

HIBRIDACIÓN NATURAL ENTRE *PINUS OOCARPA* Y *P. PRINGLEI*¹

JAVIER LÓPEZ UPTON
VALENTÍN VELAZCO FISCAL
JESÚS JASSO MATA
CARLOS RAMÍREZ HERRERA

Y

J. JESÚS VARGAS HERNÁNDEZ

Especialidad Forestal
Instituto de Recursos Naturales
Colegio de Postgraduados
56230 Montecillo, Méx.
correo electrónico: uptonj@colpos.mx

RESUMEN

Se determinó la existencia de hibridación natural entre *P. oocarpa* Schiede ex Schlechtendal y *P. pringlei* Shaw analizando una muestra de 30 árboles que habitan naturalmente en simpatria y que incluyó individuos catalogados como híbridos putativos. El área de hibridación se localiza en el municipio de Ario de Rosales, Michoacán. Se utilizó un análisis discriminante de variables canónicas con 19 características morfológicas y anatómicas de acículas, conos y semillas. Los árboles inicialmente catalogados como híbridos putativos resultaron con valores intermedios en la mayoría de las características estudiadas. De éstas las que mayormente contribuyeron en las funciones de discriminación canónica y en la separación de las especies progenitoras de los árboles híbridos en estudio, resultaron ser el número de acículas por fascículo, el de hileras de estomas en la cara dorsal, el de canales resiníferos internos y septales, así como la longitud del pedúnculo y el diámetro del cono. Un segundo análisis discriminante fue realizado con muestras de diez árboles de *P. oocarpa* y siete de *P. pringlei* de rodales puros habitando alopatricamente y los de los 30 árboles del rodal en simpatria. El análisis gráfico indicó que los árboles de cada especie se aglomeraron opuestamente unos de otros, aunque los individuos de los rodales puros lo hicieron ligeramente hacia los extremos, lo que puede indicar un posible proceso de infiltración genética en el área de hibridación en estudio.

Palabras clave: *Pinus oocarpa*, *Pinus pringlei*, híbridos putativos, análisis discriminante.

ABSTRACT

Natural hybridization between *Pinus oocarpa* Schiede ex Schlechtendal and *P. pringlei* Shaw was detected in a sample of 30 individual trees living in sympatry including putative hybrid trees. The

¹ Trabajo realizado con el apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, proyecto 0375-A9108 "Colecta y evaluación de semilla de cinco especies de pino en la cuenca del Lago de Pátzcuaro, Michoacán".

area of hybridization is located near Ario de Rosales, Michoacán, México. The canonical discriminant analysis used in the study included a total of 19 morphological and anatomical leaf, cone and seed traits. Trees initially characterized as putative hybrids had intermediate values between parental species for most traits. The number of leaves per fascicle, rows of stomata on the dorsal surface, internal and septal resin canals, peduncle length and cone diameter contributed the most to the canonical discriminant functions and to the separation of the parental species and putative hybrid trees. A second discriminant analysis was performed on samples from 10 trees of *P. oocarpa* and 7 trees of *P. pringlei* collected from pure stands outside the area of sympatry and on the data from the 30 trees sampled throughout the sympatric area. In a graphic analysis, trees of every species separated into opposite groups. Furthermore, trees from pure stands were positioned toward the extremes of these groups, indicating a possible process of introgression within the population where hybridization was believed to occur.

Key words: *Pinus oocarpa*, *Pinus pringlei*, putative hybrids, discriminant analysis.

INTRODUCCIÓN

En México el género *Pinus* se encuentra representado por 54 especies que crecen en diferentes condiciones naturales (Perry, 1991). Sin embargo, es frecuente encontrar formas intermedias entre dos o más de ellas (Martínez, 1948; Hernández, 1967; Lanner, 1974), por lo que su disposición taxonómica se dificulta. En la mayoría de los casos, los híbridos pasan desapercibidos al ser considerados sólo como variantes de una de las especies progenitoras. La hibridación interespecífica en el género *Pinus* en México y Centro América no es rara en los rodales naturales. Zobel y Talbert (1984) y Zobel et al. (1987) señalan que es posible identificar una especie en la base de una montaña, que gradualmente se convierte en una forma intermedia pendiente arriba, hasta que en la cima la población se clasifica como otra especie.

A pesar del aislamiento, de la asincronía en la maduración del polen y de las fallas en el proceso de polinización y fertilización, se han encontrado numerosos casos de hibridación natural entre especies de grupos afines del género *Pinus* (Martínez, 1948; Mergen et al., 1965). Diferentes autores han sugerido la presencia de varios híbridos naturales en México: Martínez (1948) y Hernández (1967) indican la cruce natural de *P. rudis* Endl., *P. hartwegii* Lindley y *P. montezumae* Lamb., Martínez (1948) menciona la hibridación natural de *P. pringlei* Shaw y *P. patula* Schiede al observar una forma intermedia con las hojas delgadas; Shaw (1909) sugiere que *Pinus reflexa* Engelm. es intermedio entre *P. ayacahuite* var. *brachyptera* Shaw y *P. flexilis* James por presentar características de ambos; Perry (1991) indica que en forma natural se han observado híbridos de *P. montezumae* x *P. michoacana* Mart. y *P. montezumae* x *P. pseudostrobus* Lindley. Lanner (1974) concluye que *P. quadrifolia* Parlatore es el resultado de una hibridación natural entre *P. monophylla* Torrey & Frémont y un pino piñonero de cinco hojas no conocido.

Desde el punto de vista evolutivo puede definirse al híbrido como el resultado del cruzamiento entre poblaciones que poseen diferentes genes (Stebbins, 1978). En silvicultura, el término alude al resultado del cruzamiento entre especies diferentes (Wright, 1964). Cuando se originan híbridos capaces de reproducirse, su descendencia puede

estabilizarse mediante el arraigo de características intermedias, y por selección natural aumentar en forma notable la frecuencia de genes que generen mayor adaptabilidad de los árboles al medio (Wright, 1964).

Esta situación puede tornarse ventajosa, ya que la cruce entre individuos de genotipos diferentes puede aumentar la variación natural y ser de gran utilidad en un programa de mejoramiento genético (Zobel y Talbert, 1984). Además, los estudios sobre hibridación interespecífica ayudan a comprender el mecanismo de diferenciación de los taxa (Saylor y Smith, 1966). En algunos casos dos especies se hibridan libremente y se retrocruzan en forma repetida provocando un flujo génico de una a otra, fenómeno que se conoce como introgresión (Zobel y Talbert, 1984), cuando el proceso se realiza a lo largo de generaciones.

Durante los trabajos de colecta de semilla que el personal del Programa Forestal del Colegio de Postgraduados realizó en la localidad de la Cebadilla Chica, municipio de Ario de Rosales, Michoacán, se observó que había árboles con características morfológicas intermedias entre *Pinus oocarpa* Schiede ex Schlechtendal y *P. pringlei* Shaw.

Pinus oocarpa y *P. pringlei* pertenecen a la subsección *Oocarpa* de la sección *Serotinae* (Martínez, 1948; Perry, 1991). Estas especies son de interés forestal para regiones tropicales y subtropicales (Greaves, 1978; Dvorak y Donahue, 1993). Así, Poynton (1979) indica que la madera de *Pinus pringlei* presenta mayor peso específico que la de *P. patula*. Ambas especies tienen una alta producción y calidad de resina (Anónimo, 1980). *Pinus oocarpa* es una especie muy variable, que se distribuye de manera natural desde el estado de Sonora en México hasta Nicaragua, en un intervalo de amplitud de 3,000 km (Nepamuceno y Sánchez, 1987). *Pinus pringlei* es un taxon endémico de México, que crece naturalmente en áreas templadas y subtropicales, principalmente en Oaxaca, Guerrero y Michoacán, con algunas pequeñas poblaciones en los estados de México, Morelos, Puebla y Tlaxcala (Donahue, 1989).

Las técnicas de análisis canónico se han usado para resolver problemas de la sistemática, sobresaliendo las aplicadas en el género *Pinus* (Mergen et al., 1965; Namkoong, 1966; Dancik y Barnes, 1975; Styles et al., 1982; Stead, 1983). Los procedimientos más comúnmente empleados en estudios taxonómicos han sido el Análisis de Componentes Principales y el Análisis Discriminante, este último es particularmente útil para seleccionar los caracteres que mejor separaran los taxa (Dancik y Barnes, 1975; Stead, 1983). Por ejemplo, Stead (1983) utilizó el análisis discriminante con caracteres morfológicos y anatómicos de acículas y conos en el grupo *Pseudostrobus*. Silva (1990) usó análisis canónicos con 15 variables morfológicas de hojas, y concluyó que *Pinus oocarpa* var. *ochoterenae* Mart. y *P. tecunumanii* Eguluz & Perry deben ser considerados como taxa diferentes. Molina (1987) comparó 49 taxa de pinos del Pinetum "Maximino Martínez" con 18 variables de morfología y anatomía obteniendo agrupaciones de especies de acuerdo con la taxonomía aceptada en el género *Pinus*. Por medio del análisis canónico, Styles et al. (1982) comprobaron la presencia de hibridación natural de *P. oocarpa* x *P. caribaea* var. *hondurensis* Barret & Golfari.

En este estudio se pretende determinar la existencia de hibridación natural entre *P. oocarpa* y *P. pringlei* en un rodal en simpatría, mediante la comparación de variables morfológicas y anatómicas por medio del análisis de discriminación canónica, además de distinguir las variables que marcan las diferencias y que ayudan a separar los taxa, e inferir algunas ideas sobre la evolución y filogenia de las dos especies.

METODOLOGÍA

Ubicación y muestreo del rodal en simpatría

El rodal mezclado de *Pinus oocarpa* y *P. pringlei* con algunos indicios de hibridación natural se encuentra ubicado en Cebadilla Chica, mpio. de Ario de Rosales, Michoacán (19°06'N, 101°47'W y a una altitud de 1,470 m). En la primavera de 1993 se colectaron muestras botánicas de 30 árboles, las cuales con base en el tamaño de cono y el número de hojas por fascículo fueron catalogadas inicialmente como *Pinus oocarpa*, *P. pringlei* (Martínez, 1948; Madrigal, 1982) e híbridos putativos; éstos últimos fueron inferidos a primera vista en función de las características intermedias entre los dos taxa. En el laboratorio se analizaron las muestras, descartándose que pudieran pertenecer a otro pino serotino, como por ejemplo alguna de las cuatro variedades de *P. oocarpa* diferentes a la típica: *P. oocarpa* var. *microphylla* Shaw, *P. oocarpa* var. *manzanoi* Mart., *P. oocarpa* var. *ochoterena* Mart. y *P. oocarpa* var. *trifoliata* Mart. (Martínez, 1948; Perry, 1991).

Variables en estudio

De cada árbol se utilizaron conos maduros y follaje plenamente desarrollado de la parte media de la copa, y se determinaron y registraron los valores de 31 variables morfológicas y anatómicas de hojas, conos y semillas (Cuadro 1). El número de acículas por fascículo se contó en 50 fascículos, de todos los demás rasgos se tomó nota en 10 muestras por árbol. Las características de la anatomía interna de las hojas (variables 8 a 11 del Cuadro 1) se determinaron en cortes transversales en la parte media de la acícula y tratados con ácido láctico, como indica Martínez (1948), para observarse con un microscopio. Se tomaron 10 conos al azar por árbol de la parte media de la copa para apreciar las características del cono, escamas y semillas.

Análisis de la información del rodal en simpatría

Todos los valores obtenidos y capturados se sometieron a un análisis de correlación lineal simple a través del procedimiento CORR del "Statistical Analysis System" (SAS, 1988). Aquellas variables que tuvieron correlaciones altas y significativas con otras, y que además se sucedieron de manera repetida, fueron desechadas con la finalidad de eliminar efectos de colinealidad. De esta forma el estudio se redujo a 19 caracteres que se analizaron a través del Procedimiento Discriminate Canónico (CANDISC). Tal método parte de un conjunto de datos determinados en las mediciones inicialmente efectuadas y genera variables canónicas o combinaciones lineales de las variables originalmente evaluadas que resumen la variación entre las clases o factores de clasificación (SAS, 1988). En este estudio los factores de clasificación fueron los taxa.

El CANDISC indica cuántas variables canónicas resultan significativas para realizar la clasificación (separación) y señala los caracteres originalmente medidos que contribuyen mayormente en la discriminación de los factores de clasificación (taxa en este estudio).

Cuadro 1. Descripción de las variables de hojas, conos y semillas determinadas en *P. oocarpa*, *P. pringlei* e híbridos putativos.

Variable	Abreviatura	Descripción de la medición
1. Número de acículas por fascículo	NOHOJA	50 fascículos seleccionados al azar
2. Longitud de la acícula más larga de cada fascículo	LONGACI	Se midió con una regla graduada con aproximación de 1 mm
3. Grosor de acícula (en la mitad de la acícula)	GROSACI	Con un vernier digital y aproximación de 0.1 mm
4. Longitud de vaina	LONGVAI	Con un vernier digital y aproximación de 0.1 mm
5. Número de hileras de estomas (en la mitad de la acícula)		En un microscopio estereoscópico (10x)
a) cara dorsal	HECD	Cara externa, redonda
b) cara ventral 1	HECV1	Cara interna 1
c) cara ventral 2	HECV2	Cara interna 2
6. Número de estomas por tramo de 1.25 mm de largo (en la parte media de la acícula):		Con la graduación marcada en la lente de la lupa en microscopio estereoscópico (10x)
a) cara dorsal	ECD	Cara externa, redonda en la acícula
b) cara ventral 1	ECV1	Cara interna 1
c) cara ventral 2	ECV2	Cara interna 2
7. Número de dientes por tramo de 1.25 mm de largo en una de las aristas de la acícula	NODI	Igual a 6
8. Número total de células endodérmicas	CELEND	En cortes transversales. Preparaciones con ácido láctico. Registro: número máximo por cada muestra
9. Número total de canales resiníferos	NOCR	Igual a 8
10. Número de canales resiníferos por posición:		Igual a 8
a) internos	CRI	Tocan endodermo
b) medios	CRM	No tocan hipodermo ni endodermo
c) externos	CRE	Tocan hipodermo
d) septales	CRS	Tocan hipodermo y endodermo
11. Número de células del canal resinífero	CELCR	Células que rodean el canal resinífero; igual a 8
12. Longitud del cono	LONGOCO	Con vernier, aprox. de 1 mm
13. Diámetro del cono cerrado	DIAMCO	Con vernier, aprox. de 1 mm
14. Longitud promedio de 10 semillas	LONGSE	Con vernier, aprox. de 0.1 mm
15. Anchura promedio de 10 semillas	ANCHOSE	Con vernier, aprox. de 0.1 mm
16. Longitud del ala de la semilla	LONGALA	Con vernier, aprox. de 0.1 mm
17. Anchura del ala de la semilla	ANCHALA	Con vernier, aprox. de 0.1 mm
18. Largo de la escama del cono	LONGESC	Con vernier, aprox. de 1 mm
19. Anchura de la escama del cono	ANCHESC	Con vernier, aprox. de 1 mm
20. Longitud de la apófisis de la escama	LONGAPO	Con vernier, aprox. de 0.1 mm
21. Anchura de la apófisis de la escama	ANCHAPO	Con vernier, aprox. de 0.1 mm
22. Altura de la apófisis de la escama	ALTAPO	Con vernier, aprox. de 0.1 mm
23. Longitud del pedúnculo	LONGPED	Con vernier, aprox. de 1 mm
24. Ancho del pedúnculo	ANCHPED	Con vernier, aprox. de 0.1 mm

*Martínez, 1948.

Utilizando las variables canónicas más significativas se graficaron todos los árboles de las tres entidades en estudio para determinar si se separaban los de *P. oocarpa* de los de *P. pringlei* y si el híbrido se encontraba intermedio entre éstos como evidencia de hibridación. Para expresar lo anterior en forma gráfica se utilizó la siguiente ecuación (SAS, 1988):

$$\text{CAN } x_j = (x_{ij} - x_i) * \text{CO} \dots\dots\dots (1)$$

donde:

- CAN x_j = valor de la variable canónica x para el árbol j .
- x_{ij} = valor de la variable i del árbol j .
- x_i = media de la variable i (de los 30 árboles).
- CO = valor del coeficiente original.
- x = 1, 2 variables canónicas.
- j = $j = 1, 2\dots 30$ árboles.
- i = 1, 2... 19 variables originales.

Ubicación y muestreo de los rodales en alopatría

Con la finalidad de corroborar la pureza de especies en el área en simpatría y la posible introgresión en dicho rodal de hibridación, se seleccionaron dos rodales alopatricos: uno de *P. oocarpa* puro localizado en Barranca de la Lima, municipio de Ario de Rosales, Mich. (19°10'N, 101°44'W y a 1,620 de altitud), y otro rodal puro de *P. pringlei*, ubicado 10 km al sur de Sultepec, Méx. (19°47'N y 99°45'W y a 1,600 de altitud). Estas localidades fueron elegidas siguiendo el criterio de Martínez (1948), quien las señala como localidades bien definidas de tales especies, en donde crecen sin la presencia de otros miembros del género *Pinus* que pudieran contaminarlas genéticamente. Además, en un recorrido de campo se corroboró que dichas poblaciones corresponden a las expresiones típicas de cada una de las especies en cuestión, de acuerdo con las descripciones de las mismas, elaboradas por Martínez (1948), Madrigal (1982) y Perry (1991). Ratificado lo anterior, se muestrearon 10 árboles de *P. oocarpa* y siete de *P. pringlei*. En estas plantas, de las 19 características del primer caso y después de una depuración exhaustiva, sólo se seleccionaron 16 variables previamente catalogadas como útiles para discriminar el híbrido putativo.

Análisis de la información de ambos rodales en alopatría

Los 17 árboles muestreados de los rodales puros se compararon usando 16 de las 19 variables del análisis ya mencionado. Con tal fin, primero se realizó el análisis discriminante con los mismos 16 caracteres en los 30 árboles del rodal en hibridación, y se obtuvieron los coeficientes canónicos no depurados (Raw Canonical Coefficients) de las variables canónicas. Para ubicar los 47 árboles de ambos rodales en la gráfica generada con los 30 árboles del rodal en simpatría, se procedió a restar del valor individual de cada

variable en cada árbol (promedio de 10 observaciones por árbol) el valor promedio de la variable del rodal en simpatría y luego se multiplicó el número obtenido (positivo o negativo) por el coeficiente canónico original, como se indica en la ecuación (1). De esta forma se obtuvieron 47 valores para la variable canónica 1 y otros 47 para la variable canónica 2. Con tales datos cada uno de los 30 árboles del rodal en hibridación y los 17 árboles de los rodales puros se ubicaron en la gráfica de distribución discriminatoria.

Para obtener los valores medios de las características más sobresalientes en la discriminación de los árboles en estudio se llevó a cabo un análisis de varianza univariado (SAS, 1988). Por último, se realizó la comparación del crecimiento en altura y diámetro de los árboles en el rodal en simpatría para determinar una posible presencia de vigor en los árboles híbridos. Para lo anterior se dividió la altura total y el diámetro del fuste del árbol a 1.3 m de altura entre la edad del mismo expresada en años (Incremento Medio Anual).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis del rodal en simpatría

La variable canónica 1 resultó altamente significativa con una probabilidad mayor de 99% (Cuadro 2), y aunque la variable canónica 2 resultó significativa sólo con $p = 86\%$, se decidió utilizar estos dos parámetros para ilustrar la posición de los árboles en una gráfica con dos ejes (Fig. 1). El análisis multivariado mostró altas correlaciones entre las variables canónicas 1 y 2 y los taxa en estudio con valores de 0.98 y 0.79, respectivamente. La primera variable canónica explicó 92% de la variación y la segunda el resto.

Cuadro 2. Análisis multivariado usando 19 variables de *P. oocarpa*, *P. pringlei* e híbridos putativos.

Variable canónica	Correlación canónica ajustada	Error estándar	Eigenvalor (proporción)	Tasa de ligamiento	Pr>R
1	0.9787	0.0048	0.919	0.0063	0.0002
2	0.7930	0.0451	0.081	0.1227	0.1381

Las variables morfológicas que resultaron relevantes en cada variable canónica (Cuadro 3) ayudaron a separar las dos especies y el híbrido putativo (Fig. 1). A este respecto, destacan algunos caracteres no evaluados en el campo, como son el número de hileras de estomas en la cara dorsal y el de los canales resiníferos, ya sean internos o septales. Incluso el diámetro del cono y la longitud del pedúnculo, que no fueron medidos con precisión en el campo, resultaron significativos en la formación de las variables canónicas discriminantes.

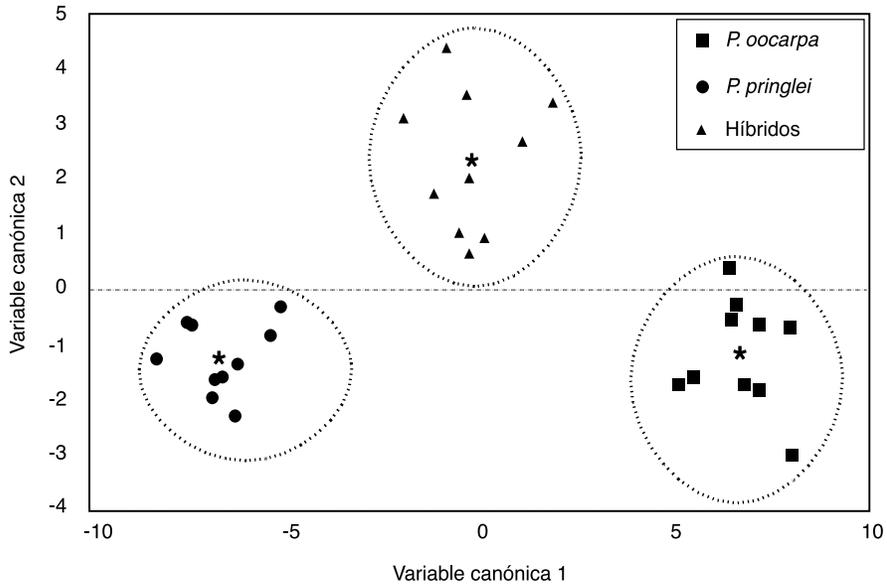


Fig. 1. Agrupación de los árboles de *Pinus oocarpa*, *P. pringlei* e híbridos putativos al usar 19 variables en el análisis discriminante canónico.

* indica el punto medio del conjunto de los valores correspondientes a cada población de árboles muestreados.

Los árboles considerados como híbridos mostraron tendencias intermedias entre ambas especies para las 19 características analizadas. En el Cuadro 4 se indican los valores canónicos medios de los tres conjuntos. Para la variable canónica 1, los híbridos claramente se ubican en una posición intermedia entre los árboles de las dos especies parentales.

Keng y Little (1961) analizaron características morfológicas y anatómicas de 42 híbridos del género *Pinus*, como son el número y longitud de acículas, número de hileras de estomas dorsales y ventrales, células de la hipodermis y endodermis y canales resiníferos. Tales autores indican que para las hojas, en la primera generación interespecífica de los híbridos los caracteres son intermedios con respecto a los de las especies parentales. Mergen (1958) recomendó la utilización del número de estomas por milímetro en *P. elliotii* Engelm. para diferenciar híbridos. Sin embargo, en nuestro estudio esta característica no resultó preponderante en la separación de las poblaciones estudiadas.

Análisis conjunto de todos los rodales

Para comparar los árboles del rodal de hibridación con los de los rodales donde las especies en estudio se encuentran creciendo en poblaciones puras, primero se utilizaron las 16 variables medidas en éstas. Así, se obtuvo el análisis discriminante en el rodal de

Cuadro 3. Variables relevantes en la separación de los agrupamientos por la estructura canónica total en *P. oocarpa*, *P. pringlei* e híbridos putativos.

Variable	Abreviación	Canónica 1	Canónica 2
1. No. de acículas por fascículo	NOHOJA	0.9281*	0.0661
3. Grosor de acícula	GROSACI	0.1885	0.1168
5. No. hileras de estomas en			
a. cara dorsal	HECD	-0.8668*	-0.2258
b. cara ventral 1	HECV1	-0.2698	-0.0842
c. cara ventral 2	HECV2	-0.3981	-0.1136
6. No. de estomas por 1.25 mm en:			
a. cara dorsal	ECD	0.4572	-0.3514
b. cara ventral 1	ECV1	0.3533	-0.2305
c. cara ventral 2	ECV2	0.2332	-0.1148
10. No. canales resiníferos			
a. internos	CRI	-0.8799*	-0.1410
b. medios	CRM	-0.3292	-0.2163
c. externos	CRE	0.2991	0.0223
d. septales	CRS	0.8494*	0.2353
11. No. de células del canal resinífero	CELCR	-0.3782	-0.2993
13. Diámetro del cono cerrado	DIAMCO	0.7327*	0.1295
15. Anchura promedio de semilla	ANCHOSE	0.2256	0.4170
20. Longitud de la apófisis de la escama	LONGAPO	0.1915	-0.0597
22. Altura de la apófisis de la escama	ALTAPO	0.4228	0.0022
23. Longitud del pedúnculo	LONGPED	0.8394*	0.2100
24. Anchura del pedúnculo	ANCHPED	0.4242	-0.2744

*- $r: > 0.5$ ó < -0.5

Cuadro 4. Valores canónicos medios de *P. oocarpa*, *P. pringlei* e híbridos putativos usando 19 variables de hojas, conos y semillas.

Taxa	Canónica 1	Canónica 2
<i>Pinus oocarpa</i>	7.1230	-1.1816
<i>Pinus pringlei</i>	-7.1099	-1.1881
Híbridos putativos	-0.0130	2.3697

hibridación. En los estudios de Smouse y Saylor (1973) y de Stead (1983), al cambiar las variables del análisis canónico, se modificaron los resultados. Sin embargo, en este caso al reducirse de 19 a 16 las características que participaron en el análisis, se encontró que la discriminación se mantiene, conservando separados los árboles de las dos especies parentales de los híbridos putativos. En el análisis multivariado con los 16 caracteres (Cuadro 5), la variable canónica 1 continúa siendo altamente significativa y explica 88% de la variación, mientras que la variable canónica 2 resultó con una significancia de $p=0.85$ y explica 12% de la variación. Los caracteres que tienen mayor significancia en el análisis

continúan siendo los mismos que en el análisis con 19 variables, aunque sus valores aumentaron levemente. Si bien la discriminación se mantiene, las distancias de separación entre los dos grupos de árboles con los árboles híbridos se reducen, acercándose más entre ellos, como puede constatarse al observar el Cuadro 6 con los valores canónicos medios de los tres grupos. Lo anterior indicaría que aunque algunas variables tienen poco peso (LONGAPO, ALTAPO y ANCHOSE, Cuadro 3), su inclusión en los análisis discriminantes puede aportar información para separar o agrupar de mejor manera los objetos de estudio.

Cuadro 5. Análisis multivariado usando 16 variables de *Pinus oocarpa*, *P. pringlei* e híbridos putativos.

Variable canónica	Correlación canónica	Error estándar	Eigenvalor (proporción)	Tasa de ligamiento	Pr: R
1	0.9817	0.0117	0.881	0.0222	0.0002
2	0.8147	0.0624	0.119	0.3027	0.1486

Cuadro 6. Valores medios de las dos primeras variables canónicas usando 19 y 16 caracteres para *Pinus oocarpa*, *P. pringlei* e híbridos putativos en el rodal de hibridación.

Taxa	Rodal en hibridación		Rodales puros	
	Canónica 1	Canónica 2	Canónica 1	Canónica 2
<i>Pinus oocarpa</i>	7.1230	-1.1816	4.4942	-0.9427
<i>Pinus pringlei</i>	-7.1099	-1.1881	-4.4949	-0.9423
Híbridos putativos	-0.0130	2.3697	0.0007	1.8850

Al utilizar los valores medios de los caracteres medidos en los 17 árboles de los rodales puros y cambiarlos a variables canónicas a través de los coeficientes originales de los 30 árboles en el rodal de hibridación, se obtuvo la gráfica de la discriminación (Fig. 2). Los resultados de los valores canónicos medios para las dos especies en el rodal de hibridación y en el rodal puro se resumen en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Valores canónicos medios de *P. oocarpa*, *P. pringlei* e híbridos putativos en el rodal de hibridación y de los rodales puros utilizando 16 variables morfológicas y anatómicas de hojas, conos y semillas.

Taxa	Rodal en hibridación		Rodales puros	
	Canónica 1	Canónica 2	Canónica 1	Canónica 2
<i>Pinus oocarpa</i>	4.4942	-0.9427	6.4351	-1.4912
<i>Pinus pringlei</i>	-4.4949	-0.9423	-9.3888	2.2540
Híbridos putativos	0.0007	1.8850		

Al clasificar todas las muestras se encontró que las de *P. oocarpa* del rodal puro se agruparon con los individuos de *P. oocarpa* del rodal en simpatría, en forma similar se comportaron los árboles de *P. pringlei*. Lo anterior corrobora la correcta identificación de los árboles. Sin embargo, existen algunas diferencias en cuanto a la discriminación obtenida entre los árboles del rodal de hibridación y los de los rodales donde las especies están aisladas. La ubicación de los árboles de los rodales puros se encuentra más hacia los extremos en la gráfica; esto es, la variable canónica 1 presenta valores negativos mayores en *P. pringlei* y valores positivos mayores en el caso de *P. oocarpa*, indicando una posible presencia de introgresión entre las dos especies para las características analizadas en el rodal en simpatría (Fig. 2).

Al comparar los árboles de la población simpátrica con los árboles en las poblaciones puras (sin la influencia de la otra especie y con características morfológicas típicas), es posible detectar diferencias entre individuos de la primera población que pudieran estar asociadas a un proceso de infiltración genética.

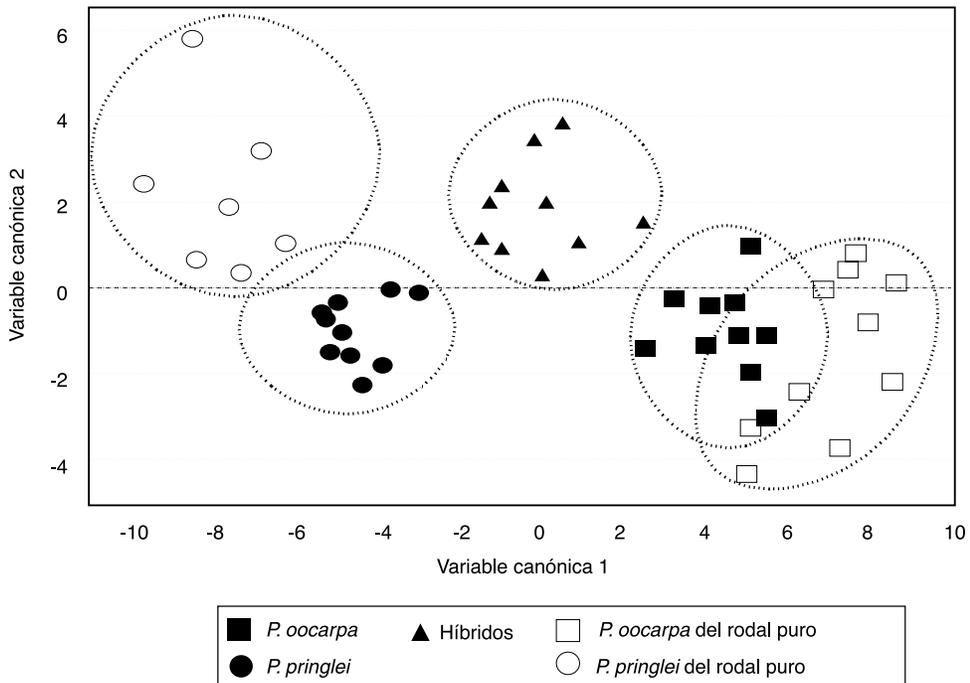


Fig. 2. Agrupación de los árboles de *Pinus oocarpa*, *P. pringlei* e híbridos en el rodal en simpatría con aquellos de las mismas especies provenientes de rodales monoespecíficos, utilizando 16 variables morfológicas y anatómicas de hojas, conos y semillas.

La separación discreta de los grupos sugiere un nivel bajo de retrocruza entre generaciones de los taxa en hibridación, ya que no se observa la existencia de enjambres híbridos; sin embargo, esto puede deberse a que el número de plantas estudiadas fue relativamente pequeño (30 árboles) y a que el muestreo estuvo dirigido más hacia el centroide de cada conjunto.

Por otro lado, los árboles del rodal puro de *P. pringlei* se ubicaron en la gráfica más alejados de los de su misma especie en el rodal en simpatria que todos los árboles de *P. oocarpa* entre sí. Tal hecho puede deberse a que la población de Sultepec, Edo. de México, se encuentra más alejada y con condiciones edáficas diferentes de las de Michoacán, ya que crece en suelo somero con afloramiento de tepetate y presenta individuos mal conformados, a diferencia de los árboles en Cebadilla Chica, Michoacán, que se desarrollan en suelo de al menos 2 m de profundidad y son de mayor talla y fuste recto. Lo anterior sugiere que para mejorar la discriminación habría sido más apropiado obtener muestras de *P. pringlei* de localidades más cercanas a Cebadilla Chica o de rodales sin tanto disturbio.

Valores medios de las características sobresalientes

En los Cuadros 8 y 9 se comparan los valores medios de las variables más importantes en la discriminación de los conjuntos en estudio. Estos valores medios y frecuencias coinciden con lo que se muestra gráficamente en la figura 2. El número de acículas en los híbridos putativos resultó intermedio entre los dos taxa, presentándose en ellos fascículos de 3, 4 y 5 acículas. Prácticamente *P. pringlei* mantuvo el carácter de sólo 3 acículas por fascículo, tal como lo indica la literatura (Martínez, 1948; Perry, 1991); a su vez *P. oocarpa* registró principalmente 5 acículas por fascículo, igualmente de acuerdo con conocimientos anteriores. Para variables como el diámetro del cono, longitud del pedúnculo e hileras de estomas en la cara dorsal, los valores del híbrido putativo resultaron intermedios entre los de las especies parentales. Estadísticamente las variables "número de canales resiníferos internos" y "septales" resultaron intermedias para los híbridos, sin embargo, las medias están más cercanas a los valores de *P. oocarpa*. Las variables "diámetro del cono", "longitud del pedúnculo" y "número de acículas por fascículo" corresponden a caracteres que sirven para separar los taxa en el campo.

Por otra parte, al integrar en una gráfica los datos del incremento medio anual en altura y en diámetro de los 30 árboles de Cebadilla Chica, no es posible detectar una

Cuadro 8. Frecuencia en porcentaje del número de acículas por fascículo en *P. oocarpa*, *P. pringlei* e híbridos putativos en los rodales puros y en simpatria.

No. de acículas	<i>P. oocarpa</i> en rodal		Híbridos putativos	<i>P. pringlei</i> en rodal	
	Puro	Simpatria		Simpatria	Puro
3	—	—	23.6	99.2	100
4	1.8	1.2	35.7	0.8	—
5	98.2	98.8	40.7	—	—

superioridad de los híbridos, es decir de la presencia de vigor híbrido (Fig. 3). En promedio *P. oocarpa* tuvo 35 cm y 7 mm, *P. pringlei* 40 cm y 7.4 mm y los híbridos putativos 37 cm y 7.5 mm de incremento para la altura y el diámetro, respectivamente. La muestra para esta comparación es pequeña y está sujeta a las microvariaciones del ambiente, sin embargo, es posible apreciar que existe una amplia variación en cuanto a los incrementos corrientes medios dentro de cada conjunto, esto es, se presenta una gran variación entre árboles, que bien puede ser utilizada para mejorar las características de crecimiento de los bosques. Al respecto, Strauss (1987) menciona que en general no se presenta el vigor híbrido entre los árboles, ya que muchos de ellos no tienen una gran adaptabilidad, mostrando altas tasas de crecimiento sólo bajo buenas condiciones ambientales.

Cuadro 9. Valores medios de los caracteres sobresalientes en la discriminación entre *P. oocarpa*, *P. pringlei* e híbridos putativos creciendo en los rodales puros y en simpatría.

Variables	<i>P. oocarpa</i> en el rodal		Híbridos putativos	<i>P. pringlei</i> en el rodal	
	Puro	Simpatría		Simpatría	Puro
DIAMCO (mm)	52.3 a	48.7 b	43.7 c	35.2 d	33.5 d
LONGPE (mm)	30.2 a	31.2 a	24.8 b	12.9 c	12.5 c
HECD	6.4 c	6.6 c	8.3 b	12.4 a	14.7 a
CRI	0.1 c	0.2 c	1.9 b	4.5 a	5.0 a
CRS	7.2 a	6.6 a	5.0 b	1.2 c	0.0 d
NOHOJA	4.98 a	4.99 a	4.17 b	3.01 c	3.00 c

Letras iguales en línea indican que las medias entre taxa no son significativamente diferentes con $p = 0.05$. Resultados basados en un análisis de varianza.

Aunque en este trabajo no se contempló la realización de cruza controladas entre las dos especies, puede concluirse que sí existe la formación de híbridos entre *P. oocarpa* y *P. pringlei*, es decir una hibridación interespecífica (Duffield y Snyder, 1958). Cabe señalar que si bien no se realizó un inventario del número de individuos por taxon, se pudo apreciar que la frecuencia de los híbridos establecidos en campo es bastante reducida. De acuerdo con Saylor y Smith (1966), se sabe perfectamente que los mecanismos de aislamiento y los factores de selección han contribuido a la evolución y diferenciación de más de 90 especies de *Pinus*. Así, el aislamiento espacial entre continentes y en algunas otras regiones geográficas es bastante completo para evitar cruza entre los pinos, pero dentro de una región el aislamiento espacial no es total, por lo que se puede dar el entrecruzamiento de estas especies arbóreas.

Los estudios de cruzamiento que se han realizado indican que la mayoría de las especies de pino no hibridan fácilmente, siendo ésta menos difícil dentro de un mismo grupo taxonómico (Saylor y Smith, 1966). Igualmente, cuando una especie tiene mayor parentesco con otra, como es el caso de *P. oocarpa* y *P. pringlei*, es más fácil la hibridación que entre aquellas que están filogenéticamente separadas (Martin, 1989). Por otro lado, cuando dos especies habitan el mismo nicho ecológico por mucho tiempo, pueden no hibridar. Little

(1962) indica que algunas especies emparentadas de pinos mexicanos están geográficamente aisladas y a menudo existen montañas que las separan, por lo cual no resulta fácil la hibridación, excepto en los sectores donde sus áreas de distribución se solapan, como es el caso en Cebadilla Chica. *Pinus pringlei* florece de febrero en adelante (Patiño et al., 1983), mientras que *P. oocarpa* lo hace de noviembre a febrero (Anónimo, 1962; Patiño et al., 1983), así que en general sus periodos de floración no coinciden, reduciendo la factibilidad de cruzamiento. En años de primavera tardía los periodos de polinización de dos especies de pino normalmente separados pueden presentar lapsos de sincronía suficiente para facilitar la generación de híbridos.

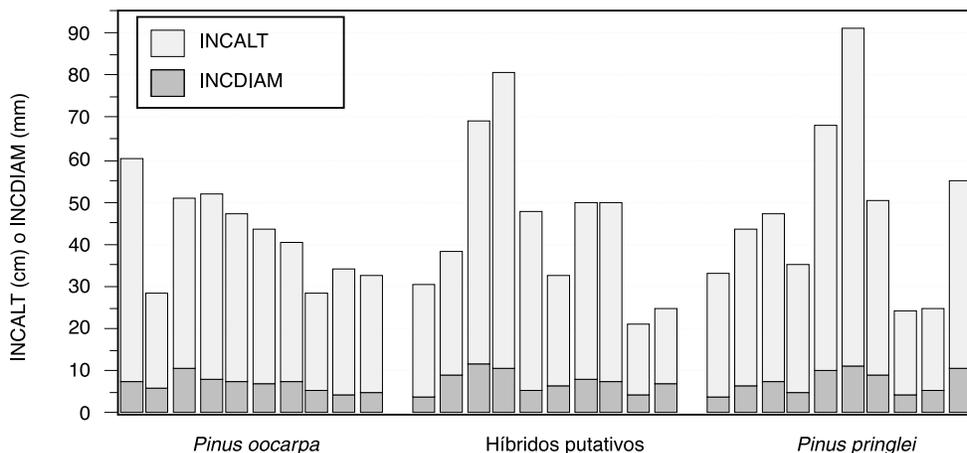


Fig. 3. Incremento medio anual en altura (INCALT) y en diámetro (INCDIAM) de los árboles de *Pinus oocarpa*, *P. pringlei* e híbridos putativos localizados en Cebadilla Chica, Ario de Rosales, Michoacán.

La definición de especie inicialmente dada por Linneo fue la de un grupo de individuos semejantes que se entrecruzan libremente y producen descendencia fértil. Esto implica que dos especies no debieran cruzarse, pero se ha encontrado que el cruzamiento de algunas especies de pino produce híbridos fértiles y con un proceso meiótico normal (Mirov, 1967). Cain (1944, citado por Mirov, 1967) define a las especies como poblaciones naturales con individuos de similar constitución genética, los cuales se entrecruzan, pero que normalmente no lo hacen con miembros de otras poblaciones. En este estudio, la baja producción de los híbridos putativos en el rodal, concuerda con lo indicado por Smouse and Saylor (1973), quienes señalan que el concepto de especie está reservado para un grupo de árboles que son distintos morfológicamente de otros y que son capaces de soportar la prueba de la simpatria. Esto es, puesto que las barreras reproductivas existentes no son absolutas, las entidades deben mantener su integridad genética y morfología en simpatria, a pesar de un limitado intercambio genético, como puede ser el caso de estas dos especies del grupo *oocarpa*.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio, se pueden establecer las siguientes conclusiones:

1. El análisis discriminante a través de variables canónicas fue útil en la diferenciación de varios árboles de *Pinus oocarpa*, *P. pringlei* e híbridos entre estas especies.

2. Los híbridos tuvieron 3, 4, y 5 acículas por fascículo, conos de 44 ±6 mm de diámetro con una longitud del pedúnculo de 25 ±5 mm, 8 ±1 hileras de estomas en la cara dorsal, 2 ±0.1 canales resiníferos internos y 5 ±0.1 septales en promedio. A su vez *P. oocarpa* tuvo 5 acículas, conos de 49 ±6 mm de diámetro con una longitud del pedúnculo de 31 ±5 mm, 6 ±0.15 hileras de estomas en la cara dorsal, y 7 ±0.1 canales resiníferos septales en promedio, y *Pinus pringlei* presentó 3 acículas por fascículo, conos de 35 ±4 mm de diámetro con una longitud del pedúnculo de 13 ±4 mm, 12 ±2 hileras de estomas en la cara dorsal, 5 ±0.1 canales resiníferos internos y 1 ±0.1 septal en promedio. Tales datos permiten hacer la diferenciación entre los tres conjuntos, estando los árboles híbridos en posición intermedia.

3. Los indicios de infiltración genética en el área de hibridación permiten aseverar la presencia de un proceso de introgresión entre estas dos especies de pino, y por ende la existencia de híbridos no putativos.

4. La generación de híbridos entre *P. oocarpa* y *P. pringlei*, aunque en pequeña escala, prueba que existe una relación filogenética estrecha entre ambos taxa.

LITERATURA CITADA

- Anónimo. 1962. Seminario y viaje de estudios de coníferas latinoamericanas. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. Publicación Especial No. 1. México, D.F. pp. 15-59.
- Anónimo. 1980. Situación de la industria resinera en México. 2a. ed. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. Publicación Especial No. 11. México, D.F. 130 pp.
- Dancik, B. P. y B. V. Barnes. 1975. Multivariate analysis of hybrid populations. *Le Naturaliste Can.* 102(6): 835-843.
- Donahue, J. K. 1989. The CAMCORE closed-cone pine seed collections in Central America and Mexico. *CAMCORE Bull. Trop. For.* 6. 25 pp.
- Duffield, J. W. y E. B. Snyder. 1958. Benefits from hybridizing American forest tree species. *Jour. For.* 56(11): 809-815.
- Dvorak, W. S. y J. K. Donahue. 1993. Reseña de investigaciones de la Cooperativa-CAMCORE 1980-1992. Universidad Estatal de Carolina del Norte. Raleigh, NC. pp. 234-235.
- Greaves, A. 1978. Description of seed sources and collections for provenances of *Pinus oocarpa*. *Trop. For. Paper* 13. Oxford Forestry Institute. Oxford. 144 pp.
- Hernández H., M. M. 1967. Hibridación natural en tres especies del género *Pinus*. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 67 pp.
- Keng, H., y E. L. Little Jr. 1961. Needle characteristics of hybrid pines. *Silvae Genet.* 10(5): 131-146.
- Lanner, R. M. 1974. A new pine from Baja California and the hybrid origin of *Pinus quadrifolia*. *The Southw. Naturalist* 13(1): 75-95.

- Little, E. L. Jr. 1962. Variation and evolution of Mexican pines. In: INIF-FAO seminar and study tour of Latin American conifers. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales-FAO. México, D.F. pp. 83-98.
- Madrigal S., J. 1982. Claves para la identificación de las coníferas silvestres del estado de Michoacán. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. Bol. Div. No. 58. México, D.F. 100 pp.
- Martínez, M. 1948. Los pinos mexicanos. Botas. México, D.F. 361 pp.
- Martin, B. 1989. The benefits of hybridization; how do you breed for them? In: Breeding tropical trees: Population structure and genetic improvement strategies in clonal and seedling forestry. Proc. IUFRO Conf. Nov.1988. Pattaya. pp. 79-92.
- Mergen, F. 1958. Genetic variation in needle characteristics of slash pine and in some of its hybrids. *Silvae Genet.* 7: 1-9.
- Mergen, F., G. R. Stairs y E. B. Snyder. 1965. Natural and controlled loblolly x shortleaf pine hybrids in Mississippi. *For. Sci.* 11(3): 306-314.
- Mirov, N. T. 1967. The genus *Pinus*. The Ronald Press. Nueva York. 602 pp.
- Molina D., V. 1987. Variación morfológica y anatómica en acículas de 49 taxa de pinos del Pinetum "Maximino Martínez". Tesis profesional. División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 120 pp.
- Namkoong, G. 1966. Statistical analysis of introgression. *Biometrics* 22: 488-502.
- Nepamuceno M., F. y V. Sánchez A. 1987. Variación morfológica de 10 poblaciones de *Pinus oocarpa* Schiede. *Ciencia Forestal* 12(61): 3-17.
- Patiño V., F., P. de la Garza, Y. Villagómez A., I. Talavera A. y F. Camacho M. 1983. Guía para la recolección y manejo de semillas de especies forestales. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. Bol. Div. No. 63. México, D.F. 189 pp.
- Perry, J. P. Jr. 1991. The pines of Mexico and Central America. Timber Press. Portland, Oregon. 231 pp.
- Poynton, R. J. 1979. Tree planting in Southern Africa. Vol 1. The Y pines. South Africa Forestry Research Institute. Rotourua. 544 pp.
- SAS. 1988. SAS/STAT guide for personal computers. SAS Institute Inc. Cary, NC. 378 pp.
- Saylor, L. C. y B. W. Smith. 1966. Mitotic irregularity in species and interspecific hybrids of *Pinus*. *Amer. Jour. Bot.* 53(5): 453-468.
- Shaw, G. R. 1909. The pines of Mexico. *Publ. Arnold Arboretum* 1: 1-22.
- Silva F., R. 1990. Análisis multivariado de caracteres morfológicos de *P. oocarpa* var. *ochoteranae* Mart. y *Pinus tecunumanii* (Schwer) Eg. y Perry. Tesis Profesional, División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 49 pp.
- Smouse, P. E. y L. C. Saylor. 1973. Studies of the *Pinus rigida-serotina* complex I. A study of geographic variation. *Ann. Miss. Bot. Gar.* 60(2): 174-191.
- Stead, J.W. 1983. Studies of variation in Central American pines. A numerical study of variation in the *Pseudostrobus* group. *Silvae Genet.* 32(3-4): 101-115.
- Stebbins, L.G. 1978. Procesos de la evolución orgánica. Prentice/Hall Int., Madrid. pp. 117-135.
- Strauss, S. H. 1987. Heterozygosity and developmental stability under inbreeding and crossbreeding in *Pinus attenuata*. *Evolution* 41(2): 331-339.
- Styles, B. T.; J. W. Stead y K. L. Rolph. 1982. Studies of variation in Central America pines II. Putative hybridization between *P. caribaea* var. *hondurensis* and *P. oocarpa*. *Turrialba* 33(3): 229-242.
- Wright, J. W. 1964. Mejoramiento genético de los árboles forestales. FAO. Roma. pp. 173-203.
- Zobel, B. J. y J. T. Talbert. 1984. Applied forest tree improvement. John Wiley & Sons. Nueva York. 357 pp.
- Zobel, B. J., G. van Wyk y P. Stahl. 1987. Growing exotic forests. John Wiley & Sons. Nueva York. pp. 115-123.

Recibido en abril de 2000.
Aceptado en noviembre de 2001.