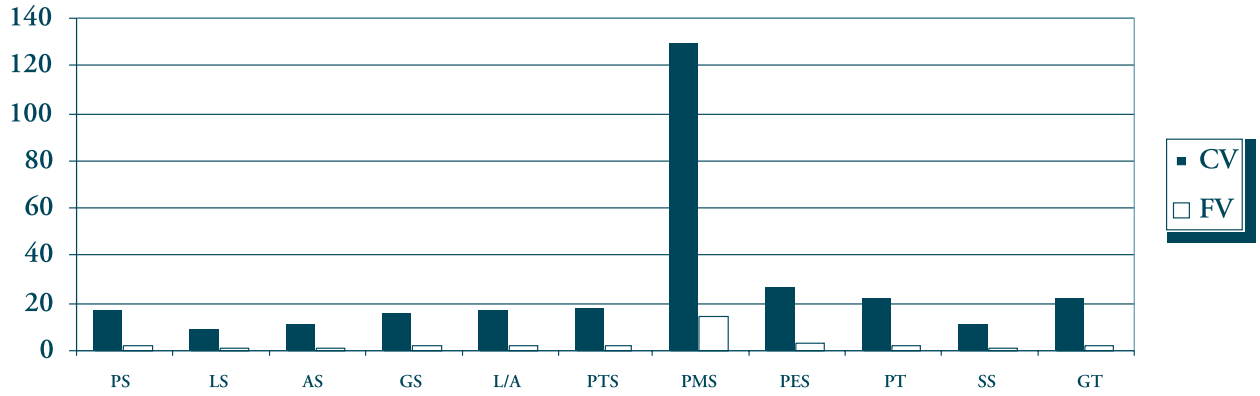

***Figura 3**. Variación en los valores de coeficiente y factor de variación para los caracteres morfométricos de la semilla evaluados (largo (LS), ancho (GS), grosor (GS), relación largo/ancho (L/A),contenido de testa (PTs), grosor de la testa (GT), superficie de la semilla (SS), peso de la semilla (PS), peso seco de la testa (PT), peso seco del megagametofito (PMS) y peso seco del embrión (PES).*

Por otra parte los resultados del análisis de los valores de coeficiente y factor de variación obtenidos de las once variables examinadas: largo (LS), ancho (GS), grosor (GS), relación largo/ancho (L/A),contenido de testa (PTs), grosor de la testa (GT), superficie de la semilla (SS), peso de la semilla (PS), peso seco de la testa (PT), peso seco del megagametofito (PMS) y peso seco del embrión (PES), reveló que la variable peso seco del megagametofito fue la que mostró valores relativamente mas elevados para el coeficiente y factor de variación (Figura 3).

	COMPONENTES PRINCIPALES		
	C1	C2	C3
λ_i	3.879	2.949	1.564
% Contribución Total	35.3	26.8	14.2
% Acumulado	35.3	62.1	76.3
AUTOVECTORES P S	0.414	-0.250	0.2080
L S	0.355	0.333	0.194
A S	0.207	-0.406	-0.176
G S	0.307	-0.249	0.097
L/A	0.068	0.517	0.271
PTS	0.421	-0.116	-0.059
PMS	-0.206	-0.183	0.472
PES	0.199	-0.180	0.489
PT	0.148	0.368	-0.338
S S	0.364	0.340	0.202
GT	0.384	-0.054	-0.429

C1-C2-C3: Componentes Principales; λ_i: Valor propio de la i-ésima componente; %: Porcentaje de la variabilidad total representada por la i-ésima componente; % Acumulado: Porcentaje acumulado en la variabilidad total representado en los componentes considerados. Autovectores: largo (LS), ancho (GS), grosor (GS), relación largo/ancho (L/A),contenido de testa (PTs), grosor de la testa (GT), superficie de la semilla (SS), peso de la semilla (PS), peso seco de la testa (PT), peso seco del megagametofito (PMS) y peso seco del embrión (PES).

***Tabla 2.** Matriz de valores y vectores propios del análisis de componentes principales.*

Los resultados del análisis de componentes principales efectuado revelaron que entre las variables que mayor contribuyeron a la formación de la primera componente estuvieron el peso, largo, grosor, peso seco de la testa y superficie de la semilla mientras que la segunda estuvo determinada por el ancho relación largo /ancho y porcentaje de testa y la tercera por las variables peso seco del megagametofito, embrión y el grosor de la testa (Tabla 2).

En la Figura 4 se presenta la distribución de los datos morfométricos de la semilla obtenidos de acuerdo con los dos primeros componentes. Sobre esta base fueron establecidos 4 grupos. Los dos primeros grupos estuvieron conformados por semillas que mostraron los valores menos elevados de: Peso, largo, grosor, peso testa y superficie de la semilla. El grupo III fue el que mostró los valores más elevados de: Ancho, relación largo ancho y porcentaje de testa de la semilla, contrastando con el grupo IV que mostró los menores valores para todas las características morfométricas evaluadas.

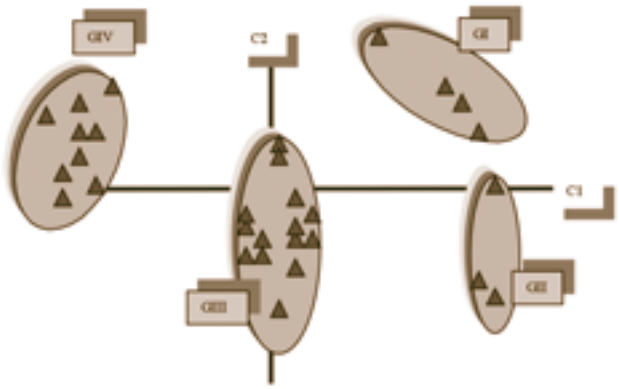

***Figura 4**. Representación gráfica de la variabilidad en las características morfométricas de las semillas según las dos primeras componentes. (C1 y C2: Componentes Principales; GI,GII,GIII y GIV: grupos).*

La variabilidad detectada para las características morfométricas examinadas confirma lo indicado por Ledig (1998) en relación con que el género *Pinus* constituye uno de los organismos más genéticamente variables, principalmente debido a su historia evolutiva y características ecológicas.

Se ha sugerido al respecto que la alta variabilidad intrapoblacional en los árboles forestales puede constituir una respuesta adaptativa a la heterogeneidad espacial y temporal encontrada en las poblaciones (Adams, 1981). Como se sabe la variación morfológica de una especie vegetal se encuentra íntimamente ligada a las condiciones medioambientales que prevalecen en el ciclo de vida de la misma, de modo que la estrecha relación planta-medio ambiente marca la importante propiedad para la especie vegetal de poseer la suficiente flexibilidad de desarrollo o normas de reacción amplias para existir en las condiciones donde se ubican (Stebbins, 1950, citado por Pérez, 1984).

Por otra parte los estudios efectuados en coníferas sobre la genética del tamaño de la semilla y otros atributos han indicado que las diferencias genotípicas representan uno de los componentes más importantes de la variación detectada (El-Kassaby 1992; Chaisurisri y El-Kassaby, 1994; Beaulieu y Simon, 1994). Tales diferencias en los caracteres evaluados, podrían ser benéficas para mantener la diversidad genética en la población. Cabe en particular destacar que es muy probable que las especies con semillas de mayor peso y tamaño tengan mayor oportunidad de sobrevivir las primeras fases de su ciclo de vida. Esto se confirma con la correlación detectada por diversos autores (Davidson *et al.* 1996) entre Peso de la semilla y capacidad de germinación lo cual puede tener implicaciones en la producción de vivero.

Los resultados obtenidos permitirán complementar los esfuerzos que en esta dirección se desarrollan en México a fin de establecer una estrategia más efectiva que no solo contribuye a la conservación de estos valiosos recursos genéticos forestales, proporcionando con ello un mejor control de la erosión genética, sino también a los trabajos de reforestación y rehabilitación de las poblaciones más afectadas.

De igual forma los resultados metodológicos obtenidos en este trabajo, pueden servir de base para el desarrollo de trabajos similares en otras poblaciones de esta especie y con ello coadyuvar a frenar el deterioro de estos valiosos recursos naturales, facilitar su restauración y sentar las bases para un aprovechamiento sostenible de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA

Por limitaciones de espacio, se ha omitido las referencias bibliográficas que pueden consultarse en:

http://carn.ua.es/cibio/cibiocast/publicaciones.htm