



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

CARACTERES MORFOANATÓMICOS PARA LA  
INFERENCIA FILOGENÉTICA DE LA FAMILIA  
PINACEAE

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**BIÓLOGA**

P R E S E N T A

CECELIC RESÉNDIZ ARIAS

Director de Tesis: Dr. David S. Gernandt, Instituto de Biología, UNAM

Asesor Interno: Dr. Carlos Castillejos Cruz, FES Zaragoza, UNAM

MÉXICO, D.F.

ABRIL, 2014



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## AGRADECIMIENTOS

Principalmente al Dr. David S. Gernandt por permitirme desarrollar este trabajo, por brindarme incondicionalmente su amistad así como a su esposa la Dra. Sol Ortíz García y a sus hijas. Al Dr. David por las infinitas experiencias vividas durante este tiempo como secar mis lágrimas, prepararme fiesta de cumpleaños, por estar atrapados en la carretera, por los miércoles de pizza, por ser mi mentor y amigo.

A la Dra. Teresa Terrazas por las facilidades brindadas en el trabajo de laboratorio, por los consejos académicos, por su tiempo en cada revisión de las primeras versiones del presente trabajo y de las descripciones anatómicas, por permitirme “quemar su laboratorio” y por la transmisión de su conocimiento que para mí es invaluable.

Al Dr. Carlos Castillejos por las enseñanzas a lo largo de la carrera, por cantar bajo la lluvia en los campos de El Olivo, porque junto a su esposa la M. en C. Sonia Rojas siempre abrieron las puertas de su casa para mí.

A mis padres, Carlos Reséndiz Morales y Ma. Eugenia Arias Montes, por siempre apoyarme en cada decisión, por ser un ejemplo de vida a seguir y por enseñarme que las cosas se hacen con amor. A mi papá por el apoyo en la realización de las figuras de este trabajo.

A mi hermano Carlos Reséndiz Arias por ser mi cómplice de toda la vida, porque mejor hermano no existe.

A Edgar Alcaraz Carmona por ser mi compañero en este camino, por siempre estar a mi lado y apoyarme, por cada aventura juntos, por la magia de este amor.

A mi tío, el Dr. Salvador Arias Montes porque en sus palabras he encontrado apoyo invaluable, por siempre estar al pendiente de mí, por su amistad.

A mis amigos de trabajo de campo, de seminarios en el laboratorio, de pasteles de cumpleaños: Biól. Paty Rosas Escobar, M. en C. Eduardo Reyes Licona, Alfredo Ortíz Martínez y M. en C. Alejandro López Reyes.

A la M. en C. Ma. Berenit Mendoza Garfias por las pláticas por demás agradables durante las sesiones en el Microscopio Electrónico de Barrido, por esas bellas fotos que capturó.

A la Dra. Monserrat Vázquez por revisar las primeras versiones de este escrito.

Al Dr. Robert Bye por la muestra proporcionada para este trabajo.

A los participantes del proyecto Gymnosperm Tree of Life financiado por National Science Foundation (ATOL-0629508) y DGAPA-PAPIIT (IN228209) por su aportación en la codificación de caracteres.

A Dios por darme tantas oportunidades de vida.

# CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN .....	v
INTRODUCCIÓN .....	1
MARCO TEÓRICO .....	2
<b>Diversidad y distribución de Pinaceae</b> .....	<b>2</b>
<b>Descripción de la familia</b> .....	<b>3</b>
<b>Posición filogenética y relaciones intergenéricas</b> .....	<b>4</b>
JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO .....	10
OBJETIVOS E HIPÓTESIS .....	11
<b>Objetivo General</b> .....	<b>11</b>
<b>Objetivos particulares</b> .....	<b>11</b>
<b>Hipótesis</b> .....	<b>11</b>
MATERIALES Y MÉTODOS .....	12
RESULTADOS.....	18
<b>Caracterización morfoanatómica</b> .....	<b>18</b>
<b>Análisis filogenético</b> .....	<b>49</b>
DISCUSIÓN .....	56
<b>Morfología y anatomía</b> .....	<b>56</b>
<b>Análisis filogenético</b> .....	<b>58</b>
CONCLUSIONES .....	63
LITERATURA CITADA.....	65
APÉNDICE 1. TAXA INCLUIDOS .....	74
APÉNDICE 2. CARACTERES Y ESTADOS DE CARÁCTER. ....	75
APÉNDICE 3. MODIFICACIONES A CARACTERES .....	79
APÉNDICE 4. MATRIZ DE DATOS .....	80
APÉNDICE 5. CARACTERIZACIÓN ANATÓMICA .....	82

## RESUMEN

Se estudiaron las características anatómicas de la hoja, la rama vegetativa, el eje del cono ovulado y el complejo bráctea-escama en cinco especies pertenecientes a los géneros *Abies*, *Picea*, *Pinus* y *Pseudotsuga* con distribución en México. Los datos generados para estos órganos se compararon con la información disponible de estudios anteriores para otras nueve especies de la familia Pinaceae, para tres representantes de otras familias de coníferas y para otra gimnosperma. Los caracteres se codificaron en una matriz con una especie por género, excepto *Pinus* con dos. Se realizaron análisis cladísticos por separado y en combinación con secuencias de genes *matK* y *rbcL* obtenidos del portal Treebase. En el árbol de consenso resultado del análisis de datos morfológicos no se resuelve la raíz de la familia, pero sí para el análisis combinado. En el análisis de secuencias de *matK* y *rbcL*, y en el combinado se recuperan como monofiléticas a la subfamilia Pinoideae y al género *Pinus*, manteniendo los dos subgéneros *Strobus* y *Pinus*; y para el análisis combinado además se recupera la subfamilia Abietoideae. De los cuatro géneros presentes en México, tres pertenecen a Pinoideae (*Pinus*, *Picea* y *Pseudotsuga*) y uno a Abietoideae (*Abies*). Se confirma que realizar estudios de caracteres morfoanatómicos a nivel de especie aporta información valiosa para estudios filogenéticos.

# ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS

	Pág.
Fig. 1. Árbol filogenético de Pinaceae .....	9
Fig. 2. Codificación de caracteres .....	15
Fig. 3. <i>Abies religiosa</i> . Hoja.....	21
Fig. 4. <i>Abies religiosa</i> . Rama vegetativa .....	22
Fig. 5. <i>Abies religiosa</i> . Eje del cono ovulado .....	23
Fig. 6. <i>Abies religiosa</i> . Escama (nivel semilla) .....	24
Fig. 7. <i>Picea chihuahuana</i> . Hoja.....	27
Fig. 8. <i>Picea chihuahuana</i> . Rama vegetativa .....	28
Fig. 9. <i>Picea chihuahuana</i> . Eje del cono ovulado.....	29
Fig. 10. <i>Picea chihuahuana</i> . Escama-bráctea (nivel semilla) .....	30
Fig. 11. <i>Pinus pinceana</i> . Hoja.....	34
Fig. 12. <i>Pinus pinceana</i> . Rama vegetativa .....	35
Fig. 13. <i>Pinus pinceana</i> . Eje del cono ovulado.....	36
Fig. 14. <i>Pinus pinceana</i> . Escama (nivel semilla) .....	37
Fig. 15. <i>Pinus teocote</i> . Hoja .....	40
Fig. 16. <i>Pinus teocote</i> . Rama vegetativa .....	41
Fig. 17. <i>Pinus teocote</i> . Eje del cono ovulado .....	42
Fig. 18. <i>Pinus teocote</i> . Escama (nivel semilla).....	43
Fig. 19. <i>Pseudotsuga menziesii</i> var. <i>glauca</i> . Hoja .....	46
Fig. 20. <i>Pseudotsuga menziesii</i> var. <i>glauca</i> . Rama vegetativa .....	47
Fig. 21. <i>Pseudotsuga menziesii</i> var. <i>glauca</i> . Eje del cono ovulado .....	48
Fig. 22. <i>Pseudotsuga menziesii</i> var. <i>glauca</i> . Escama-bráctea (nivel semilla) .....	49
Fig. 23. Resultado de análisis de parsimonia .....	51
Fig. 24. Análisis con datos combinados .....	55
Cuadro 1. Datos de colecta .....	12

## INTRODUCCIÓN

Las ventajas que aportan los datos moleculares son innegables para los estudios filogenéticos. Sin embargo, sigue siendo necesario utilizar evidencias morfológicas para establecer las relaciones filogenéticas en algunos grupos de organismos. Además existen muchas razones para continuar haciendo filogenias basadas en datos estructurales, la razón más convincente es resolver las relaciones filogenéticas de los taxa fósiles con los vivientes (Hillis y Wiens, 2000; Wiens, 2004). Por otro lado, en ocasiones es difícil incluir muchos taxa vivientes en estudios moleculares, debido al número limitado de especímenes, a lo difícil de preservar una muestra o de colectarlos nuevamente por su distribución limitada, entre otros factores (Wiens, 2004). Asimismo, las especies nuevas son delimitadas y descritas empleando caracteres morfológicos y caracteres diagnósticos, lo cual resalta la importancia que tiene la morfología en la sistemática. Es importante señalar que la sistemática se vale de fuentes de información taxonómica muy variadas para establecer sus hipótesis de clasificación; todavía no se tiene una que sea la mejor o única, por esta razón, la comparación y uso de distintos tipos de caracteres puede permitir reconstruir de mejor manera las filogenias y en su caso la comparación de los resultados de filogenias moleculares con morfológicas puede apoyar en la reconstrucción de la historia evolutiva de los taxa (Doyle, 1992; Hillis y Wiens, 2000; Jenner, 2004).

En la familia Pinaceae se han realizado diversos estudios filogenéticos acerca de las relaciones entre géneros con base en la morfología (Hart, 1987; Smith y Stockey, 2001; 2002; Liston et al., 2003; Gernandt et al., 2008; 2011; Ryberg et al., 2012) y las moléculas (Price et al., 1987; Wang et al., 2000; Gernandt et al., 2008) o con ambas evidencias (Gernandt et al., 2008). Sin embargo, hace falta generar e incorporar más conocimiento morfológico para tener una matriz de datos más completa para la familia. Por ejemplo, la anatomía de decenas de especies de Pinaceae representados por conos ovulados fósiles ha sido descrita en detalle (Smith y Stockey, 2001; 2002; Klymiuk y Stockey, 2012), y un organismo completo

del género *Pinus* ha sido reconstruido a partir de restos fósiles (Klymiuk et al., 2011), pero pocas especies vivientes han sido descritas con tanto detalle. Además, hay muchos caracteres con valor taxonómico que han sido poco estudiados en Pinaceae. Por ejemplo, las brácteas con base en su forma y tamaño brindan la posibilidad de distinguir entre géneros, especies y aún variedades, además de numerosos caracteres de todos sus tejidos (Merkle y Napp-Zinn, 1977; Napp-Zinn y Winne, 1981; Napp-Zinn y Hu, 1989).

Según estudios filogenéticos, la familia Pinaceae se divide en dos clados, la subfamilia Pinoideae (*Pinus*, *Cathaya*, *Picea*, *Larix* y *Pseudotsuga*) y la subfamilia Abietoideae (*Abies*, *Tsuga*, *Cedrus*, *Keteleeria* y *Pseudolarix*). Sin embargo, la ubicación de la raíz filogenética de la familia no es robusta, lo que sugiere que uno de estos dos grupos posiblemente es parafilético (Wang et al., 2000; Gernandt et al., 2008). Además, algunas relaciones entre géneros carecen de robustez; por ejemplo, las relaciones entre los géneros *Cathaya*, *Picea* y *Pinus*, y la posición filogenética de *Cedrus* y *Pseudolarix*. Debido a lo anterior, el presente trabajo busca ampliar el número de taxa con descripción morfológica de hoja, rama vegetativa, cono ovulado y complejo bráctea-escama, para corroborar esta hipótesis de clasificación y lograr una reconstrucción filogenética más robusta.

## MARCO TEÓRICO

### Diversidad y distribución de Pinaceae

La familia Pinaceae comprende 11 géneros (*Abies*, *Cathaya*, *Cedrus*, *Keteleeria*, *Larix*, *Nothotsuga*, *Picea*, *Pinus*, *Pseudolarix*, *Pseudotsuga* y *Tsuga*) conformados aproximadamente por 195 a 231 especies (Eckenwalder, 2009; Farjon, 2010). Las pináceas tienen una amplia distribución en el Hemisferio Norte; sin embargo, son evidentes ciertas discontinuidades en la repartición de sus poblaciones, estas ocurren en la parte central de Eurasia y América del Norte, donde las especies de

Pinaceae están muy localizadas en cadenas montañosas. *Pinus merkusii* posee la distribución más meridional y es la única especie que ocurre naturalmente al sur del Ecuador en Sumatra (Farjon, 2005). Muchas especies son dominantes o codominantes en los bosques de coníferas. Juntos forman el mayor componente maderable del bioma de bosque de coníferas del norte (Farjon, 1990).

## Descripción de la familia

La familia se caracteriza por tener hábito arbóreo y ocasionalmente arbustivo, son resinosos y aromáticos, monoicos (Farjon, 1990). Corteza de suave a escamosa o en placas (Thieret, 2008). En algunas especies de géneros diferentes existen excepciones en la forma de crecimiento como en algunas especies de *Pinus* con crecimiento parecido a un arbusto (Farjon, 1990). En árboles con crecimiento monopódico el tronco es usualmente erecto; casi cilíndrico. Las ramas de la mayoría de los géneros son plagiotrópicas. Los brotes son generalmente de tres tipos: internodos largos, cortos y enanos (el último solamente en *Pinus*), con formas intermedias en algunos géneros. La madera presenta incremento radial en su crecimiento y se divide en madera temprana y tardía, formada por traqueidas con lumen amplio en primavera y con lumen cerrado al final de la temporada de crecimiento. Canales resiníferos y/o traqueidas de radio están presentes en algunos géneros (Farjon, 1990). Las hojas son aciculares, solitarias o en fascículos como en *Pinus*, alternas helicoidales, pueden ser sésiles o ligeramente pediceladas (Thieret, 2008). La mayoría de las especies tiene más de dos líneas de estomas, usualmente separadas por una nervadura (Farjon, 1990). La distribución de los estomas está correlacionada con el clima; hojas epistomáticas e hipostomáticas se presentan en especies de climas húmedos, hojas anfiestomáticas ocurren en especies de climas secos, con algunas excepciones (Frankis, 1989). Las hojas de todos los géneros tienen canales resiníferos longitudinales (en ocasiones discontinuos o ausentes en algunos especímenes), uno ó dos haces vasculares y generalmente una hipodermis. Los conos polínicos se diferencian ya sea de yemas laterales o brotes largos, o terminales de brotes cortos (*Cedrus*, *Pseudolarix* y *Larix*) o brotes largos

(*Abies*, *Keteleeria*, *Nothotsuga*, *Pseudotsuga*, *Tsuga*, *Picea*, *Cathaya*). Los conos polínicos son anuales y caedizos, solitarios o agrupados, axilares, de forma ovoide a elíptica o cilíndricos; las esporófilas se sobreponen, abaxialmente portan dos microesporangios (Thieret, 2008). El polen en la mayoría de los géneros es bisacado, únicamente en *Larix*, *Pseudotsuga* y *Tsuga* (excepto dos especies) los sacos son ausentes. El cono ovulado es solitario y usualmente axilar; en algunos géneros es terminal. Después de la polinización crecen rápidamente, formando conos de pequeños a muy grandes, madurando en una ó tres temporadas. Los conos permanecen erectos en algunos géneros (*Abies*, *Cedrus*, *Keteleeria*, *Larix*) y en otros se vuelven péndulos (*Picea*, *Pseudotsuga*, *Tsuga* y algunas especies de *Pinus*). La mayoría tiene pedúnculos cortos, algunos son sésiles y otros tienen pedúnculos largos (Farjon, 1990), las escamas ovulíferas se superponen con brácteas abaxiales y están arregladas helicoidalmente, la mayoría son aplanadas y al madurar son relativamente delgadas, o muy gruesas y leñosas (*Pinus*), con un par de semillas invertidas en la cara adaxial (Thieret, 2008). Las semillas son usualmente aladas, en algunas especies de *Pinus* el ala es rudimentaria o casi ausente. El ala es persistente, o en ocasiones, fácilmente desprendible (Frankis, 1989). Las semillas de algunos géneros tienen ductos de resina (*Abies*, *Cedrus*, *Keteleeria*, *Nothotsuga*, *Pseudolarix*, *Tsuga*); en los géneros restantes están ausentes. El número de cromosomas en el núcleo diploide ( $2n$ ) es de 24 en la mayoría de los géneros y especies, pero en el género monotípico *Pseudolarix* es de 44, y en *Pseudotsuga menziesii* 26. Presentan de 2-12(-18) cotiledones (Farjon, 1990).

## Posición filogenética y relaciones intergenéricas

En análisis filogenéticos moleculares y morfológicos, la familia Pinaceae es monofilética y se recupera como grupo hermano al resto de las coníferas actuales (Hart, 1987; Chaw et al., 1997; Rai et al., 2008). Aunque también algunos análisis moleculares han ubicado a Gnetales como grupo hermano de Pinaceae, volviendo parafilético a las coníferas (Bowe et al., 2000; Gugerli et al., 2001; Magallón y

Sanderson, 2002). Por otra parte, las relaciones intergenéricas han sido objeto de un gran número de estudios. Las clasificaciones de Pilger (1926) y Melchior y Werdermann (1954) que se basan principalmente en la disposición de las hojas, la presencia o ausencia de brotes cortos, la forma del pecíolo y el pulvínulo, dividen a la familia en tres subfamilias: Pinoideae (*Pinus*), Laricoideae (*Larix*, *Pseudolarix*, *Cedrus*) y Abietoideae (*Abies*, *Cathaya*, *Keteleeria*, *Picea*, *Pseudotsuga*, *Tsuga*). Sin embargo, esta clasificación es poco congruente con respecto a la morfología del cono ovulado, de las semillas, caracteres anatómicos de la madera y caracteres del polen y el óvulo que poseen *Larix* y *Pseudotsuga*, situación por la cual se ha discutido la importancia tradicional de la morfología reproductiva en los sistemas de clasificación desde los tiempos de Linneo (Frankis, 1989). Si otros caracteres de los diversos géneros fueran considerados, resultaría en un gran número de conflictos con la propuesta anterior. Entre estos caracteres se encuentran: la morfología y anatomía de los conos polínicos y ovulados, las semillas, los cotiledones, el tipo de polen, la anatomía de la madera y caracteres bioquímicos (Farjon, 1990).

Van Tieghem (1891), en función de la posición y número de canales resiníferos en el cilindro vascular central de la plántula, separó los géneros en dos grupos, los Cédreés, con un canal resinífero, como: *Abies*, *Cedrus*, *Keteleeria*, *Pseudolarix* y *Tsuga*; y los Pinéés, con *Larix*, *Picea*, *Pinus* y *Pseudotsuga*. Flous (1936) propuso una relación filogenética basada en evidencia morfológica y fósil en la que *Larix* y *Pseudotsuga*, y *Abies* y *Cedrus* están más cercanamente relacionados que el resto de las especies y sus respectivas subfamilias. En contraste, Doyle (1945), con base en los tipos de polinización, distinguió dos grupos, el primero comprende *Pinus*, *Picea*, *Larix* y *Pseudotsuga* y el segundo incluye a *Abies*, *Cedrus*, *Pseudolarix* y *Tsuga* (los otros tres géneros no fueron analizados). Niemann y Van Genderen (1980), investigaron las relaciones químicas y produjeron dos dendogramas usando análisis de patrones numéricos, dividieron a los géneros (*Cathaya* no fue analizado) en dos grupos. Price et al. (1987) comparó los géneros (excepto a *Cathaya*) en un análisis inmunológico, encontrando también dos grupos; el primero comprende a *Keteleeria*, *Abies*, *Cedrus* (subgrupo 1a), *Tsuga*, *Pseudolarix* (subgrupo 1b); el

segundo grupo comprende *Picea* y *Pinus* (subgrupo 2a), *Larix* y *Pseudotsuga* (subgrupo 2b). Estas clasificaciones no coinciden con la propuesta de Pilger (1926) pero son similares a la clasificación de Van Tieghem (1891).

Hart (1987) analizó las relaciones filogenéticas a través de un análisis de parsimonia entre los géneros de coníferas con base en 48 caracteres morfológicos y embriológicos. Su árbol resultante dividió a Pinaceae en dos grupos: *Abies-Cedrus-Keteleeria-Pseudolarix-Tsuga*, sostenido por la presencia de canales resiníferos en el integumento de las semillas y *Cathaya-Larix-Picea-Pinus-Pseudotsuga*, sostenido por la presencia de canales resiníferos en el xilema secundario y bandas de Caspari en la endodermis de la hoja. Wu y Hu (1997) compararon la estructura y distribución de los canales resiníferos en el xilema secundario de la rama, dividiendo a la familia en tres grupos, presencia de canales resiníferos (*Cathaya*, *Larix*, *Picea*, *Pinus* y *Pseudotsuga*), ausencia de canales resiníferos (*Abies*, *Cedrus*, *Pseudolarix* y *Tsuga*), y presencia o ausencia de canales resiníferos (*Keteleeria*).

Las relaciones entre los géneros de pináceas también han sido sometidas a estudios filogenéticos moleculares. Los primeros árboles generados de la secuencia del gen *rbcL* fueron pobremente resueltos (Tsumura et al., 1995; Wang et al., 1998a). Wang et al. (1998b) con base en la secuencias del gen *rbcL* concluyó que el clado *Abies-Keteleeria-Pseudolarix-Tsuga* está resuelto. Vining (1999) en el análisis combinado de secuencias de *rbcL* con el gen 5.8S e ITS-2 de nrADN para Pinaceae (excluyendo *Cathaya* y *Nothotsuga*), resolvió que Pinoideae es parafilético y Abietoideae es polifilético, y la raíz de la familia se ubica entre *Cedrus* y los demás taxa. Sin embargo, el soporte de bootstrap es débil para esos nodos. El estudio de las relaciones intergenéricas (Wang et al., 2000) empleando secuencias de *matK* plástido, *nad5* mitocondrial y el gen nuclear de baja copia *4CL*, generaron una filogenia bien resuelta y fuertemente soportada donde se tiene un clado conformado por *Larix-Picea-Pinus-Pseudotsuga*, lo cual concuerda con hipótesis previas basadas en datos morfológicos, anatómicos e inmunológicos, similar a lo registrado por Hart (1987) en su análisis cladístico, los cuatro géneros

de este clado tienen canales resiníferos verticales y radiales en su madera. Liston et al. (2003) con base en las secuencias de ITS de nrADN mostraron que *Cathaya*, *Picea* y *Pinus* forman una tricotomía no resuelta.

Análisis filogenéticos de caracteres morfológicos de la madera sostienen la monofilia de dos subfamilias, Abietoideae y Pinoideae. Un análisis Bayesiano de Gernandt et al. (2008) apoya la monofilia de Abietoideae con base en cuatro caracteres diagnósticos: inmunología abietoide, la escama ovulífera angosta en la base, presencia de traza en la semilla, y semilla en su mayoría cubierta por el ala. La monofilia de la subfamilia Pinoideae está sustentada por caracteres morfológicos y anatómicos como la presencia de canales resiníferos radiales en la madera; punteaduras de los campos de cruce piceoides, pinoides o fenestriiformes; dos canales resiníferos verticales en la raíz; inmunología química pinoide; ausencia de traza en la semilla; y alas de la semilla en un surco poco profundo. Los caracteres diagnóstico que apoyan la relación hermana de *Larix* y *Pseudotsuga* son la presencia de fibras en el floema y un micrópilo asimétrico. Estos dos géneros están en una posición hermana del clado conformado por *Cathaya*, *Picea* y *Pinus*, apoyada por la presencia de parénquima plicado.

La familia Pinaceae cuenta con un extenso registro fósil que se extiende desde el Cretácico temprano. Mientras que, *Pinus*, *Abies*, *Picea*, *Larix*, *Pseudolarix* y *Tsuga* han sido identificados de depósitos del Terciario, únicamente los géneros *Picea* y *Pinus* son conocidos del Cretácico temprano (Miller, 1976; 1977; Falder et al., 1998; Klymiuk y Stockey, 2012; Ryberg et al., 2012). Gran número de fósiles de conos ovulados han sido descritos del Cretácico y Paleógeno, pero no han sido asignados a un género viviente de Pinaceae. Estos conos fósiles han sido descritos en tres géneros: *Obiraostrobus*, con dos especies descritas; *Pseudoaraucaria*, con seis especies descritas (Smith y Stockey, 2002) y *Pityostrobus* con cerca de 28 especies. Mientras *Pseudoaraucaria* está considerado un género natural, *Pityostrobus* es probablemente un grupo artificial; cada taxón descrito es distinto y con caracteres tan diferentes como los géneros modernos (Miller, 1976; Stockey, 1981; Falder et

al., 1998). Algunos estudios filogenéticos han incluido fósiles (Smith y Stockey 2001; 2002; Gernandt et al., 2008; 2011).

Los conos ovulados fósiles provenientes del Cretácico y Cenozoico, han mostrado gran influencia en la comprensión de la diversidad de la familia Pinaceae en el pasado (Miller, 1976; Smith y Stockey, 2001; 2002; Klymiuk y Stockey, 2012). Sin embargo, existen pocas descripciones detalladas de especies vivientes como las elaboradas por Radais (1894) y Greguss (1955). Con el propósito de clarificar las relaciones entre taxa vivientes y fósiles, Gernandt et al. (2011) describieron la anatomía del cono ovulado de *Pinus nelsonii*, y agregaron el taxón viviente a una versión modificada de la matriz de datos de morfología de cono de Smith y Stockey (2001; 2002), aumentando el número de caracteres a 54. El árbol de consenso obtenido por Gernandt et al. (2011) tiene mayor resolución y es un poco más robusto que el registrado por Smith y Stockey (2002). En particular, Pinaceae se divide en dos clados (Fig. 1), el clado Abietoideae que comprende los géneros *Abies*, *Cedrus*, *Keteleeria*, *Pseudolarix* y *Tsuga*, junto con *Pararaucaria*, *Pseudoaraucaria* y nueve especies de *Pityostrobus*. Un segundo clado Pinoideae está conformado por los géneros *Cathaya*, *Picea* y *Pinus*, junto con 18 especies de *Pityostrobus*. Los caracteres macromorfológicos y anatómicos en conos ovulados de pinos vivientes y fósiles son posibles sinapomorfias para grupos infragenéricos. Algunos caracteres anatómicos son homoplásicos, pero el análisis taxonómico pudo revelar que son informativos para algunos grupos (Gernandt et al., 2011).

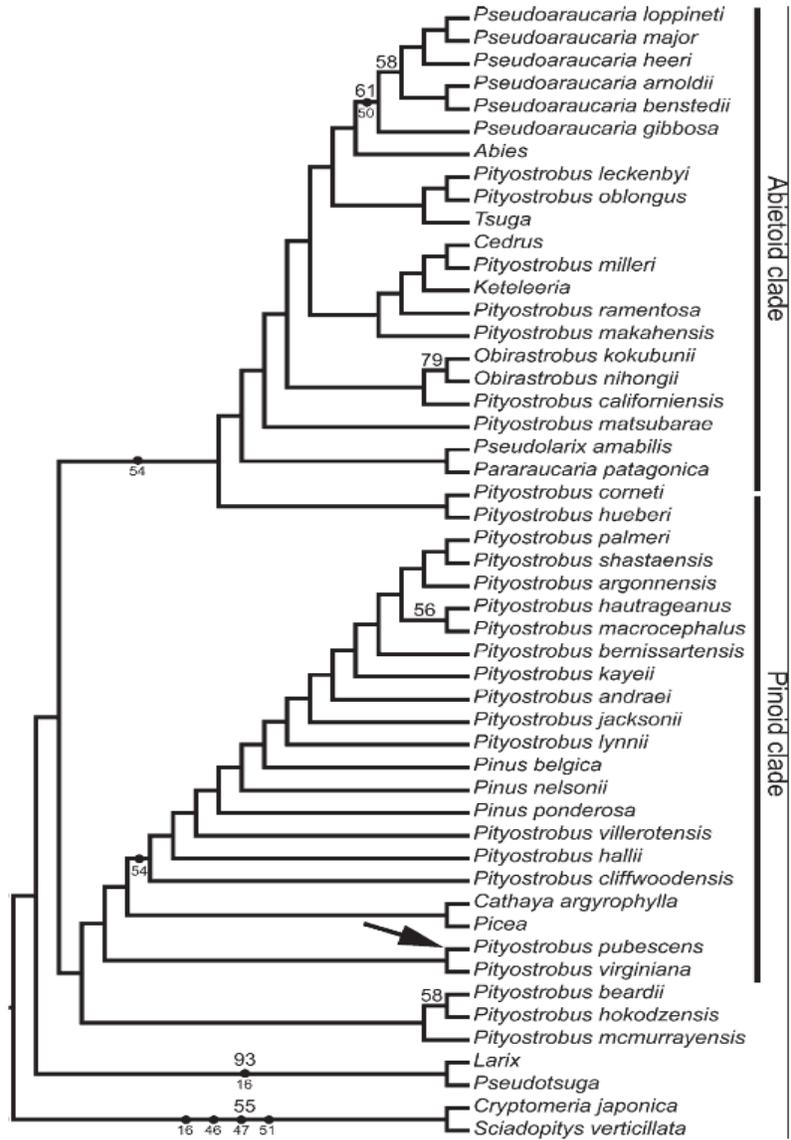


Fig. 1. Árbol filogenético de Pinaceae. Análisis cladístico de caracteres morfológicos del cono ovulado. El árbol más parsimonioso (L=306 pasos, CI=0.37, RI=0.60). Valores bootstrap >50% por encima de las ramas. Los círculos indican caracteres no homoplásicos mapeados utilizando reconstrucción ancestral de estados en Mesquite. La flecha indica la ubicación de la raíz de la familia al excluir seis especies fósiles con el mayor número de datos faltantes o perdidos. Debajo de las ramas se ubican los siguientes caracteres: 16 = tamaño de la bráctea, 46 = alas de la semilla provenientes del tejido de la semilla, 47 = alas de la semilla provenientes del tejido de la escama, 50 = parénquima al final de la calaza de semillas, 51 = óvulos por escama, y 54 = unión del ala a la semilla (Gernandt et al., 2011).

## JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Las descripciones anatómicas del cono ovulado para la mayoría de las especies vivientes no existen o no están publicadas, así como de la médula, floema, corteza y caracteres cuticulares, de los diferentes órganos de los géneros de Pinaceae. En contraste hay descripciones anatómicas detalladas para la mayoría de los conos fósiles asignados a *Obirastrobus*, *Pityostrobus* y *Pseudoaraucaria* (Miller, 1976; Smith y Stockey, 2001; 2002) y asignados a géneros vivientes como *Pinus arnoldii* (Klymiuk et al., 2011) y *Picea burtonii* (Klymiuk y Stockey, 2012). La carencia de datos correspondientes entre fósiles y especies vivientes son una limitante para entender las relaciones filogenéticas en la familia y para lograr comprender la evolución de caracteres. Además, existen muchas fuentes de caracteres que faltan por describir en más especies. Por ejemplo, los estudios de Merkle y Napp-Zinn (1977); Napp-Zinn y Winne (1981); Napp-Zinn y Hu (1989), muestran que las brácteas de diferentes géneros, especies y aún en variedades pueden ser distinguidas no sólo por su forma y tamaño, sino también sobre la base de numerosos caracteres de todos sus tejidos y esas diferencias tienen importancia diagnóstica o taxonómica; este tipo de investigaciones se ha ampliado al complejo escama-semilla (Hu et al., 1989). Se observa que el objeto de investigación de la mayoría de los estudios de conos ovulados se concentra en una sola especie (Owens y Smith, 1965: *Pseudotsuga menziesii*; Roller, 1966: *Abies lasiocarpa*; Jain, 1976: *Abies forrestii*, *Tsuga dumosa* y *Larix griffithii*; Smith y Stockey, 2001: *Pityostrobus californiensis*, Gernandt et al., 2011: *Pinus nelsonii*).

# OBJETIVOS E HIPÓTESIS

## Objetivo General

Obtener evidencias morfológicas y anatómicas de hojas, ramas vegetativas, eje del cono ovulado y complejo bráctea-escama de las especies *Abies religiosa*, *Picea chihuahuana*, *Pinus pinceana*, *P. teocote* y *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca* para ampliar la base de caracteres descritos en especies vivientes, con el propósito de reconstruir una hipótesis filogenética para la familia Pinaceae.

## Objetivos particulares

Analizar la anatomía de la hoja, la rama vegetativa, el eje del cono ovulado y la bráctea-escama en *Abies religiosa*, *Picea chihuahuana*, *Pinus pinceana*, *P. teocote* y *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca*.

Identificar y explicar posibles sinapomorfias que permitan diferenciar clados.

Inferir las relaciones filogenéticas para la familia Pinaceae con base en datos morfológicos.

Inferir las relaciones filogenéticas para la familia Pinaceae con base en datos moleculares y combinados.

## Hipótesis

Si se incluye un mayor número de taxa con información morfoanatómica más completa a una matriz de datos existente, se obtendrá una hipótesis sobre las relaciones filogenéticas más robusta para la familia Pinaceae.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron muestras de hojas, ramas vegetativas y conos ovulados de dos individuos de las especies que se enlistan en el Cuadro 1, todas las colectas fueron depositadas en MEXU.

Cuadro 1. Datos de colecta.

Especie	Estado	Municipio	Localidad	Número de colecta
<i>Abies religiosa</i>	Distrito Federal	Tlalpan	Cerro Ajusco	DSG 1242
<i>Abies religiosa</i>	Estado de México	Texcoco	Cerro Cuitláhuac	TT s/n
<i>Picea chihuahuana</i>	Chihuahua	Bocoyna	El Ranchito	DSG 1071
<i>Picea chihuahuana</i>	Chihuahua	Bocoyna	Creel	BYE 37214
<i>Pinus pinceana</i>	San Luis Potosí	Guadalcázar	Aguaje de García	DSG 1163
<i>Pinus pinceana</i>	Querétaro	Peñamiller	Maguey Verde	DSG 1246
<i>Pinus teocote</i>	Puebla	Apizaco	Apizaquito	DSG 1237
<i>Pinus teocote</i>	Distrito Federal	Tlalpan	Volcán Xitle	DSG 1240
<i>Pseudotsuga menziesii</i> var. <i>glauca</i>	Hidalgo	El Chico	Parque Nacional "El Chico" (Presa Jaramillo)	DSG 1221
<i>Pseudotsuga menziesii</i> var. <i>glauca</i>	Tlaxcala	Villa Real	Terrenate	DSG 1230

Las muestras fueron colectadas de árboles maduros de poblaciones naturales entre los meses de agosto a noviembre de 2012. Los especímenes se cortaron de ramas expuestas en la parte media o alta de la copa, se fijaron en FAA (formaldehído 10%, ácido acético 5%, alcohol 50%; Ruzin, 1999), fueron etiquetados en forma individual y transportados al laboratorio.

Se tomaron medidas de hojas, brácteas, escamas ovulíferas y conos ovulados tales como longitud y ancho de la parte media. Las mediciones se realizaron con un calibrador digital Mitutoyo modelo 551.

En el caso del eje del cono ovulado se seleccionó la parte media y de la rama vegetativa se eligió un segmento, ambos de 5 cm de longitud. Este material fue colocado en GAA (glicerina, alcohol etílico 96%, agua destilada, 1:1:1) durante un mes; enseguida se obtuvieron secciones transversales y longitudinales de 20-30  $\mu\text{m}$  mediante el micrótopo de deslizamiento; dichos cortes fueron tratados con una solución de hipoclorito de sodio (50%) y deshidratados en una serie de cambios de 50%-100% etanol, teñidos con safranina y verde rápido y montados con resina sintética (Berlyn y Miksche, 1976). Se realizaron observaciones bajo microscopio de luz modelo Olympus BX51 adaptado a una cámara digital (Evolution LC) y el analizador de imágenes (Image Pro-plus versión 6.1, Media Cybernetics, 2006) con el cual se tomaron las imágenes para la descripción correspondiente.

Se prepararon hojas, brácteas y escamas ovulíferas de la parte media del eje del cono para su análisis a través de microscopía electrónica de barrido (MEB). La hoja se preparó para remover las ceras y lograr observar las superficies; se deshidrataron con cambios seriados cada 30 minutos de etanol 70%-96% (Figuroa et al., 2012), baño en xilol de 45 minutos. Para *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca*, se realizó una modificación al protocolo señalado por Figuroa et al. (2012), extendiendo el baño en xilol a cuatro días debido a que el tiempo de 45 minutos no resultó efectivo para esta especie. Se realizaron ensayos hasta lograr retirar completamente las ceras de las superficies; sin embargo, en ocasiones permaneció

cera sobre los estomas. Se aplicó ultrasonido durante los últimos 30 minutos del baño en xilol en un aparato sonicador Ultrasonic Cleaner BRASON 200 modelo B200, y fueron lavados en dos ocasiones con etanol 100%; en el caso de las brácteas y escamas se cortaron transversalmente en secciones de 0.5 cm. a nivel de la semilla, a nivel medio y distal a la semilla; se deshidrataron con cambios seriados cada 30 minutos de etanol 70%-100%; todas las muestras fueron secadas y montados en un porta muestras de aluminio, con pegamento a base de carbono y metalizadas con oro-paladio (Figueroa et al., 2012). La toma de fotografías se realizó mediante un microscopio electrónico de barrido HITACHI-S-2460N (15kV) en el Instituto de Biología, UNAM. Para realizar las descripciones morfológicas se tomó como referencia a Farjon (1990); para las descripciones anatómicas a Vázquez-Sánchez et al. (2005) y para el estoma a Oladele (1983).

La matriz de datos morfológicos de Gernandt et al. (2008; 2011) se amplió y codificó en Mesquite (Maddison y Maddison, 2011). La matriz contiene 14 taxa del grupo interno y cuatro del grupo externo (tres coníferas y una gimnosperma) (Apéndice 1).

Los caracteres codificados como ausentes para el primer estado de carácter fueron codificados como inaplicable para el segundo. El tratamiento de datos ausentes es apropiado si el carácter es aplicable a cada taxón pero si el carácter no se encuentra, es inaplicable para sus formas alternativas (Maddison, 1993). Para la codificación de caracteres, se reconocieron dos tipos, los que especifican la presencia o ausencia de la estructura y los que definen las formas alternativas (Sereno, 2007). Por ejemplo, únicamente las especies del género *Pinus* poseen brotes cortos, por lo tanto, en el resto de las especies este carácter está ausente (carácter 3) y es codificado como inaplicable para el crecimiento indeterminado o determinado de los brotes cortos (carácter 4). Las búsquedas de parsimonia no tratan como diferentes a los estados inaplicables de los faltantes, pero se pueden distinguir entre ellos.

La matriz incluye 123 caracteres (Apéndice 2), 2223 celdas de las cuales 414 (18.6%) fueron codificados como faltantes, ocho (0.35%) son polimórficos y 81 (3.64%) son inaplicables (Fig. 3). Los taxa del grupo interno con mayor número de caracteres faltantes fueron *Abies religiosa* con 55 y *Pinus teocote* con 40. El taxa con mayor número de caracteres polimórficos fue *Larix occidentalis* con dos, mientras que, los taxa con mayor número de caracteres inaplicables fueron *Cedrus deodara* y *Pseudolarix amabilis*. Del grupo externo los taxa con mayor número de caracteres faltantes fueron *Ginkgo biloba* con 48 y ocho inaplicables y *Araucaria araucana* con 46 caracteres faltantes, nueve inaplicables y dos polimórficos (Fig. 3).

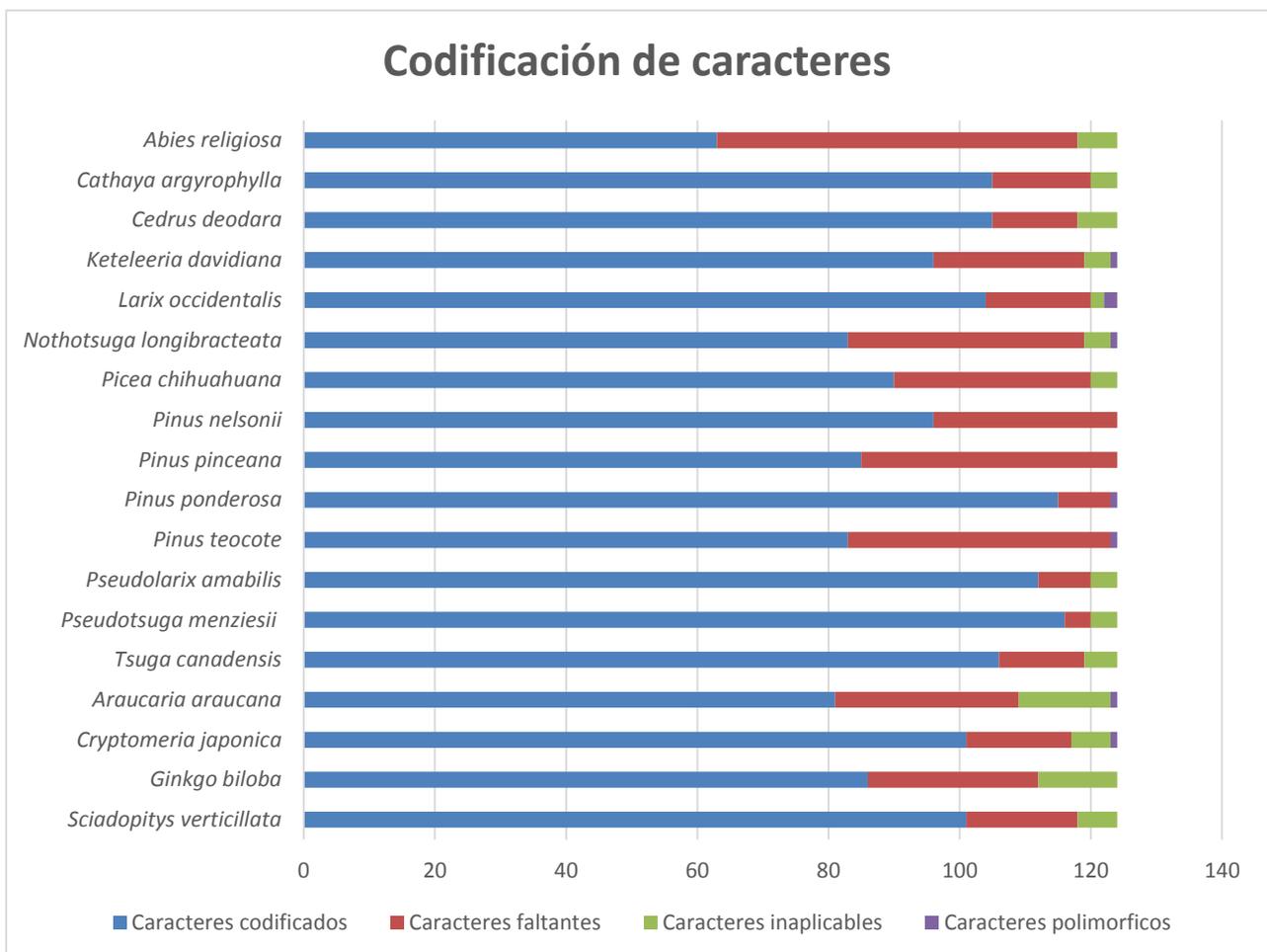


Fig. 2. Codificación de caracteres.

Se obtuvieron secuencias de los genes *matK* y *rbcL* del portal Treebase con los números de estudio S1988 y S1229 (Gernandt et al., 2005; Gernandt et al., 2008). Fueron alineadas en BioEdit Sequence Alignment Editor (Hall, 1999) e ingresadas a una matriz de datos en Mesquite (Maddison y Maddison, 2011).

Se realizó un análisis filogenético de la morfoanatomía y un análisis de las secuencias de *matK* y *rbcL*. Las matrices de datos se analizaron en PAUP\* 4.0b10 (Swofford, 2003) bajo parsimonia con pesos iguales y caracteres ordenados. Se realizó una búsqueda exacta (branch-and-bound) y el apoyo de ramas se estimó mediante 1000 réplicas de bootstrap.

Se efectuó la prueba de incongruencia en diferencias de longitud (ILD, por sus siglas en inglés) entre los datos morfoanatómicos y moleculares (Farris et al., 1994a; 1994b). La prueba se basa en la expectativa de que las particiones de datos que reflejan diferentes topologías o historias evolutivas diferentes, tendrán mayor homoplasia, en comparación con las particiones de datos que reflejan una misma topología y proceso evolutivo. En consecuencia, el análisis combinado de datos incongruentes deberá producir árboles que son significativamente más largos que la suma del tamaño de los árboles inferidos a partir de cada partición de datos por separado. La prueba estadística de ILD es la diferencia entre el tamaño de los árboles resultantes de particiones de datos combinados y de la suma del tamaño de los árboles obtenidos de las particiones de datos analizados por separado (Farris et al., 1994a; Hipp et al., 2004). Se espera que la prueba de incongruencia de datos sea capaz de identificar los casos en los que la combinación de datos aumente la precisión filogenética (Hipp et al., 2004). Se realizó la estadística de prueba entre las dos fuentes de datos en PAUP\* 4.0b10 (Swofford, 2003) mediante 1000 réplicas.

Se realizó un análisis combinado de morfoanatomía y secuencias de *matK* y *rbcL*. Las matrices de datos se analizaron en PAUP\* 4.0b10 (Swofford, 2003) bajo parsimonia con pesos iguales y caracteres ordenados. Se realizó una búsqueda branch-and-bound y el apoyo de ramas se estimó mediante 1000 réplicas de

bootstrap empleando branch-and-bound para cada réplica. Se efectuó un mapeo de caracteres en PAUP\* 4.0b10 (Swofford, 2003) estimando caracteres ancestrales y derivados sobre el análisis filogenético combinado. El mapeo de caracteres se realizó con el algoritmo de transformación acelerada, donde los cambios son asignados a las ramas de un árbol filogenético lo más cerca posible a la raíz especificada, favoreciendo las reversiones (Agnarsson y Miller, 2008).

# RESULTADOS

## Caracterización morfoanatómica

### *Abies religiosa*

#### Hoja

Hojas persistentes, lineares, erguidas, 1.66 cm x 1 mm, ápice obtuso, arregladas helicoidalmente, pediceladas, retorcidas en la base, color verde oscuro. En sección transversal de forma elíptica, con una prominencia en la parte abaxial y un surco en la parte adaxial (Fig. 3A). La epidermis uniestratificada con células de paredes lignificadas y cubierta de cera. Hipodermis discontinua de dos estratos con paredes celulares lignificadas con lumen cerrado, exclusivamente en la parte abaxial, debajo del haz vascular (Fig. 3C). La epidermis e hipodermis interrumpidas en la superficie abaxial por estomas y cámara subestomática. El mesofilo diferenciado en parénquima empalizada y parénquima esponjoso; con numerosos cristales prismáticos de oxalato de calcio. Dos canales resiníferos ubicados abaxialmente en el mesofilo en relación con el haz vascular y en contacto con la hipodermis (canales resiníferos externos), las células epiteliales y células de la vaina con pared primaria delgada (Fig. 3C). El tejido vascular en dos haces con crecimiento primario, rodeado por el tejido de transfusión y éste a su vez, por la endodermis; asociado al floema algunas fibras (Fig. 3B). Vista en superficie, la adaxial sin estomas (Fig. 3D-E). Superficie abaxial con estomas anomocíticos en 14 hileras paralelas longitudinales, excepto en la prominencia de dicha superficie (Fig. 3F). El aparato estomático de forma elíptica, el anillo de Florin marcadamente elevado, lobulado, de paredes poco profundas, puente entre estomas ligeramente desarrollado y tapón de ceras en estomas no desarrollado (Fig. 3G). Células epidérmicas elongadas cortas, paredes anticlinales ligeramente hundidas, rectas y lisas (Fig. 3E).

### Rama vegetativa

En sección transversal epidermis uniestratificada con cutícula lisa y delgada, tricomas pluricelulares unicelulares. Peridermis bien diferenciada (Fig. 4B) felema con dos tipos celulares, el primero con paredes celulares delgadas y el segundo con las paredes gruesas y lumen cerrado, la felodermis parenquimatosa con cristales prismáticos de oxalato de calcio. Esclereidas inmediatamente por debajo de la felodermis. CórTEX parenquimatoso y los canales resiníferos dispersos en su parte media e interna dispuestos en bandas tangenciales con respecto al haz vascular (Fig. 4C), cavidades de resina dispersas (Fig. 4C-D). El floema secundario colapsado, con células cribosas que alternan con el parénquima dispuesto en bandas tangenciales con taninos y cristales prismáticos en su interior (Fig. 4E), sin canales resiníferos verticales o radiales. El xilema secundario con anillos de crecimiento definidos, transición abrupta y en algunos la transición es gradual. Las punteaduras son areoladas, uniseriadas. Las punteaduras de campos de cruce piceoides y frecuentemente traqueidas de radio (Fig. 4H). Canales resiníferos traumáticos (Fig. 4F). Parénquima axial arreglado tangencialmente en madera tardía en la transición y cristales prismáticos en su interior. Radios uniseriados (Fig. 4I). Médula parenquimatosa sin esclerénquima con taninos (Fig. 4G).

### Cono ovulado

De 9.2 x 4.7 cm, erecto, pedúnculo corto. Bráctea linear, 2.4 cm x 2 mm, sobrepasa en longitud a la escama ovulífera, ápice agudo. La bráctea unida a la escama hasta el nivel de la semilla, pasando este nivel la bráctea se separa totalmente. Escama flabelada, 1.78 x 1.87 cm, angosta en la base.

### Eje del cono ovulado

Epidermis uniestratificada con tricomas glandulares y pluricelulares (Fig. 5B-C). CórTEX parenquimatoso con canales resiníferos arreglados en bandas tangenciales en la parte media (Fig. 5D). Tejido vascular dispuesto en fascículos debido a radios medulares o traza vascular de la escama (Fig. 5A-F). Floema secundario de células cribosas colapsado con parénquima arreglado en bandas tangenciales con taninos

y cristales isodiamétricos en sus células, cada fascículo con fibras (1)4(6) asociadas (Fig. 5E) y sin canales resiníferos verticales o radiales. Xilema secundario sin anillos de crecimiento definidos. Las punteaduras areoladas uniseriadas y punteaduras de campos de cruce tipo piceoide (Fig. 5H). Traqueidas de radio frecuentes. Parénquima axial difuso. Radios uniseriados (Fig. 5I). Médula parenquimatosa con esclereidas dispersas (Fig. 5G).

#### Complejo bráctea-escama

La bráctea a nivel de la semilla unida a la escama. La bráctea en sección transversal a nivel del ala parenquimatosa. El tejido vascular en un haz central. Numerosos canales resiníferos colapsados ubicados abaxialmente. Bráctea a nivel distal de la semilla con esclerénquima abaxial. Un haz vascular central. Canales resiníferos colapsados. La escama a nivel de la semilla parenquimatosa. La quilla que separa las semillas poco prominente. Tejido vascular en dos haces, uno de los cuales es 1/5 más pequeño (Fig. 6A). Cinco canales resiníferos rodean el tejido vascular, varían en forma (circular o alargado) y dimensiones entre sí (Fig. 6B). La escama a nivel del ala parenquimatosa. 25 haces vasculares en hilera adaxial. 38 canales resiníferos en hilera adaxial y entre haces vasculares, al extremo de la escama colapsados. En superficie adaxial tricomas unicelulares en la quilla que separa las alas. Escama a nivel distal de la semilla con parénquima adaxial y esclerénquima abaxialmente. 16 haces vasculares en hilera central. Aproximadamente 50 canales resiníferos en hilera central, colapsados en extremo de la escama. En ambas superficies tricomas unicelulares.

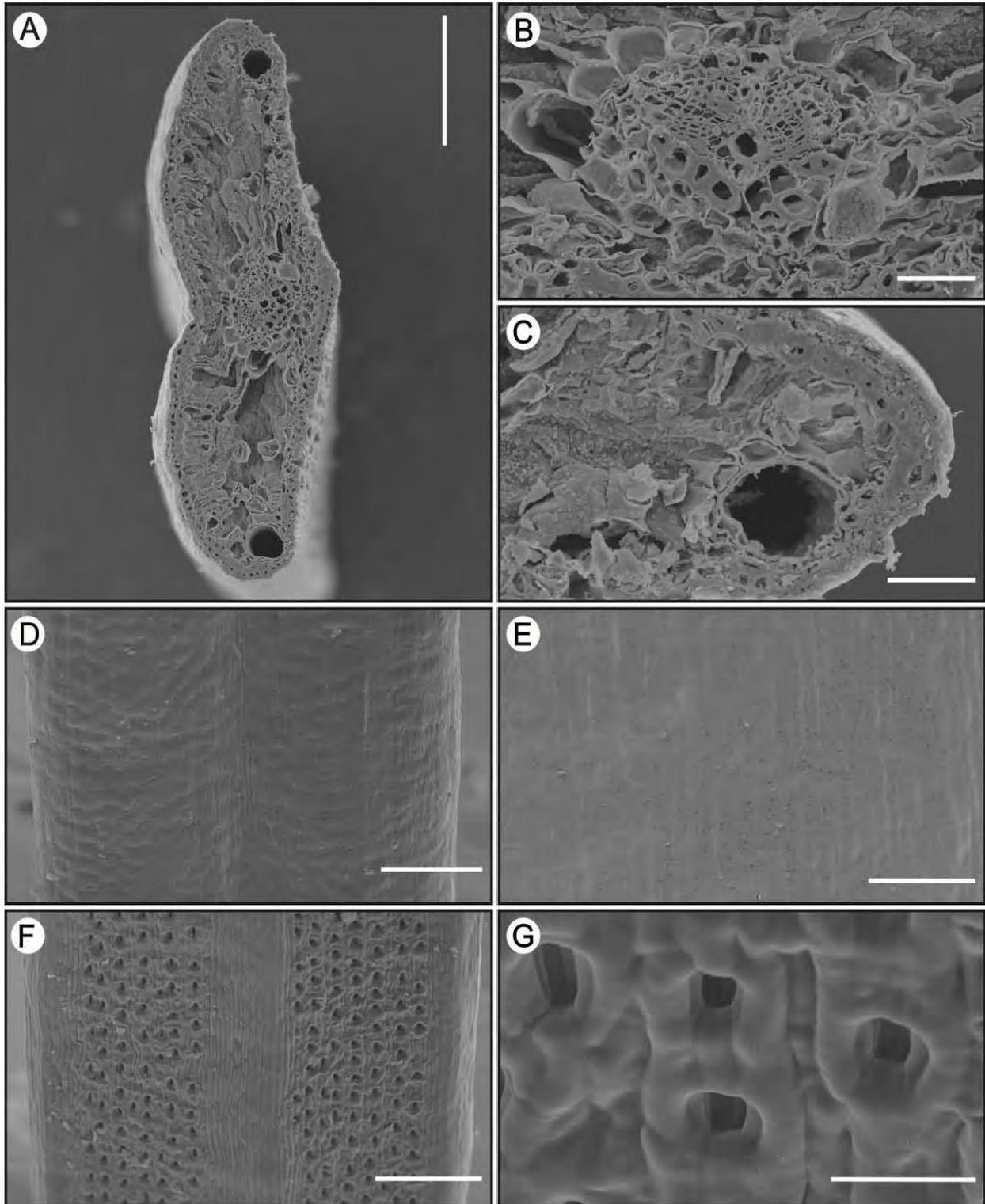


Fig. 3. *Abies religiosa*. Hoja. A-C. Sección transversal. A. Vista general (300  $\mu\text{m}$ ). B. Haz vascular (50  $\mu\text{m}$ ). C. Canal resinífero (50  $\mu\text{m}$ ). D-E. Superficie adaxial. D. Ausencia de estomas (300  $\mu\text{m}$ ). E. Acercamiento (50  $\mu\text{m}$ ). F-G. Superficie abaxial. F. Estomas (300  $\mu\text{m}$ ). G. Estomas anomocíticos (50  $\mu\text{m}$ ) (TT s/n).

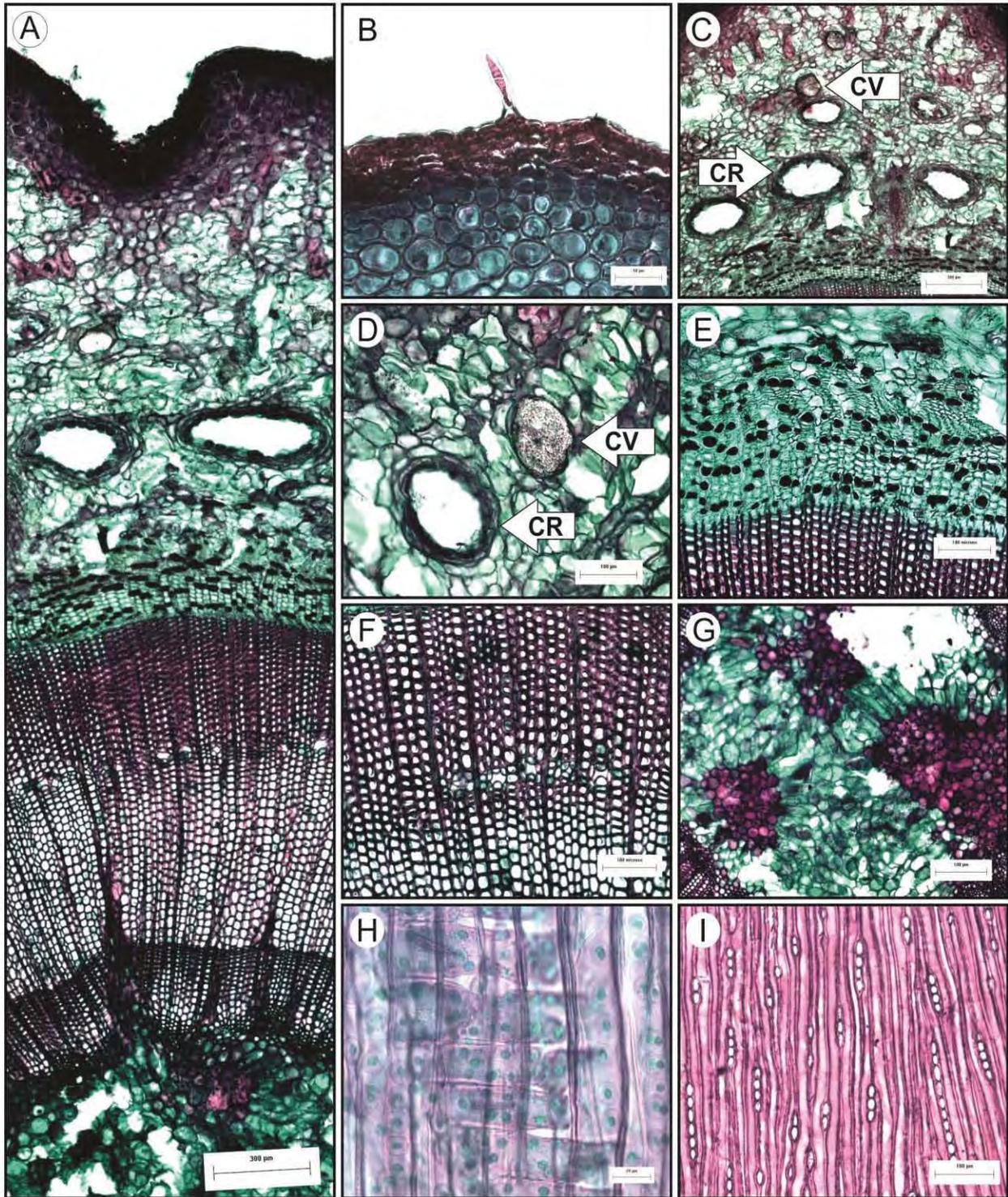


Fig. 4. *Abies religiosa*. Rama vegetativa. A-F. Sección transversal. A. Vista general de felema a médula. B. Peridermis. C. Córtex. D. Canal resinífero y cavidad de resina. E. Floema secundario. F. Xilema secundario. G. Médula. H. Sección radial. Punteaduras de campos de cruce fenestriforme. I. Sección tangencial. Radios uniseriados (DSG 1242). (CR = canal resinífero, CV = cavidad de resina, ID = idioblasto de resina).

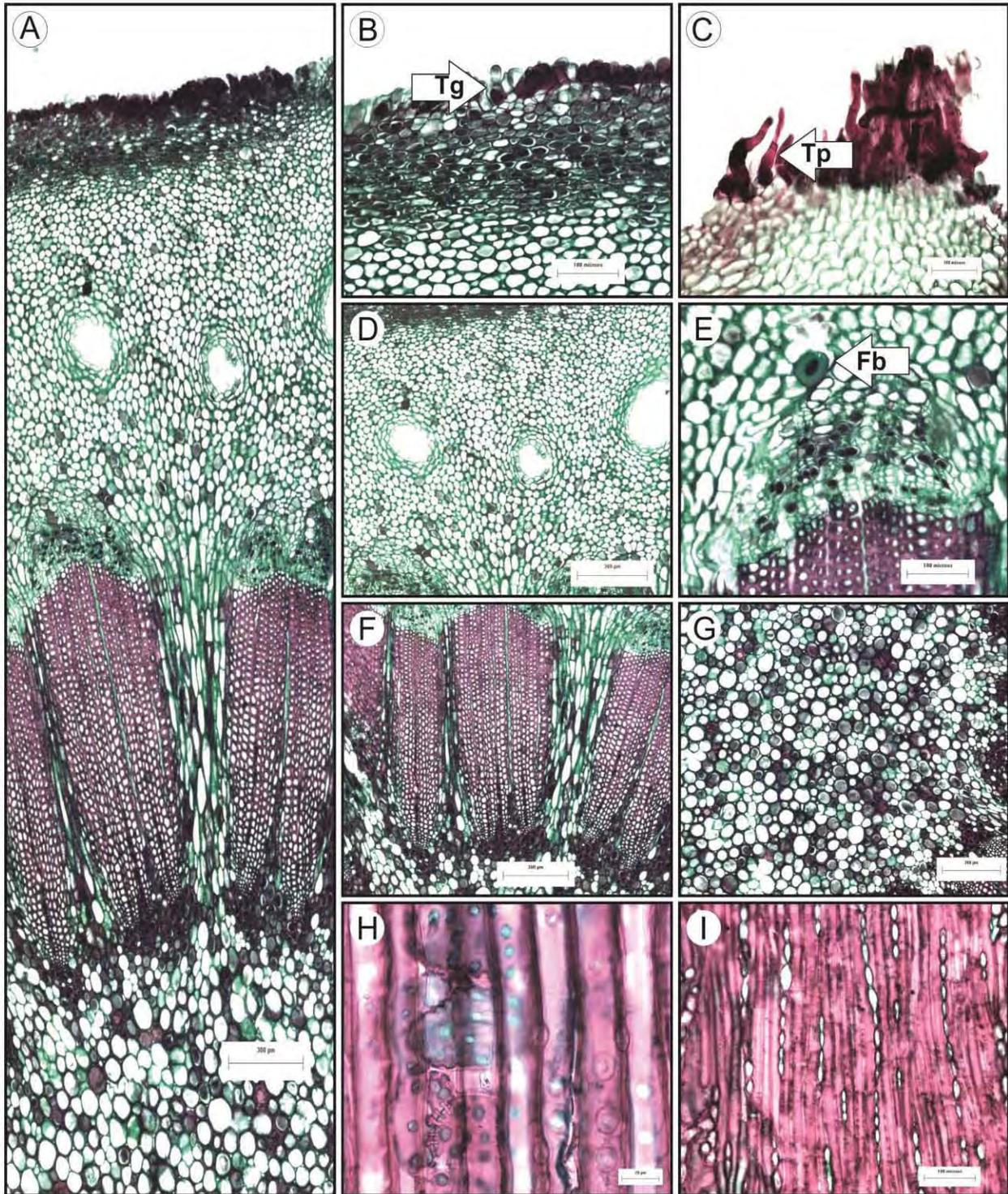


Fig. 5. *Abies religiosa*. Eje del cono ovulado. A-C. Sección transversal. A. Vista general de epidermis a médula. B. Epidermis uniestratificada. C. Tricomas pluricelulares. D. Córtex. E. Floema secundario con fibras asociadas. F. Xilema secundario. G. Médula. H. Sección radial. Punteaduras de campos de cruce piceoide. I. Sección tangencial. Radios uniseriados (TT s/n). (Tg = tricoma glandular, Tp = tricoma pluricelular, Fb = fibras).

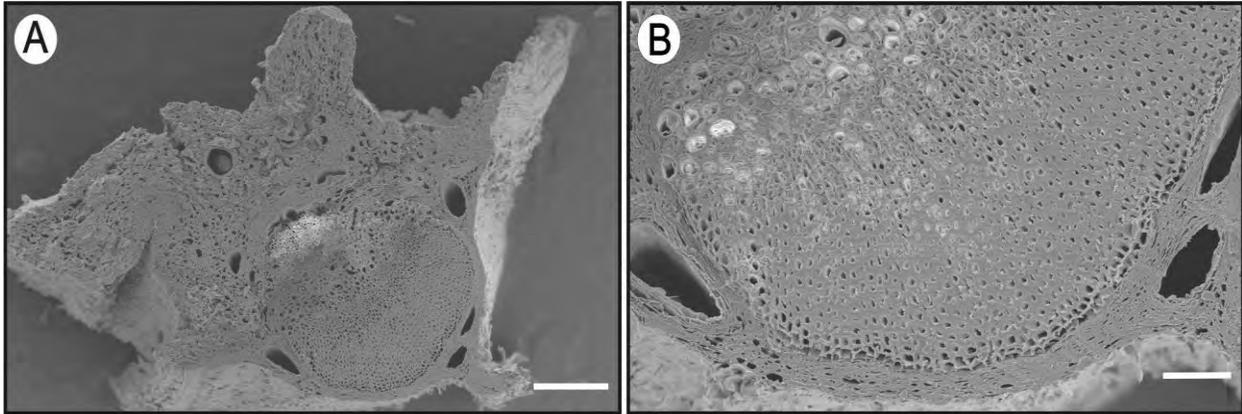


Fig. 6. *Abies religiosa*. Escama (nivel semilla). A-B. Sección transversal de escama. A. Vista general (250  $\mu$ m). B. Tejido vascular (100  $\mu$ m) (TT s/n).

### *Picea chihuahuana*

#### Hoja

Hojas solitarias, persistentes, sésiles, 2.09 cm x 1 mm, ápice agudo (punzante), color verde oscuro a grisáceo. En sección transversal de forma romboide (Fig. 7A). La epidermis uniestratificada con células de paredes lignificadas y cubierta de cera. Hipodermis de dos estratos con paredes celulares lignificadas con lumen cerrado (Fig. 7C). La epidermis e hipodermis interrumpidas por estomas y cámara subestomática en ambas superficies. El mesofilo únicamente de parénquima esponjoso con numerosos cristales prismáticos de oxalato de calcio. Dos canales resiníferos dispuestos lateralmente en el mesofilo en relación al haz vascular y en contacto con la hipodermis (canales resiníferos externos), las células epiteliales de pared celular engrosada y las células de la vaina lignificadas (Fig. 7C). El tejido vascular en dos haces con crecimiento primario, rodeados de tejido de transfusión y a su vez por la endodermis. No hay fibras asociadas al floema y asociado al xilema esclereidas (Fig. 7B). Vista en superficie estomas en hileras paralelas longitudinales no siempre continuas, en superficie adaxial 10 hileras (Fig. 7D) y en superficie abaxial 12 hileras (Fig. 7F), excepto en las prominencias. El aparato estomático anomocítico de forma rectangular, el anillo de Florin ligeramente elevado, no

lobulado, el puente entre estomas y tapón de cera en estoma no desarrollados (Fig. 7E-G). Células epidérmicas elongadas cortas, paredes anticlinales ligeramente hundidas, rectas y lisas (Fig. 7D-F).

#### Rama vegetativa

En sección transversal ritidoma y peridermis; felodermis con cristales prismáticos en el lumen (Fig. 8B). Córtex parenquimatoso con algunos cristales prismáticos. Los canales resiníferos en la parte media e interna del córtex (Fig. 8C). Esclereidas en córtex asociadas a traza foliar. El floema secundario con células cribosas, parénquima en bandas tangenciales con taninos y cristales prismáticos, canales resiníferos verticales ausentes (Fig. 8D) y canales resiníferos radiales con células epiteliales de paredes delgadas (Fig. 8I). El xilema secundario con anillos de crecimiento definidos con transición gradual. Traqueidas con engrosamientos helicoidales y punteaduras areoladas uniseriadas (Fig. 8J). Las punteaduras de campos de cruce piceoides (Fig. 8G) y frecuentemente traqueidas de radio, algunos radios exclusivos de traqueidas de radio (Fig. 8H). Los canales resiníferos verticales y radiales con células epiteliales de paredes gruesas, ubicados en la transición de madera temprana a madera tardía (Fig. 8E-H). Radios uniseriados (Fig. 8H). La médula parenquimatosa sin esclerénquima con algunos cristales prismáticos y taninos (Fig. 8F).

#### Cono ovulado

Cilíndrico, 13 x 4.7 cm, erecto, péndulo al madurar, sésiles. La bráctea rudimentaria, ligulada, 5 x 3.2 mm. Escamas ovulíferas flabeladas, 1.22 x 1.65 cm, convexas y base redondeada.

#### Eje del cono ovulado

El tejido vascular dispuesto en fascículos debido a radios medulares o traza vascular de la escama (Fig. 9A). Xilema secundario sin anillos de crecimiento (Fig. 9B). Las traqueidas sin engrosamientos helicoidales (Fig. 9F) y punteaduras areoladas uniseriadas. Las punteaduras de campos de cruce piceoide (Fig. 9D) y frecuentes

traqueidas de radio. Canales resiníferos verticales y radiales de células epiteliales con paredes gruesas, en una o dos bandas tangenciales próximos a la médula (Fig. 9B-E). Radios uniseriados (Fig. 9E). La médula parenquimatosa con taninos y esclereidas agrupadas al centro (Fig. 9C).

#### Complejo bráctea-escama

La bráctea en sección transversal a nivel semilla con esclerénquima adaxial y células de lumen amplio, el resto con parénquima y un haz vascular central (Fig. 10C). En ambas superficies estomas de forma elíptica en cámara subestomática, con anillo de Florin pobremente desarrollado (Fig. 10D), sin tricomas. La escama en sección transversal a nivel semilla parenquimatosa adaxialmente y en la quilla que separa las semillas, esclerificada en la parte abaxial con células de lumen cerrado y de mayor diámetro conforme se aproxima al tejido vascular. La quilla que separa las semillas prominente (Fig. 10A). Siete haces vasculares en hilera adaxial con crecimiento secundario separados por radios medulares y en los extremos de la escama formando un continuo. Tres canales resiníferos adaxiales (Fig. 10B). La escama a nivel del ala parenquimatosa y con células de paredes engrosadas adaxiales. 19 haces vasculares en hilera central  $1/4$  más pequeños que los haces de la escama a nivel de la semilla. Aproximadamente once canales resiníferos ubicados adaxial y abaxialmente, aproximadamente  $1/3$  más pequeños que en la escama a nivel de la semilla y colapsados en el margen de la escama. A nivel distal de la semilla, la escama parenquimatosa con células de paredes engrosadas adaxial y abaxialmente. 16 haces vasculares y aproximadamente 17 canales resiníferos colapsados mantienen la proporción de la sección anterior.

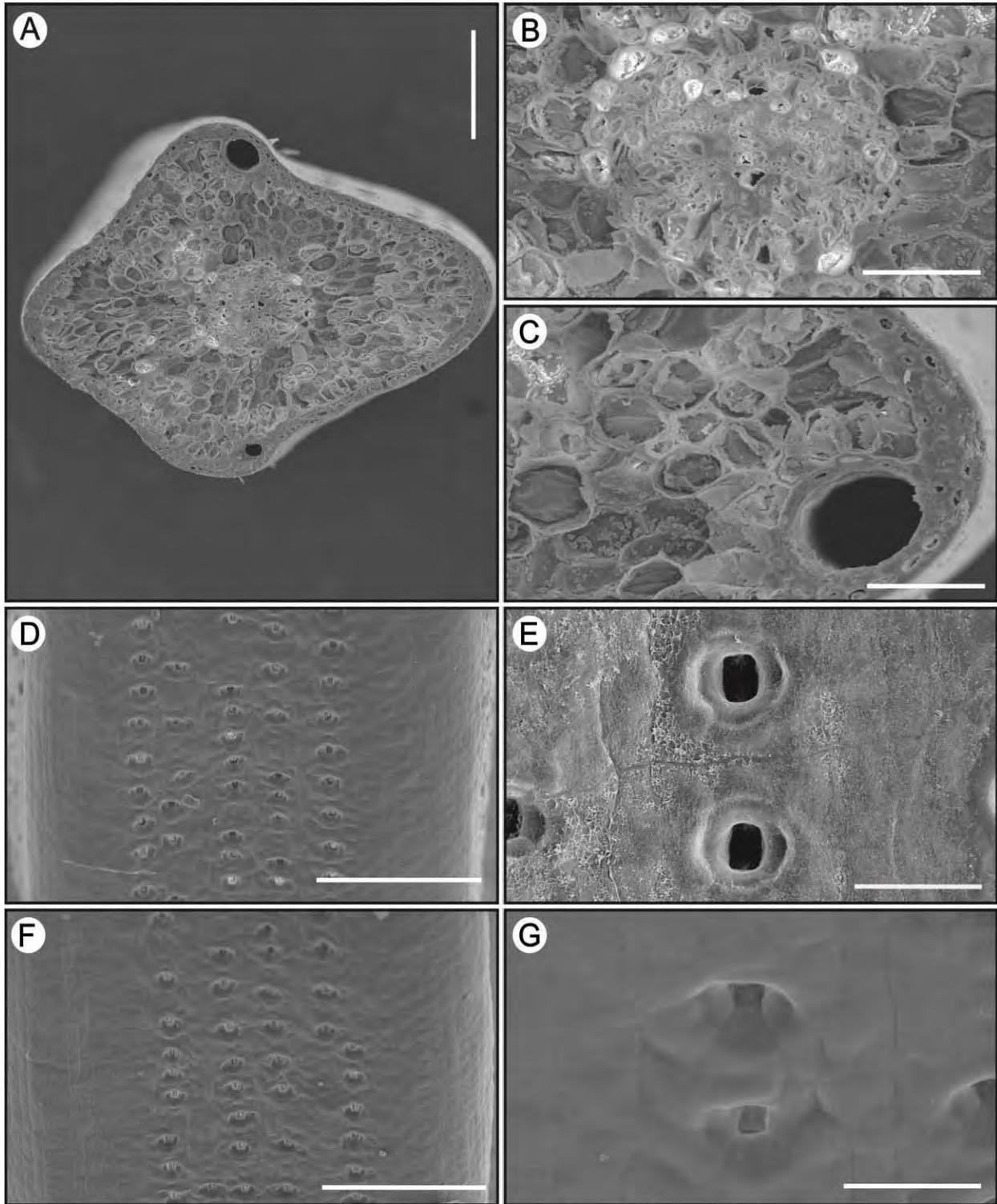


Fig. 7. *Picea chihuahuana*. Hoja. A-C. Sección transversal. A. Vista general (300  $\mu$ m). B. Tejido vascular (100  $\mu$ m). C. Canal resinífero externo (100  $\mu$ m). D-E. Superficie adaxial. D. Margen entero (300  $\mu$ m). E. Aparato estomático anomocítico (50  $\mu$ m). F-G. Superficie abaxial (300  $\mu$ m-50  $\mu$ m) (BYE 37214).

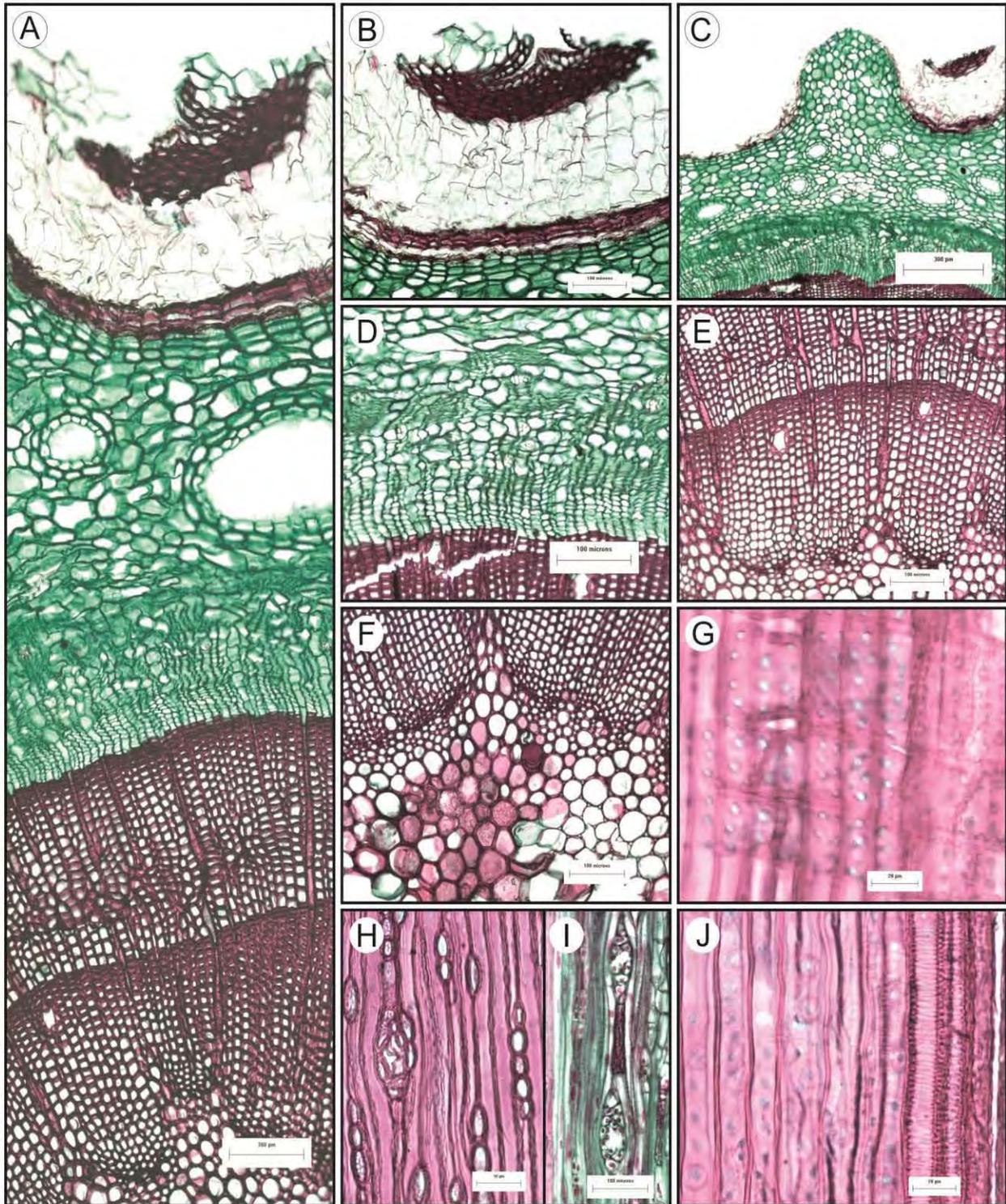


Fig. 8. *Picea chihuahuana*. Rama vegetativa. A-F. Sección transversal. A. Vista general de felema a médula. B. Ritidoma. C. Córtex. D. Floema secundario. E. Xilema secundario. F. Médula. G. Sección radial. Punteaduras de campos de cruce piceoides. H-I. Sección tangencial. H. Radios uniseriados y canales resiníferos radiales en xilema. I. Canales resiníferos radiales en floema. J. Sección radial. Punteaduras areoladas uniseriadas (DSG 1071).

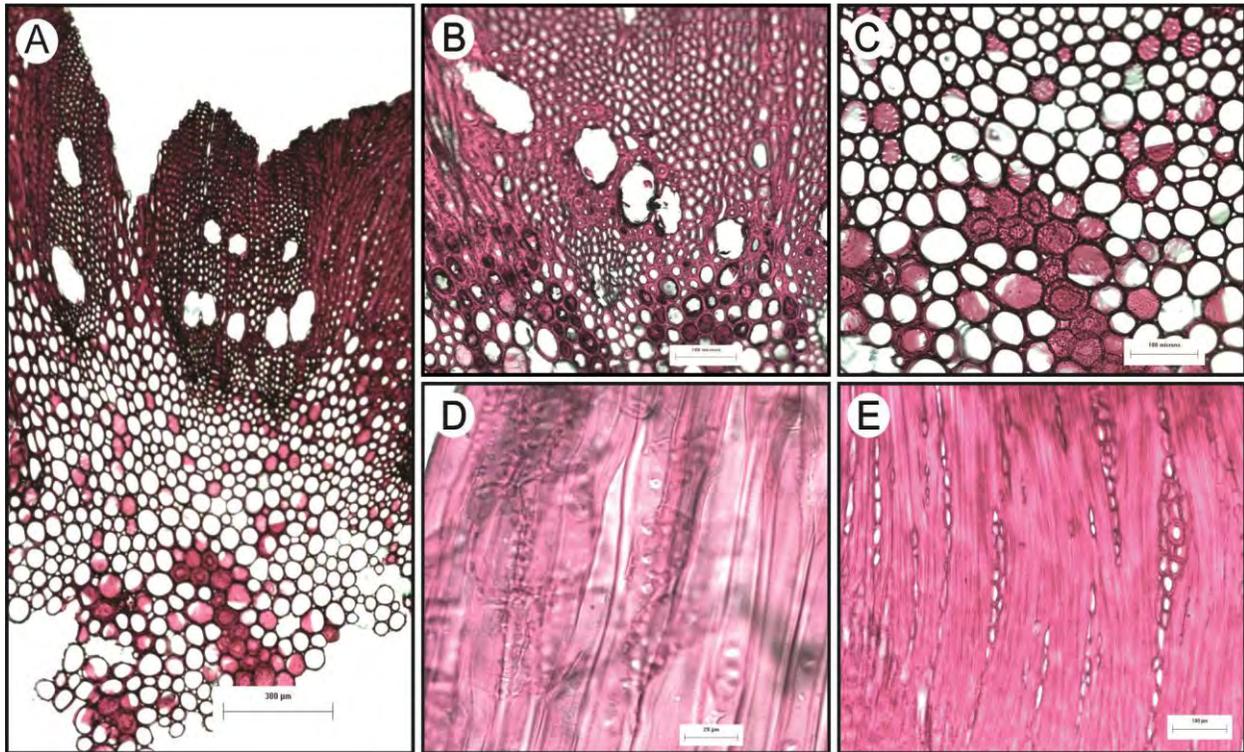


Fig. 9. *Picea chihuahuana*. Eje del cono ovulado. A-C. Sección transversal de xilema secundario y médula. A. Vista general. B. Xilema secundario. C. Médula. D. Sección radial. Punteaduras de campos de cruce piceoide. E-F. Sección tangencial. E. Canales resiníferos radiales en xilema y radios uniseriados (BYE 37214).

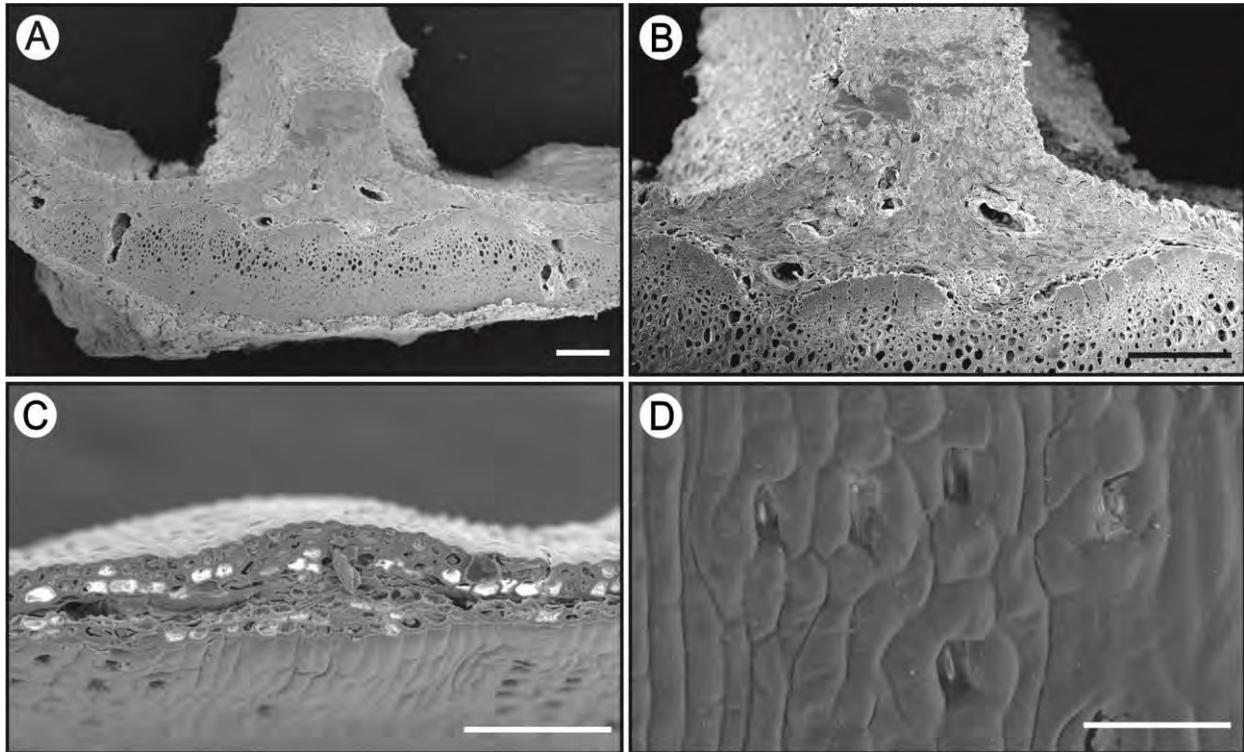


Fig. 10. *Picea chihuahuana*. Escama-bráctea (nivel semilla). A-B. Sección transversal de escama. A. Vista general (250  $\mu$ m). B. Tejido vascular (100  $\mu$ m). C-D. Bráctea. C. Sección transversal (250  $\mu$ m). D. Estomas en superficie adaxial (100  $\mu$ m) (DSG 1071).

### *Pinus pinceana*

#### Hoja

Hojas persistentes, aciculares 9.09 cm x 1 mm, ápice agudo, ligeramente péndulas, color verde grisáceo, en fascículos de tres y vaina decidua. En sección transversal de forma triangular, la superficie dorsal convexa y la ventral cuadrangular (Fig. 11A). Epidermis uniestratificada con células de paredes engrosadas y cubierta por cera. Hipodermis discontinua de dos a tres estratos celulares con paredes lignificadas (Fig. 11C). Epidermis e hipodermis interrumpidas en la superficie ventral por estomas y cámara subestomática. El mesofilo de parénquima plicado. Dos canales resiníferos ubicados dorsalmente en el mesofilo, en contacto con la hipodermis (canales resiníferos externos) y células lignificadas los rodean; las células epiteliales

y de la vaina de paredes celulares delgadas (Fig. 11C). El tejido vascular con crecimiento secundario de un haz rodeado de tejido de transfusión y a su vez, por la endodermis. Asociado al floema fibras y al xilema esclereidas (Fig. 11B). Vista en superficie de margen entero (Fig. 11D-E). En superficie dorsal sin estomas (Fig. 11D-E) en la muestra DSG 1246 ó dos hileras de estomas en la muestra DSG 1163. En superficie ventral estomas dispuestos en seis hileras paralelas longitudinales (Fig. 11F). El aparato estomático anomocítico de forma elíptica, el anillo de Florin marcadamente elevado, no lobulado y puente entre estomas desarrollado (Fig. 11G), sin tapón de ceras en estomas (Fig. 11F-G). Células epidérmicas elongadas largas, paredes anticlinales hundidas, rectas y lisas (Fig. 11E-G).

#### Rama vegetativa

En sección transversal peridermis y ritidoma de cuatro estratos; felema y felodermis (Fig. 12B). Córtex parenquimatoso sin esclerénquima, con cristales isodiamétricos en el interior de sus células. Los canales resiníferos a veces en contacto con la felodermis (externos) y en la parte interna del córtex (internos) (Fig. 12C). El floema secundario con células cribosas colapsadas y parénquima arreglado en bandas tangenciales con cristales prismáticos y estiloides (Fig. 12D) y canales resiníferos radiales con células epiteliales de paredes delgadas (Fig. 12I). El xilema secundario con anillos de crecimiento definidos con transición abrupta (Fig. 12E). Las traqueidas de madera tardía a veces con cristales prismáticos de oxalato de calcio en paredes, las punteaduras uniseriadas. Las punteaduras de campos de cruce fenestriformes (Fig. 12G) y frecuentemente traqueidas de radio. Canales resiníferos verticales y radiales con células epiteliales de paredes delgadas (Fig. 12E-H). Parénquima axial únicamente asociado a los canales resiníferos, con cristales prismáticos. Radios uniseriados. La médula parenquimatosa con esclereidas cercanas al cilindro vascular (Fig. 12F).

### Cono ovulado

De 6 x 5.8 cm, pedúnculo corto, péndulo. Las brácteas muy reducidas. Escamas ovulíferas poligonales, 1.65 x 2.21 cm, arregladas helicoidalmente, suaves, fácilmente removibles, apófisis elevado, umbo dorsal aplanado sin espina.

### Eje del cono ovulado

En sección transversal epidermis uniestratificada con tricomas pluricelulares (Fig. 13B). Córtez parenquimatoso con taninos en el lumen. Canales resiníferos corticales en hileras tangenciales en la parte externa, media e interna, de células epiteliales con pared delgada (Fig. 13A-C). El tejido vascular en fascículos debido a la traza vascular de la escama o radios medulares. El floema secundario con células cribosas y parénquima difuso con taninos (Fig. 13D), canales resiníferos radiales de células epiteliales con paredes delgadas (Fig. 13I). El xilema secundario con un anillo (Fig. 13A-E), las punteaduras son areoladas y uniseriadas. Las punteaduras de campos de cruce piceoide (Fig. 13G), frecuentemente traqueidas de radio y parénquima difuso. Canales resiníferos verticales (Fig. 13D-E) y radiales con células epiteliales de paredes delgadas (Fig. 13E-H). Radios uniseriados (Fig. 13H-I). Médula parenquimatoso, sin esclerénquima, con taninos en el lumen (Fig. 13F).

### Complejo bráctea-escama

La escama en sección transversal a nivel semilla parenquimatoso. La quilla que separa las semillas prominente (Fig. 14A). Seis haces vasculares en hilera central con crecimiento secundario. Xilema secundario con canal resinífero vertical (Fig. 14B). Diez canales resiníferos adaxiales y abaxiales. A nivel medio es parenquimatoso y con dos a tres estratos de esclerénquima en la parte abaxial con células de lumen amplio. Ocho haces vasculares en hilera central de igual dimensión que a nivel de la semilla. 16 canales resiníferos 1/2 más pequeños que en nivel de la semilla ubicados tanto adaxial, como abaxial y entre los haces vasculares. A nivel distal de la semilla la escama parenquimatoso con esclerénquima abaxial con células de lumen amplio. Tejido vascular ausente. 49 canales resiníferos que proliferan dispersos sin arreglo aparente, de dimensiones y

formas distintas (circulares o elongados). Superficie abaxial con estomas en cámara subestomática, dispersos, sin tricomas.

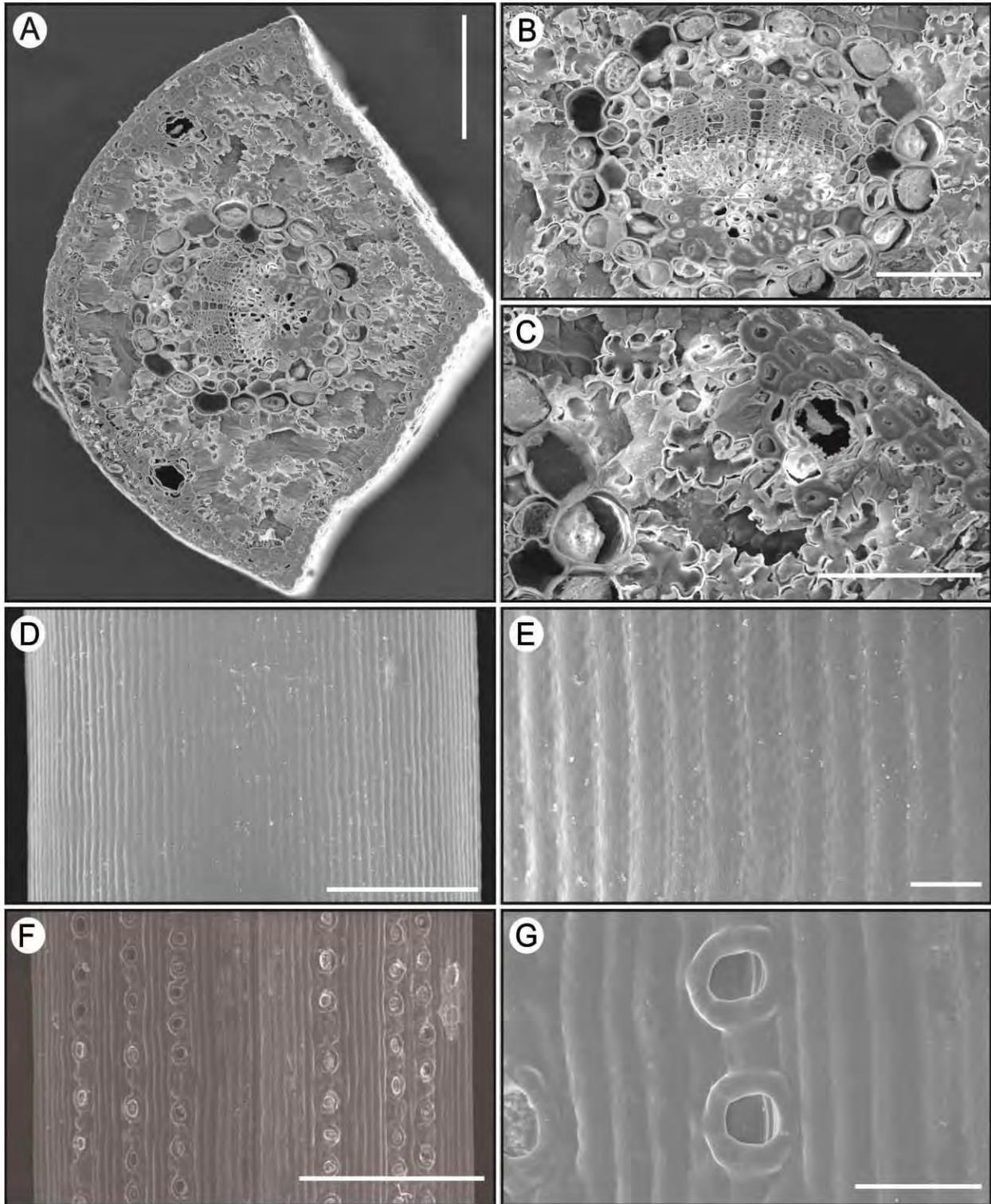


Fig. 11. *Pinus pinceana*. Hoja. A-C. Sección transversal. A. Vista general (200  $\mu$ m). B. Haz vascular (100  $\mu$ m). C. Canal resinífero externo (100  $\mu$ m). D-E. Superficie dorsal. D. Ausencia de estomas y margen entero (300  $\mu$ m). E. Acercamiento de la superficie (50  $\mu$ m). F-G. Superficie ventral. F. Hileras de estomas (300  $\mu$ m). G. Estomas anomocíticos (50  $\mu$ m) (DSG 1246).

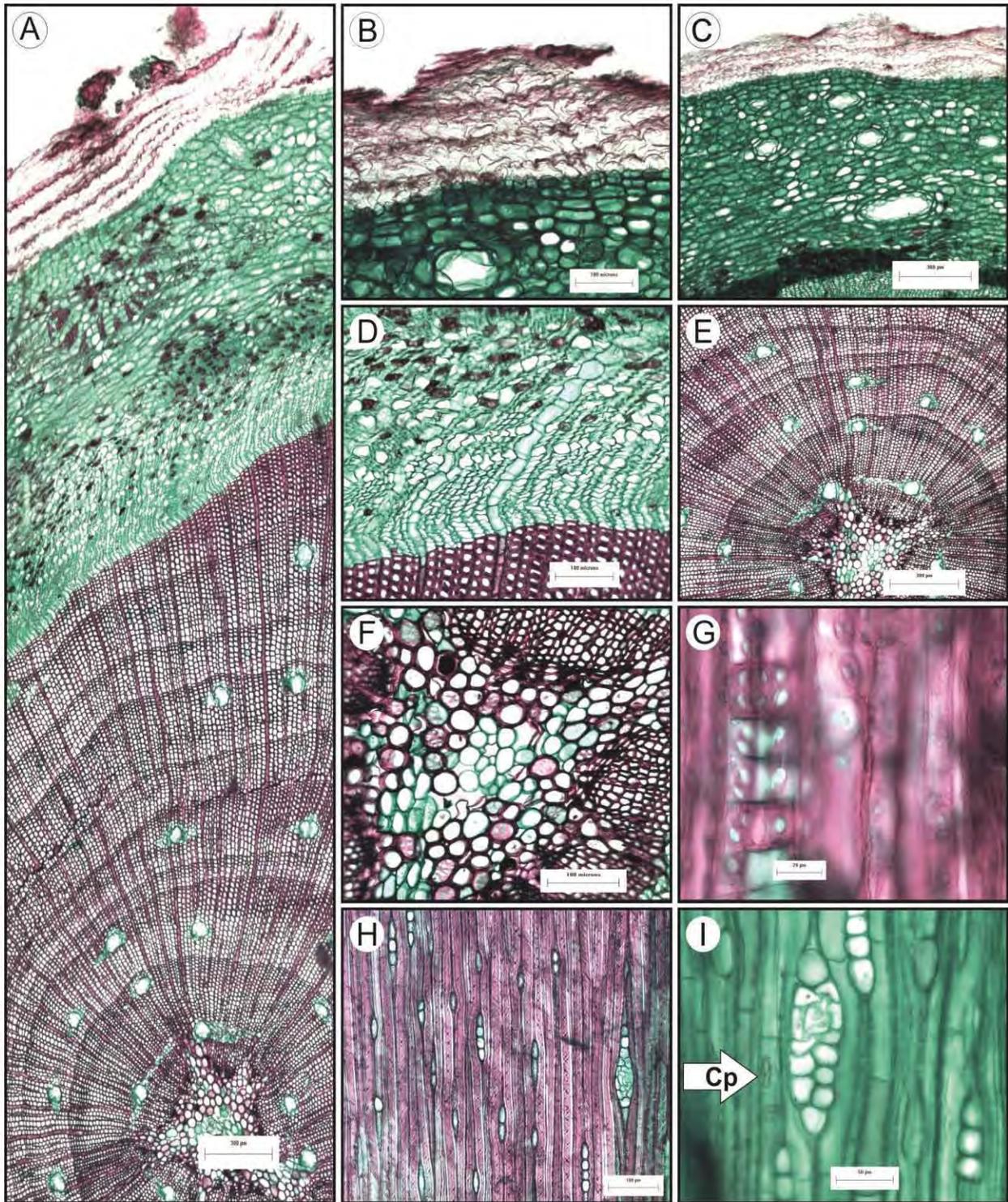


Fig. 12. *Pinus pinceana*. Rama vegetativa. A-F. Sección transversal de felema a médula. A. Vista general. B. Peridermis. C. Córtex. D. Floema secundario. E. Xilema secundario. F. Médula (DSG 1163) G. Sección radial, punteaduras de campos de cruce fenestriforme. H-I. Sección tangencial. Canales resiníferos radiales en xilema y floema. H. Radios uniseriados. I. Cristales prismáticos en parénquima en floema (DSG 1246). (Cp = cristales prismáticos).g

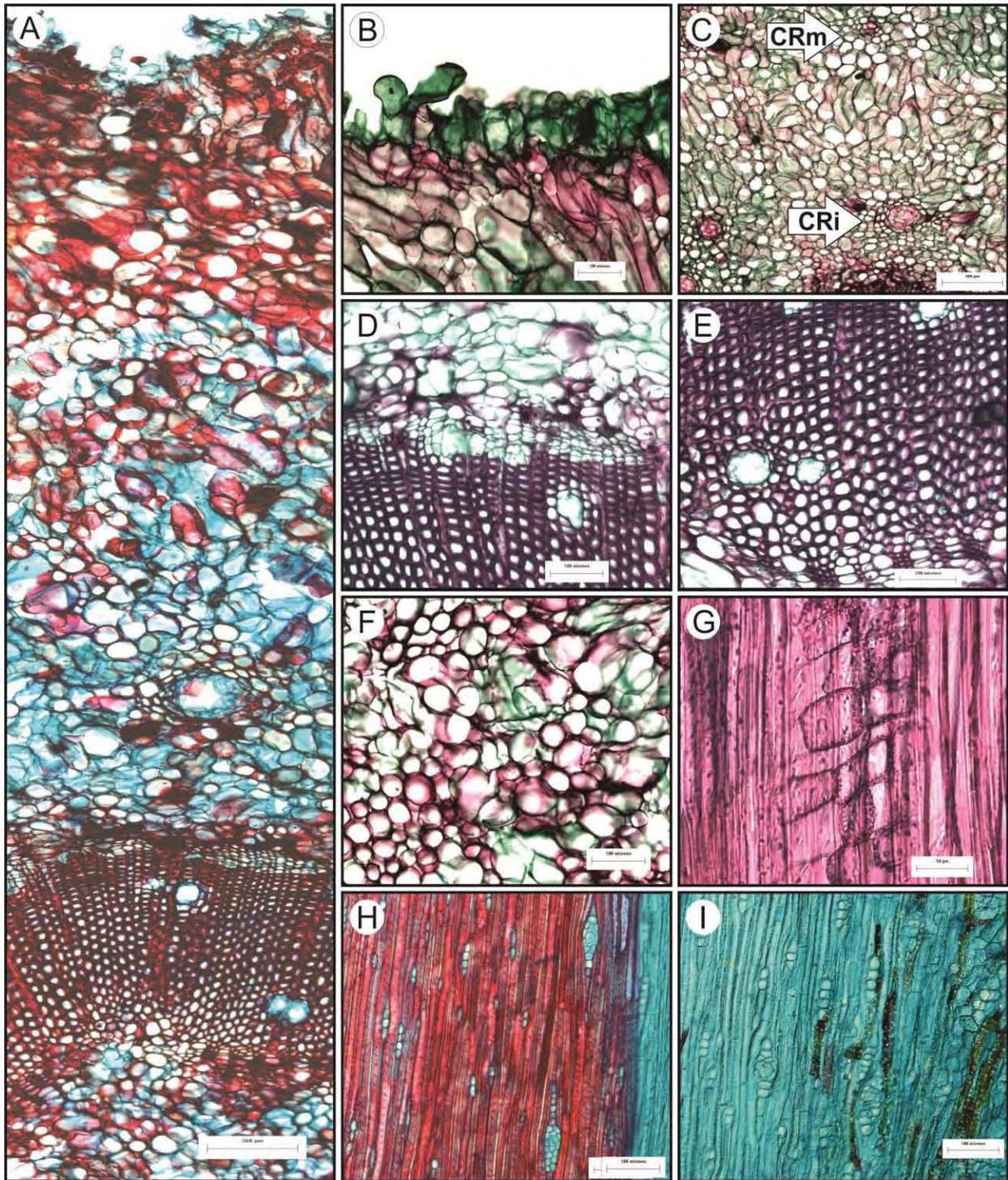


Fig. 13. *Pinus pinceana*. Eje del cono ovulado. A-F. Sección transversal. A. Vista general (DSG 1246). B. Epidermis con tricomas. C. Córtez con canales resiníferos. D-E Tejido vascular en fascículos. D. Floema secundario. E. Xilema secundario. F. Médula (DSG 1163). G. Sección radial, punteaduras de campos de cruce piceoide. H-I. Sección tangencial. Canales resiníferos radiales en xilema y floema. H. Radios uniseriados. I. Cristales prismáticos en parénquima en floema (DSG 1246). (CRi = canales resiníferos en córtex interno; CRm = canales resiníferos en córtex medio).

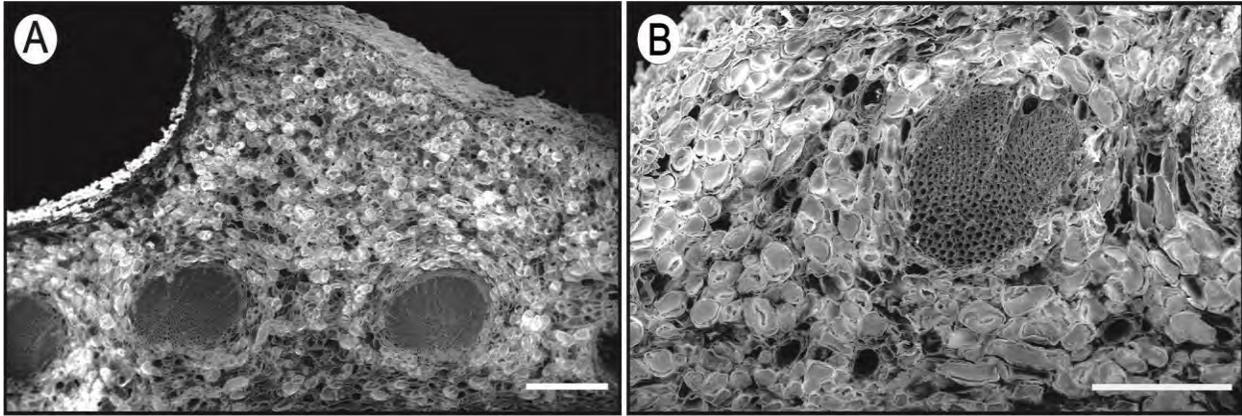


Fig. 14. *Pinus pinceana*. Escama (nivel semilla). A-B. Sección transversal (300  $\mu$ m). A. Escama parenquimatosa. B. Haz vascular (DSG 1163).

### *Pinus teocote*

#### Hoja

Hojas persistentes, aciculares, erguidas, 7.2 cm x 1 mm, ápice agudo, color verde oscuro, en fascículos de tres y vaina persistente. En sección transversal de forma triangular, la superficie dorsal convexa y la ventral cuadrangular (Fig. 15A). La epidermis uniestratificada con células de pared lignificada y cubierta por cera. Hipodermis de dos a tres estratos de células con paredes lignificadas con lumen cerrado (Fig. 15C). La epidermis e hipodermis interrumpidas por estomas y cámara subestomática. El mesofilo de parénquima plicado. Dos canales resiníferos ubicados lateralmente en relación al haz vascular en contacto con la endodermis (canales resiníferos internos) y un canal resinífero adaxial, las células epiteliales y de la vaina con paredes celulares delgadas (Fig. 15C). El tejido vascular con crecimiento primario está dividido en dos haces y rodeado por el tejido de transfusión, el cual está delimitado por la endodermis. Sin fibras asociadas al floema y asociado al xilema esclereidas (Fig. 15B). Vista en superficie el margen serrado (Fig. 15D-F). En superficie dorsal estomas en siete hileras paralelas longitudinales (Fig. 15D) y en la ventral nueve (Fig. 15F). El aparato estomático anomocítico de forma elíptica, el anillo de Florin ausente, puente entre estomas no desarrollado

(Fig. 15E-G) y tapón de ceras desarrollado (Fig. 15D-F). Células epidérmicas elongadas, cortas, paredes anticlinales a nivel, rectas y lisas (Fig. 15E-G).

#### Rama vegetativa

En sección transversal peridermis con felema y felodermis (Fig. 16B). Córtex parenquimatoso sin esclerénquima, con taninos y únicamente las células cercanas o en contacto con el floema secundario colapsado con cristales prismáticos y estiloides. Los canales resiníferos en la parte interna del córtex (internos) (Fig. 16C). El floema secundario con células cribosas, parénquima axial con taninos y estiloides (Fig. 16I), arreglado en bandas tangenciales; radios uniseriados dilatados (Fig. 16D) y canales resiníferos radiales con células epiteliales de paredes delgadas (Fig. 16I). El xilema secundario con anillos de crecimiento definidos y transición abrupta (Fig. 16E). Las punteaduras son areoladas uniseriadas, las punteaduras de campos de cruce piceoide y frecuentes traqueidas de radio (Fig. 16G). Canales resiníferos verticales y radiales con células epiteliales de paredes delgadas (Fig. 16E-H). Parénquima axial asociado a los canales resiníferos, con cristales prismáticos y taninos. Radios uniseriados. Médula parenquimatoso con taninos y sin esclerénquima (Fig. 16F).

#### Cono ovulado

De 3.5 x 3.2 cm, pedúnculo corto deciduo. Las brácteas muy reducidas. Escamas ovulíferas 1.4 x 1.66 cm, arregladas helicoidalmente, apófisis ligeramente elevada, umbo dorsal con espina decidua.

#### Eje del cono ovulado

En sección transversal epidermis y córtex esclerificados con taninos en el lumen (Fig. 17B). Canales resiníferos internos corticales en hileras tangenciales próximos al floema secundario y las paredes de células epiteliales gruesas (Fig. 17C). El floema secundario, solo de tres estratos de células cribosas (Fig. 17D). El xilema secundario no forma un cilindro continuo debido a trazas vasculares de la escama y radios medulares. La madera sin anillos de crecimiento. Las punteaduras

areoladas uniseriadas. Las punteaduras de campos de cruce piceoide (Fig. 17G) y frecuentes traqueidas de radio. Canales resiníferos verticales y radiales con células epiteliales de paredes gruesas, en hilera tangencial cercanos a la médula (Fig. 17E-17F). Parénquima axial difuso (Fig. 17I). Radios uniseriados (Fig. 17H). Médula parenquimatosa sin esclerénquima, con taninos en el lumen (Fig. 17F).

#### Complejo bráctea-escama

La escama en sección transversal a nivel de la semilla parenquimatosa adaxialmente y esclerenquimatosa abaxial con células de lumen cerrado. La quilla que separa a las semillas poco prominente. 11 haces vasculares amplios en hilera adaxial con abundante crecimiento secundario y con 19 canales resiníferos abaxiales (Fig. 18A). Xilema secundario con un canal resinífero vertical. A nivel del ala esclerénquima adaxial y abaxialmente de tres a cuatro estratos con células de lumen amplio (Fig. 18B). 10 haces vasculares, su tamaño es 1/2 menor que a nivel de la semilla. 19 canales resiníferos se ubican tanto adaxial, como abaxialmente y entre los haces vasculares. A nivel distal de la semilla esclerénquima adaxial y abaxial de cuatro a cinco estratos con células de lumen amplio. Los haces vasculares se reducen en número, nueve, y son 1/3 menores que a nivel de la semilla. 21 canales resiníferos se ubican tanto adaxial, abaxialmente y entre los haces vasculares, varían entre 1/3 más pequeños y similar dimensión que a nivel de la semilla. Ambas superficies sin estomas ni tricomas.

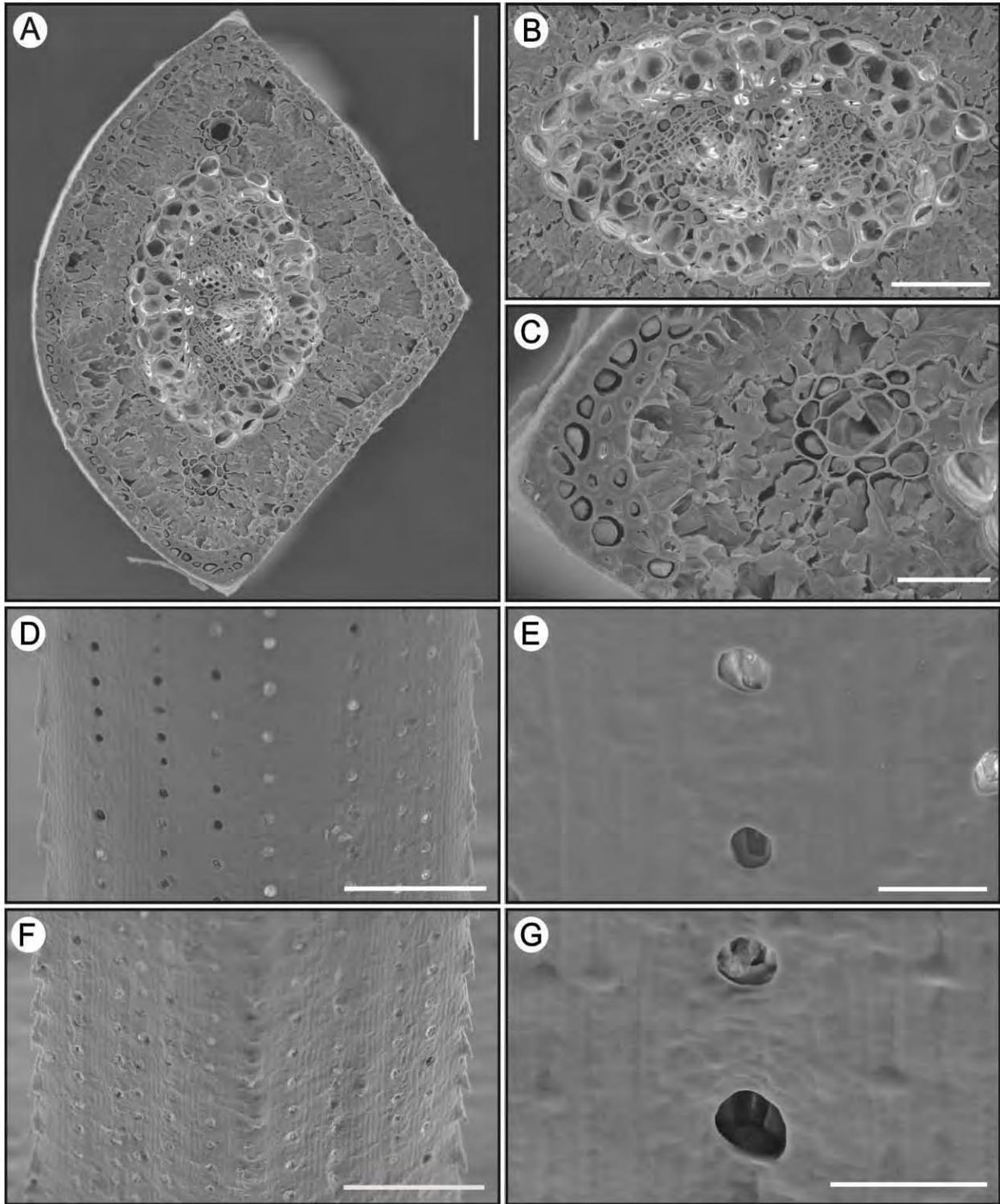


Fig. 15. *Pinus teocote*. Hoja. A-C. Sección transversal. A. Vista general (300  $\mu$ m). B. Tejido vascular (50  $\mu$ m). C. Canal resinífero interno (50  $\mu$ m). D-E. Superficie dorsal. D. Estomas y margen serrado (300  $\mu$ m). E. Aparato estomático (50  $\mu$ m). F-G. Superficie ventral. F. Estomas (300  $\mu$ m). G. Aparato estomático anomocítico (50  $\mu$ m) (DSG 1240).

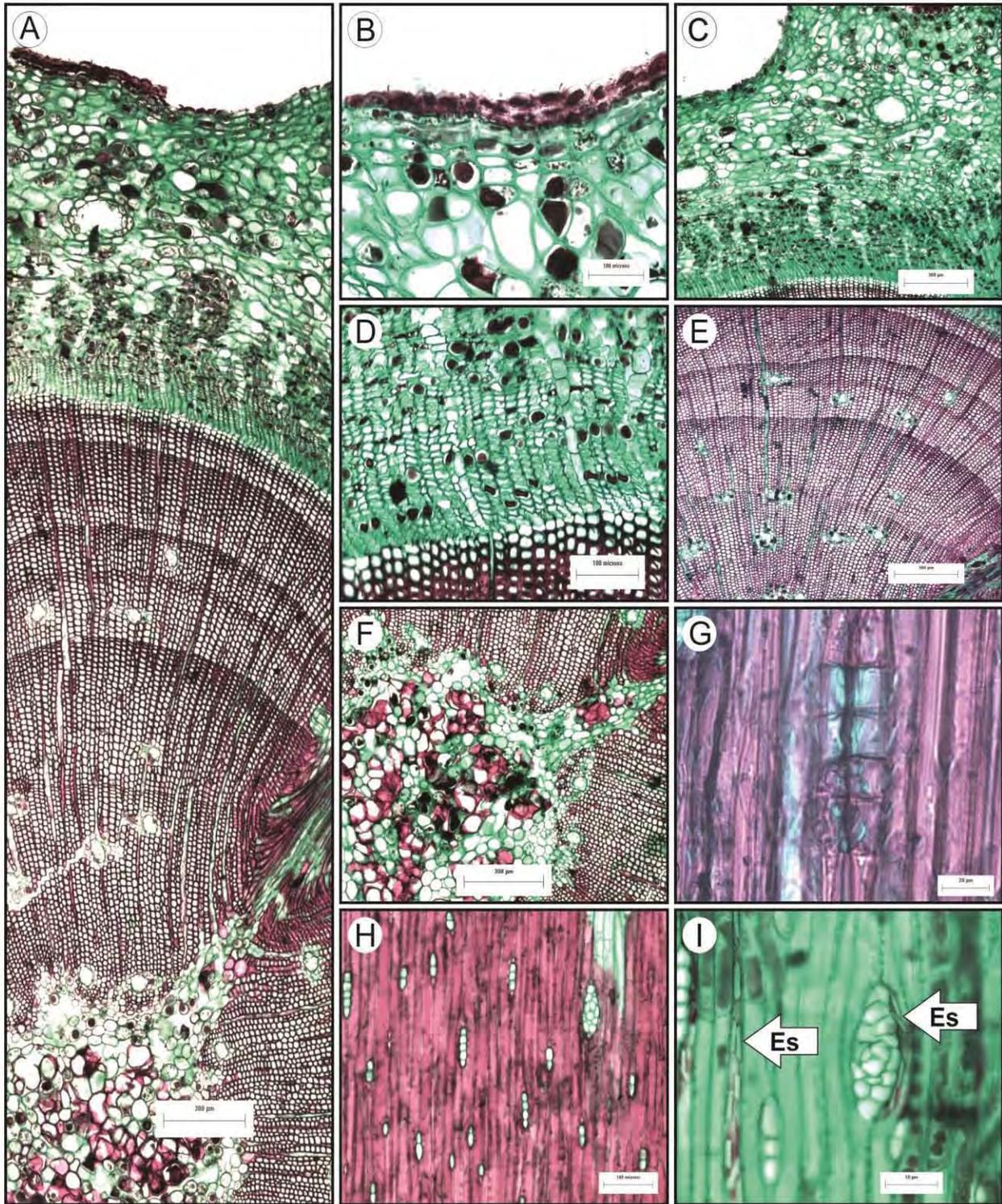


Fig. 16. *Pinus teocote*. Rama vegetativa. A-F. Sección transversal. A. Vista general de felema a médula. B. Peridermis con felema y felodermis. C. Córtex. D. Floema secundario. E. Xilema secundario. F. Médula. G. Sección radial. Campos de cruce piceoide. H-I. Sección tangencial. Canales resiníferos radiales en xilema y floema. H. Radios uniseriados y traqueidas de radio en xilema. I. Estiloides en parénquima en floema (DSG 1237). (Es = estiloides).

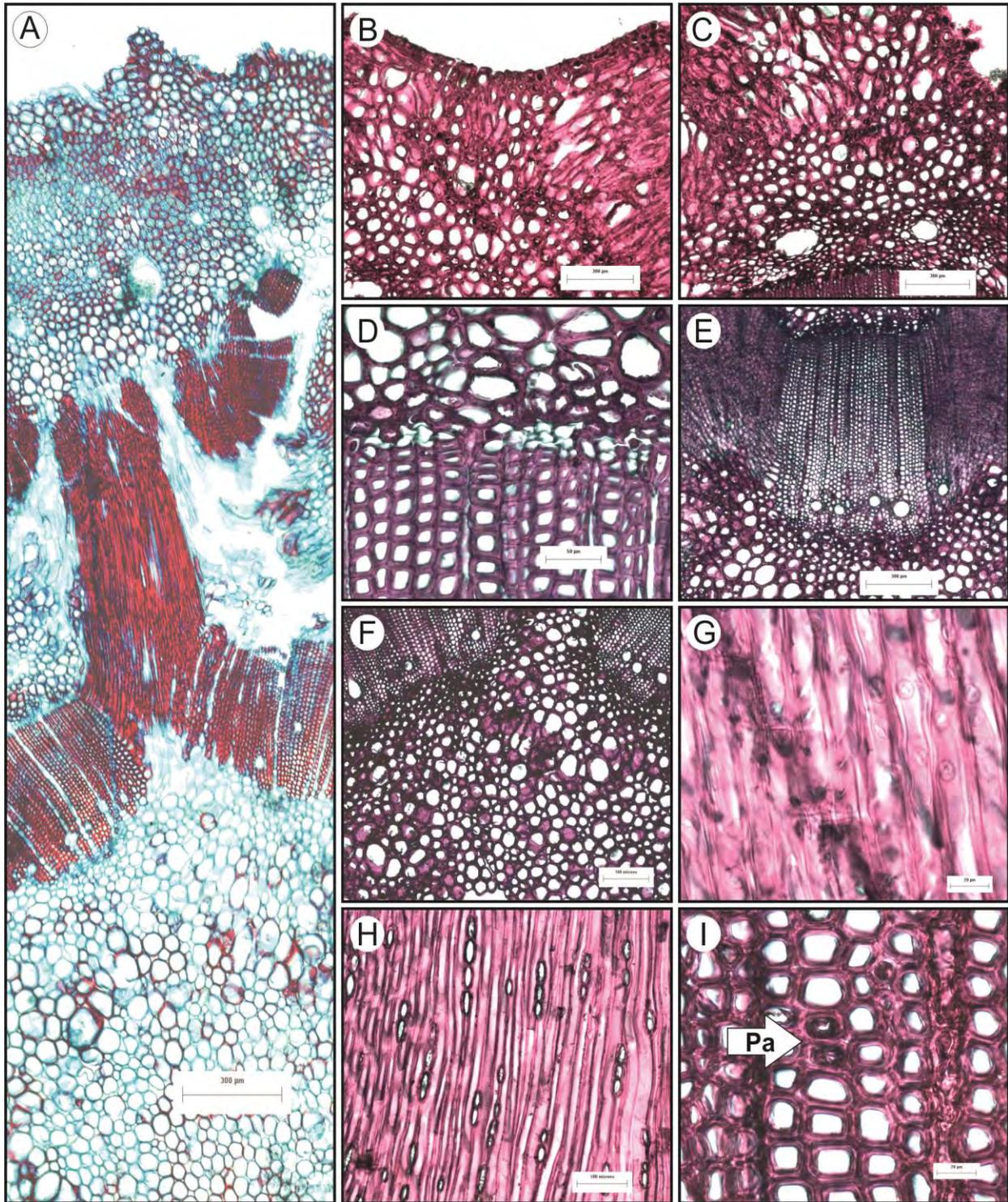


Fig. 17. *Pinus teocote*. Eje del cono ovulado. A-F. Sección transversal. A. Vista general de epidermis a médula. (DSG 1237). B. Epidermis uniestratificada. C. Córtex. D. Floema secundario. E. Xilema secundario. F. Médula. G. Sección radial. Punteaduras de campos de cruce piceoide. H. Sección tangencial. Radios uniseriados. I. Sección transversal de xilema secundario. Parénquima axial. (DSG 1240). (Pa = Parénquima axial).

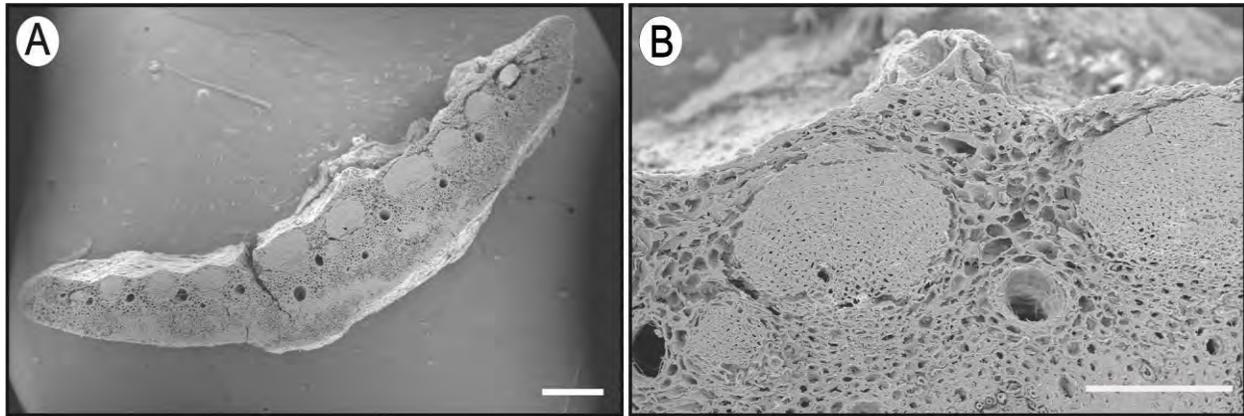


Fig. 18. *Pinus teocote*. Escama (nivel semilla). A-B. Sección transversal (300 µm). A. Vista general. B. Tejido vascular (DSG 1240).

### *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca*

#### Hoja

Hojas persistentes, lineares, erguidas, 1.44 cm x 1 mm, ligeramente pediceladas y retorcidas en la base, ápice obtuso, color verde oscuro, lustrosas. En sección transversal de forma más o menos elíptica, con una prominencia en la parte abaxial y un pequeño surco en la adaxial (Fig. 19A). La epidermis uniestratificada de células con paredes lignificadas y cubierta de cera. Hipodermis discontinua de dos a tres estratos con células de paredes lignificadas con lumen cerrado, únicamente en la parte abaxial (Fig. 19C). La epidermis e hipodermis interrumpidas por estomas y cámara subestomática, exclusivos de la superficie abaxial. El mesofilo diferenciado en parénquima en empalizada y esponjoso, con cristales prismáticos. Dos canales resiníferos ubicados lateralmente en el mesofilo en relación al haz vascular y en contacto con la hipodermis abaxial (canales resiníferos externos), las células epiteliales de pared celular delgada y las células de la vaina ligeramente engrosada (Fig. 19C). El tejido vascular con crecimiento primario rodeado por tejido de transfusión y a su vez por la endodermis. Asociado al floema algunas fibras, sin esclereidas asociadas al xilema (Fig. 19B). Vista en superficie, la adaxial sin estomas (Fig. 19D-E). En la superficie abaxial estomas en 16 hileras paralelas

longitudinales excepto en la prominencia de dicha superficie (Fig. 19F). El aparato estomático anomocítico de forma rectangular, el anillo de Florin marcadamente elevado con paredes profundas, lobulado, puente entre estomas desarrollado y tapón de ceras sobre estomas sin desarrollar (Fig. 19G). Células epidérmicas elongadas largas, paredes anticlinales hundidas, rectas y lisas (Fig. 19E).

#### Rama vegetativa

En sección transversal ritidoma y peridermis con felema y felodermis (Fig. 20B). Córtex parenquimatoso con taninos y abundantes esclereidas y astroesclereidas. Los canales resiníferos corticales en la parte externa (Fig. 20C). El floema secundario con células cribosas, parénquima en bandas tangenciales con taninos y cristales prismáticos en su interior, sin canales resiníferos verticales o radiales (Fig. 20D). El xilema secundario con anillos de crecimiento definidos y transición gradual y a veces abrupta. Traqueidas con engrosamiento helicoidal (Fig. 20H). Las punteaduras son areoladas, uniseriadas. Las punteaduras de campos de cruce piceoide (Fig. 20G) y traqueidas de radio frecuentes. Los canales resiníferos verticales y radiales con células epiteliales de paredes lignificadas (Fig. 20E-I), los canales resiníferos verticales en el primer anillo de crecimiento muy cercano a la médula en los consecuentes anillos de crecimiento sin arreglo aparente (Fig. 20E). Parénquima axial difuso. Radios uniseriados (Fig. 20H). La médula parenquimatosa con taninos, esclereidas y astroesclereidas dispersas (Fig. 20F).

#### Cono ovulado

Cónico en pedúnculo de 0.8 cm de largo, deciduo, 5.8 x 2.2 cm. La bráctea ligulada, 2.8 cm x 2 mm, sobrepasa en longitud a la escama ovulífera, ápice trilobado, con cúspide más larga que los lóbulos laterales. Escama de forma ovalada, convexa, 2.76 x 2.32 cm, base cuneada.

#### Eje del cono ovulado

En sección transversal el tejido vascular en fascículos debido a la traza vascular de la escama o radios medulares. El xilema secundario sin anillos de crecimiento (Fig.

21A-21B). Traqueidas sin engrosamientos helicoidales (Fig. 21E). Las punteaduras areoladas uniseriadas. Las punteaduras de campos de cruce piceoide (Fig. 21D). Los canales resiníferos verticales y radiales con células epiteliales de paredes gruesas, en bandas tangenciales cercanas a la médula (Fig. 21B). Parénquima axial difuso y asociado a los canales resiníferos, con taninos en el lumen. Médula parenquimatosa sin esclerénquima con taninos en el lumen (Fig. 21C).

#### Complejo bráctea-escama

La bráctea en sección transversal a nivel de la semilla con parénquima adaxial y esclerénquima abaxial con células de lumen amplio (Fig. 22C). Un haz vascular central con dos canales resiníferos verticales (Fig. 22D). Bráctea a nivel del ala con parénquima al centro, esclerénquima de uno a cuatro estratos, adaxial y abaxial. Un haz vascular central. Canales resiníferos colapsados. La bráctea a nivel distal de la semilla parenquimatosa y epidermis esclerificada. Un haz vascular central y seis canales resiníferos adaxiales y abaxiales. En superficie adaxial estomas de forma elíptica en cámara subestomática con anillo de Florin no desarrollado. La escama a nivel semilla esclerificada con células de lumen cerrado abaxialmente y conforme se aproxima a tejido vascular el lumen es amplio (Fig. 22A-B). El tejido vascular formando una hilera continua adaxial, con crecimiento secundario, separados por radios medulares (Fig. 22A). Xilema secundario con canales resiníferos verticales. Sin canales resiníferos en el esclerénquima (Fig. 22B). La escama a nivel del ala parenquimatosa, con epidermis de células con paredes engrosadas. 19 haces vasculares en hilera central. 11 canales resiníferos tanto adaxial como abaxialmente y entre los haces vasculares. En superficie adaxial abundantes tricomas en la quilla que separa las alas y glabro debajo de ellas; abundantes tricomas abaxiales. La sección de la escama a nivel distal de la semilla parenquimatosa con epidermis esclerificada de uno a dos estratos). 22 haces vasculares, 2/3 más grandes que en nivel del ala. 13 canales resiníferos entre los haces vasculares, 1/4 más grandes que en nivel del ala. En ambas superficies tricomas unicelulares.

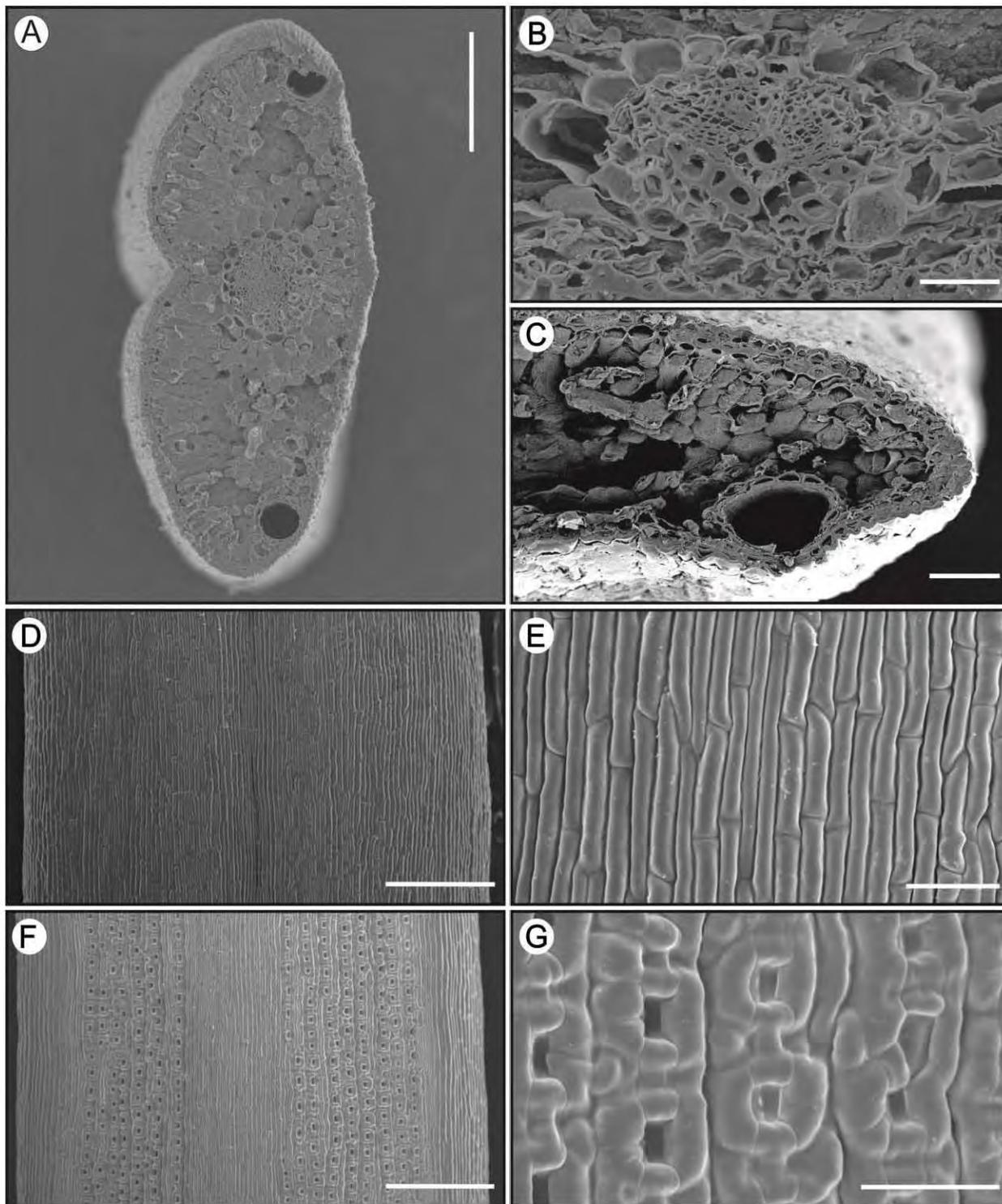


Fig. 19. *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca*. Hoja. A-C. Sección transversal. A. Vista general (250  $\mu$ m). B. Haz vascular (50  $\mu$ m). C. Canal resinífero externo (50  $\mu$ m) (DSG 1221). D-E. Superficie adaxial. D. Ausencia de estomas (300  $\mu$ m). E. Aparato estomático (50  $\mu$ m). F-G. Superficie abaxial. F. Estomas (300  $\mu$ m). G. Aparato estomático anomocítico (50  $\mu$ m) (DSG 1230).

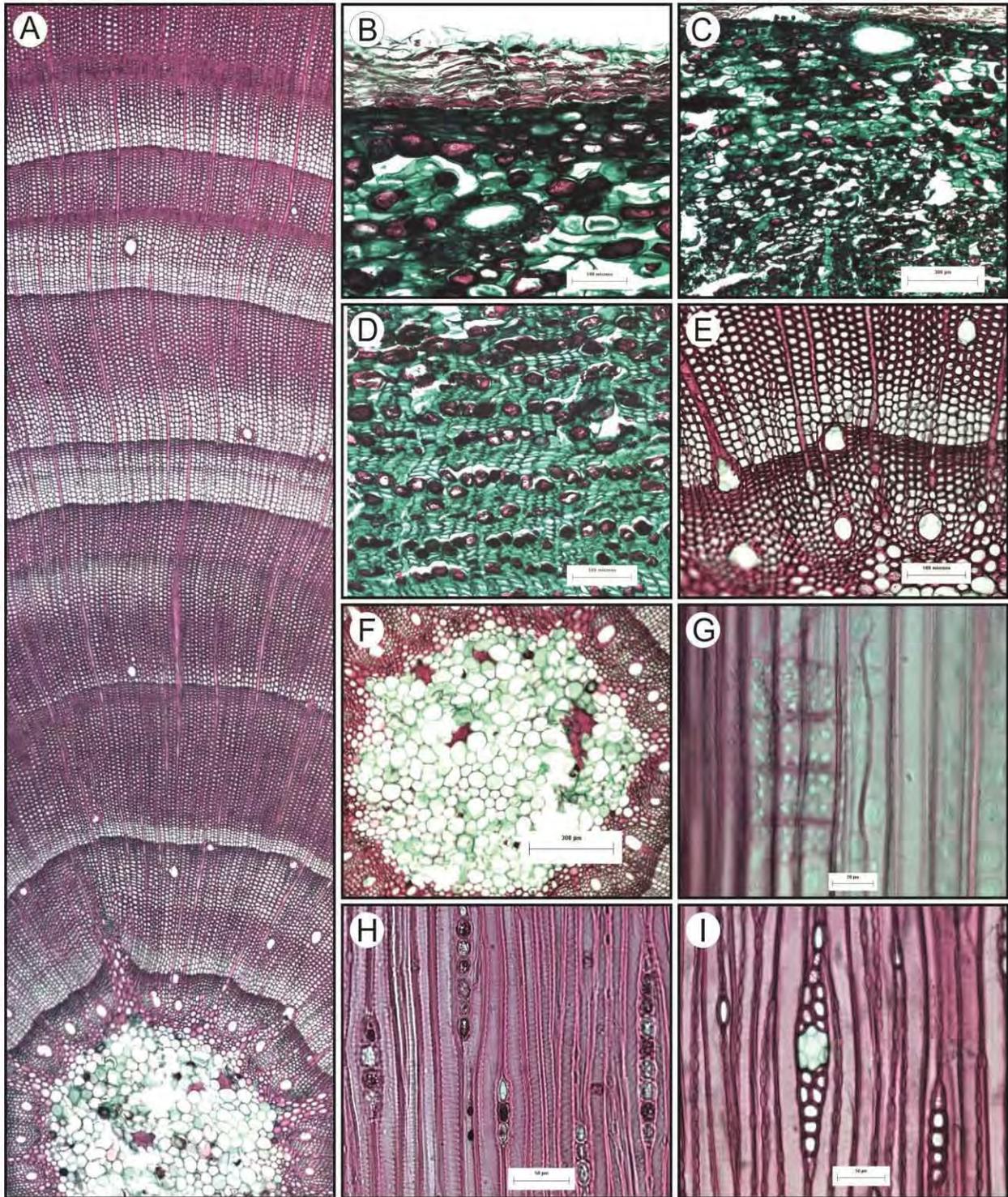


Fig. 20. *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca*. Rama vegetativa. A-F. Sección transversal. A. Vista general de xilema secundario y médula. B. Peridermis. C. Córtex. D. Floema secundario. E. Xilema secundario. F. Médula. G. Sección radial. Punteaduras de campos de cruce fenestriforme. H-I. Sección tangencial. H. Radios uniseriados y engrosamientos helicoidales en traqueidas. I. Canales resiníferos radiales en xilema (DSG 1221).

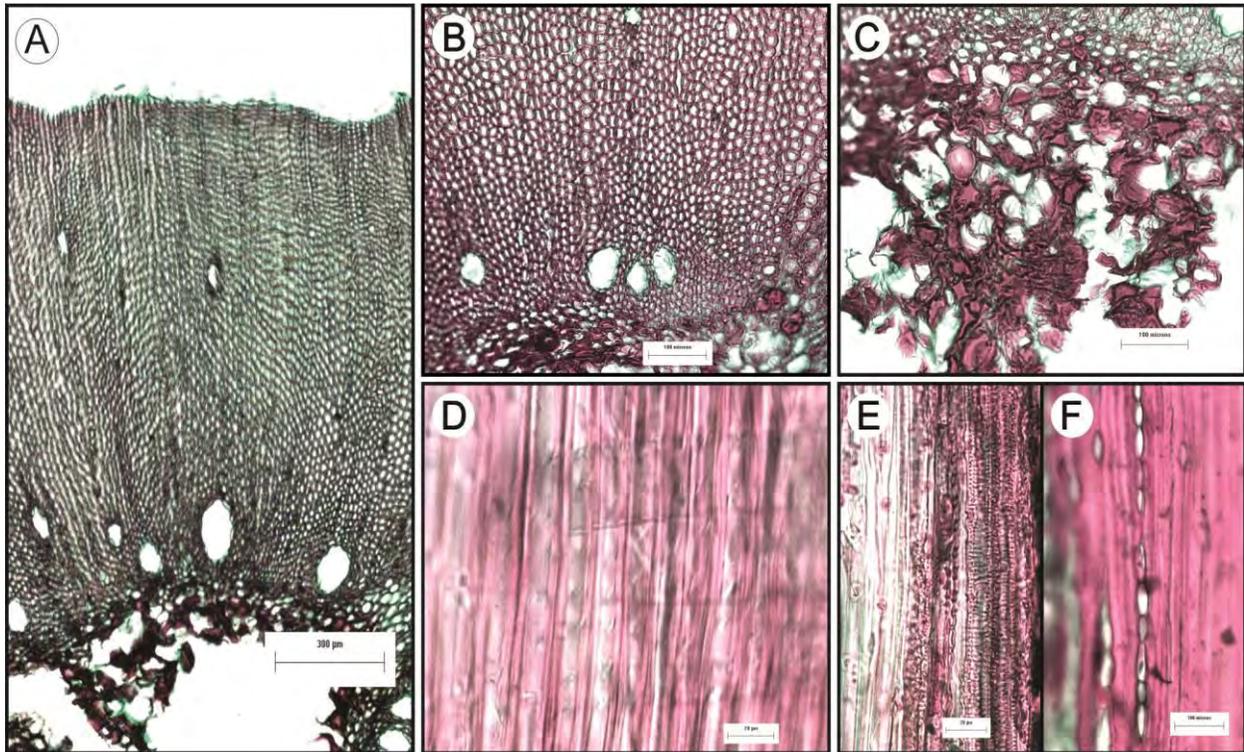


Fig. 21. *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca*. Eje del cono ovulado. A-C. Sección transversal (DSG 1221). A. Vista general. B. Xilema secundario. C. Médula. D. Sección radial. Punteaduras de campos de cruce piceoide. E-F. Sección tangencial. E. Punteaduras areoladas uniseriadas. F. Radios uniseriados (DSG 1230).

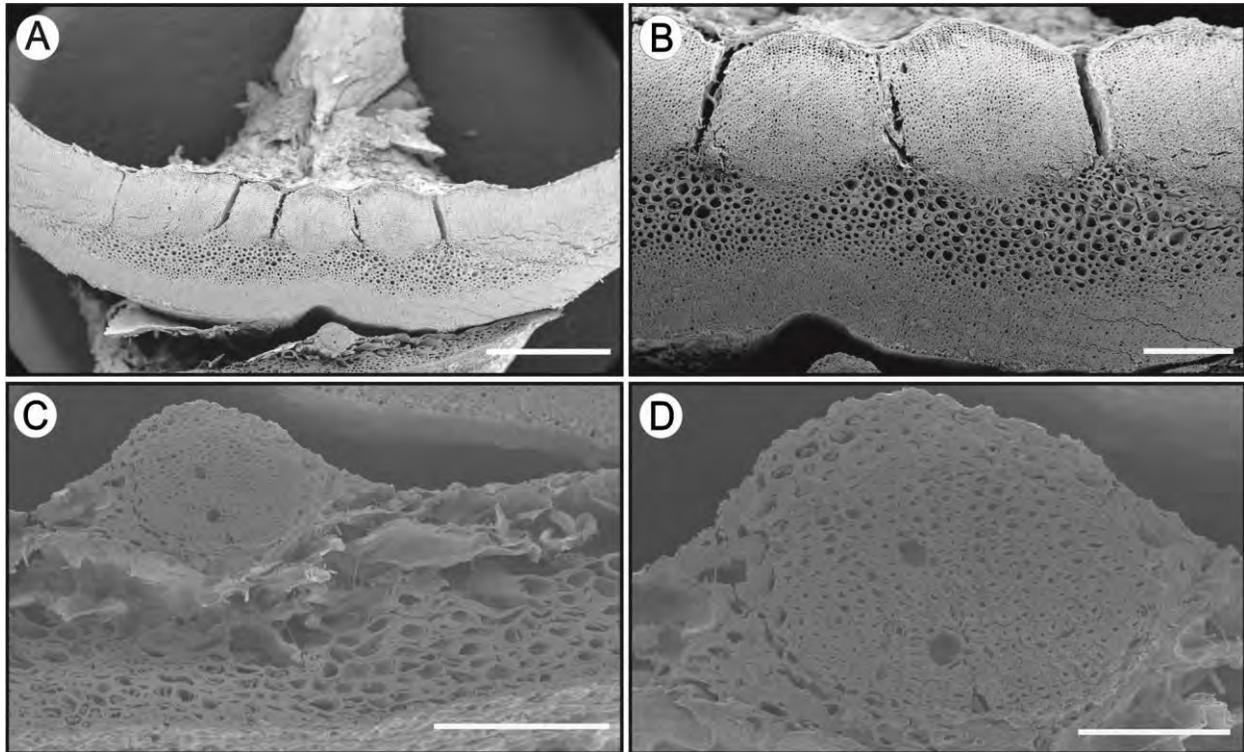


Fig. 22. *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca*. Escama-Bráctea (nivel semilla). A-B. Sección transversal de escama. A. Vista general (1 mm). B. Tejido vascular (300  $\mu$ m). C-D. Sección transversal de bráctea. C. Vista general (200  $\mu$ m). D. Tejido vascular (100  $\mu$ m) (DSG 1221).

## Análisis filogenético

### Caracteres morfológicos y anatómicos

Se adicionaron 69 caracteres a la matriz de datos morfológicos de Gernandt et al. (2011), para un total de 123 caracteres incluidos en este análisis, distribuidos de la siguiente manera: ramificación y crecimiento (10), anatomía de rama vegetativa (20), hoja (22), cono polínico (9), cono ovulado (23), anatomía del eje del cono ovulado (8), anatomía de la bráctea (4), anatomía de la escama ovulífera (7), fertilización y embriología (7), semilla (10), bioquímica (2) y citología (1) (Apéndice 2).

La búsqueda exacta recuperó dos árboles más parsimoniosos de 325 pasos (L), índice de consistencia (CI) de 0.492 y un índice de retención (RI) de 0.560. Cuatro ramas reciben apoyo de bootstrap mayor a 70% (Fig. 23A). La ubicación de la raíz de la familia no se resolvió en el árbol de consenso. La monofilia de la familia fue apoyada por un valor de bootstrap de 95%. El género *Pinus* se recupera como monofilético con 99% de valor bootstrap. Se recuperan las relaciones de hermandad de *Larix occidentalis* + *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca* y *Nothotsuga longibracteata* + *Tsuga canadensis*. El grupo externo se resuelve.

### Secuencias *matK* y *rbcL*

El número total de caracteres moleculares fue de 2838, la partición de *matK* con 1576 y *rbcL* con 1262 pares de bases. La búsqueda heurística recuperó dos árboles más parsimoniosos de 1533 pasos, índice de consistencia 0.6027 y un índice de retención de 0.6753. Once ramas reciben apoyo de bootstrap mayor a 70% (Fig. 23B). La raíz de la familia no se resuelve. La familia se recupera como monofilética con apoyo bootstrap de 100%. El género *Pinus* y los subgéneros *Strobus* (*Pinus nelsonii* + *P. pinceana*) y *Pinus* (*Pinus teocote* + *P. ponderosa*) se recuperan como monofiléticos con apoyo bootstrap de 100%. Se recuperan las relaciones de hermandad de *Larix occidentalis* + *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca*; *Nothotsuga longibracteata* + *Tsuga canadensis* que a su vez es grupo hermano de *Pseudolarix amabilis*; y de *Abies religiosa* + *Keteleeria davidiana*. En el grupo externo se recuperan la relación hermana de *Cryptomeria japonica* + *Sciadopitys verticillata* que a su vez es grupo hermano de *Araucaria araucana*.

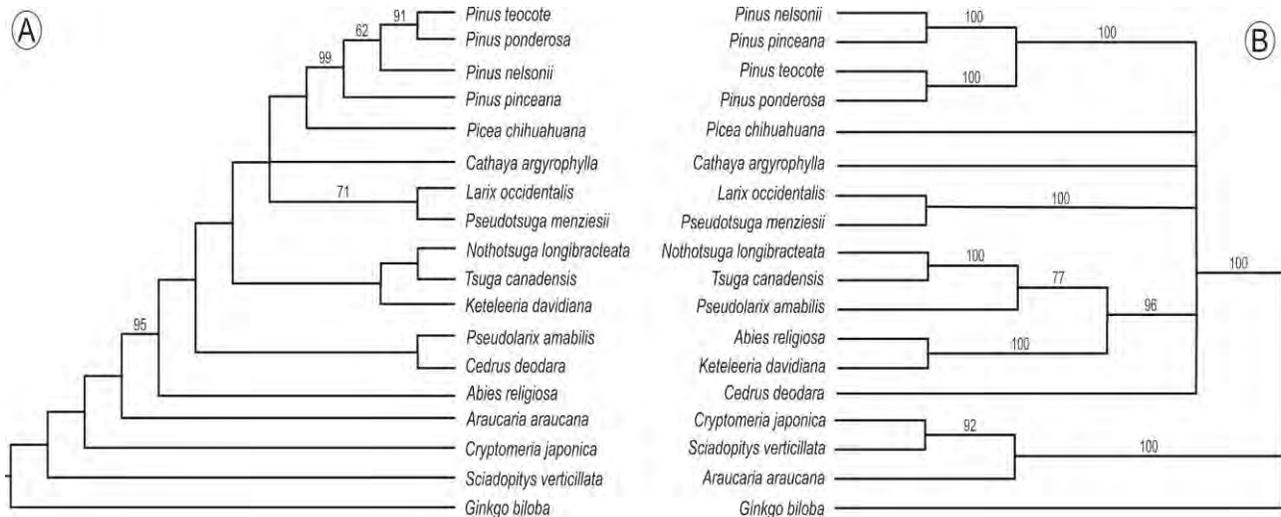


Fig. 23. Resultado de análisis de parsimonia. A. Análisis con datos morfoanatómicos. B. Análisis con datos moleculares. A. Consenso estricto, 16 caracteres ordenados, L = 325, CI = 0.4922 e RI = 0.5598, valores bootstrap >50%. B. Consenso estricto, L = 1533, CI = 0.6027 e RI = 0.6753, valores bootstrap >50%.

## Análisis de congruencia

El valor de P resultante de la prueba de incongruencia en diferencias de longitud entre los datos morfoanatómicos y los datos moleculares (*matK* y *rbcL*), fue de 0.08, este valor indica que la incongruencia entre las particiones de datos no es significativa.

## Morfoanatomía y secuencias *matK* y *rbcL*

La búsqueda heurística recuperó un árbol más parsimonioso de 1872 pasos, índice de consistencia de 0.5709 y un índice de retención de 0.6409. Nueve ramas reciben apoyo de bootstrap mayor a 70% (Fig. 24). La familia se recupera como monofilética con apoyo de bootstrap de 100% y apoyada por las sinapomorfias: células cribosas con depósitos de proteínas (carácter 23), tejido de transfusión alrededor del haz vascular de hoja (carácter 52), pared celular ausente en el núcleo del grano de polen (carácter 61), presencia de quilla que separa las semillas (carácter 78), célula del

canal ventral sin pared celular (carácter 106), formación de tipo primario del proembrión (carácter 108), proembrión de cuatro estratos (carácter 109), el ala de la semilla proviene de tejido de la escama ovulífera (carácter 116) y ausencia de biflavonoides (carácter 123).

La raíz de la familia se resuelve. Se recuperan las dos subfamilias como monofiléticas, Pinoideae (*Pinus* + *Picea* + *Cathaya* + *Larix* + *Pseudotsuga*) con apoyo de 54% de bootstrap y Abietoideae (*Nothotsuga* + *Tsuga* + *Keteleeria* + *Abies* + *Pseudolarix* + *Cedrus*) con 75% de bootstrap. La subfamilia Pinoideae está apoyada por las sinapomorfias: presencia de canales resiníferos radiales en madera de rama vegetativa (carácter 19), ausencia de fibras en floema de rama vegetativa (carácter 24), presencia de canales resiníferos verticales en raíz (carácter 30), membrana de la megaspora delgada al final del micrópilo (carácter 107) y ausencia de traza vascular en semilla (carácter 115). La relación de hermandad entre *Picea chihuahuana* y *Pinus* no fue apoyada por sinapomorfias, sin embargo existe un conjunto de caracteres que soportan esta relación: gradación Hudson tres en hendiduras en las paredes de las traqueidas de radio (carácter 22), simetría bilateral de la hoja (carácter 31), presencia de yemas de verano resinosas (carácter 32), ausencia de peciolo (carácter 34), siete células subsidiarias (carácter 40), dos haces vasculares en la hoja (carácter 51), quilla que separa las semillas se extiende más de la mitad del diámetro de las mismas (carácter 79), presencia de canales resiníferos verticales en madera del eje del cono ovulado (carácter 88), origen unido de la traza a la bráctea y escama ovulífera (carácter 91), presencia de radios en el haz vascular de la bráctea (carácter 95) y ocho a once o a veces seis cotiledones (carácter 120). El género *Pinus* y los subgéneros *Strobus* (*Pinus nelsonii* + *P. pinceana*) y *Pinus* (*Pinus teocote* + *P. ponderosa*) se recuperan como monofiléticos con apoyo de bootstrap de 100%. El género *Pinus* está apoyado por las sinapomorfias: paredes delgadas de células epiteliales de los canales resiníferos (carácter 17), ausencia de esclerénquima cortical en rama vegetativa (carácter 29), margen de las hojas serrado (carácter 35), ápice de la escama ovulífera engrosada distalmente formando una apófisis (carácter 80), presencia de umbo (carácter 82) y

traza vascular de la escama ovulífera con presencia de canales resiníferos en su interior (carácter 97). El subgénero *Strobis* no presenta sinapomorfias, sin embargo, un conjunto de caracteres sustentan este grupo: superficie hundida de la hoja en relación al anillo de Florin (carácter 43), canales resiníferos mediales en el mesofilo de la hoja (carácter 48), ausencia de esclerénquima en la bráctea (carácter 96), ausencia de esclerénquima adaxial respecto al haz vascular (carácter 103) y ala de la semilla no articulada (carácter 112).

El subgénero *Pinus* está apoyado por las sinapomorfias: canales resiníferos externos en mesofilo de la hoja (carácter 48), menos de cuatro o a veces cinco canales resiníferos en mesofilo de la hoja (carácter 49) y umbo dorsal con mucrón erecto (carácter 84). La relación de hermandad de *Cathaya* + (*Larix* + *Pseudotsuga*) no recibe apoyo bootstrap mayor 50% pero está apoyada por una sinapomorfia: presencia de engrosamientos helicoidales en paredes de traqueidas de madera de rama vegetativa (carácter 13). La relación de hermandad de *Larix occidentalis* + *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca* tiene apoyo bootstrap de 100% y las sinapomorfias son: granos de polen con bandas trirradiadas (carácter 59) y presencia de canales resiníferos abaxiales al haz vascular en la base de la escama ovulífera (carácter 99).

La subfamilia Abietoideae está apoyada por la sinapomorfia, presencia de fibras en floema de rama vegetativa (carácter 24). El clado *Abies* + *Keteleeria* + *Nothotsuga* + *Tsuga* + *Pseudolarix* recibe apoyo de bootstrap de 86% y está apoyado por dos sinapomorfias: escama ovulífera pedicelada (carácter 77) y cavidades de resina en el integumento de la semilla (carácter 113). La relación de hermandad entre (*Abies* + *Keteleeria*) + (*Nothotsuga* + *Tsuga*) recibe apoyo bootstrap de 59% y una sinapomorfia, dehiscencia del microesporangio oblicua (carácter 55). La relación entre *Abies religiosa* + *Keteleeria davidiana* presenta apoyo de 100% de bootstrap, no presenta sinapomorfias, sin embargo, la relación está apoyada por dos caracteres, conos polínicos agrupados en un brote (carácter 53) y el eje del cono ovulado no se desintegra (carácter 64). El clado *Nothotsuga longibracteata* + *Tsuga*

*canadensis* tiene soporte de 100% de bootstrap y presenta una sinapomorfia: canales resiníferos interrumpiendo la endodermis en las hojas (carácter 48). Del grupo externo el clado *Araucaria araucana* + (*Cryptomeria japonica* + *Sciadopitys verticillata*) posee 100% de valor bootstrap apoyado por las sinapomorfias: corteza de un ejemplar maduro en escamas longitudinales (carácter 10), organización túnica-corpúsculo del meristemo apical (carácter 11) y complejo axilar parcialmente fusionado (carácter 70). La relación de hermandad de *Cryptomeria japonica* + *Sciadopitys verticillata* tiene apoyo de 80% de bootstrap y una sinapomorfia: alas de la semilla formadas a partir del tejido de la semilla (carácter 117) (Fig. 24).

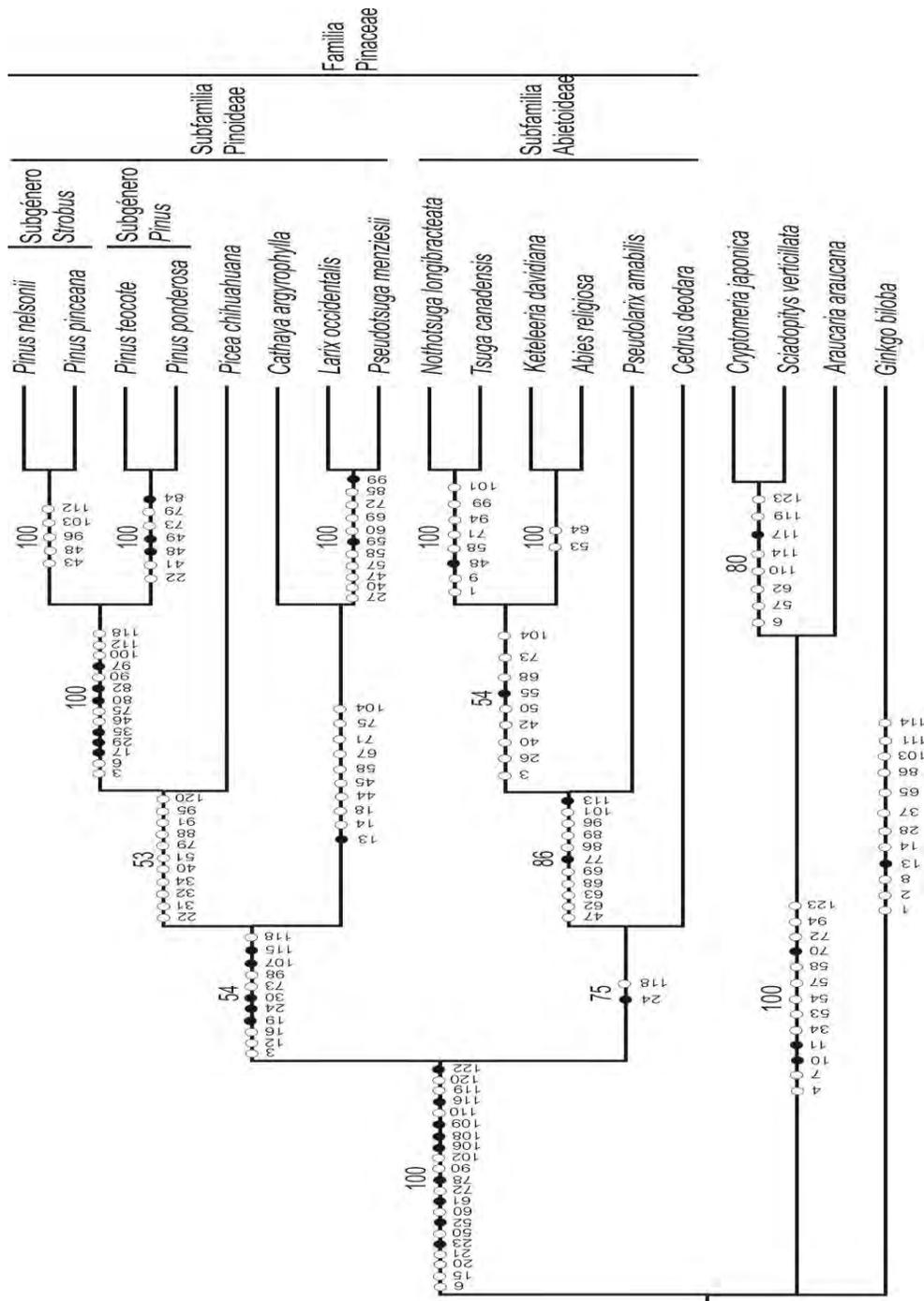


Fig. 24. Análisis con datos combinados. Único árbol más parsimonioso, 16 caracteres ordenados, L = 1872, CI = 0.5709 e RI = 0.6409, valores bootstrap >50%, sinapomorfías en círculo negro y homoplasias en círculo blanco.

# DISCUSIÓN

## Morfología y anatomía

Las descripciones de este estudio son similares con aquellas realizadas para los respectivos géneros, excepto para los siguientes casos:

Farjon (1990) documentó para las hojas de *Abies religiosa* cuatro hileras de estomas abaxiales, Martínez (1963) describió para la misma especie hojas con estomas en ambas superficies, en este estudio se encontraron, catorce hileras de estomas abaxiales. Probablemente se deba a que del género *Abies* que consta de 46 especies (sensu Farjon, 1990), sólo se estudió una especie en este trabajo y se considera la existencia de una alta variación morfológica intraespecífica. De igual manera, se puede vislumbrar esta variación en *Pinus pinceana* ya que la muestra DSG 1246 colectada en Querétaro, Peñamiller, Maguey Verde, no presenta estomas en la superficie dorsal, mientras que la muestra DSG 1163 colectada en San Luis Potosí, Guadalcázar, tiene dos hileras de estomas en esta misma superficie, el número de hileras en superficie ventral, seis, es igual para ambas muestras, Farjon (2010) registró 2-4(-5) hileras de estomas en cada superficie ventral.

La posición de los canales resiníferos ha sido comúnmente usada para clasificar especies del género *Pinus* desde Engelmann (1880) y Coulter y Rose (1886). Coulter y Rose (1886a; 1886b) clasificaron los canales resiníferos en: externos, mediales, internos y septales. Los externos están ubicados en contacto con la hipodermis; los mediales se localizan en el mesofilo, sin establecer contacto con alguna estructura dermal; los internos están colindando con la endodermis; los septales están en contacto con hipodermis y endodermis, en algunas ocasiones interconectados a través de intrusiones de la hipodermis, formando un septo. La posición de los canales resiníferos en la acícula es más constante que su número, pero existe cierto grado de polimorfismo en casi todos los taxones para ambos

caracteres (Farjon y Styles, 1997). Farjon (2005) describió para *Pinus pinceana* dos canales resiníferos externos, los resultados del presente trabajo concuerdan con este registro; en el caso de *Pinus teocote* se han encontrado hasta tres canales resiníferos mediales, en este trabajo se registran dos canales resiníferos internos y un canal resinífero medial adaxial al haz vascular, lo cual confirma la existencia de variación morfológica intraespecífica en la ubicación de los canales resiníferos.

En el caso de la rama vegetativa, se observan canales resiníferos en el córtex de ocho géneros de la familia Pinaceae (Lin et al., 2002). Wu y Hu (1997) registraron la presencia de canales resiníferos en el córtex del tallo del género *Picea* únicamente en la porción central, mientras que en este trabajo se ubican en la porción externa e interna de la corteza.

En *Larix*, *Cedrus* y *Pseudolarix* ocasionalmente se presentan cavidades de resina (Lin et al., 2002), para *Abies religiosa* se registró además de canales resiníferos, cavidades de resina en el córtex de la rama vegetativa. Los canales resiníferos y las cavidades no son homólogos ya que al tener origen ontogenético diferente, resultan estructuras distintas; los canales resiníferos son de origen esquizogénico y poseen una capa de células rodeando el espacio intercelular (células epiteliales) y de dos a tres capas de células externas (células de la vaina), las cavidades son de origen lisígeno y no poseen células epiteliales, ni de la vaina (Wu y Hu, 1997).

Phillips (1948) registró que las traqueidas de radio están presentes en todas las Pinaceae excepto en *Abies*, *Keteleeria* y *Pseudolarix*. Sin embargo, la IAWA Committee (2004) documentaron que son raras en *Abies* y *Pseudolarix*. Penhallow (1907) las encuentra en *A. balsamea*, Thompson (1912) en *A. homolepis* y *A. veitchii* y Jane (1970) en *Abies* spp., aquí se documentan como comunes en *Abies religiosa*. Por lo que estudiar un mayor número de especies de *Abies* permitirá confirmar su ocurrencia y abundancia.

En la descripción del eje del cono ovulado para *Pinus nelsonii* (subgénero *Strobus*) Gernandt et al. (2011) mencionó que en las traqueidas de xilema secundario predominan punteaduras areoladas uniseriadas y ocasionalmente biseriadas y opuestas, para *Pinus pinceana* (subgénero *Strobus*) aquí se registran únicamente punteaduras areoladas uniseriadas. *Pinus* al ser el género con mayor número de especies, posee mayor variación morfológica, por lo que debe ampliarse el muestreo. Por otro lado, Klymiuk y Stockey (2012) describen la madera del eje del cono ovulado fósil de *Picea burtonii* con ausencia de canales resiníferos verticales en xilema secundario, mientras que, en este estudio *Picea chihuahuana* presenta canales resiníferos verticales y radiales en xilema secundario con células epiteliales de paredes gruesas. Para el caso de la escama del cono ovulado, Hu et al. (1989) con base en observaciones de dos especies, *Picea koraiensis* y *P. meyeri*, indican para el género *Picea* la presencia de tricomas unicelulares en la superficie abaxial y en la quilla que separa las semillas; el presente estudio no registró estos resultados en *Picea chihuahuana*, la cual tiene ambas superficies glabras. Es conocido que los tricomas pueden encontrarse sólo en estructuras jóvenes, por lo que es necesario examinar conos ovulados jóvenes de *Picea chihuahuana* para confirmar que este rasgo está ausente.

## Análisis filogenético

El análisis de datos morfoanatómicos resolvió cuatro ramas con apoyo de bootstrap >70%, a su vez el análisis de datos moleculares resultó más robusto y resuelto donde se recuperaron once ramas con apoyo de bootstrap >70%, y por último el análisis de datos combinados resultó más resuelto que el análisis molecular con base en el número de ramas (once) con apoyo de bootstrap >70%, la familia Pinaceae, las subfamilias Pinoideae y Abietoideae y el género *Pinus* se recuperan como grupos monofiléticos, las relaciones de hermandad entre *Larix occidentalis* + *Pseudotsuga menziesii*, *Nothotsuga longibracteata* + *Tsuga canadensis* se recuperan en los tres análisis. Hart (1987) en su análisis cladístico recuperó como sinapomorfias para la familia: ausencia de fibras en floema secundario de la rama

vegetativa, ausencia de biflavonoides, célula del canal ventral sin pared celular, membrana de la megaespora delgada al final del micrópilo y proembrión de cuatro estratos. La presencia de estos caracteres en las especies aquí analizadas reflejan la codificación de Hart (1987) en la delimitación de la familia Pinaceae, sin embargo en este estudio se identifican sinapomorfías adicionales, células cribosas con depósitos de proteínas, tejido de transfusión alrededor del haz vascular de la hoja, pared celular ausente en el núcleo del grano de polen, presencia de quilla que separa las semillas, formación de tipo primario del proembrión y el ala de la semilla proviene de tejido de la escama ovulífera.

El análisis de datos combinados aquí presentado resuelve como monofiléticas a las subfamilias Pinoideae y Abietoideae. La subfamilia Pinoideae está apoyada por la presencia de canales resiníferos radiales en madera de rama vegetativa, ausencia de fibras en floema de rama vegetativa, presencia de canales resiníferos verticales en raíz, membrana de la megaespora delgada al final del micrópilo y ausencia de traza vascular en la semilla, lo que concuerda con Gernandt et al. (2008). Sin embargo, Gernandt et al. (2008) recuperó caracteres adicionales: punteaduras de campos de cruce piceoide, pinoide o fenestriiformes; dos canales resiníferos en la raíz; inmunología química pinoide y alas de la semilla acopladas como una pinza a la semilla, o cubriendo la mitad de ella. Ryberg et al. (2012) presentan un árbol de consenso estricto como resultado del análisis de 56 caracteres morfológicos para especies vivientes y fósiles de la familia, donde recupera a la subfamilia Pinoideae, sin embargo, las relaciones entre *Cathaya* y *Picea* no fueron resueltas, tal es el caso del árbol más parsimonioso resultado de este análisis con *matK* y *rbcL*, y para el análisis de datos combinados *Cathaya* y *Picea* se resuelven en clados diferentes.

La monofilia del género *Pinus* y los subgéneros *Pinus* y *Strobilus* confirma lo que se ha documentado en filogenias publicadas, por ejemplo, aquellas basadas en la región del espaciador interno transcrito de ADN ribosomal (Liston et al., 1999), otros genes nucleares (Syring et al., 2005) o marcadores de cloroplasto (Gernandt et al., 2005; Eckert y Hall, 2006). Gernandt et al. (2005) identificaron que el número de

haces vasculares en la hoja distingue ambos subgéneros, mientras que en este estudio se identificaron las sinapomorfias para el subgénero *Pinus*: los canales resiníferos externos en la hoja, menos de cuatro o a veces cinco canales resiníferos en mesofilo y umbo dorsal con mucrón erecto. La posición de los canales resiníferos en la acícula es más constante que su número, pero existe cierto grado de polimorfismo en casi todos los taxones para ambos caracteres (Farjon y Styles, 1997), Martínez (1963) señaló que la posición de los canales al ser menos variable que el número, puede ser de mayor utilidad sistemática. Sin embargo, otras especies del subgénero *Pinus* presentan canales resiníferos en distintas posiciones, por ejemplo, en la subsección *Contortae* y *Ponderosae* los canales son predominantemente mediales (Farjon y Styles, 1997; Gernandt et al., 2005), en especies de la subsección *Australes* existe una mayor diversidad de este carácter y se pueden observar canales resiníferos externos, internos, mediales y septales (Hernández-León, 2011).

La monofilia de la subfamilia Abietoideae aquí presentada está apoyada por la sinapomorfia, presencia de fibras en el floema de la rama vegetativa. La búsqueda heurística de Gernandt et al. (2008) reveló cuatro caracteres diagnósticos , inmunología abietoideae, escama ovulífera pedicelada, presencia de traza vascular en la semilla y alas de la semilla en un surco profundo, la presencia de vesículas de resina en el integumento de las semillas de todos los miembros de la subfamilia Abietoideae apoya esta clasificación (Price et al., 1987; Wang et al., 2000; Liston et al., 2003), sin embargo en el presente estudio este carácter fue encontrado como sinapomorfia para la relación *Abies* + *Keteleeria* + *Nothotsuga* + *Tsuga* + *Pseudolarix*, además de escama ovulífera con base angosta.

La raíz de la familia en el análisis de datos morfoanatómicos aquí presentado no resuelve la ubicación de la raíz, así como en el análisis de *matK* y *rbcL*, mientras que en el análisis de datos combinados la raíz se resuelve, así como en el análisis Bayesiano de ADN de cloroplasto de Gernandt et al. (2005) volviendo monofiléticas a las dos subfamilias. Diferentes ubicaciones de la raíz de la familia Pinaceae se

han encontrado como el análisis de caracteres morfológicos (Hart, 1987), con sitios de restricción de ADN de cloroplasto (Tsumura et al., 1995), en combinación de *rbcL* y regiones nucleares ITS (Vining, 1999), Ryberg et al. (2012) recuperaron la raíz de la familia en *Tsuga* con base en caracteres morfológicos. En el análisis de datos de ADN de cloroplasto (Gernandt et al., 2008) la raíz de la familia no se resuelve, con 90% de los árboles más parsimoniosos indicando que la raíz se ubica entre *Cedrus* y el resto de los géneros. Gernandt et al. (2011) recuperaron la raíz de la familia en la relación hermana de *Larix* + *Pseudotsuga*. Las diferentes ubicaciones de la raíz de la familia probablemente se deban a que hay una gran divergencia entre Pinaceae y las demás familias de coníferas (Hart, 1987) provocando ramas largas. Ampliar el muestreo de taxa y de caracteres (Bergsten, 2005), o combinar más datos como datos morfológicos con datos moleculares (Bergsten y Miller, 2004), disminuyen la posibilidad de la atracción de ramas largas (Bergsten, 2005). Por otro lado, en algunos estudios se han empleado géneros como terminales, lo cual aumenta los caracteres codificados como polimórficos y a su vez la homoplasia. Las posibles soluciones pueden ser principalmente, incluir especies como terminales lo que reduciría la homoplasia; ampliar el muestreo de taxa y caracteres e investigar otras fuentes de caracteres.

Algunas relaciones intergenéricas son inciertas, tal es el caso de *Cedrus* que se ha recuperado como hermana del resto de las pináceas, o hermana de la subfamilia Abietoideae (Gernandt et al., 2008), esto es consistente con nuestro análisis de datos combinados donde se recupera a *Cedrus deodara* como hermana del resto de las Abietoideae, y en el caso del análisis de *matK* y *rbcL* se recupera en una dicotomía con el resto de las abietoides; también ha sido recuperado como hermana de *Abies* y *Keteleeria* (Price et al., 1987), o hermana de *Pseudolarix* (Smith y Stockey, 2001; 2002). En una estimación con relojes moleculares, en la subfamilia Abietoideae, el género *Cedrus* es el primero en divergir entre el Jurásico medio y tardío (Gernandt et al., 2008), sin embargo el registro fósil asignado a *Cedrus* es muy escaso (Klymiuk y Stockey, 2012). Debido a que probablemente *Cedrus* sea el

linaje que diverge antes que el resto de los géneros existentes de Pinaceae y al poco registro fósil, su ubicación en la filogenia de la familia es incierta.

*Pseudolarix amabilis* se recuperó como especie hermana en la relación de *Nothotsuga longibracteata* + *Tsuga canadensis* en el análisis molecular. En el árbol combinado se resolvió como especie hermana de (*Nothotsuga longibracteata* + *Tsuga canadensis*) y (*Keteleeria davidiana* + *Abies religiosa*) y en el árbol morfológico se registró en una politomía no resuelta. En el análisis con datos de tres genomas (Wang et al., 2000), *Pseudolarix* fue el grupo hermano de *Tsuga* y *Nothotsuga* (*matK* y *nad5*) o de *Tsuga*, *Nothotsuga*, *Keteleeria* y *Abies* (4CL). La relación hermana entre *Picea* y *Cathaya* ha sido resuelta repetidamente en estudios basados en ADN, pero el apoyo de ramas no es alto (Wang et al., 2000; Eckert y Hall, 2006), en el análisis de datos moleculares aquí presentado, *Cathaya argyrophylla* y *Picea chihuahuana* forman una dicotomía no resuelta. A su vez, *Cathaya* o *Picea* puede ser hermano de *Pinus* (Hart, 1987; Wang et al., 2000), tal es el caso de nuestro análisis combinado donde *Picea chihuahuana* es especie hermana del género *Pinus*, sin embargo *Cathaya argyrophylla* se recuperó como especie hermana a la relación *Larix occidentalis* + *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca*.

Comparar los resultados del análisis filogenético de datos moleculares con datos morfológicos puede ayudar a discernir errores (Wiens, 2004). En este estudio se encontró congruencia entre ambos tipos de evidencia, morfoanatomía y datos moleculares (*matK* y *rbcl*) mediante la prueba de ILD. La prueba de ILD puede detectar congruencia significativa entre diferentes particiones de datos como resultado de factores más relacionados con heterogeneidad que con genealogías divergentes (Hipp et al., 2004). Gernandt et al. (2008) concluyeron que la combinación de datos morfológicos y moleculares para Pinaceae, causó una reducción en la resolución filogenética comparada con los análisis por separado, en el caso del estudio aquí presentado se observa una mayor resolución en el análisis con datos combinados. Principalmente puede deberse al uso de especies como

terminales en este estudio, lo que reduce la homoplasia, al mayor número de taxa igualmente analizados lo que amplía el muestreo a nivel de familia y un mayor número de caracteres incluidos.

## CONCLUSIONES

Realizar estudios de caracteres morfoanatómicos para la familia Pinaceae a nivel de especie aporta información valiosa para estudios filogenéticos. Para la familia Pinaceae analizar mayor número de especies y explorar caracteres es muy importante ya que la familia cuenta con un gran número de especies, por lo tanto, la variación morfológica es amplia. Al generar información morfoanatómica a nivel de especie, el conocimiento de dicha variación aumentará así como la exactitud filogenética.

El árbol inferido a partir de la morfología resuelve algunas relaciones que son incongruentes con el árbol inferido a partir de datos moleculares; sin embargo, éstas no tienen >70% de apoyo bootstrap. El árbol resultante del análisis molecular tiene mayor apoyo de bootstrap que el morfológico. La familia Pinaceae y el género *Pinus* se recuperan como monofiléticas en ambos árboles y reciben apoyo de >90% de bootstrap.

La ubicación de la raíz de la familia en el árbol combinado resuelve como monofiléticas a ambas subfamilias Pinoideae y Abietoideae; sin embargo, el apoyo de bootstrap no es alto, lo que requiere más investigación; además se recuperan como monofiléticos el género *Pinus* y los subgéneros *Strobus* y *Pinus*.

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio, se recomienda continuar explorando caracteres morfoanatómicos de las diferentes estructuras vegetativas y reproductivas, así como datos moleculares; ampliar el muestreo y

utilizar especies como terminales en los análisis filogenéticos para poder reducir polimorfismos y aumentar la exactitud filogenética.

## LITERATURA CITADA

Agnarsson I, Miller JA. 2008. Is acctran better than deltran?. *Cladistics* 24:1-7.

Bergsten J. 2005. A review of long-branch attraction. *Cladistics* 21:163-193.

Bergsten J, KB Miller. 2004. *Acilius* phylogeny (Coleoptera: Dytiscidae), problems with long-branch attraction and morphological intersexual coevolution. *Cladistics* 20:76-77 [Resumen de la 22a reunion annual de la Willi Hennig Society].

Berlyn GP, JP Miksche. 1976. Botanical microtechnique and cytochemistry. The Iowa State University Press, Ames.

Bowe LM, G Coat, CW dePamphilis. 2000. Phylogeny of seed plants based on all three genomic compartments: extant gymnosperms are monophyletic and Gnetales' closest relatives are conifers. *Proc Natl Acad Sci* 97:4092-4097.

Chaw S-M, A Zharkikh, H-M Sung, T-C Lau, W-H Li. 1997. Molecular phylogeny of extant gymnosperms and seed plant evolution: analysis of nuclear 18 rRNA sequences. *Mol Biol Evol* 14:56-68.

Coulter JM y JH Rose. 1886a. Synopsis of North American pines based upon leaf-anatomy. I, II. *Bot Gaz* 11:256-262.

Coulter JM y JH Rose. 1886b. Synopsis of North American pines based upon leaf-anatomy. I, II. *Bot Gaz* 11:302-309.

Cross GL. 1939. The structure and development of the apical meristem in the shoots of *Taxodium distichum*. *Bull Torrey Bot Club* 66:431-452.

Doyle JC. 1945. Developmental lines in pollination mechanisms in the Coniferales. *Sci Proc Roy Dublin Soc* 24:43-62.

Doyle JJ. 1992. Gene trees and species trees: Molecular systematics as one-character taxonomy. *Syst Bot* 17:144-163.

Eckenwalder JE. 2009. *Conifers of the world: the complete reference*. Ed 1. Timber Press. Portland.

Eckert AJ, BD Hall. 2006. Phylogeny, historical biogeography, and patterns of diversification for *Pinus* (Pinaceae): phylogenetic test of fossil-based hypotheses. *Mol Phylogenet Evol* 40:166-182.

Engelmann G. 1880. Revision of the genus *Pinus*, and description of *Pinus elliottii*. *Trans St Louis Acad Sci* 4:161-190.

Falder AB, GW Rothwell, G Mapes, RH Mapes, LA Doguzhaeva. 1998. *Pityostrobus milleri* sp. nov., a pinaceous cone from the Lower Cretaceous (Aptian) of southwestern Russia. *Rev Palaeobot Palynol* 103:253-261.

Farjon A. 1990. *Pinaceae: drawings and descriptions of the Genera: Abies, Cedrus, Pseudolarix, Keteleeria, Nothotsuga, Tsuga, Cathaya, Pseudotsuga, Larix and Picea*. Kőltz Scientific, Kőnigstein.

Farjon A. 2005. *Pines: drawings and descriptions of the genus Pinus*. Brill Leiden-Boston.

Farjon A. 2010. *A handbook of the world's conifers*. Vol. 1. Brill Leiden-Boston.

Farjon A. BT Styles. 1997. *Flora neotropica*. Monograph 75. *Pinus* (Pinaceae). The New York Botanical Garden.

Farris JD, M Källersjö, AG Kluge, C Bult. 1995a. Testing significance of incongruence. *Cladistics* 10:315-319.

Farris JD, M Källersjö, AG Kluge, C Bult. 1995b. Constructing a significance test for incongruence. *Syst Biol* 44:570-572.

Figuroa C, GA Salazar, T Terrazas, P Dávila. 2012. Estructura y desarrollo del ginostemio en *Dichromanthus michuacanus* (Orchidaceae, Spiranthinae). *Rev Mex Biodiv* 83:73-82.

Flous F. 1936. Classification et évolution d'une groupe d'Abietinées. *Trav Lab Forest Toulouse, T. 2, vol. 2, art. 17:1-286.*

Foster AS. 1941. Comparative studies on the structure of the shoot apex in seed plants. *Bull Torrey Bot Club* 68:339-350.

Frankis MP. 1989. Generic inter-relationships in Pinaceae. *Notes R Bot Gard Edinb* 45:527-548.

Gernandt DS, G Geada López, S Ortiz García, A Liston. 2005. Phylogeny and classification of *Pinus*. *Taxon* 54:29-42.

Gernandt DS, S Magallón, G Geada López, O Zerón Flores, A Willyard, A Liston. 2008. Use of simultaneous analyses to guide fossil-based calibrations of Pinaceae phylogeny. *Int J Plant Sci* 169:1086-1099.

Gernandt DS, C León-Gómez, S Hernández-León, ME Olson. 2011. *Pinus nelsonii* and a cladistic analysis of Pinaceae ovulate cone characters. *Syst Bot* 36:583-594.

Greguss P. 1955. Identification of living gymnosperms on the basis of xylotomy. *Académiai Kiadó, Budapest.*

Griffith MM. 1952. The structure and growth of the shoot apex in *Araucaria*. *Am J Bot* 39:253-263.

Gugerli F, C Sperisen, U Buchler, I Brunner, S Brodbeck, JD Palmer, Y-L Qiu. 2001. The evolutionary split of Pinaceae from other conifers: evidence from an intron loss and a multigene phylogeny. *Mol Phylogenet Evol* 21:167-175.

Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl Acids Symp Ser* 41:95-98.

Hart JA. 1987. A cladistic analysis of conifers: preliminary results. *J Arnold Arbor Harv Univ* 68:269-307.

Hernández-León S. 2011. Filogenia molecular y evolución de caracteres foliares de *Pinus* sección *Trifoliae*. Tesis de grado de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología.

Hillis DM, JJ Wiens. 2000. Molecules versus morphology in systematics: Conflicts, artifacts, and misconceptions. Páginas 1-19 en *Phylogenetic analysis of morphological data* (JJ Wiens, ed.) Smithsonian Institution Press, Washington, DC.

Hipp AL, JC Hall, KJ Sytsma. 2004. Congruence versus phylogenetic accuracy: revisiting the incongruence length difference test. *Syst Biol* 53:81-89.

Hu Y-S, K Napp-Zinn, D Winne. 1989. Comparative anatomy of seed-scales of female cones of Pinaceae. *Bot. Jahrb Syst* 111:63-85.

IAWA Committee. 2004. IAWA list of microscopic features for softwood identification. *IAWA Journal* 25:1-70.

Jain KK. 1976. Morphology of female cone in Pinaceae. *Phytomorphol* 26:189-200.

Jane FW. 1970. The structure of wood, Ed. 2. London: Adam & Charles Black.

Jenner RA. 2004. Accepting partnership by submission? Morphological phylogenetics in a molecular millennium. *Syst Biol* 53:333-342.

Klymiuk AA, RA Stockey, GW Rothwell. 2011. The first organismal concept for an extinct species of Pinaceae: *Pinus arnoldii* Miller. *Int J Plant Sci* 172:294–313.

Klymiuk AA, RA Stockey. 2012. A Lower Cretaceous (Valanginian) seed cone provides the earliest fossil record for *Picea* (Pinaceae). *Am J Bot* 99:1069-1082.

Korody E. 1937. Studien an Spross-Vegetationspunkt von *Abies concolor*, *Picea excelsa*, und *Pinus montana*. *Beitr Biol Pflanzen* 25:23-59.

Lin J, Hu Y, He Xinqiang, R Ceulemans. 2002. Systematic survey of resin canals in Pinaceae. *Belg Journ Bot* 135:3-14.

Liston A, WA Robinson, D Piñero, ER Alvarez-Buylla. 1999. Phylogenetics of *Pinus* (Pinaceae) based on nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer region sequences. *Mol Phylogenet Evol* 11:95-109.

Liston A, DS Gernandt, TF Vining, CS Campbell, D Piñero. 2003. Molecular phylogeny of Pinaceae and *Pinus*. En Proceedings of the Fourth International Conifer Conference. *Acta Hort* 615:107-114.

Maddison WP. 1993. Missing data versus missing characters in phylogenetic analysis. *Syst Biol* 42:576-581.

Maddison WP, DR Maddison. 2011. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.75 <http://mesquiteproject.org>

Magallón S, MJ Sanderson. 2002. Relationships among seed plants inferred from highly conserved genes: sorting conflicting phylogenetic signals among ancient lineages. *Am J Bot* 89:1991-2006.

Martínez M. 1963. *Las pináceas mexicanas*. Ed. 3. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, D. F.

Melchior H, E Werdermann. 1954. *Engler, Syllabus der Pflanzenfamilien*. Ed. 12. Berlin.

Merkle M, K Napp-Zinn. 1977. Anatomische Untersuchungen an Pinaceen-Deckschuppen. I. *Abies koreana* E. H. Wilson. *Bot Jahrb Syst* 97:475-502.

Miller CN, Jr. 1976. Early evolution in the Pinaceae. *Rev Palaeobot Palynol* 21:101-117.

Miller CN, Jr. 1977. Mesozoic conifers. *Bot Rev* 43:217-280.

Napp-Zinn K, D Winne. 1981. Anatomische Untersuchungen an Deck- und Fruchtschuppen von *Pinus* und *Picea*. *Beitr Biol Pflanzen* 56:345-355.

Napp-Zinn K, YS Hu. 1989. Anatomical studies on the bracts in Pinaceous female cones. III. Comparative study of (mostly Chinese) representatives of all genera. *Bot Jahrb Syst* 110:461-478.

Niemann GJ, HH Van Genderen. 1980. Chemical relationships between Pinaceae. *Biochem Syst Ecol* 8:237-240.

Oladele FA. 1983. Scanning electron microscope study of stomatal-complex configuration in Cupressaceae. *Can J Bot* 61:1232-1240.

Owens JN, FH Smith. 1965. Development of the seed cone of Douglas-fir following dormancy. *Can J Bot* 43:317-332.

Penhallow DP. 1907. North American gymnosperms. Boston: Ginn & Co.

Phillips EWJ. 1948. Identification of softwoods by their microscopic structure. London: Forest Products Research Bulletin, Department of Scientific and Industrial Research.

Pilger R. 1926. Phylogenetische und Systematik der Coniferae. Leipzig: A Engler & KAE Prantl (eds.). Die natürlichen Pflanzenfamilien XIII. 2. Aufl. W. Engelmann.

Price RA, J Olsen-Stojkovich, JM Lowenstein. 1987. Relationships among the genera of Pinaceae: an immunological comparison. *Syst Bot* 12:91-97.

Radais M. 1894. Contribution a l'étude de l'anatomie comparée du fruit des conifères. *Ann Sci Nat, Bot, sér 7*:165-368.

Rai HS, PA Reeves, R Peakall, RG Olmstead, SW Graham. 2008. Inference of higher-order conifer relationships from a multi-locus plastid data set. *Botany* 86:658-669.

Ryberg PE, GW Rothwell, RA Stockey, J Hilton, G Mapes, JB Riding. 2012. Reconsidering relationships among stem and crown group Pinaceae: oldest record of the genus *Pinus* from the early Cretaceous of Yorkshire, United Kingdom. *Int J Plant Sci* 173:917-932.

Roller KJ. 1966. A study of the needle and cone tissue of alpine fir (*Abies lasiocarpa* (Hook.) Nutt.). Internal Rep Forest Res Lab Winnipeg, MS-36. Canada Dept. Forestry.

Ruzin SE. 1999. Plant microtechnique and microscopy. New York: Oxford University Press.

Sereno PC. 2007. Logical basis for morphological characters in phylogenetics. *Cladistics* 23:565-587.

Smith SY, RA Stockey. 2001. A new species of *Pityostrobus* from the Lower Cretaceous of California and its bearing on the evolution of Pinaceae. *Int J Plant Sci* 162:669-681.

Smith SY, RA Stockey. 2002. Permineralized pine cones from the Cretaceous of Vancouver Island, British Columbia. *Int J Plant Sci* 163:185-196.

Stockey RA. 1981. *Pityostrobus mcmurrayensis* sp. nov., a permineralized pinaceous cone from the Cretaceous of Alberta. *Can J Bot* 59:75-82.

Swofford DL. 2003. PAUP\*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and other methods), version 4. Sinauer, Sunderland, NA.

Syring J, A Willyard. R Cronn, A Liston. 2005. Evolutionary relationships among *Pinus* (Pinaceae) subsections inferred from multiple low-copy nuclear loci. *Am J Bot* 92:2086-2100.

Thieret JW. 2008. Pinaceae. En: Flora of North America. Editorial Committee, eds. 1993+. Flora of North America North of Mexico. 16+ vols. New York and Oxford. Vol. 2.

Thompson WP. 1912. Ray tracheids in *Abies*. *Bot Gaz* 53:331-338.

Tsumura Y, K Yoshimura, N Tomaru, K Ohba. 1995. Molecular phylogeny of conifers using RFLP analysis of PCR-amplified specific chloroplast genes. *Theor Appl Genet* 91:1222-1236

Van Tieghem P. 1891. Structures et affinités des *Abies* et des genres les plus voisins. *Bull Soc Bot France* 38:406-416.

Vázquez-Sánchez M, T Terrazas, S Arias. 2005. Morfología y anatomía del cefalio de *Cephalocereus senilis* (Cactaceae). *An Jard Bot Madr* 62:153-161.

Vining TF. 1999. Molecular phylogenetics of *Pinaceae*. Tesis de doctorado. University of Maine, Orono.

Wang X-Q, Y Han, DY Hong. 1998a. A molecular systematic study of *Cathaya*, a relic genus of the Pinaceae in China. *Plant Syst Evol* 213:165-172.

Wang X-Q, Y Han, DY Hong. 1998b. PCR-RFLP analysis of the chloroplast gene *trnK* in the Pinaceae, with special reference to the systematic position of *Cathaya*. *Int J Plant Sci* 46:265-271.

Wang X-Q, DC Tank, T Sang. 2000. Phylogeny and divergence times in Pinaceae: evidence from three genomes. *Mol Biol Evol* 17:773-781.

Wiens JJ. 2004. The role of morphological data in phylogeny reconstruction. *Syst Biol* 53:653-661.

Wu H, Z Hu. 1997. Comparative anatomy of resins ducts of the Pinaceae. *Trees – Structure and Function* 11:135-143.

## APÉNDICE 1. TAXA INCLUIDOS

---

Nombre de especie	
<i>Abies religiosa</i>	(Kunth) Schltdl. & Cham.
<i>Cathaya argyrophylla</i>	Chun & Kuang
<i>Cedrus deodara</i>	(Roxb. ex D.Don) G.Don
<i>Keteleeria davidiana</i>	(C.E.Bertrand) Beissn.
<i>Larix occidentalis</i>	Nutt.
<i>Nothotsuga longibracteata</i>	(W.C.Cheng) H.H.U. ex C.N.Page
<i>Picea chihuahuana</i>	Martínez
<i>Pinus nelsonii</i>	Shaw
<i>Pinus pinceana</i>	Gordon
<i>Pinus ponderosa</i>	Douglas ex. C.Lawson
<i>Pinus teocote</i>	Schied. ex Schltdl. & Cham.
<i>Pseudolarix amabilis</i>	(J.Nelson) Rehder
<i>Pseudotsuga menziesii</i> var. <i>glauca</i>	(Beissn.) Franco
<i>Tsuga canadensis</i>	L. Carrière
Se eligieron para el grupo externo tres coníferas:	
<i>Araucaria araucana</i>	(Molina) K.Koch (Araucariaceae)
<i>Cryptomeria japonica</i>	(Thunb ex L.f.) D.Don (Cupressaceae)
<i>Sciadopitys verticillata</i>	(Thunb) Siebold & Zucc. (Sciadopityaceae)
Y otra gimnosperma:	
<i>Ginkgo biloba</i>	L. (Ginkgoaceae).

---

## APÉNDICE 2. CARACTERES Y ESTADOS DE CARÁCTER.

Los caracteres en su mayoría fueron tomados de Gernandt et al. (2008; 2011). Los caracteres codificados con base en las observaciones de este estudio con asterisco (\*).

**Ramificación y crecimiento.** **1.** Tallo apical: 0 = erecto; 1 = cuspidado; 2 = péndulo. **2.** Persistencia de las hojas: 0 = perennes; 1 = anuales. **3.** Brotes cortos: 0 = ausente; 1 = presente. **4.** Crecimiento de brotes cortos: 0 = indeterminado; 1 = determinado. **5.** Brotes cortos deciduos: 0 = ausente; 1 = presente; **6.** Crecimiento de ramas laterales: 0 = ortotrópico; 1 = plagiotrópico. **7.** Catáfilas: 0 = ausente; 1 = presente. **8.** \*Venación de las hojas: 0 = no ramificado; 1 = dicotómica; 2 = pinnada. **9.** \*Hoja levantada en un pequeño tallo: 0 = ausente; 1 = presente. **10.** \*Tipo de corteza en ejemplar maduro: 0 = placas; 1 = en escamas longitudinales. **Anatomía de rama vegetativa.** **11.** \*Organización celular del meristemo apical: 0 = túnica potencial, 1 = organización túnica-carpus. **12.** \*Esclerénquima en médula: 0 = ausente; 1 = presente. **13.** \*Engrosamientos helicoidales en pared de traqueidas: 0 = ausente; 1 = presente; 2 = tipo según Greguss. **14.** \*Punteaduras areoladas biseriadas: 0 = ausente; 1 = presente. **15.** \*Parénquima axial: 0 = ausente; 1 = presente. **16.** \*Canales resiníferos verticales en madera: 0 = ausente; 1 = presente. **17.** \*Grosor de la pared celular de células epiteliales de canales resiníferos verticales: 0 = delgada; 1 = gruesa. **18.** \*Engrosamientos helicoidales en paredes de radios: 0 = ausente, 1 = presente. **19.** \*Canales resiníferos radiales en madera: 0 = ausente; 1 = presente. **20.** \*Hendiduras en la pared horizontal del parénquima de radio: 0 = ausente; 1 = presente. **21.** \*Traqueidas de radio: 0 = ausente; 1 = presente. **22.** Gradación Hudson en hendiduras en las paredes de las traqueidas de radio: 0 = uno; 1 = dos; 2 = tres; 3 = cuatro; 4 = cinco; 5 = seis. **23.** Depósitos en célula cribosa: 0 = almidón; 1 = proteínas. **24.** \*Fibras en floema: 0 = ausente. 1 = presente. **25.** \*Fibroesclereidas en floema: 0 = ausente, 1 = presente. **26.** \*Mucílago en floema: 0 = ausente; 1 = presente. **27.** \*Cavidades de resina en floema: 0 = ausente; 1 = presente. **28.** \*Canales resiníferos corticales: 0 = ausente; 1 = presente. **29.** \*Esclerénquima en córtex: 0 = ausente; 1 = presente. **30.** Canales resiníferos en

raíz: 0 = ausente; 1 = presente. **Hoja. 31.** Simetría de la hoja: 0 = bifacial; 1 = bilateral; 2 = punzantes o como escamas. **32.** Yemas de verano resinosas: 0 = ausente; 1 = presente. **33.** Vaina: 0 = ausente; 1 = presente. **34.** \*Pecíolo: 0 = ausente; 1 = presente. **35.** \*Margen de la hoja: 0 = entero; 1 = serrulado. **36.** \*Vena media de la hoja: 0 = elevado; 1 = hundido o ausente. **37.** \*Arreglo de estomas: 0 = sin orden; 1 = principalmente longitudinal; 2 = principalmente transversal. **38.** \*Longitud de células epidermales: 0 = corta; 1 = larga. **39.** \*Forma de la pared anticlinal de células epidermales: 0 = recta; 1 = principalmente recta; 2 = recta y sinuosa; 3 = sinuosa y serrada. **40.** \*Número de células subsidiarias. **41.** \*Tapón de ceras en estomas: 0 = ausente; 1 = presente. **42.** Estomas anficíclicos: 0 = ausente; 1 = ausente o presente. **43.** \*Superficie en relación al anillo de Florin: 0 = uniforme; 1 = ligeramente hundida; 2 = hundida; 3 = muy hundida. **44.** \*Grado de elevación del anillo de Florin: 0 = ninguno o ligeramente elevado; 1 = baja elevación; 2 = forma de volcán; 3 = abruptamente elevado. **45.** \*Puentes cuticulares entre anillos de Florin: 0 = ausente; 1 = presente. **46.** \*Forma del mesofilo: 0 = liso; 1 = plicado. **47.** \*Mesofilo con parénquima en empalizada: 0 = ausente; 1 = presente. **48.** \*Posición de los canales resiníferos: 0 = externos; 1 = mediales; 2 = septales; 3 = únicamente internos; 4 = en contacto con la endodermis. **49.** \*Número de canales resiníferos en hoja: 0 =  $\leq 4$  a veces 5; 1 = 4-8; 2 =  $\geq$  (0) 8. **50.** Banda de Caspari en endodermis: 0 = ausente; 1 = presente. **51.** \*Número de haces vasculares en hoja: 0 = uno; 1 = dos; 2 = más de dos. **52.** \*Distribución de las traqueidas del tejido de transfusión: 0 = lateral al haz vascular; 1 = rodeando al haz vascular. **Cono polínico. 53.** Arreglo del cono polínico: 0 = individual; 1 = agrupados en un solo brote; 2 = helicoidal. **54.** Microesporangio por esporófilo: 0 = uno; 1 = dos; 2 = tres; 3 = cuatro a quince; 4 = más de quince 15. **55.** Dehiscencia del microesporangio: 0 = longitudinal; 1 = oblicua; 2 = transversal. **56.** Formación de polen: 0 = simultánea; 1 = sucesivo. **57.** Apertura del grano de polen: 0 = superficie funcional; 1 = harmomegata; 2 = no funcional; 3 = poro. **58.** Sexina del polen: 0 = tegilada; 1 = corrugada; 2 = granular; 3 = rugosa. **59.** Polen con bandas trirradiadas: 0 = ausente; 1 = presente. **60.** Vesículas u ornamentos: 0 = ausente; 1 = presente. **61.** Pared celular en el núcleo del grano de polen: 0 = ausente; 1 = presente. **Cono ovulado. 62.** Posición de la

semilla: 0 = terminal; 1 = lateral. **63.** \*Orientación del cono ovulado maduro: 0 = péndulo; 1 = erecto. **64.** \*Desintegración del cono ovulado: 0 = ausente; 1 = presente. **65.** Brácteas y escamas en el cono ovulado: 0 = numerosos; 1 = algunos. **66.** \*Escama ovulífera: 0 = conspicua; 1 = inconspicua. **67.** Conos ovulados persistentes: 0 = ausente; 1 = presente. **68.** \*Método de liberación de semillas del cono ovulado: 0 = separación del cono; 1 = absición de la escama del eje del cono. **69.** \*Tricomias en escama o bráctea: 0 = ausente; 1 = presente. **70.** Complejo axilar: 0 = Separación de la bráctea cerca de la base; 1 = parcialmente fusionado; 2 = fusionado. **71.** Separación de la bráctea y escama; 0 = lateralmente; 1 = medialmente; 2 = todo. **72.** \*Longitud de la bráctea respecto a la escama: 0 = más corta; 1 = igual; 2 = más larga. **73.** \*Complejo cono-escama ovulífera: 0 = ausente; 1 = presente. **74.** \*Ápice de la bráctea tridentada: 0 = ausente; 1 = presente. **75.** \*Forma de la escama ovulífera: 0 = flabelada a cuneada (ancho en ápice); 1 = redondeada a romboide (ancho en el medio); 2 = forma de lengua; 3 = subcordada; 4 = triangular deltada. **76.** \*Lóbulos en el ápice de la escama ovulífera: 0 = ausente; 1 = presente. **77.** \*Base de la escama ovulífera: 0 = angosta en la base; 1 = ancha en la base. **78.** \*Quilla que separa las semillas: 0 = ausente; 1 = presente. **79.** \*Extensión de la quilla que separa las semillas: 0 = menos de la mitad del diámetro de la semilla; 1 = más de la mitad del diámetro de la semilla; 2 = rodeando la semilla. **80.** \*Ápice de la escama ovulífera: 0 = distalmente delgada; 1 = distalmente engrosada en apófisis. **81.** \*Espina: 0 = ausente; 1 = presente. **82.** \*Umbo: 0 = ausente; 1 = presente. **83.** \*Posición del umbo: 0 = dorsal; 1 = terminal. **84.** Forma del umbo dorsal: 0 = mucrón pequeño; 1 = denticulado; 2 = mucrón erecto; 3 = mucrón reflexo. **Anatomía del eje del cono ovulado.** **85.** \*Esclerénquima en la médula: 0 = ausente; 1 = presente. **86.** \*Continuidad del xilema secundario: 0 = formando un cilindro continuo o ligeramente seccionado; 1 = completamente seccionado. **87.** \*Anillos de crecimiento en xilema secundario: 0 = cero; 1 = uno; 2 = dos. **88.** \*Canales resiníferos verticales en xilema secundario: 0 = ausente; 1 = presente. **89.** \*Esclerénquima en córtex interno: 0 = ausente; 1 = presente. **90.** \*Esclerénquima en córtex externo: 0 = ausente; 1 = presente. **91.** Origen de la traza vascular de la bráctea y escama ovulífera: 0 = separado; 1 = unido. **92.** Canales

resiníferos del eje del cono al complejo escama ovulífera que deriven de canales corticales: 0 = un origen; 1 = dos orígenes; 2 = tres orígenes; 3 = cuatro orígenes; 4 = más de cuatro orígenes. **Anatomía de la bráctea. 93.** Traza vascular de la bráctea: 0 = entrando a la bráctea; 1 = termina antes de entrar a la bráctea. **94.** Número de canales resiníferos en la bráctea: 0 = dos; 1 = más de dos; 2 = uno. **95.** Radios en el haz vascular de la bráctea: 0 = ausente; 1 = presente. **96.** \*Esclerénquima en la bráctea: 0 = ausente; 1 = presente. **Anatomía de la escama ovulífera. 97.** Traza vascular de la escama ovulífera con canales resiníferos dentro: 0 = ausente; 1 = presente. **98.** \*Haces vasculares de la escama ovulífera en la parte distal a la semilla: 0 = en línea recta; 1 = abaxialmente cóncavos. **99.** \*Canales resiníferos abaxiales en escama ovulífera a nivel de la base: 0 = ausente; 1 = presente. **100.** \*Canales resiníferos adaxiales en escama ovulífera a nivel de la base: 0 = ausente; 1 = presente. **101.** \*Tejido mecánico en escama ovulífera a nivel de la base: 0 = presente; 1 = ausente. **102.** \*Esclerénquima abaxial al tejido vascular en escama ovulífera: 0 = ausente; 1 = presente. **103.** \*Esclerénquima adaxial al tejido vascular en escama ovulífera: 0 = ausente; 1 = presente. **Fertilización y embriología. 104.** Gota polinizadora: 0 = ausente; 1 = presente. **105.** Simetría del micrópilo: 0 = simétrico; 1 = asimétrico. **106.** Célula del canal ventral: 0 = pared celular evidente; 1 = pared celular no evidente pero sí el núcleo. **107.** Membrana de la megaspora: 0 = grosor uniforme; 1 = delgada al final del micrópilo. **108.** Formación de la pared del proembrión: 0 = Tipo secundario; 1 = Tipo primario. **109.** Número de niveles del proembrión: 0 = tres; 1 = cuatro. **110.** Poliembrionía: 0 = simple; 1 = dividida. **Semilla. 111.** Orientación del óvulo: 0 = ortótropo; 1 = anátropo. **112.** \*Inserción del ala en la semilla: 0 = adnado; 1 = articulada; 2 = no articulada. **113.** Cavidades de resina en el integumento: 0 = ausente; 1 = presente. **114.** \*Número de óvulos por escama ovulífera: 0 = uno; 1 = dos; 2 = tres o más. **115.** Haz vascular que entra a la semilla: 0 = ausente; 1 = presente. **116.** Alas de la semilla formadas a partir del tejido de la escama ovulífera: 0 = ausente; 1 = presente. **117.** Alas de la semilla formadas a partir del tejido de la semilla: 0 = ausente; 1 = presente. **118.** Arreglo del ala en la semilla: 0 = cubre un lado de la semilla; 1 = copa poco profunda; 2 = acoplada en forma de pinzas; 3 = cubriendo ambos lados de la semilla.

**119.** Germinación: 0 = hipogea; 1 = epigea. **120.** Número de cotiledones: 0 = dos; 1 = tres a siete, a veces ocho; 2 = siete a once, a veces doce; 3 = doce o más. **Bioquímica. 121.** Mucílago en floema de la rama vegetativa: 0 = ausente; 1 = presente. **122.** Biflavonoides: 0 = ausente; 1 = presente. **Citología. 123.** Número de cromosomas: 0 = 12; 1 = 13; 2 = 16; 3 = 8; 4 = 26; 5 = 11; 6 = 10; 7 = 33; 8 = 22.

### APÉNDICE 3. MODIFICACIONES A CARACTERES

Se modificó el carácter codificado por Gernandt et al. (2008; 2011) como, Túnica en el meristemo apical: 0 = ausente, 1 = presente, este carácter fue codificado por Hart (1987) como 0 = Tallo sin túnica-carpus, 1 = Tallo con túnica-carpus, en este trabajo se modificó a: Organización celular del meristemo apical, 0 = túnica potencial, 1 = organización túnica-carpus. Griffith (1952) sostiene que la dominancia de las divisiones anticlinales en las células del meristemo apical en su capa más superficial resulta en la organización túnica-carpus. Korody (1937) refiere que la ausencia de estas divisiones en la capa superficial en especies de *Abies*, *Pinus* y *Picea*, es equivalente al carpus en angiospermas. Cross (1939) y Foster (1941) sugieren que esta capa de células del meristemo apical de las gimnospermas debe ser considerada como una túnica potencial.

Los estados de carácter del eje del cono ovulado: Anillos de crecimiento en xilema secundario: 0 = uno; 1 = dos, codificado por Gernandt et al. (2008; 2011) fue modificado a: Anillos de crecimiento en xilema secundario: 0 = cero; 1 = uno; 2 = dos, esto como consecuencia de las observaciones realizadas en este estudio.

# APÉNDICE 4. MATRIZ DE DATOS

<i>Abies religiosa</i>	000--1?000	?00010-00?	1-?0000011?	0101011100?	0?0010100?	11? ????????
<i>Cathaya argyrophylla</i>	000--1100?	0?111111111	1?1000001?1	0001011105	11? ??10001	0101000101
<i>Cedrus deodara</i>	1010011000	0?0?10-001	1?1000001?1	1001?11?05	?2???0?001	11010000001
<i>Keteleeria davidiana</i>	000--??00?	0?0111?001	0?????1?1	000100?134	?110?01000	01112000001
<i>Larix occidentalis</i>	011001100?	0?11011011	1?1010?1??	(01)101011?04	?0??0?001	0101011210
<i>Nothotsuga longibracteata</i>	200--1101?	0?00111001	1???1111?1	0001011???	?1??01400	01112???01
<i>Picea chihuahuana</i>	100--1?010	?000111010	1?20000011?	110000100?	0?0010000?	1101? ?????1
<i>Pinus nelsonii</i>	001110100?	0?0?010011	13?????1??	1110111025	00110?0000?	01210? ????1
<i>Pinus pinceana</i>	00111110?0	?100110010	10?000010?	1010011107	0?2311000?	01? ????????
<i>Pinus ponderosa</i>	0011101000	0?000010011	1(45)100011??	11101111109	1000110111	11210000001
<i>Pinus teocote</i>	001110?0?0	?00?11001?	1(45)?000010?	1110111007	1?0011031?	1121?????1
<i>Pseudolarix amabilis</i>	0110011000	0?0010-001	1?100110?1	0?01001?05	?0-??01000	01112000001
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	000--11000	0110111111	1010001111	0001011004	0001001001	0101101210
<i>Tsuga canadensis</i>	200--1101?	0?0010-001	1?100000?1	0001111?04	?1??01400	0101200101
<i>Araucaria araucana</i>	000--0010?	110000-000	0-0100?1??	1-000?1?25	??-?0??0	20(01)3001300
<i>Cryptomeria japonica</i>	0011010001	100010-001	0-010001??	(02)?00001??5	?????0?00	0023003200
<i>Ginkgo biloba</i>	111000110?	002100-000	0-010000?0	0?01?0??5	? ?? ?0?--0	?0?1000000
<i>Sciadopitys verticillata</i>	00111111001	100000-000	0-0100?1??	0?00?10??6	?????0?000	0011002100

*Abies religiosa* ?111010011? ?2???0???? 00--?00010 ??0??1???? ???? ?????? ????1?????1 ???  
*Cathaya argyrophylla* 0100001000 ?010101100 00--001001 0?1001?11 ?110011111 ?1101?101?1 00?  
*Cedrus deodara* 0010000110 0000000100 00--101111 1100??10 0111011111 1011?10012 000  
*Keteleeria davidiana* 01110000?0 0112300100 00--001001 0110?1?111 ?110011111 1?11?1000(0 1) 1??  
*Larix occidentalis* 0110001010 1210(0 1)01100 00--101001 010000?01 1110111110 1001?101?1 000  
*Nothotsuga longibracteata* ?(0 1)11001010 ?210000100 00--1?10?? 0?0201?01 ?00?????? 1?11?1011? 1?0  
*Picea chihuahuana* ?0000000?0 0010001110 00--100111 ?1?0110111 111?????? 1001?101?? ???  
*Pinus nelsonii* ?100001000 0010201121 1101002100 1100?0?110 ?001????? 1201010212 0??  
*Pinus pinceana* ?100000010 ?0?020?111 1101101100 ????1?1? ?101????? 1201?102?? ???  
*Pinus ponderosa* 0100000000 ?000201101 1102?01100 11?0?1?110 1111011111 1101010212 000  
*Pinus teocote* ?100000000 ?0?0201101 1102000101 ?????1??? ?111????? 1101?10?? ???  
*Pseudolarix amabilis* 0011000110 0000400100 00--111011 0000110011 0010011110 1011110011 108  
*Pseudotsuga menziesii* 0100000010 ?2?1101100 00--10010? 0100110101 1110111110 1001?10111 001  
*Tsuga canadensis* 0000000010 1010100100 00--10101? 010201?01 1110011111 1011?10011 000  
*Araucaria araucana* 1110010102 -210001--0 00--??0?? 1?0?01???? ????0000000 1-00?00-01 011  
*Cryptomeria japonica* 100000?001 02000110-0 00--101011 000100?010 ?111000001 0?02101-10 015  
*Ginkgo biloba* 110?10?00 ?100?01--? 00--011000 0-0?00?-- ?001000000 0-02100?00 010  
*Sciadopitys verticillata* 100000?011 00000010-0 00--011000 010100?001 ?011000001 1?02101-10 016

## APÉNDICE 5. CARACTERIZACIÓN ANATÓMICA

### HOJA

- = Inaplicable

? = Perdido

	<i>Abies religiosa</i>	<i>Picea chihuahuana</i>	<i>Pinus pinceana</i>	<i>Pinus teocote</i>	<i>Pseudotsuga menziesii</i> var. <i>glauca</i>
Simetría	Bifacial	Bilateral	Bilateral	Bilateral	Bifacial
Vaina	Ausente	Ausente	Presente	Presente	Ausente
Pecíolo	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
Margen	Entero	Entero	Entero	Serrado	Entero
Vena media	Hundida	Elevada	Hundida	Hundida	Hundida
Mesofilo	Liso	Liso	Plicado	Plicado	Liso
Parénquima en empalizada	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
Posición de canales resiníferos	Externos	Externos	Externos	Internos	Externos
Número de canales resiníferos	≤4-5	≤4-5	≤4-5	(1)-4-8	≤4-5
Número de haces vasculares	2	2	1	2	1
Ubicación de estomas	Abaxial	Adaxial y abaxial	Dorsal y ventral	Dorsal y ventral	Abaxial
Número de hileras de estomas	Abaxial: 14 Adaxial: -	Adaxial: 10 Abaxial: 12	Dorsal: 0-2 Ventral: 6	Dorsal: 7 Ventral: 9	Abaxial: 16 Adaxial: -
Forma de estomas	Elíptica	Rectangular	Elíptica	Elíptica	Rectangular

Anillo de Florin	Nada o muy poco elevado	Nada o muy poco elevado	Elevado	Nada o muy poco elevado	Poco elevado
Puente entre estomas	Desarrollado	No desarrollado	Desarrollado	No desarrollado	Desarrollado
Tapón de ceras en estomas	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente
Forma de células epidérmicas	Elongadas cortas	Elongadas cortas	Elongadas largas	Elongadas cortas	Elongadas cortas
Paredes anticlinales	Ligeramente hundidas, rectas y lisas	Ligeramente hundidas, rectas y lisas	Hundidas, rectas y lisas	A nivel, rectas y lisas	Hundidas, rectas y lisas

## RAMA VEGETATIVA

	<i>Abies religiosa</i>	<i>Picea chihuahuana</i>	<i>Pinus pinceana</i>	<i>Pinus teocote</i>	<i>Pseudotsuga menziesii</i> var. <i>glauca</i>
Canales resiníferos corticales	Mediales e internos	Mediales e internos	Externos e internos	Internos	Externos
Esclerénquima en córtex	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente
Canales resiníferos radiales en floema	Ausente	Presente	Presente	Presente	Ausente
Paredes de células epiteliales	-	Delgadas	Delgadas	Delgadas	-
Transición de la madera	Abrupta y gradual	Gradual	Abrupta	Abrupta	Abrupta y gradual
Parénquima axial en madera	Presente	Ausente	Presente (asociado a canales resiníferos)	Presente (asociado a canales resiníferos)	Presente
Canales resiníferos verticales en madera	Ausente	Presente	Presente	Presente	Presente
Canales resiníferos radiales en madera	Ausente	Presente	Presente	Presente	Presente
Paredes de células epiteliales	-	Gruesas	Delgadas	Delgadas	Gruesas
Engrosamientos helicoidales en traqueidas	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Presente
Punteaduras de campos de cruce	Piceoide	Piceoide	Fenestriforme	Piceoide	Piceoide
Esclerénquima en médula	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Presente

EJE DEL CONO OVULADO

	<i>Abies religiosa</i>	<i>Picea chihuahuana</i>	<i>Pinus pinceana</i>	<i>Pinus teocote</i>	<i>Pseudotsuga menziesii</i> var. <i>glauca</i>
Canales resiníferos corticales	Presente (mediales)	?	Presente (externos e internos)	Presente (internos)	?
Esclerénquima en córtex	Presente (interno)	?	Ausente	Presente (externo)	?
Parénquima axial en floema	Presente (bandas tangenciales)	?	Presente (difuso)	Ausente	?
Canales resiníferos radiales en floema	Ausente	?	Presente	Ausente	?
Paredes de células epiteliales	-	?	Delgadas	-	?
Anillos de crecimiento	0	0	1	0	0
Transición de la madera	-	-	Gradual	-	-
Parénquima axial en madera	Presente (difuso)	Ausente	Presente (difuso)	Presente (difuso)	Presente (difuso y asociado a canales resiníferos)
Canales resiníferos verticales en madera	Ausente	Presente	Presente	Presente	Presente
Canales resiníferos radiales en madera	Ausente	Presente	Presente	Presente	Presente
Paredes de células epiteliales	-	Gruesas	Delgadas	Delgadas	Gruesas
Esclerénquima en médula	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente

COMPLEJO BRÁCTEA-ESCAMA

	<i>Abies religiosa</i>	<i>Picea chihuahuana</i>	<i>Pinus pinceana</i>	<i>Pinus teocote</i>	<i>Pseudotsuga menziesii</i> var. <i>glauca</i>
BRÁCTEA NIVEL DE SEMILLA					
Tejido dominante	-	Parénquima y esclerénquima adaxial	-	-	Parénquima adaxial y esclerénquima abaxial
Canales resiníferos	-	Ausente	-	-	Verticales en xilema secundario, ausente en parénquima
Estomas	-	Ambas superficies estomas elípticos, anillo de Florin poco desarrollado	-	-	Ausente
Tricomas	-	Ausente	-	-	Ausente
BRÁCTEA NIVEL DE ALA					
Tejido dominante	Parénquima	-	-	-	Parénquima al centro, esclerénquima adaxial y abaxial
Canales resiníferos	Colapsados	-	-	-	Colapsados
Estomas	Ausente	-	-	-	Ausente

BRÁCTEA					
NIVEL DISTAL DE SEMILLA					
Tejido dominante	Parénquima y esclerénquima abaxial	-	-	-	Parénquima y epidermis esclerificada.
Canales resiníferos	Colapsados	-	-	-	No colapsados, 6 adaxiales y abaxiales
Estomas	Ausente	-	-	-	Superficie adaxial estomas elípticos, anillo de Florin no desarrollado
ESCAMA					
NIVEL DE SEMILLA					
Quilla que separa las semillas	Poco prominente	Prominente	Prominente	Poco prominente	Poco prominente
Tejido dominante	Parénquima	Parénquima adaxial y esclerénquima abaxial	Parénquima	Parénquima adaxial y esclerénquima abaxial	Esclerénquima
Tejido vascular	Dos haces	Siete en hilera adaxial	Seis en hilera central	11 en hilera adaxial	En hilera continua adaxial
Canales resiníferos	Cinco rodean el tejido vascular	Tres en hilera adaxial	Diez en hilera adaxial y abaxial, vertical en xilema secundario	19 en hilera abaxial	Vertical en xilema secundario, ausente en esclerénquima
ESCAMA					
NIVEL DE ALA					
Tejido dominante	Parénquima	Parénquima	Parénquima y esclerénquima abaxial	Esclerénquima	Parénquima, epidermis esclerificada

Tejido vascular	25 en hilera adaxial	19 en hilera central	Ocho en hilera central	Diez en hilera central	19 en hilera central
Canales resiníferos	38 en hilera adaxial y entre haces vasculares	± 11 en hilera adaxial y abaxial	16 en hilera adaxial, abaxial y entre haces vasculares	19 en hilera adaxial, abaxial y entre haces vasculares	11 en hilera adaxial y entre haces vasculares
Tricomas	Superficie adaxial en quilla que separa las alas	Ausente	Ausente	Ausente	Abundantes en quilla que separa la semilla y superficie abaxial
ESCAMA					
NIVEL DISTAL DE SEMILLA					
Tejido dominante	Parénquima adaxial y esclerénquima abaxial	Parénquima	Parénquima y esclerénquima abaxial	Esclerénquima	Parénquima, epidermis esclerificada
Tejido vascular	16 en hilera central	16 en hilera central	Ausente	Nueve en hilera central	22 en hilera central
Canales resiníferos	± 50 en hilera central, colapsados al extremos de escama	± 17 colapsados	49 dispersos	21 en hilera adaxial, abaxial y entre haces vasculares	13 entre haces vasculares
Estomas	Ausente	Ausente	Superficie abaxial, dispersos, anillo de Florin no desarrollado	Ausente	Ausente
Tricomas	Unicelulares en superficie adaxial y abaxial	Ausente	Ausente	Ausente	Unicelulares en ambas superficies