



Diferencias anatómicas en acículas de *Pinus tropicalis* Morelet en edátomos extremos de pizarras y arenas blancas en Pinar del Río

Needles anatomical differences of *Pinus tropicalis* Morelet in extreme soil of slate and white sandy

Liutmila Pérez-Del Valle,¹ Gretel Geada López,² Rogelio Sotolongo-Sospedra¹

¹Profesora de Botánica y Fisiología Forestal. Universidad de Pinar del Río "Hermanos Saíz Montes de Oca". Pinar del Río, Cuba. Correo electrónico: delvalle@upr.edu.cu

²Doctora en Ciencias Biológicas. Universidad de Pinar del Río "Hermanos Saíz Montes de Oca". Pinar del Río, Cuba. Correo electrónico: gabriel@upr.edu.cu

³Profesor Titular de la Carrera de Ingeniería Forestal. Presidente de la Comisión Nacional de Carrera. Universidad de Pinar del Río "Hermanos Saíz Montes de Oca". Pinar del Río, Cuba. Correo electrónico: soto@upr.edu.cu

Recibido: 3 de febrero de 2019.

Aprobado: 5 de mayo de 2019.

RESUMEN

P. tropicalis es una especie endémica del occidente de Cuba, priorizada en los Planes de Desarrollo Forestal hasta el 2030. Se desarrolla en edátomos muy contrastantes de arenas blancas y pizarras, por lo que a lo largo de los años debe mostrar diferencias anatómicas que le permitan crecer. El estudio tuvo como objetivo caracterizar la variación anatómica en cortes transversales de las acículas de la especie en tres localidades de Pinar del Río. Se detectaron diferencias en las variables anatómicas de las acículas. Las variables número de estomas, grosor de la hipodermis y número de

canales resiníferos logran separar la localidad San Ubaldo sobre arenas blancas de las restantes. El análisis de discriminante muestra con un 87 % de certeza la clasificación de los casos en cada una de las localidades de colecta (*a priori*) y las variables número de estomas, número de canales, grosor de cutícula y grosor de hipodermis las más discriminantes. Preliminarmente se infiere que las condiciones edáficas y la disponibilidad de agua influyen en la anatomía foliar.

Palabras clave: *Pinus tropicalis*; anatomía de las acículas; variación anatómica.

ABSTRACT

P. tropicalis is a species endemic to western Cuba, prioritized in Forest Development Plans until 2030. It develops in very contrasting edatopes of white sands and slates, so over the years it must show anatomical differences that allow it to grow. The objective of the study was to characterize the anatomical variation in transversal cuts of the needles of the species in three localities of Pinar del Río. Differences were detected in the anatomical variables of the needles. The variables number of stomas, thickness of the hypodermis and number of resin channels separate San Ubaldo on white sands from the rest. The discriminant analysis shows with 87% certainty the classification of the cases in each of the collection localities (*a priori*) and the variables number of stomata, number of channels, cuticle thickness and thickness of hypodermis the most discriminant. Preliminarily it is inferred that soil conditions and water availability influence foliar anatomy.

Krywords: *Pinus tropicalis*; needle anatomy; anatomical variation.

INTRODUCCIÓN

La caracterización anatómica y morfológica de las acículas ha sido empleada ampliamente para distinguir adaptaciones dentro de especies a condiciones ambientales particulares (Köbölkuti *et al.*, 2017; Jankowski *et al.*, 2017; Kivimäenpää *et al.*, 2017) y en algunos casos como caracteres para identificar o diferenciar especies de un mismo género, similares fenotípicamente, en particular en *Pinus* (García-Álvarez *et al.*, 2009); Iglesias *et al.*, 2012; Dörken y Stützel, 2012; Meng *et al.*, 2018).

Schoettle y Rochelle (2000) en *Pinus flexilis* reportaron una baja variación morfológica en variables del crecimiento del árbol (DAP, H, longitud, incrementos anuales y foliares) entre sitios ubicados entre 1 630 y 3 330 msnm y una marcada variación en variables anatómicas de la densidad estomática y el número de hileras de estos, asociándolo a una alta plasticidad fisiológica o una amplia tolerancia ecofisiológica. Reinhardt *et al.*,

(2011), en un estudio ecofisiológico en dos procedencias de esta especie, comprobaron un efecto significativo de la altitud sobre variables fisiológicas relacionadas con el intercambio gaseoso y la fotosíntesis y su relación con la variación en la anatomía del aparato estomático.

En especies con distribución euroasiática, *P. sylvestris* y *P. uncinata* (Boratyńska y Pashkevich, 2001; Boratyńska y Bobowicz, 2001), se encontraron variaciones anatómicas a nivel de la epidermis de la acícula que facilitaban la diferenciación entre ambas especies en hábitats simpátricos. Por su parte, Boratyńska *et al.*, (2003) emplearon la morfología y anatomía de las acículas para comparar dos poblaciones de *Pinus uliginosa* y cuantificar el grado de hibridación del complejo *P. mugo* x *P. sylvestris* en la definición taxonómica de *P. uliginosa*, a través de variables como número de estomas y de canales resiníferos.

García-Álvarez *et al.*, (2009) resaltan la importancia de las características de la estructura foliar en la identificación y clasificación especies del género *Pinus* del Mediterráneo Ibérico, a partir de láminas palinológicas con el uso de características de la cutícula y estomas.

Otros estudios muestran que variables asociadas a los canales resiníferos son factibles para la definición taxonómica en coníferas (Dörken y Stützel, 2012; Sheue *et al.*, 2014); Ghimire *et al.*, 2014) y entre poblaciones de una especie como rasgo adaptativo a la altitud y la exposición (Tiwari *et al.*, 2013; Köbölkuti *et al.*, 2017; Jankowski *et al.*, 2017).

Ju-Kyeong y Jung-Oh (2013) en un estudio anatómico de las acículas en 289 individuos de *Abies koriana*, detectaron una variación clinal en cuanto al número, tipo de canales resiníferos, ancho de la acícula y grosor de esta, lo cual estaría relacionado con la adaptación a ambientes más extremos. En estudios más recientes, Èortan *et al.*, (2017) demuestran que los estomas son rasgos genéticamente controlados, por lo que pueden ser usados para estudios de diferenciación entre poblaciones de *Populus nigra* en tres valles del río Danubio. De esta manera, variables anatómicas como longitud, ancho, forma de las estomas, ancho de poros, densidad estomática, coeficiente de forma y área de las estomas mostraban diferencias significativas entre poblaciones.

Pinus tropicalis Morelet es una especie endémica del occidente cubano y constituye un relicto del linaje euroasiático en Centro América (Geada-López *et al.*, 2002; Geada-López *et al.*, 2004; Gernandt *et al.*, 2005). La especie forma pinares puros continuos o en simpatría con *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* Barret y Golfari, sobre edátomos muy extremos: arenas blancas silíceas y pizarras (López-Almiral, 1982 y Geada-López *et al.*, 2004) reportaron diferencias morfológicas en el cono y las acículas y a nivel de ADN cloroplástico entre poblaciones que corresponden a edátomos de arenas blancas y pizarras.

De acuerdo a los aspectos antes mencionados y teniendo en cuenta que *P. tropicalis* habita los edátomos más extremos por sus características hídricas y nutricionales, esta investigación tiene como objetivo caracterizar la variación anatómica en acículas de la especie en tres localidades, diferenciar las poblaciones de acuerdo a las variables anatómicas y determinar la o las variables que más contribuyen a esta diferenciación. Todo esto fundamentará los planes para la selección de diferencias de fuentes semilleras que logren mejor establecimiento y productividad en función del sitio a plantar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo: el estudio se realizó en tres localidades correspondientes a poblaciones naturales de *P. tropicalis*: Petriles, San Ubaldo y Cayo la Mula de la provincia de Pinar del Río (Tabla 1). Se colectaron acículas de la porción media de cada árbol a razón de al menos 30 árboles por localidad.

Tabla 1. - Georreferenciación de las localidades de colecta de acículas de *P. tropicalis*.

Localidad	Coordenadas geográficas		Edátomo
	Latitud	Longitud	
Petriles	22° 23' 53"	84° 19' 24"	arenas blancas
San Ubaldo	22° 03' 52"	84° 01' 02"	arenas blancas
Cayo la Mula	22° 38' 56"	83° 35' 10"	pizarra

VARIABLES ANATÓMICAS MEDIDAS

Se realizaron cortes transversales a tres acículas de cada árbol, se midieron las siguientes variables anatómicas: número de estomas, número de canales, grosor de la cutícula, grosor de la epidermis, grosor de la hipodermis, grosor del parénquima clorofílico, grosor del parénquima de transfusión, distancia al canal derecho, distancia al canal izquierdo. Los valores fueron promediados para los análisis estadísticos. Adicionalmente, se clasificó el tipo del canal resinífero de acuerdo a Sheue *et al.*, (2014). Las mediciones se realizaron con un microscopio óptico modelo NLCD-307B.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Análisis de componentes principales: se empleó con el objetivo de revelar las relaciones entre variables, a fin de reducir la dimensionalidad del análisis y explicar las relaciones con un número mínimo de dimensiones y expresar la variabilidad conjunta de todas las variables. Se consideraron los componentes cuyos autovalores fueran superiores a uno; la matriz de componentes fue rotada de acuerdo al método Varimax. Para este análisis no se tuvo en cuenta el efecto del factor localidad.

Comparación entre localidades: se empleó la prueba de Kruskal-Wallis (k muestras independientes) para establecer si existían diferencias entre las localidades para cada una de las variables anatómicas estudiadas; y la prueba de U de MannWhitney (dos muestras independientes), ambas para $p = 0,05$ para comprobar si había un efecto significativo del factor localidad.

Clasificación de las localidades: se empleó la técnica multivariante de análisis de discriminante con el fin de maximizar las diferencias entre localidades, consideradas estas como variables dependientes o variables de clasificación. Como variables independientes se consideraron todas las variables anatómicas. Otro objetivo de este análisis fue el de identificar la(s) variables que más contribuyen a diferenciar las localidades.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características anatómicas de las acículas de *P. tropicalis*

La figura 1 representa la estructura equifacial de un corte transversal de una acícula de *P. tropicalis*. En la parte externa se aprecia una cutícula definida como modificación del tejido epidérmico que es uniestratificado. Hacia el interior se ubica un tejido hipodérmico formado por varias capas de células no uniformes; seguido a estos se localiza el parénquima clorofílico muy bien definido, formando paquetes delimitados por los amplios canales. Al interior se encuentra el parénquima de trasfusión muy amplio y en el centro los haces vasculares xilema y floema (Figura 1).

Los canales resiníferos variaron en su número, pero fueron clasificados de tipo marginal (Sheue *et al.*, 2014); estos pueden ocupar varios tejidos, desde el epidérmico hasta el parénquima clorofílico. Este carácter de tipo marginal es considerado ancestral para el género (Dörken y Stützel, 2012; Seong y Offner, 2013; Sheue *et al.*, 2014) y concuerda con la posición basal dentro del linaje de la sección *Pinus: subsección Pinus* de esta especie en la filogenia molecular (Gernandt *et al.*, 2005; Gernandt *et al.*, 2008; Keeley, 2012).

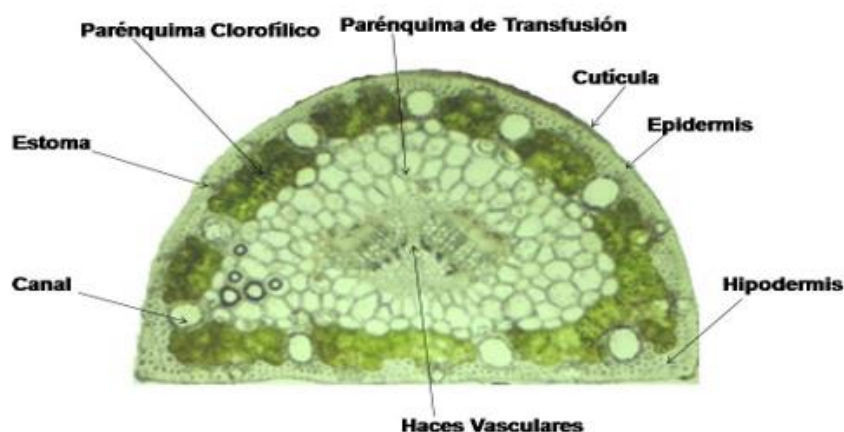


Fig. 1. - Estructura anatómica de un corte transversal de acícula de *P. tropicalis* de la localidad San Ubaldo.

Relación entre las estructuras anatómicas de acículas de *P. tropicalis*

De acuerdo a los resultados del análisis de componentes principales (Tabla 2), las relaciones entre las variables de la anatomía foliar de *P. tropicalis* se pueden explicar mediante tres dimensiones, cuyos autovalores son superiores a uno y que expresan el 55 % de la variabilidad presente.

Tabla 2.- Análisis de componentes principales realizado sobre la matriz de correlación de las variables anatómicas de acículas de *P. tropicalis*.

Variable anatómica	Comunalidad	Componente		
		1	2	3
Grosor de hipodermis	0,710	0,826	-0,149	-0,071
Número de canales	0,687	0,692	0,242	0,070
Grosor parénquima clorofílico	0,623	0,609	-0,295	0,478
Distancia canal izquierda	0,621	0,593	0,233	-0,182
Distancia canal derecha	0,582	0,091	0,762	-0,179
Número de estomas	0,542	0,053	0,742	0,169
Grosor parénquima transfusión	0,444	0,007	0,540	0,067
Grosor de cutícula	0,439	-0,213	0,065	0,758
Grosor de epidermis	0,296	0,087	0,059	0,658
Autovalor		1,987	1,629	1,329
Varianza explicada				
% de Variación		21,656	18,350	14,939
Acumulado %		21,656	40,006	54,945

De acuerdo al valor de las comunalidades, las variables que más contribuyeron a la segregación de los componentes fueron en orden del valor de extracción (mayor de 0,5): grosor de hipodermis, número de canales, grosor parénquima clorofílico, distancia canal izquierda, distancia canal derecha y número de estomas.

El primer componente explica la relación entre grosor de hipodermis, número de estomas y número de canales; las tres variables se correlacionan significativamente ($p < 0,01$) y de forma positiva. La relación entre estas tres variables podría estar asociada con el ambiente hídrico en que se desarrolla la especie.

El grosor de la hipodermis, con hasta cuatro capas de células, pudiera ser resultado de la adaptación al control a la pérdida de agua. El número de estomas, aunque contradictoriamente alto para el ambiente donde se desarrolla la especie, está muy hendido, llegando en ocasiones al parénquima clorofílico. Este comportamiento ha sido reportado por García-Álvarez *et al.* (2009); Tiwari *et al.*, (2013) y Köbölkuti *et al.*, (2017) para pinos que crecen en ambientes muy secos.

El segundo componente, que explica la relación de las distancias de los canales a la epidermis, muestra la alta simetría a ambos lados para todas las localidades; esto coincide con lo descrito para muchas especies filogenéticamente emparentadas donde

se describe una disposición marginal de estos canales (Seong y Offner, 2013 y Sheue *et al.*, 2014).

El grosor parénquima clorofílico, aunque contribuye a la varianza total en el análisis, es una variable que no se correlaciona significativamente con el resto, por tanto, no es útil a la hora de explicar las relaciones entre estas.

Comportamiento de las variables anatómicas por localidades

En la tabla 3, se presentan los valores promedios de las variables estudiadas por localidades, de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis, comprobándose un efecto significativo del factor localidad solamente sobre la variable número de estomas (Tabla 3)

Tabla 3. - Comportamiento promedio de las variables estudiadas por localidad.

Localidad	Número de estomas	Número de canales	Grosor de cutícula	Grosor de epidermis	Grosor de hipodermis	Grosor parénquima clorofílico	Grosor parénquima transfusión	Distancia canal derecha	Distancia canal izquierda
Pretilles	12,93 ^a	7,58	0,01	0,20	2,62	1,57	1,63	3,22	3,12
San Ubaldo	17,07 ^b	8,20	0,06	0,20	3,73	1,26	1,61	3,23	3,35
Cayo Mula	13,73 ^a	6,27	0,02	0,21	2,00	1,38	1,61	3,08	3,13

Letras desiguales indican diferencias significativas $p < 0,05$ prueba U de MannWhitney

El desarrollo y la diferenciación estomática están determinados por factores genéticos (He *et al.*, 1998), pero la morfología y los tipos anatómicos de las acículas de pino dependen, además, de los factores abióticos (Schoettle y Rochelle, 2000; Zhang *et al.*, 2012 y Jankowski *et al.*, 2017).

Por esto se deduce que el mayor número promedio de estomas en las muestras de la localidad de San Ubaldo pueden estar relacionados con las características edáficas, que se caracterizan por presentar suelos extremadamente arenosos, con muy poca retención de agua, y una alta reflexión de la luz por el color claro de su superficie.

Jinxing *et al.*, (2001) señalan que los parámetros estomáticos están afectados por factores tales como la altitud, concentración atmosférica de CO₂ (Loumala *et al.*, 2005; Hartikainen *et al.* 2009), la temperatura, la intensidad de la luz y la reflexión lumínica (Kivimäenpää *et al.*, 2017). Tiwari *et al.*, (2013) y Köbölkuti *et al.*, (2017) reportan que tanto para *P. roxburgii* y *P. sylvestris* la organización estomática tiene un importante rol en el ajuste de las plantas a diferentes altitudes, detectando que la densidad estomática se incrementa con la elevación, debido a una menor dispersión de la luz y una mayor tasa de transpiración. En cambio, Schoettle y Rochelle (2000), en la especie *Pinus flexilis* encuentran que en las montañas ocurre una disminución significativa en la densidad estomática con la elevación, relacionándolo con una respuesta de aclimatación para restringir la pérdida de agua a grandes altitudes.

Aunque estadísticamente no son significativos, tanto las características anatómicas de las acículas de *P. tropicalis* en la localidad de San Ubaldo, como el número de canales de resina, grosor de cutícula y grosor de hipodermis son superiores al resto de las localidades y el grosor del parénquima clorofílico es inferior. Estas características también pueden ser ajustes anatómicos a condiciones edáficas y microclimáticas singulares de estos ecótopos.

Ju-Kyeong y Jung-Oh, (2013) y Tiwari *et al.*, (2013), en un estudio comparativo de acículas de *Abies koreana* y *P.roxburguii*, comprobaron que las características de los canales de resina tienen una variación clinal y altitudinal. Por otro lado, O'Neill, *et al.*, (2002), en un estudio del efecto de la variación geográfica sobre las características de los canales de resina en plántulas de abetos, encontraron que el tamaño de los canales varió entre localidades y lo asocian a la extensión del verano, el índice de aridez y al efecto de la continentalidad.

Finalmente, *P. tropicalis* tiene canales marginales y su número varía en función de la disponibilidad de agua en las localidades, pero estudios más amplios son necesarios para explicar esta relación.

Clasificación de las localidades de acuerdo a las características anatómicas de las acículas.

En la tabla 4, se presenta la contribución de cada una de las variables empleadas para la clasificación.

Tabla 4. - Prueba de igualdad de medias entre grupos.

	Wilks' Lambda	F	df1	df2	Sig.
Número de estomas	0,609	32,792	2	102	0,00
Número de canales	0,735	18,424	2	102	0,00
Grosor de cutícula	0,828	10,619	2	102	0,00
Grosor de epidermis	0,993	0,376	2	102	0,687
Grosor de hipodermis	0,305	116,255	2	102	0,00
Grosor parénquima clorofílico	0,765	15,685	2	102	0,000
Grosor parénquima transfusión	1,000	0,023	2	102	0,978
Distancia canal derecha	0,997	0,160	2	102	0,852
Distancia canal izquierda	0,994	0,294	2	102	0,746

Se comprobó que las variables número de estomas, número de canales, grosor de cutícula, grosor de hipodermis y grosor del parénquima clorofílico tienen promedios desiguales en las variables discriminantes, por lo que contribuyen a diferenciar las localidades. De acuerdo a la prueba Wilks' Lambda, las dos funciones obtenidas son capaces de discriminar ($p < 0,05$) entre los grupos.

La primera función consigue explicar el máximo de diferencias entre las localidades, de acuerdo a los valores de los centroides de las funciones discriminantes, en particular entre la localidad de San Ubaldo con respecto a los otros dos grupos (Tabla 5). La

variable que más contribuye a distinguir este grupo, de acuerdo a los valores estandarizados de los coeficientes de las funciones discriminantes, es el grosor de hipodermis, seguida de número de estomas y de canales. La segunda función discrimina las dos localidades restantes, que se caracterizan por presentar un menor número de estomas, menor número de canales, menor grosor de cutícula y mayor grosor de parénquima clorofílico con respecto a San Ubaldo (Tabla 6).

Por la importancia que tiene el número de canales para la discriminación, es válido señalar que se han reportado variaciones intraespecíficas en *Picea mexicana* (Flores-López *et al.*, 2013), asociadas a condiciones de mayor humedad y menor aridez, y en *Picea sitchensis* y *Picea glauca* asociadas a una disminución por el efecto de la continentalidad en poblaciones al interior de su área de distribución (O'Neill *et al.*, 2002). De igual manera, Tiwari *et al.*, (2013) encontraron variaciones a lo largo de un gradiente latitudinal con una disminución de estas estructuras. Jankowski *et al.*, (2017), en un estudio realizado a *P. sylvestris* obtuvo que la adaptación al frío trajo consigo variaciones en la anatomía, demostrándose que existe una relación entre la temperatura, el número y volumen de canales positiva.

Sin embargo, para un pino insular con pequeño areal de distribución como *P. tropicalis* esta es la primera vez que se encuentra marcada diferencia en la anatomía de la acícula.

Tabla 5. - Centroides de las funciones discriminantes por grupos (localidad).

Localidad	Función	
	1	2
Pretilles	-0,892	0,821
San Ubaldo	3,080	-,217
Cayo La Mula	-1,742	-1,015

Tabla 6. - Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes canónicas.

	Función	
	1	2
Número de estomas	0,500	-0,704
Número de canales	0,315	0,518
Grosor de cutícula	0,197	-0,387
Grosor de epidermis	-0,136	0,070
Grosor de hipodermis	0,804	0,416
Grosor parénquima clorofílico	-0,507	0,502
Grosor parénquima transfusión	-0,010	-0,049
Distancia canal derecha	0,013	0,212
Distancia canal izquierda	0,111	0,227

En la figura 2, se representan los centroides de cada uno de los grupos o localidades y la ubicación, de acuerdo a los valores obtenidos de las funciones discriminantes, de cada uno de los casos. Se observa una mayor agrupación en las localidades de Pretiles y Cayo la Mula, que además tienen alrededor de un 20 % de solapamiento; o sea, casos de una u otra localidad que presentan características de la otra (Tabla 7).

Esto corrobora la singularidad desde el punto de vista edáfico de la localidad de San Ubaldo, que como se señaló anteriormente deben determinar las características anatómicas que prevalecen en esta localidad (Figura 2).

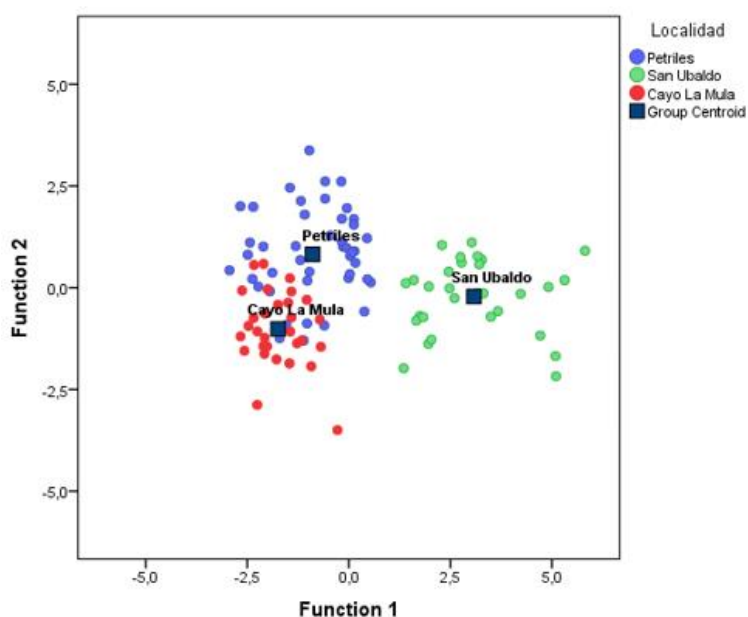


Fig. 2 - Distribución de los casos y los centroides de cada localidad en base a las dos primeras funciones discriminantes.

Las funciones discriminantes logran clasificar el 100 % de los casos de la localidad de San Ubaldo, distinguiéndola claramente del resto de las localidades. En la tabla 6 se presenta un resumen del análisis, a través del cual se logró clasificar correctamente el 86,7 % de los casos de acuerdo al grupo de pertenencia original. Por lo tanto, es posible clasificar, a partir de las variables anatómicas, las localidades; esto pudiera indicar que, en determinadas poblaciones, hubiera cierto grado de adaptación o aclimatación al ambiente.

Tabla 7. - Resultados de la clasificación.

Localidad		Grupo de pertenencia pronosticado			Total
		Pretiles	San Ubaldo	Cayo La Mula	
Original	Pretiles	80	0	20	100
	San Ubaldo	0	100	0	100
	Cayo La Mula	16,7	0	83,3	100

Varios investigadores han reconocido que el análisis de las características morfológicas, debe ser realizado en una situación bien concebida, lo que quiere decir que las colectas deben ser a través de toda el área de distribución de la especie.

La anatomía de las acículas de *P. tropicalis* corresponde a una estructura equifacial semicircular con grandes canales resiníferos de tipo marginal, estomas hendidos, parénquima de transfusión y clorofílico bien definidos.

Existe una gran variación en las variables anatómicas entre las localidades y una relación significativa entre las variables grosor de hipodermis, número de estomas y número de canales, aspecto que pudiera estar relacionado con las condiciones hídricas donde se desarrolla la especie.

Las variables anatómicas número de estomas, número de canales, grosor de cutícula y grosor de hipodermis logran clasificar correctamente las tres localidades.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORATYŃSKA, K. y BOBOWICZ, M.A., 2001. *Pinus uncinata* Ramond taxonomy based on needle characters. *Plant Systematics and Evolution* [en línea], vol. 227, no. 3, pp. 183-194. [Consulta: 6 mayo 2019]. ISSN 1615-6110. DOI 10.1007/s006060170047. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s006060170047>.
- BORATYŃSKA, K., BORATYŃSKI, A. y LEWANDOWSKI, A., 2003. Morphology of *Pinus uliginosa* (Pinaceae) needles from populations exposed to and isolated from the direct influence of *Pinus sylvestris*. *Botanical Journal of the Linnean Society* [en línea], vol. 142, no. 1, pp. 83-91. [Consulta: 6 mayo 2019]. ISSN 0024-4074. DOI 10.1046/j.1095-8339.2003.00156.x. Disponible en: <https://academic.oup.com/botlinnean/article/142/1/83/2433528>.
- BORATYŃSKA, K. y PASHKEVICH, N.A., 2001. Variability in needle traits of *Pinus mugo* Turra in the Ukrainian Carpathians. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* [en línea], vol. 70, no. 3, pp. 181-186. [Consulta: 6 mayo 2019]. ISSN 2083-9480. DOI 10.5586/asbp.2001.023. Disponible en: <https://pbsociety.org.pl/journals/index.php/asbp/article/view/asbp.2001.023>.
- CORTAN, D., VILOTIC, D., SIJACIC-NIKOLIC, M. y MILJKOVIC, D., 2017. Leaf stomatal traits variation within and among black poplar native populations in Serbia. *Bosque (Valdivia)* [en línea], vol. 38, no. 2, pp. 337-345. [Consulta: 6 mayo 2019]. ISSN 0717-9200. DOI 10.4067/S0717-92002017000200011. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0717-92002017000200011&lng=es&nrm=iso&tIng=en.
- DÖRKEN, V.M. y STÜTZEL, T., 2012. Morphology, anatomy and vasculature of leaves in *Pinus* (Pinaceae) and its evolutionary meaning. *Flora - Morphology, Distribution,*

- Functional Ecology of Plants* [en línea], vol. 207, no. 1, pp. 57-62. [Consulta: 6 mayo 2019]. ISSN 0367-2530. DOI 10.1016/j.flora.2011.10.004. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367253011001563>.
- EO, J.-K. y HYUN, J.-O., 2013. Comparative anatomy of the needles of *Abies koreana* and its related species. *Turkish Journal of Botany* [en línea], vol. 37, pp. 553-560. DOI 10.3906/bot-1201-32. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/296923510_Comparative_anatomy_of_the_needles_of_Abies_koreana_and_its_related_species.
- FLORES-LÓPEZ, C.; GEADA-LÓPEZ, G.; LÓPEZ-UPTON, J. 2013. Morphological variation in natural population of *Picea mexicana* Martínez. *Revista Forestal Baracoa*, 32(2):3-9.
- GARCÍA ÁLVAREZ, S., GARCÍA AMORENA, I., RUBIALES, J.M. y MORLA, C., 2009. The value of leaf cuticle characteristics in the identification and classification of Iberian Mediterranean members of the genus *Pinus*. *Botanical Journal of the Linnean Society* [en línea], vol. 161, no. 4, pp. 436-448. [Consulta: 6 mayo 2019]. ISSN 1095-8339. DOI 10.1111/j.1095-8339.2009.01011.x. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1095-8339.2009.01011.x>.
- GEADA LÓPEZ, G., KAMIYA, K., HARADA, K., 2004. PHYLOGENY OF DIPLOXYLON PINES (SUBGENUS PINUS). *Forest Genetics* [en línea], vol. 11, pp. 213-221. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/270902683_PHYLOGENY_OF_DIPLOXYLON_PINES_SUBGENUS_PINUS.
- GERNANDT, D.S., LÓPEZ, G.G., GARCÍA, S.O. y LISTON, A., 2005. Phylogeny and Classification of *Pinus*. *Taxon* [en línea], vol. 54, no. 1, pp. 29-42. [Consulta: 6 mayo 2019]. ISSN 0040-0262. DOI 10.2307/25065300. Disponible en: <https://www.jstor.org/stable/25065300>.JSTOR
- GERNANDT, D.S., MAGALLÓN, S., GEADA LÓPEZ, G., ZERÓN FLORES, O., WILLYARD, A. y LISTON, A., 2008. Use of Simultaneous Analyses to Guide Fossil Based Calibrations of Pinaceae Phylogeny. *International Journal of Plant Sciences* [en línea], vol. 169, no. 8, pp. 1086-1099. [Consulta: 6 mayo 2019]. ISSN 1058-5893. DOI 10.1086/590472. Disponible en: <https://www.jstor.org/stable/10.1086/590472>.
- GHIMIRE, B., LEE, C. y HEO, K., 2014. Leaf anatomy and its implications for phylogenetic relationships in Taxaceae s. l. *Journal of Plant Research*, vol. 127, no. 3, pp. 373-388. ISSN 1618-0860. DOI 10.1007/s10265-014-0625-3.
- HARTIKAINEN, K., NERG, A.-M., KIVIMÄENPÄÄ, M., KONTUNEN-SOPPELA, S., MÄENPÄÄ, M., OKSANEN, E., ROUSI, M. y HOLOPAINEN, T., 2009. Emissions of volatile organic compounds and leaf structural characteristics of European aspen

- (*Populus tremula*) grown under elevated ozone and temperature. *Tree Physiology*, vol. 29, no. 9, pp. 1163-1173. ISSN 0829-318X. DOI 10.1093/treephys/tpp033.
- He, X. Q.; Lin, Y.H.; Lin, J.X. 1998. Research on correlation between stomatal density and variation of atmospheric carbon dioxide during a century (in Chinese). *Chinese Science Bulletin*, 43:860-862.
- IGLESIAS, L.G., SOLÍS-RAMOS, L.Y. y VIVEROS-VIVEROS, H., 2012. Variación morfológica en dos poblaciones naturales de *Pinus hartwegii* Lindl. del estado de Veracruz. *Phyton (Buenos Aires)* [en línea], vol. 81, no. 2, pp. 239-247. [Consulta: 6 mayo 2019]. ISSN 1851-5657. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1851-56572012000200017&lng=es&nrm=iso&tlng=pt.
- JANKOWSKI, A., WYKA, T.P., YTKOWIAK, R., NIHLGÅRD, B., REICH, P.B. y OLEKSYN, J., 2017. Cold adaptation drives variability in needle structure and anatomy in *Pinus sylvestris* L. along a 1,900 km temperate-boreal transect. *Functional Ecology* [en línea], vol. 31, no. 12, pp. 2212-2223. [Consulta: 6 mayo 2019]. ISSN 1365-2435. DOI 10.1111/1365-2435.12946. Disponible en: <https://besjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1365-2435.12946>.
- KEELEY, J.E., 2012. Ecology and evolution of pine life histories. *Annals of Forest Science* [en línea], vol. 69, no. 4, pp. 445-453. [Consulta: 6 mayo 2019]. ISSN 1297-966X. DOI 10.1007/s13595-012-0201-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13595-012-0201-8>.
- KIVIMÄENPÄÄ, M., SUTINEN, S., VALOLAHTI, H., HÄIKIÖ, E., RIIKONEN, J., KASURINEN, A., GHIMIRE, R.P., HOLOPAINEN, J.K. y HOLOPAINEN, T., 2017. Warming and elevated ozone differently modify needle anatomy of Norway spruce *Picea abies* and Scots pine *Pinus sylvestris*. *Canadian Journal of Forest Research* [en línea], vol. 47, no. 4, pp. 488-499. [Consulta: 6 mayo 2019]. ISSN 0045-5067, 1208-6037. DOI 10.1139/cjfr-2016-0406. Disponible en: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/cjfr-2016-0406>.
- KÖBÖLKUTI, Z.A., TÓTH, E.G., LADÁNYI, M. y HÖHN, M., 2017. Morphological and anatomical differentiation in peripheral *Pinus sylvestris* L. populations from the Carpathian region. S.l.: s.n., DOI 10.12657/denbio.077.009.
- LIN, J., JACH, M.E. y CEULEMANS, R., 2001. Stomatal density and needle anatomy of Scots pine (*Pinus sylvestris*) are affected by elevated CO₂. *New Phytologist* [en línea], vol. 150, no. 3, pp. 665-674. [Consulta: 6 mayo 2019]. ISSN 1469-8137. DOI 10.1046/j.1469-8137.2001.00124.x. Disponible en: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1469-8137.2001.00124.x>.

- LÓPEZ-ALMIRAL, A., 1982. Variabilidad del género *Pinus* (Pinaceae) en Cuba. *Acta Botánica Cubana* [en línea], vol. 12, no. 1, pp. 43. ISSN 2519-7754. Disponible en: <http://revistas.geotech.cu/index.php/abc/index>.
- LUOMALA, E.M.; LAITINEN, K.; SUTINEN, S.; KELLOMÄKI, S.; VAPAAVUORI, E. 2005. Stomatal density, anatomy and nutrient concentrations of Scots pine needles are affected by elevated CO₂ and temperatura. *Plant, Cell and Environment*, 28:733749.
- MENG, J., CHEN, X., HUANG, Y., WANG, L., XING, F. y LI, Y., 2018. Environmental contribution to needle variation among natural populations of *Pinus tabuliformis*. *Journal of Forestry Research* [en línea], [Consulta: 6 mayo 2019]. ISSN 1993-0607. DOI 10.1007/s11676-018-0722-6. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11676-018-0722-6>.
- O'NEILL, G.A., AITKEN, S.N., KING, J.N. y ALFARO, R.I., 2002. Geographic variation in resin canal defenses in seedlings from the Sitka spruce × white spruce introgression zone. . S.l.: s.n., DOI 10.1139/x01-206.
- REINHARDT, K., CASTANHA, C., GERMINO, M.J., KUEPPERS, L.M. y PEREIRA, J., 2011. Ecophysiological variation in two provenances of *Pinus flexilis* seedlings across an elevation gradient from forest to alpine. *Tree Physiology* [en línea], vol. 31, no. 6, pp. 615-625. [Consulta: 6 mayo 2019]. ISSN 0829-318X. DOI 10.1093/treephys/tpr055. Disponible en: <https://academic.oup.com/treephys/article/31/6/615/1657213>.
- SATYENDRA PRAKASH, T., PRADEEP, K., DEEPIKA, Y. y DEVENDRA KUMAR, C., 2013. Comparative morphological, epidermal, and anatomical studies of *Pinus roxburghii* needles at different altitudes in the North-West Indian Himalayas. *Turkish Journal of Botany* [en línea], vol. 37, pp. 65-73. [Consulta: 6 mayo 2019]. Disponible en: https://www.academia.edu/5992716/Comparative_morphological_epidermal_and_anatomical_studies_of_Pinus_roxburghii_needles_at_different_altitudes_in_the_North-West_Indian_Himalayas.
- SCHOETTLE, A.W. y ROCHELLE, S.G., 2000. Morphological variation of *Pinus flexilis* (Pinaceae), a bird-dispersed pine, across a range of elevations. *American Journal of Botany*, vol. 87, no. 12, pp. 1797-1806. ISSN 0002-9122.
- SEONG, D. y OFFNER, S., 2013. A Phylogenetic Study of Conifers Describes Their Evolutionary Relationships and Reveals Potential Explanations for Current Distribution Patterns |. *Journal of Emerging Investigators* [en línea], pp. 1-9. [Consulta: 6 mayo 2019]. Disponible en: <https://www.emerginginvestigators.org/system/articles/pdfs/000/000/053/original/6d76e2286cd825ff847f2eb1cf77ad39aa702bc3.pdf>.
- SHEUE, C.-R., CHANG, H.-C., YANG, Y.-P., LIU, H.-Y., CHESSON, P. y HSU, F.-H., 2014. A new classification of marginal resin ducts improves understanding of hard pine

(Pinaceae) diversity in Taiwan. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* [en línea], vol. 209, no. 8, pp. 414-425. [Consulta: 6 mayo 2019]. ISSN 0367-2530. DOI 10.1016/j.flora.2014.06.007. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367253014000760>.

ZHANG, L., NIU, H., WANG, S., ZHU, X., LUO, C., LI, Y. y ZHAO, X., 2012. Gene or environment? Species-specific control of stomatal density and length. *Ecology and Evolution* [en línea], vol. 2, no. 5, pp. 1065-1070. [Consulta: 6 mayo 2019]. ISSN 2045-7758. DOI 10.1002/ece3.233. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3399171/>.



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional.

Copyright (c) 2019 Liutmila Pérez-Del Valle