

## Efecto de la escarificación con cautín de estaño en la germinación de cinco pinos mexicanos del Subgénero Diploxylon

### Effect of scarification with tin soldering iron on the germination of five Mexican pines of the Diploxylon Subgenus

VILLARREAL-RUIZ, Luis<sup>1†\*</sup>, NERI-LUNA, Cecilia<sup>2</sup> y HUERTA-MARTÍNEZ, Francisco Martín<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Recursos Genéticos Microbianos & Biotecnología (LARGEMBIO), PREGEP-Genética, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, C.P. 56230, Edo. México, México

<sup>2</sup>Laboratorio de Ecofisiología Vegetal, Departamento de Ecología, CUCBA, Universidad de Guadalajara, Camino Ing. Ramón Padilla Sánchez No. 2100, C.P. 45110, Zapopan, Jalisco, México

ID 1<sup>er</sup> Autor: Luis, Villarreal-Ruiz / ORC ID: 0000-0001-8472-4898, Researcher ID Thomson: V-7279-2018

ID 1<sup>er</sup> Coautor: Cecilia, Neri-Luna / ORC ID: 0000-0002-8941-2305, Researcher ID Thomson: X-2192-2018

ID 2<sup>o</sup> Coautor: Francisco Martín, Huerta-Martínez / ORC ID: 0000-0001-6923-3425, Researcher ID Thomson: T-2466-2018

Recibido Junio 15, 2018, Aceptado Septiembre 30, 2018

#### Resumen

Se evaluó el efecto de la escarificación con cautín de estaño en la germinación de cinco pinos mexicanos del Subgénero Diploxylon. La mayor parte de la semilla de las especies de los pinos estudiados fue recolectada en poblaciones naturales en el Ejido de Pueblo Nuevo, Municipio de Chignahuapan, Estado de Puebla, México, a excepción de *P. greggii* var. *australis*. La germinación se realizó bajo condiciones de laboratorio y empleando las técnicas de escarificación con cautín de estaño y germinadas entre papel húmedo. Se encontraron diferencias estadísticas significativas en el porcentaje de germinación y el índice de Maguire para *Pinus patula* var. *patula*, *P. greggii* var. *australis* y *P. teocote* a los 15 días de germinadas; mientras que *P. greggii* var. *australis* y *P. teocote* mostraron mayor germinación a los 22 días. Se concluye que el uso de la escarificación con cautín de estaño puede contribuir a reducir el tiempo de germinación e incrementar el porcentaje de germinación en las especies recalcitrantes de pino.

***Pinus*, Escarificación con cautín de estaño, Germinación entre papel**

#### Abstract

The effect of soldering iron method on the germination of five Mexican pines of the Diploxylon Subgenus was evaluated. The majority of seeds of the pine species studied was collected on natural populations in the Ejido de Pueblo Nuevo, Municipality of Chignahuapan, in Puebla State of Mexico except for *P. greggii* var. *australis*. The study was performed under lab conditions and the use of soldering iron and the germination between paper methods were tested. Statistical analysis shown significant differences on the percent of germination and the Maguire index for *Pinus patula* var. *patula*, *P. greggii* var. *australis* y *P. teocote* to germinate after 15 days; while *P. greggii* var. *australis* y *P. teocote* germinate after 22 days. We conclude that soldering iron method can contribute to reduce the period of time germination and increase the percentage of germination on recalcitrant pine species.

***Pinus*, Soldering iron scarification, Germination between papers**

**Citación:** VILLARREAL-RUIZ, Luis, NERI-LUNA, Cecilia y HUERTA-MARTÍNEZ, Francisco Martín. Efecto de la escarificación con cautín de estaño en la germinación de cinco pinos mexicanos del Subgénero Diploxylon. Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales. 2018, 4-13: 7-13.

\*Correspondencia al Autor (Correo electrónico: luisvirl@colpos.colpos.mx)

† Investigador contribuyendo como primer Autor.

## Introducción

Es innegable la importancia histórica que ha representado la biodiversidad de pinos en las poblaciones humanas de México como fuente de madera, leña, resina, carbón y semillas comestibles que les representan actualmente beneficios económicos anuales de ~6.7 millones de pesos (Farjón et al. 1997; Villarreal-Ruiz et al. 2011). Además de proveer servicios ambientales y productos no maderables, entre los que se encuentran los hongos silvestres comestibles y del cual obtienen ganancias anuales de ~1.5 millones de pesos (Villarreal-Ruiz, 2011; Villarreal-Ruiz et al. 2011).

Desde el punto de vista de la biogeografía global México es reconocido como un centro secundario de diversificación del género *Pinus*, ya que contiene el ~40% de las ~120 especies que existen en el mundo (Gernandt y Pérez-de la Rosa 2014). Por sus características anatómicas y morfológicas, el género *Pinus* se divide en dos grupos naturales que se adscriben a los Subgéneros: (1) Haploxyton (pinos “blandos y “blancos”) y (2) Diploxyton (pinos “duros” y “amarillos”), *sensu* Perry (1991).

Desde una perspectiva evolutiva y sistemática los pinos “duros” de México concentran la mayor parte de los descendientes de eventos ocurridos durante la especiación del Terciario tardío, por lo que el Subgénero Diploxyton presenta un mayor número de especies endémicas (Farjón 1996).

Durante ese periodo evolutivo la mayoría de pinos mexicanos se adaptaron a regímenes de fuego naturales cíclicos, los cuales se han visto afectados por la combinación de los relativamente recientes fuegos de origen antropogénico (Rodríguez-Trejo y Fulé. 2003). Recientemente se ha demostrado que los mecanismos que gobiernan la expansión de los bosques dominados por pinos en México se deben a intervalos de aridez con incendios inducidos naturalmente (Figueroa-Rangel et al. 2008).

Dado los mecanismos adaptativos de los pinos mexicanos a regímenes de sequía y fuegos naturales se han registrado problemas en la calidad germinativa en la producción de semilla en árboles y en las depositadas en los bancos de semillas del suelo de algunas especies del Subgénero Diploxyton (Bustamante-García et al. 2014; Carrillo-Anzures et al. 2009).

Por lo tanto, el estudio de la biología reproductiva de las especies de pinos de México es de primordial importancia para implementar programas efectivos de repoblación asistida por plantación, usando semillas nativas. La buena selección de germoplasma y plantación con semillas, es considerada por Ledig y Kitzmiller (1992) como la mejor herramienta para contrarrestar los efectos del cambio climático, ya que promueve la diversidad genética de las plantaciones.

Según Larsen (1925) además de la buena selección del germoplasma, en algunas especies de pinos con semillas recalcitrantes es necesario emplear métodos mecánicos, químicos o térmicos para inducir la buena germinación de las especies a repoblar.

Dado que no existen registros bibliográficos del uso del método de escarificación empleando el cautín de estaño en especies de pinos del Subgénero Diploxyton, el objetivo de este trabajo fue probar su efecto en el tiempo de germinación de cinco especies mexicanas.

## Materiales y Métodos

### *Criterios de selección de las especies*

Se seleccionaron cinco especies de “pinos duros” del Subgénero Diploxyton: Sección Montezumae: *Pinus montezumae* Lamb. var. *montezumae*; Sección Pseudostrobus: *P. pseudostrobus* Lindl. var. *pseudostrobus*; Sección Teocote: *Pinus teocote* Schiede ex Schltdl. et Cham; Sección Patula: *P. greggii* Engelm. ex Parl. var. *australis* Donahue et Lopez, *P. patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. var. *patula*, (*sensu* Perry 1991; Gernandt y Pérez-de la Rosa 2014).

La selección de estas especies se fundamentó en su amplia distribución geográfica e importancia ecológica y económica a escalas: (1) regional en Chignahuapan-Zacatlán, Puebla (Morales Martínez, 2010; Ramírez Herrera y Villarreal Ruiz 2011; Salinas Cruz et al. 2017; Tapia-Aurelio y Flores-Escobar. 2017), (2) en México (Sánchez-González, 2008.) y (3) a escala mundial (Wiersema y León, 2016).

### Sitio de recolección del germoplasma

El germoplasma de *P. patula* var. *patula*, *P. montezumae* var. *montezumae* y *P. pseudostrobus* var. *pseudostrobus* y *P. teocote* fue recolectado en el Ejido Peñuelas Pueblo Nuevo, Municipio de Chignahuapan, Puebla, México (19°57.07' longitud N y 098°08.124 latitud W a una altitud de 2917 m s.n.m.; georreferenciado con un geoposicionador Garmin eTrex®, modelo personal navigator®). El clima predominante del área de recolección del germoplasma es "semifrío subhúmedo con lluvias en verano, presentando temperaturas medias mensuales que oscilan entre los 5°C y 15 °C, con temperatura promedio anual de 13.5° C y precipitación de 750 a más de 1000 mm anuales en las partes altas" (Bastida Tapia y Reyes Ramírez 2016).

Las tres primeras especies de pino antes referidas coexisten en rodales naturales húmedos; mientras que *P. teocote* se localiza en áreas menos húmedas y a una menor altitud (2700 m s.n.m.) (Figura 1). En el caso de la semilla *P. greggii* var. *australis* procede del Estado de Hidalgo y fue obtenida del Banco de Germoplasma del Postgrado Forestal del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Edo. México.



**Figura 1** Sitio de recolección de la semilla de las cinco especies de pinos mexicanos del Subgénero Diploxylon empleadas en el experimento de germinación, usando las técnicas de escarificación con cautín y germinadas entre papel.

### Selección y procesamiento del germoplasma

Las semillas de cada especie se revisaron con un microscopio estereoscópico (Olympus SZX10) para seleccionar las de tamaño uniforme y que no presentaran daño superficial.

Posteriormente las semillas de cada especie se lavaron con tween 80 durante 30 minutos y se esterilizaron superficialmente con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%) durante 20 minutos (Jarstfer and Sylvia, 1993) y a continuación se lavaron con agua destilada estéril para remover el exceso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Acto seguido se sumergieron en un vaso de precipitado de 500 ml con 300 ml de agua destilada estéril durante 16 h en oscuridad para iniciar el proceso de imbibición (Maiti, 1996).

### Escarificación con cautín de estaño

En una cámara de flujo laminar horizontal (Terlab, modelo Cam-Hor) y empleando un microscopio estereoscópico (VELAB modelo VE-S1), a cada semilla esterilizada superficialmente se le aplicó la técnica del soldador de estaño de punta fina (Poulsen y Stubsgaard, 2000), que consiste en tocar la testa cuidadosamente hasta hacer una incisión por donde se visualice el cotiledón, evitando dañarlo.

### Prueba de germinación entre papel

Se empleó la técnica entre papel (Rao *et al.*, 2007; Neri-Luna *et al.*, 2017), la cual consiste en colocar las semillas de pino entre dos capas de papel en rollo (Georgia-Pacofic PRO, enMotion®) para su germinación. El procedimiento consistió en: (1) humedecer el papel con agua destilada previamente auto clavada en un ciclo de 120° durante 30 minutos, de acuerdo con la norma europea UNE-EN 13060 (EducarEx, 2017). (2) Las semillas de cada una de las cinco especies de pino se distribuyeron en hileras a intervalos regulares de 2 cm y se cubrieron con otra hoja de papel húmedo. (3) Las semillas entre papel se envolvieron con papel aluminio y se dejaron en condiciones de laboratorio a 21.8±0.31°C para favorecer la geminación. Cuando se consideró necesario, las toallas de papel se mantuvieron húmedas rociándolas con agua destilada estéril.

### Diseño experimental y variables evaluadas

Se utilizó un diseño completamente al azar, con cinco especies de pino como tratamiento y cuatro repeticiones de 50 semillas cada una (Espitia *et al.* 2016). Después de 15 y 22 días de establecido el experimento, se evaluó el porcentaje de germinación (Xu *et al.*, 2016) en cada una de las especies de pino con la siguiente fórmula:

$$\% \text{Germinación} = (G/T) \times 100 \quad (1)$$

Donde: G= Número total de semillas germinadas  
T= Número de semillas establecidas

Finalmente, se calculó el índice de Maguire (Romero-Rangel et al. 2017) con la siguiente fórmula:

$$IM = \sum_{i=1}^N \frac{G_i}{T_i} * \frac{100}{M} \quad (2)$$

Dónde: IM= índice de Maguire,  $G_i$ = germinación sencilla de la  $i$ -ésima evaluación,  $T_i$ = tiempo transcurrido desde el establecimiento hasta la  $i$ -ésima evaluación y  $M$ = tamaño de la muestra o número de semillas establecidas.

### Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó empleando el programa de cómputo SPSS v24. Todos los datos se verificaron para normalidad usando la prueba de Kolmogorov-Smirnov y para homogeneidad de varianzas se empleó la prueba de Levene. Se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) unifactorial para comparar medias del porcentaje de germinación y el índice de Maguire. Para conocer el efecto del tiempo en el porcentaje de germinación por cada especie de pino se llevó a cabo una prueba de comparación de dos muestras (T-test). En caso de haber diferencias significativas, se realizó la prueba de rangos múltiples empleando la prueba de Student-Newman-Keuls (Dytham, 2011).

### Resultados

De acuerdo con los resultados de la primera evaluación (15 días después del establecimiento del experimento), se observaron diferencias significativas ( $P=0.004$ ) en la variable de porcentaje de germinación en las diferentes especies de pino (Tabla 1). La capacidad germinativa media de las semillas en *P. patula* var. *patula* fue la más alta, seguida por *P. greggii* var. *australis* y *P. teocote*. Por el contrario, la menor capacidad de germinación se registró en *P. pseudostrobus* var. *pseudostrobus* y *P. montezumae* var. *montezumae*.

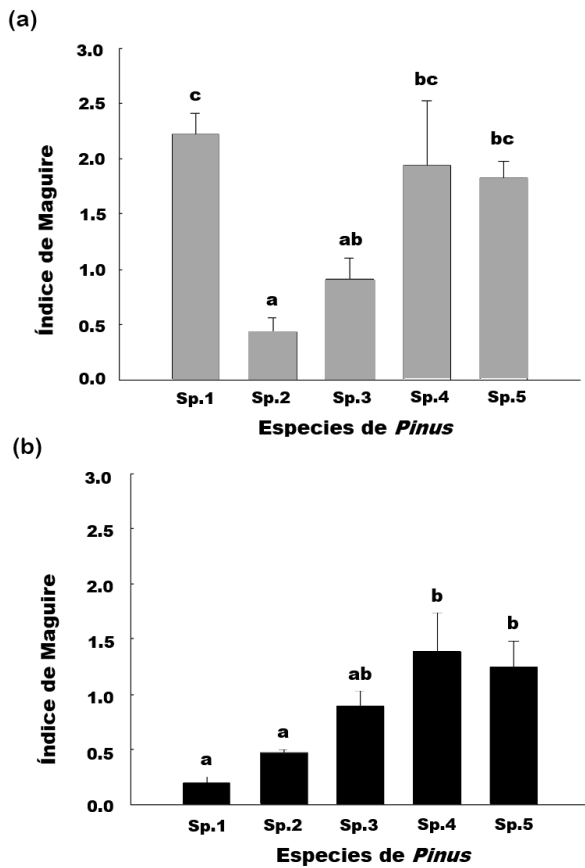
Por otra parte, cuando la estimación del porcentaje de germinación se realizó a los 22 días se observó una diferencia significativa entre tratamientos ( $P<0.01$ ) donde el valor más alto lo registró *P. greggii* var. *australis*. En el caso de las semillas de *P. teocote* se obtuvo la misma capacidad germinativa que a los 15 días. Mientras tanto, los valores más bajos fueron para *P. pseudostrobus* var. *pseudostrobus* y *P. montezumae* var. *montezumae*. Es importante resaltar que, el porcentaje de germinación de las semillas de *Pinus patula* var. *patula* (8.5%) disminuyó drásticamente con respecto a la evaluación realizada 7 días antes (Tabla 1).

Especie	% de Germinación	
	15 días	22 días
<i>Pinus patula</i> var. <i>patula</i>	66.5±5.5 c	8.5±2.6 a
<i>Pinus montezumae</i> var. <i>montezumae</i>	13.0±3.8 a	20.5±1.5 a
<i>Pinus pseudostrobus</i> var. <i>pseudostrobus</i>	27.5±5.5 ab	39.0±6.2 ab
<i>Pinus greggii</i> var. <i>australis</i>	58.0±17.6 bc	61.0±15.3 b
<i>Pinus teocote</i>	54.5±4.6 bc	54.5±10.4 b

Los valores representan  $\pm 1$  error estándar de la media ( $n=200$ ). Los valores de significancia fueron calculados empleando ANOVA con un intervalo de confianza del 95%. Medias con letras diferentes son significativamente diferentes ( $P \leq 0.01^{**}$ , Student-Newman-Keuls)

**Tabla 1** Evaluación de los porcentajes de germinación en cinco especies de pinos mexicanos del Subgénero Diploxylon bajo condiciones de laboratorio

El análisis estadístico de los datos obtenidos en la primera evaluación (15 días) reveló diferencias significativas en el índice de Maguire ( $P=0.004$ ) empleando diferentes especies de pino (Figura 2a), siendo los más altos en *P. patula* var. *patula* (2.21), *P. greggii* var. *australis* (1.93) y *P. teocote* (1.81). Por el contrario, los valores más bajos se registraron *P. pseudostrobus* var. *pseudostrobus* (0.91) y *P. montezumae* var. *montezumae* (0.43). Asimismo, la estimación del índice de Maguire que se realizó con los datos obtenidos a los 22 días (Figura 2b) se observó una diferencia significativa entre tratamientos ( $P<0.01$ ) donde el valor más alto lo registró *P. greggii* var. *australis* (1.38), *P. teocote* (1.23). Intermedio *P. pseudostrobus* var. *pseudostrobus* (0.88). Mientras tanto, los valores más bajos fueron para *P. montezumae* var. *montezumae* (0.46) y *P. patula* var. *patula* (0.19).



**Figura 2** Evaluación del índice de Maguire en cinco especies de pinos mexicanos del Subgénero Diploxylon. (a) Sp.1= *P. patula* var. *patula*; Sp. 2= *Pinus montezumae* var. *montezumae*; Sp.3= *Pinus pseudostrobus* var. *pseudostrobus*; Sp.4= *Pinus greggii* var. *australis*; Sp.5= *Pinus teocote*

Con la finalidad de conocer el efecto del tiempo en la capacidad de germinación de las semillas de las diferentes especies de pino, los resultados indicaron que a los 15 días únicamente *P. patula* var. *patula* se observó una diferencia significativa ( $P < 0.001$ ) y se demostró que hubo una influencia del tiempo sobre la germinación. En el caso de los 22 días las semillas mostraron baja viabilidad. no hay diferencia estadística ( $P > 0.05$ ) en el caso de *P. montezumae* var. *montezumae*, *P. pseudostrobus* var. *pseudostrobus*, *P. greggii* var. *australis* y *P. teocote* (Tabla 2).

Especie	t	P
<i>Pinus patula</i> var. <i>patula</i>	9.42954	0.0000808827
<i>Pinus montezumae</i> var. <i>montezumae</i>	-1.80579	0.120979
<i>Pinus pseudostrobus</i> var. <i>pseudostrobus</i>	-1.37533	0.21817
<i>Pinus greggii</i> var. <i>australis</i>	-0.128271	0.902126
<i>Pinus teocote</i>	0.0	1.0

**Tabla 2** Resultados de la Prueba de t para comparar medias de germinación por especie con los dos tiempos (15 y 22 días) después de tratamiento

## Discusión

Las especies de pinos seleccionadas en el estudio son elegibles para el establecimiento de áreas para la producción de semillas forestales en México de acuerdo con la convocatoria de la CONAFOR (2011).

Por otra parte, en el caso de *P. teocote*, a pesar de no ser apreciado como especie maderable, es una especie de amplia distribución en México y hospedero del hongo comestible ectomicorrícico del grupo de los “matsutakes” (*Tricholoma* cf. *magnivelare*) por ser un producto no maderable altamente cotizado en el mercado internacional donde se vende en 550 dólares por kg (Villarreal Ruiz 2011).

Arriaga *et al.* (1994) consideran relevante medir la capacidad germinativa media de las semillas es en especies de pinos porque es un buen indicador de la calidad del germoplasma.

## Conclusiones

Se concluye que el uso de la escarificación con cautín de estaño puede contribuir a reducir el tiempo de germinación e incrementar el porcentaje de germinación en las especies recalcitrantes de pino.

## Agradecimiento

A las autoridades del Ejido Peñuelas Pueblo Nuevo, Municipio de Chignahuapan, Puebla, México por permitirnos recolectar en sus bosques el germoplasma nativo de los pinos seleccionados. Al Banco de Germoplasma del Postgrado Forestal del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Edo. México por proveer la semilla *Pinus greggii* var. *australis*.

## Referencias

Arriaga, MV, Cervantes VG y Vargas-Mena A. 1994. Manual de reforestación con especies nativas: colecta y preservación de semillas, propagación y manejo de plantas. 1ª edición. Instituto Nacional de Ecología, SEDESOL, UNAM. México, D.F. 179 p.

Bastida Tapia A y DS Reyes Ramírez. 2016. Viaje de Estudios Integrador II. Propedéutico 1. Departamento de Preparatoria Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo.

- Bustamante-García V, Prieto-Ruíz JA, Carrillo-Parra A, Álvarez-Zagoya R., González-Rodríguez H y Corral-Rivas JJ. 2014. Seed production and quality of *Pinus durangensis* Mart., from seed areas and a seed stand in Durango, Mexico. *Pak. J. Bot.* 46(4): 1197-1202.
- Carrillo-Anzures F, Vera-Castillo G, Magaña-Torres OS, Guldin JM and Guries RP. 2009. Seeds stored in the forest floor in a natural stand of *Pinus montezumae* Lamb. *Rev. Ciencia Forestal en México.* 34 (106): 41-60.
- Dytham C. 2011. Choosing and using statistics: a biologist's guide. 3rd Edition. Blackwell Publishing. United Kingdom. 292 p.
- EducarEx. 2017. El Autoclave. [En línea] 2017. [Citado el: 10 de Febrero de 2017.] [https://www.educarex.es/pub/cont/com/0055/documentos/10\\_Informaci%C3%B3n/02\\_Fichas\\_generales/El\\_autoclave.pdf](https://www.educarex.es/pub/cont/com/0055/documentos/10_Informaci%C3%B3n/02_Fichas_generales/El_autoclave.pdf).
- Espitia M, Cardona C, Araméndiz H. 2016. Pruebas de germinación de semillas de forestales nativos de Córdoba, Colombia, en laboratorio y casa-malla. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* 19 (2): 307 –315
- Farjon A. 1996. Biodiversity of *Pinus* (Pinaceae) in Mexico: speciation and palaeo-endemism *Botanical Journal of the Linnean Society* 121: 365-384.
- Farjon, A., J. A. Pérez de la Rosa and T.B. Styles. 1997. Guía de campo de los pinos de México y América Central. Royal Botanic Gardens, Kew-University of Oxford. 151 p.
- Figuroa-Rangel BL, Willis KJ y Olvera-Vargas M. 2008. 4200 years of pine-dominated upland forest dynamics in west-central Mexico: human or natural legacy. *Ecology* 89 (7): 1893-1907.
- Gernandt DS y Pérez-de la Rosa JA. 2014. Biodiversidad de Pinophyta (coníferas) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad, Supl.* 85: S126-S133. DOI: 10.7550/rmb.32195.
- Jarstfer AG and Sylvia DM. 1993. Inoculum production and inoculation strategies for vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *In: Metting FB Jr (Ed.). 1992. Soil microbial ecology: Applications in agricultural and environmental management.* Marcel Dekker, New York. pp. 349-377.
- Larsen JA. 1925. Methods of stimulating germination of western white-pine seed. *Journal of Agricultural Research.* 31 (9): 889-899.
- Ledig TF y Kitzmiller JH. 1992. Genetic strategies for reforestation in the face of global climate change. *Forest Ecology and Management.* 50: 153-169.
- Maiti R. 1996. *Sorghum Science.* Science Publishers, Inc. USA. 352 p.
- Morales Martínez M. 2010. Estudio de cuenca de abasto para la región Chignahuapan-Zacatlán, Puebla. Asesores en manejo de recursos forestales S.C. Chignahuapan, Puebla. 215 p.
- Neri-Luna C, Villarreal-Ruiz L, Huerta-Martínez FM and Robles-Murguía Celia. 2017. Response of stomatal conductance and xylem sap abscisic acid concentration of *Sorghum bicolor* (L.) Moench cv. Tegemeo under re-watered and drought-stressed conditions. *ECORFAN Journal-Republic of Guatemala* 3-5: 21-32.
- Perry, Jr., J. P. 1991. *The pines of Mexico and Central America.* Timber Press, Portland. 231 p.
- Poulsen, K. M., y Stubsgaard, F. 2000. Tres métodos de escarificación de semillas de testa dura. *In: Técnicas para escarificación de semillas forestales.* Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica.
- Ramírez Herrera C., Villarreal-Ruiz L. 2011. Especies forestales. *In: Diversidad de los recursos genéticos. La biodiversidad en Puebla: estudio de Estado.* CONABIO, SMRN PUEBLA, BUAP, AECID.
- Rao N.K., J. Hanson, M.E. Dulloo, K. Ghosch, D. Nowell y Larinde M. 2007. Manual para manejo de semillas en bancos de germoplasma. *Manuales para Bancos de Germoplasma No. 8.* Biodiversity International, Roma, Italia. 165 p.
- Rodríguez-Trejo DA y Fulé PZ. 2003. Fire ecology of Mexican pines and a fire management proposal. *International Journal of Wildland Fire* 12(1) 23 – 37. <https://doi.org/10.1071/WF02040>.

Romero-Rangel S, Rubio-Licona LE, Chávez-Serrano L, Rojas-Zenteno EC y García-Pineda M. 2017. Comportamiento germinativo y crecimiento temprano de *Pinus devoniana* y *Pinus pseudostrobus* (Pinaceae). *Biología, Ciencia y Tecnología BIOCYT*, 10(39): 749-756.

Sánchez-González A. 2008. Una visión actual de la diversidad y distribución de los pinos de México. *Madera y Bosques* 14(1): 107-120.

Salinas Cruz E, González Guillén M, León Merino A, Rodríguez Hernández FR. 2017. La actividad forestal en el desarrollo económico de Chignahuapan, Puebla. *Región y Sociedad* 29 (69): 185-218.

Tapia-Aurelio, Bastida y G. Flores-Escobar. 2017. La silvicultura comunitaria y su aporte a la enseñanza. In: F. Pérez, E. Figueroa, R. García, L. Godínez (eds.) *Ciencias de la Biología, Agronomía y Economía. Handbook T-I.-©ECORFAN*, Texcoco de Mora, México.

Villarreal-Ruiz L. 2011. Diversidad microbiana: su estudio y aprovechamiento actual y potencial. In: *Diversidad de los recursos genéticos. La biodiversidad en Puebla: estudio de Estado*. CONABIO, SMRN PUEBLA, BUAP, AECID.

Villarreal-Ruiz L., Gil Muñoz A., Hernández Guzmán J. A., Herrera Cabrera B. E., Ramírez Herrera C., Taboada Gaytán O.R., Valadez Ramírez M., Vargas López S. 2011. Los recursos genéticos como componentes de la biodiversidad. In: *Diversidad de los recursos genéticos. La biodiversidad en Puebla: estudio de Estado*. CONABIO, SMRN PUEBLA, BUAP, AECID.

Wiersema JH y León B. 2016. *World economic plants: A standard reference (Second Edition)*. CRC Press, Boca Raton. 1300 p.

Xu Y, Cai N, He B, Zhang R, Zhao W, Mao J, Duan A, Li Y, Woeste K. 2016. Germination and early seedling growth of *Pinus densata* Mast. Provenances. *J. For. Res.* 27(2): 283–294. DOI 10.1007/s11676-015-0186-x