

LISÉTE CHAMMA DAVIDE

CARACTERÍSTICAS CROMOSSOMICAS, DA MADEIRA E DAS ACICULAS COMO UMA
CONTRIBUIÇÃO PARA A DEFINIÇÃO TAXONOMICA DO *Pinus* de Tecun Umán

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do Grau e Título de Doutor em Ciências Florestais

CURITIBA

1990

A meus pais, *Tufi e Herminia*,

A meus sogros, *Antônio e Elza*,

OFEREÇO

Ao *Cláudio*, meu marido,

A *Livia e Helena*, minhas filhas,

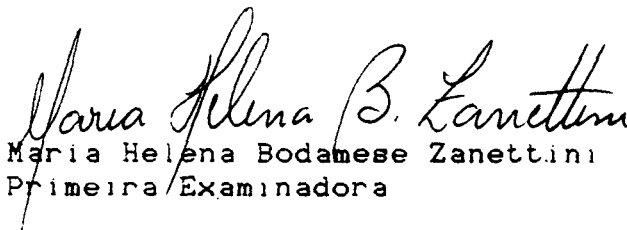
DEDICO

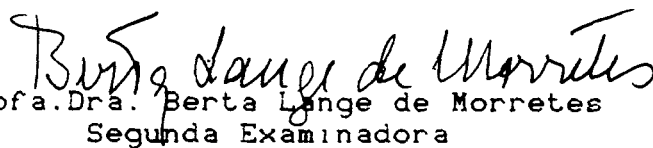
MINISTERIO DA EDUCACAO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANA
SETOR DE CIENCIAS AGRARIAS
COORDENACAO DO CURSO DE POS-GRADUACAO EM ENGENHARIA FLORESTAL

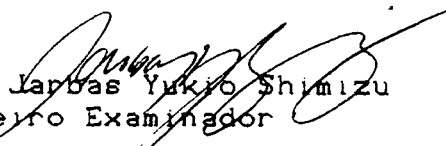
P A R E C E R

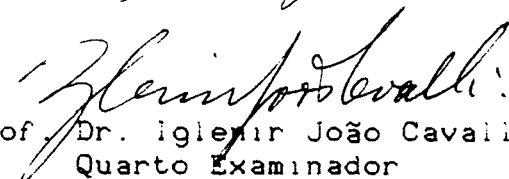
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal para realizar a arguição da Tese de Doutorado apresentada pela candidata **LISETE CHAMMA DAVIDE**, sob o título "**CARACTERISTICAS CROMOSSOMICAS, DA MADEIRA E DAS ACICULAS COMO UMA CONTRIBUICAO PARA A DEFINICAO TAXONOMICA DO PINUS DE TECUN UMAN,**" para obtenção do grau de Doutor em Ciências Florestais-Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná. Area de concentração: **SILVICULTURA**, após haver analisado o referido trabalho e arguido a candidata, são de parecer pela "**APROVACAO**" da Tese completando assim os requisitos necessários para receber o grau e o Diploma de **DOCTOR EM CIENCIAS FLORESTAIS**.

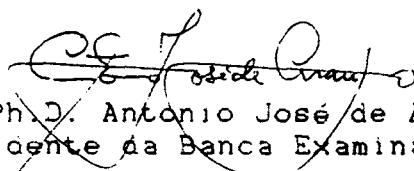
Curitiba, 12 de março 1990


Profa.Dra. Maria Helena Bodamese Zanettini
Primeira Examinadora


Profa.Dra. Berta Lange de Morretes
Segunda Examinadora


Prof.Ph.D. Jarbas Yukio Shimizu
Terceiro Examinador


Prof. Dr. Igleir João Cavalli
Quarto Examinador


Prof.Ph.D. Antonio José de Araujo
Presidente da Banca Examinadora



AGRADECIMENTOS

A Escola Superior de Agricultura de Lavras e a Universidade Federal do Paraná que tornaram possível minha participação no curso de pós-graduação.

Ao Prof. Dr. *Antônio José de Araújo*, pela orientação, amizade e incentivo constantes.

Ao Pesquisador da EMBRAPA/CNPF, Dr. *Jarbas Yukio Shimizu* e aos Professores da UFPR, Profa. Titular *Aracely Vidal Gomes* e Dr. *Iglenir João Cavalli* pelas sugestões e co-orientação durante a condução desta pesquisa.

A Freudenberg Agro Florestal Ltda & Cia. pelo fornecimento do material vegetal utilizado.

Ao Prof. *Antônio Cláudio Davide*, pelas sugestões, carinho e colaboração constantes.

A Profa. *Graciela I. B. de Muniz* pelas sugestões, colaboração e sobretudo amizade, durante o decorrer do curso.

Aos Professores *Magno Antônio Patto Ramalho*, *João Bosco dos Santos* e *Cesar Augusto Brasil Pereira Pinto* pela substituição nas disciplinas da ESAL, sugestões e colaboração.

Ao Pesquisador da EMBRAPA/CNPF *Edilson Batista de Oliveira*, Prof. *Pedro Castro Neto* da ESAL, Engenheiro Agrônomo *Cláudio Takeda*, Srta. *Terezinha de Lurdes Resende* e Srta. *Marta de Fátima Lima*, pelos trabalhos de computação.

Ao Prof. Dr. *Douglas Antonio de Carvalho* pelas sugestões e revisão do manuscrito.

Aos *Docentes* que participaram de minha formação profissional.

Aos *Discentes* da Universidade Federal do Paraná e da Escola Superior de Agricultura de Lavras pela atenção e colaboração prestadas durante o período de realização do curso.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA DA AUTORA

LISETE CHAMMA DAVIDE, nascida em 29 de junho de 1953, na cidade de Piracicaba (SP), graduou-se em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, no ano de 1975.

Em 1976, iniciou o Curso de Pós-Graduação a nível de mestrado, em Genética e Melhoramento de Plantas na Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, na área de concentração de Citogenética, que concluiu em 1979.

Em 1978, foi contratada pela Escola Superior de Agricultura de Lavras, no Departamento de Biologia, para exercer atividades de ensino, pesquisa e extensão.

Em 1986, iniciou o Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal da Universidade Federal do Paraná, na área de concentração de Silvicultura.

SUMARIO

<u>LISTA DE TABELAS</u>	ix
<u>LISTA DE FIGURAS</u>	xi
<u>RESUMO</u>	xiv
1 <u>INTRODUÇÃO</u>	1
2 <u>REVISÃO DA LITERATURA</u>	4
2.1 ASPECTOS TAXONOMICOS	4
2.2 DISTRIBUIÇÃO GEOGRAFICA	8
2.3 CITOGENETICA DO GENERO <i>PINUS</i>	10
2.4 ANATOMIA DA MADEIRA	14
2.5 MORFOLOGIA E ANATOMIA DE ACICULAS	19
3 <u>MATERIAIS E METODOS</u>	23
3.1 ESPECIMENS E LOCAL DE COLETA	23
3.2 METODOS	24
3.2.1 Citogenética	24
3.2.1.1 Análise morfológica dos cromossomas	25
3.2.2 Anatomia da Madeira	26
3.2.3 Morfologia e Anatomia de Aciculas	27
3.2.3.1 Morfologia de aciculas	29
3.2.3.2 Anatomia de aciculas	30
3.2.4 Preparo da Chave Analitica	32
3.2.5 Fotomicografias	32
3.2.6 Análise Estatística	32
4 <u>RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>	34

4.1	ESTRUTURA DOS CROMOSSOMAS	34
4.1.1	Cariotipo de <i>Pinus oocarpa</i>	34
4.1.2	Cariótipo de <i>Pinus patula</i>	40
4.1.3	Cariotipo de <i>Pinus</i> sp1	42
4.2	DESCRIÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DA MADEIRA..	43
4.2.1	<i>Pinus oocarpa</i> Schiede	43
4.2.2	<i>Pinus patula</i> Schiede & Deppe	49
4.2.3	<i>Pinus</i> sp1	52
4.2.4	<i>Pinus</i> sp2	56
4.3	DESCRIÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E ANATÔMICAS DE ACICULAS	61
4.3.1	<i>Pinus oocarpa</i> Schiede	61
4.3.2	<i>Pinus patula</i> Schiede & Deppe	65
4.3.3	<i>Pinus</i> sp1	68
4.3.4	<i>Pinus</i> sp2	71
4.4	VARIAÇÃO INTRAESPECÍFICA	74
4.5	VARIAÇÃO INTERESPECÍFICA	78
4.5.1	Chave Dicotômica para Identificação de <i>Pinus oocarpa</i> , <i>Pinus patula</i> , <i>Pinus</i> sp1 e <i>Pinus</i> sp2, Utilizando Carac terísticas de Madeira e Acículas	91
4.6	POSIÇÃO TAXONÔMICA DE <i>PINUS</i> SP1 E <i>PINUS</i> SP2	94
5	<u>CONCLUSÕES</u>	95
	<u>SUMMARY</u>	97
	<u>APÊNDICE</u>	98
	<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	103

LISTA DE TABELAS

TABELA

- 1 VALORES MEDIOS EM MICROMETROS DAS VARIÁVEIS CROMOSSOMICAS DE *P. oocarpa*, *P. patula* E *Pinus* sp1.- TRAÇOS VERTICAIS INDICAM OS LOCAIS DAS MAIORES DIFERENÇAS ENTRE COMPRIMENTO DE CROMOSSOMAS METACENTRICOS ADJACENTES; m REPRESENTA A PRESENÇA DE CONSTRIÇÃO SECUNDARIA MEDIANA. NAS LINHAS, AS MEDIAS DE CADA VARIÁVEL, SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE DE TUKEY AO NIVEL DE 5% 35

- 2 VALORES MEDIOS DERIVADOS DAS CARACTERISTICAS ENCONTRADAS NA TABELA 1 PARA *P. oocarpa*, *P. patula* E *Pinus* sp1. TRAÇOS HORIZONTAIS INDICAM O CROMOSSOMA QUE QUEBROU A ORDEM DECRESCENTE DOS VALORES DE RB E IC. NAS LINHAS, AS MEDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE DE TUKEY AO NIVEL DE 5% . 36

- 3 VALORES MEDIOS PARA CARACTERISTICAS DE ESTRUTURA DA MADEIRA DE *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus* sp1 E *Pinus* sp2. NAS LINHAS, AS MEDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE DE TUKEY AO NIVEL DE 5% 44

- 4 VALORES MEDIOS PARA CARACTERISTICAS DE ACICULAS DE *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus* sp1 E *Pinus* sp2. NAS LINHAS, AS MEDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE DE TUKEY AO NIVEL DE 5% 62

- A1 RESUMO DA ANALISE DE VARIANCIA PARA VARIÁVEIS CROMOSSOMICAS DE *P. oocarpa*, *P. patula* E *Pinus* sp1 99

- A2 RESUMO DA ANALISE DE VARIANCIA PARA COMPRIMENTO TOTAL DO LOTE HAPLOIDE (CTLH) DE *P. oocarpa*, *P. patula* E *Pinus* sp1 100

- A3 RESUMO DA ANALISE DE VARIANCIA PARA CARACTERISTICAS DA MADEIRA (TRAQUEOIDES AXIAIS) DE *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus* sp1 E *Pinus* sp2 100

A4	RESUMO DA ANALISE DE VARIANCIA PARA CARACTERISTICAS DA MADEIRA (RAIOS E TRAQUEOIDES RADIAIS) DE <i>P. oocarpa</i> , <i>P. patula</i> , <i>Pinus sp1</i> , <i>Pinus sp2</i>	101
A5	RESUMO DA ANALISE DE VARIANCIA PARA CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DE ACICULAS DE <i>P. oocarpa</i> , <i>P. patula</i> , <i>Pinus sp1</i> E <i>Pinus sp2</i>	101
A6	RESUMO DA ANALISE DE VARIANCIA PARA CARACTERISTICAS ANATOMICAS DE ACICULAS DE <i>P. oocarpa</i> , <i>P. patula</i> , <i>Pinus sp1</i> E <i>Pinus sp2</i>	102

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	PAG
1	A: FASCICULO MOSTRANDO BAINHA (SETA) E 5 ACICULAS (ac); B: CORTE LONGITUDINAL DE ACICULA (998X) DE <i>Pinus sp1</i> MOSTRANDO MARGEM SERRILHADA (SETA); C: CORTE TRANSVERSAL DE ACICULA (80X) MOSTRANDO FACE EXTERNA (ex), LATERAL DIREITA (ld), LATERAL ESQUERDA (le), HIPODERME (SETA), CANAIS RESINIFEROS (c), MESOFILO PPLICADO (m), TECIDO DE TRANSFUSAO (t) 28
2	METAFASES MITOTICAS. - A: <i>Pinus oocarpa</i> ; B: <i>Pinus patula</i> ; - C: <i>Pinus sp1</i> - (1950X) 37
3	CORTE TRANSVERSAL (A), RADIAL (B) E TANGENCIAL (C) DA MADEIRA DE <i>Pinus oocarpa</i> . - 250X 47
4	CORTE RADIAL DA MADEIRA DE <i>P. oocarpa</i> MOSTRANDO IDENTURAS NOS TRAQUEOIDES RADIAIS (SETA) 48
5	CORTE TRANSVERSAL (A), RADIAL (B) E TANGENCIAL (C) DA MADEIRA DE <i>Pinus patula</i> . - 250X 51
6	CORTE RADIAL (499X) DA MADEIRA DE <i>Pinus patula</i> MOSTRANDO IDENTURAS (i) NOS TRAQUEOIDES RADIAIS E A FORMA IRREGULAR DOS TRAQUEOIDES RADIAIS MARGINAIS (SETA) 52
7	CORTE TRANSVERSAL (A), RADIAL (B) E TRANGENCIAL (C) DA MADEIRA DE <i>Pinus sp1</i> . - 250X 55
8	CORTE RADIAL (998X) DA MADEIRA DE <i>Pinus sp1</i> , MOSTRANDO IDENTURAS NOS TRAQUEOIDES RADIAIS (SETA) 56
9	CORTE TRANSVERSAL (A), RADIAL (B) E TANGENCIAL (C) DA MADEIRA DE <i>Pinus sp2</i> . - 250X 59

- 10 CORTES RADIAIS DA MADEIRA DE *Pinus* sp2. A: IDENTURAS POUCO NUMEROSAS E POUCO PRONUNCIADAS (499X); B: TRAQUEOIDES AXIAIS MOSTRANDO PONTUAÇÕES UNISSERIADAS (u), BISSERIADAS OPOSTAS (o), ALTERNAS (a) E CRASSULAS (SETA) 60
- 11 *P. oocarpa*. CORTES TRANSVERSAIS DE ACICULA-A: SEÇÃO TRANSVERSAL TRIANGULAR (80X); B: ESTOMATO COM CELULAS SUBSIDIARIAS DE PAREDE ANTICLINAL ONDULADA (SETA) - 998X; C: HIPODERME COM LEVE INTRUSÃO (h), CELULAS ENDODERMICAS (e) COM PAREDE EXTERNA ESPESADA E TAMANHO IRREGULAR, CELULAS DE REFORÇO PRESENTES (SETAS) - 250X. CORTE LONGITUDINAL-D: CRISTAIS NAS CELULAS DO PARENQUIMA DE RAI0 DO FLOEMA (998X) 64
- 12 *P. patula*. CORTES TRANSVERSAIS DE ACICULA - A: SEÇÃO TRANSVERSAL TRIANGULAR (80X); B: ESTOMATO COM CELULAS SUBSIDIARIAS DE PAREDE ANTICLINAL LISA (SETA) - 998X; C: CELULAS ENDODERMICAS (e) COM PAREDE FINA E DE TAMANHO MAIS REGULAR, CELULAS DE REFORÇO AUSENTES (499X). CORTE LONGITUDINAL-D: CRISTAIS NAS CELULAS DO PARENQUIMA DE RAI0 DO FLOEMA (998X) 67
- 13 *Pinus* sp1. CORTES TRANSVERSAIS DE ACICULA - A: SEÇÃO TRANSVERSAL TRIANGULAR (80X); B: ESTOMATO COM CELULAS SUBSIDIARIAS DE PAREDE ANTICLINAL ONDULADA (SETA) - 998X; C: HIPODERME COM LEVE INTRUSÃO (h), CELULAS ENDODERMICAS (e) COM PAREDE EXTERNA ESPESADA E DE TAMANHO IRREGULAR, CELULAS DE REFORÇO PRESENTES (SETAS) - 250X. CORTE LONGITUDINAL - D: CRISTAIS NAS CELULAS DO PARENQUIMA DE RAI0 DO FLOEMA (998X) 70
- 14 *Pinus* sp2. CORTES TRANSVERSAIS DE ACICULA - A: SEÇÃO TRANSVERSAL TRIANGULAR (80X); B: ESTOMATO COM CELULAS SUBSIDIARIAS DE PAREDE ANTICLINAL ONDULADA (SETA) - 499X; C: CELULAS ENDODERMICAS (e) COM PAREDE EXTERNA ESPESADA E TAMANHO IRREGULAR; CELULAS DE REFORÇO AUSENTES (250X). CORTE LONGITUDINAL - D: CRISTAIS NAS CELULAS DO PARENQUIMA DE RAI0 DO FLOEMA (998X) 73

- 15 IDIOGRAMA DOS CROMOSSOMAS I A XII DE *P. oocarpa*, *P. patula* E *Pinus* sp1. AS FALHAS NOS BRAÇOS CROMOSSÔMICOS INDICAM A LOCALIZAÇÃO DAS CONSTRIÇÕES SECUNDARIAS. AUMENTO DE 3125X. B1 = BRAÇO MAIOR; B2 = BRAÇO MENOR 80
- 16 METAFASE MITOTICA DE *Pinus* sp1 MOSTRANDO CROMOSSOMAS APRESENTANDO BANDAS C CENTROMERICAS E TELOMERICAS. AUMENTO 1950X 83
- 17 COMPARAÇÃO DAS CARACTERISTICAS DOS TRAQUEOIDES AXIAIS ENTRE *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus* sp1 E *Pinus* sp2... 86
- 18 COMPARAÇÃO DAS CARACTERISTICAS DE RAIOS (DIAMETRO DAS PONTUAÇÕES AREOLADAS, NUMERO DE RAIOS, NUMERO DE FILEIRAS DOS TRAQUEOIDES RADIAIS, NUMERO DE FILEIRAS DE CELULAS PARENQUIMATICAS) ENTRE *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus* sp1 E *Pinus* sp2 87
- 19 COMPARAÇÃO DAS CARACTERISTICAS DE RAIOS (ALTURA, COMPRIMENTO DE CELULAS PARENQUIMATICAS, COMPRIMENTO DE TRAQUEOIDES RADIAIS, NUMERO DE IDENTURAS) ENTRE *P. oocarpa*, *Pinus patula*, *Pinus* sp1 E *Pinus* sp2 88
- 20 COMPARAÇÃO DAS CARACTERISTICAS DE ACICULAS ENTRE *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus* sp1 E *Pinus* sp2..... 89
- 21 COMPARAÇÃO DAS CARACTERISTICAS DE ACICULA (COMPRIMENTO DE ACICULA E BAINHA, NUMERO DE ESTOMATOS E DE CELULAS ENDODERMICAS) ENTRE *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus* sp1 E *Pinus* sp2 90

RESUMO

A estrutura dos cromossomas, madeira e acículas foram utilizadas com o objetivo de identificar fenótipos diferentes em povoamento de origem incerta de *P. oocarpa*, bem como fornecer subsídios para o esclarecimento da posição taxonômica do *Pinus* de Tecun Umán. Esse táxon é considerado uma espécie, *P. tecunumanii*, muito relacionada com *P. oocarpa*, por EGUILUZ & PERRYⁱⁱ e uma subespécie de *P. patula*, *P. patula* ssp. *tecunumanii*, por STYLES^{§§}.

As árvores fenotipicamente diferentes, encontradas no povoamento analisado de *P. oocarpa*, apresentaram padrão cariotípico e características de madeira e acículas muito próximas ao *P. oocarpa*, sendo portanto, consideradas como pertencentes ao mesmo táxon. Por apresentarem desempenho superior, recomenda-se que se estude a viabilidade destas variantes de *P. oocarpa* serem utilizadas para o desenvolvimento de uma raça local.

A procedência Yucul de *P. oocarpa*, considerada atualmente como o *Pinus* de Tecun Umán, mostrou-se mais relacionada com *P. patula* e deve ser considerada como *P. patula* subespécie *tecunumanii*, como sugeriu STYLES^{§§}.

1 INTRODUÇÃO

Entre as espécies florestais utilizadas para fins comerciais no Brasil, destacam-se as coníferas de origem tropical. *Pinus oocarpa* Schiede, especialmente pelo seu potencial de crescimento em solos de baixa fertilidade, é uma das mais importantes coníferas para diversas regiões sub-tropicais e tropicais de nosso País (KAGEYAMA et alii²⁴).

Os primeiros povoamentos de *P. oocarpa* foram implantados com sementes de origem incerta e grande variação tem sido encontrada. Essa variação é normalmente esperada uma vez que as espécies do gênero *Pinus* são alógamas. No entanto, as diferenças entre árvores de um povoamento não excluem a variação interespecífica que também pode estar presente.

Tanto é assim que, em Agudos, São Paulo, numa área de produção de semente de *P. oocarpa*, plantada em 1961, cuja origem não é bem definida, encontram-se algumas árvores fenotipicamente diferentes. Pelo seu bom desempenho e algumas características morfológicas, os técnicos da empresa vêem semelhanças nestas árvores com o *Pinus* de Tecun Umán. Essa espécie foi descrita pela primeira vez em 1953 por SCHWERTFEGER⁵¹, que lhe deu a denominação de *Pinus tecumumanii*. No entanto, esse binômio foi invalidado porque foi descrito em espanhol e não em latim de acordo com International Code of Botanical Nomenclature²⁰, e

também, porque o autor não designou um holótipo.

Por se tratar de um táxon com características excepcionais na região de origem (com mais de 50 m de altura, tronco reto, mais de 1,40 m de diâmetro, com copa compacta e poucos ramos finos e laterais) e cujas poucas populações estão sendo destruídas pelas atividades agrícolas, madeireiras e por ataque de pragas, tem sido objeto de estudo por parte de florestais e botânicos. Nos últimos anos, os trabalhos realizados com esta espécie têm procurado esclarecer a sua variação geográfica, bem como, incluí-la em testes internacionais de procedência em países tropicais e subtropicais.

As procedências deste táxon originadas do México são consideradas como *Pinus oocarpa* variedade *ochoterenai* Martinez por (MARTINEZ³³). As originadas da Guatemala, Honduras, El Salvador e Nicarágua, são identificadas como *P. tecunumanii* (Schw) Egüiluz & Perry (EGÜILUZ & PERRY¹¹). Ambas, *P. oocarpa* var. *ochoterenai* e *P. tecunumanii*, são classificadas por STYLES⁵⁵ como pertencentes ao mesmo táxon *Pinus patula* Schiede & Deppe subespécie *tecunumanii* (Egüiluz & Perry) Styles.

Os trabalhos realizados até o momento têm demonstrado a dificuldade em se distinguir este táxon através de suas características macroscópicas, sugerindo a necessidade da utilização de caracteres microscópicos, os quais têm sido de grande valor para a classificação taxonômica e, frequentemente, têm sido

necessários para a confirmação de identificações botânicas
(SAYLOR^{47, 48, 49, 50} ; PEDERICK⁴¹ ; MARTINEZ³³ ; PAZ PEREZ OLVERA &
OLVERA CORONEL⁴⁰ ; FERREIRA et alii¹⁵).

Este trabalho utiliza o estudo da estrutura dos cromosomas, madeira e acículas com o objetivo de indicar aquelas características que poderão ser úteis na diferenciação de fenótipos em povoamentos de origem não definida de *P. oocarpa* e fornecer subsídios para o esclarecimento da posição taxonômica do *Pinus* de Tecun Umán.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ASPECTOS TAXONOMICOS

MARTINEZ³³ classificou as espécies mexicanas do gênero *Pinus* baseado principalmente em caracteres de acículas, cones e sementes, caducidade ou persistência das bainhas dos fascículos e outros caracteres macro e microscópicos. Esse autor dividiu o gênero *Pinus* em 9 seções. *P. oocarpa* Schiede e *P. patula* Schiede & Deppe pertencem à seção Serotinos que engloba as espécies que se caracterizam por apresentarem cones que não abrem suas escamas a um só tempo. As plantas dessa seção são divididas em três grupos principais: a) oocarpa; b) patula; c) peninsulares. O grupo oocarpa compreende as espécies que apresentam cones simétricos, ovóides ou parcialmente ovóides e coloração ocre ou vermelho-marron. Esse grupo compreende *P. oocarpa* Schiede e suas variedades *microphylla*, *manzonoi*, *trifoliata* e *ochoterenai*. O grupo patula compreende *Pinus patula* Schiede & Deppe e sua variedade *longepedunculata*, *Pinus greggii* Engelm. e *P. pringlei* Shaw. Este grupo apresenta cones oblíquos, brilhantes, duros e muito persistentes.

De acordo com LITTLE & CRITCHFIELD²⁹, *P. oocarpa* e *P. patula* pertencem ao subgênero 3. *Pinus*, Seção 5. *Pinus* e Subseção 15. *Oocarpae*. A subseção *Oocarpae* compreende três espécies da Califórnia (*Pinus radiata* D. Don, *P. attenuata* Lemm. e

P. muricata D. Don) e quatro do México e América Central (*P. patula* Schiede & Deppe, *P. oocarpa* Schiede, *P. greggii* Engelm. e *P. pringlei* Shaw).

De acordo com STYLES⁵⁵, no final dos anos 40 a FAO requisitou a assistência do patologista florestal alemão Fritz Schwerdtfeger para investigar os danos causados pelo besouro da casca *Dendroctonus* (Scolytidae) nas florestas do gênero *Pinus* da Guatemala na América Central. Seus trabalhos sobre a biologia do inseto foram prejudicados porque ele não dispunha de informação sobre a extensão dessas florestas naturais ou sobre as espécies do gênero *Pinus* que elas continham. Ele foi forçado, portanto, a iniciar os trabalhos sobre a sistemática dos *Pinus* locais e identificou 9 taxa nativos da Guatemala, descrevendo uma espécie nova à qual deu o nome de *Pinus tecumumanii* em homenagem a Tecun Umán, o último líder dos Índios Quiché na Guatemala, que foi morto em 1524 por Pedro de Alvarado da Espanha durante a conquista do Istmo da América Central. No entanto, sua descrição não foi aceita pelos taxonomistas por não estar de acordo com a recomendação 29 do Código Internacional de Nomenclatura Botânica²⁰.

Apesar de botânicos e florestais que trabalham com as espécies de *Pinus* da América Central concordarem que este táxon pertence ao grupo dos cones fechados da Subsecção Oocarpae do Gênero *Pinus*, sua posição taxonômica atual e seu relacionamento dentro do grupo têm sido motivo de argumento de debate desde a

sua descoberta. Mesmo a ortografia do nome específico tem sido motivo de discussão e controvérsia.

AGUILAR¹ referiu-se ao *P. tecumumanii* como "a forma *P. oocarpa tecumumanii* (Schw.) f. n.", sem se referir ao tipo, local de coleta, ou à sua descrição em latim. STANLEY & STEYERMARK⁵² estudaram as Pinaceae da Flora da Guatemala e consideraram este táxon não mais que uma forma de *P. oocarpa* ou um híbrido entre *P. oocarpa* e *P. pseudostrobus*. AGUILAR² e MITTAK³⁶ sugeriram que se tratava de uma variedade de *P. oocarpa* (*P. oocarpa* var. *tecumumanii*) e novamente não obedeceram o Código de Nomenclatura Botânico.

EGUILUZ & PERRY¹¹, após numerosas observações no campo e em laboratório, com relação à morfologia e anatomia foliar e análises de terpenos, concluíram que o *Pinus* de Tecun Umán deveria receber a categoria específica e legitimaram o seu nome com uma ligeira mudança na ortografia do epíteto para *P. tecunumanii*. Os autores foram de opinião que a espécie é mais relacionada com o complexo de *P. oocarpa* do que com o de *P. patula* e que seu parentesco é mais estreito com *P. oocarpa* var. *ochoterenai* Mart. do que com a espécie típica.

STYLES⁵⁵, em seu trabalho sobre a identidade do *Pinus* de Tecun Umán, apresenta evidências de que este táxon representa populações da espécie *P. patula*, do sul do planalto mexicano e que se estende até a América Central. Segundo o autor, *P. patula*

é o nome que Schwerdtfeger deu as árvores quando as coletou pela primeira vez. A forma taxonômica proposta por STYLES é: *Pinus patula* Schiede & Deppe in Schlecht. e Cham., *Linnea* 6: 354 (1831) subespécie *tecunumanii* (Eguiluz & Perry) Styles. Tipo: Guatemala, Finca INAFOR, San Jeronimo, Baja Vera Paz. *Eguiluz* 2 (A - holótipo; F; NCSC; ENCB; VACH).

O interesse sobre o *Pinus* de Tecun Umán aumentou muito quando resultados de testes de procedência internacionais utilizando *P. oocarpa* como espécie principal, mostraram que as árvores de algumas procedências da América Central apresentavam crescimento e forma significativamente melhores e suas características assemelhavam-se muito ao *Pinus* de Schwerdtfeger.

BARNES & STYLES citam que as procedências de *P. oocarpa* do sul da Nicarágua têm excelente desempenho em diferentes sítios. Segundo esses autores, essas populações diferem morfológica e quimicamente com relação ao *P. oocarpa* típico uma vez que animais e insetos fazem distinção entre elas. Raízes de *P. oocarpa* são utilizadas como alimento por indígenas e porcos do mato enquanto que as árvores das populações do sul da Nicarágua não são utilizadas como alimento porque são fortemente atacadas pelo pulgão (*Cinara cronartii*), o que não acontece com o *P. oocarpa* típico.

A grande altura e a forma do tronco das árvores desse táxon têm atraído a atenção dos florestais e os povoamentos desta

espécie têm recentemente sido descritos como das mais impressionantes florestas do gênero *Pinus* (BARNES & STYLES³).

No Brasil, exemplares fenotipicamente semelhantes ao *Pinus* de Tecun Umán podem ser encontrados em testes de procedência de *P. oocarpa* coordenados pelo CFI (Commonwealth Forestry Institute) e pelo CAMCORE (Central America and Mexico Coniferous Resources Cooperative). Resultados preliminares têm demonstrado que as procedências consideradas atualmente como pertencentes ao *Pinus* de Tecun Umán têm desempenho superior ao *P. oocarpa* em nosso país (DVORAK⁹ ; NICOLIELO³⁹ , WRIGHT et alii⁶¹).

2.2 DISTRIBUIÇÃO GEOGRAFICA

Pinus oocarpa tem uma ampla ocorrência natural. Segundo KEMP²⁶, ele é encontrado no México, Belize, Guatemala, Honduras e Nicarágua, em altitudes variando geralmente entre 200 a 700 metros, em regiões com estações secas, às vezes severas. Em muitas áreas, onde a espécie ocorre naturalmente, há um período contínuo de até 6 meses com médias de precipitação mensal inferiores a 50 mm.

De acordo com MARTINEZ³³ e BARRETT⁴, *P. patula* é encontrada nos estados mexicanos de Querétaro, Hidalgo, México, Puebla e Veracruz, em lugares montanhosos úmidos, em altitudes variando de 1730 a 3000 m.

A distribuição natural do *Pinus* de Tecun Umán é descrita por EGUILUZ & PERRY¹¹ como sendo principalmente nas montanhas centrais da Guatemala, mas estendem sua área até El Salvador, Honduras e Chiapas (México), em altitudes que variam desde 1500 a 2600 m. Seu habitat é mais restrito às montanhas subtropicais que recebem 1800 a 2400 mm de precipitação anual, chovendo principalmente entre maio e outubro, por um período de 150 dias ao ano. A temperatura média anual é de 14 °C, com a média das mínimas de 10 °C e das máximas de 18 °C. Essa espécie ocorre em grande variedade de solos, desde os vermelhos argilosos até os solos profundos de origem vulcânica, os quais são ácidos, com pH de 4,5 a 5,5. Os melhores povoamentos foram encontrados em solos mais férteis e bem drenados, no entanto, fenótipos de qualidade superior foram encontrados em solos argilosos e pobres em matéria orgânica.

Já, segundo STYLES⁵⁶, o *Pinus* de Tecun Umán tem grande distribuição natural mas muito dispersa. Sua distribuição é separada no México e América Central. Poucos e pequenos povoamentos ocorrem em Oaxaca e Chiapas (México) mas as melhores árvores são observadas em florestas monoespecíficas da Guatemala, Honduras e Nicarágua. Sua distribuição quanto à altitude é muito grande, ocorrendo a 550 m de altitude na parte sul de sua distribuição mas podendo ser encontrado crescendo em altitudes superiores a 2700 m na Guatemala.

2.3 CITOGENETICA DO GÊNERO *Pinus*

A contribuição da citogenética para os problemas taxonômicos se reveste da maior importância uma vez que as transformações evolutivas envolvem os cromossomas de diversas maneiras. O material genético pode sofrer mutações gênicas ou podem ocorrer rearranjos estruturais e numéricos nos cromossomas, que podem conduzir a variações cariotípicas aparentes, tornando possível a diferenciação entre taxa.

Na determinação do relacionamento dentro de grupos naturais de uma espécie, os dados citotaxonômicos reforçam as conclusões baseadas em critérios morfológicos.

Em muitos grupos de plantas, o cariótipo pode ser usado como um caráter específico definitivo, como ocorre no gênero *Crepis* com espécies contendo 3, 4, 5, 6, 7 ou 11 cromossomas (BABCOCK (1947)^{*}, citado por PEDERICK⁴¹). Ao contrário, em outros gêneros como os da família Liliaceae e nas espécies de *Tradescantia* da América do Norte, o mesmo cariótipo é representativo de um grupo de espécies (SWANSON⁵⁸). Os gêneros de coníferas estão incluídos nesta categoria.

No gênero *Pinus*, os trabalhos realizados sobre variação cariotípica enfatizam a uniformidade dos cromossomas nos cariótipos, bem como as semelhanças dos cariótipos das diferentes espécies.

* BABCOCK, E.B. The genus *Crepis*. I. Univ. California Publ. Bot., 21, 1947.

cies. SAX & SAX⁴⁶ forneceram as primeiras informações sobre esse gênero e concluíram que o cariótipo de muitas espécies de *Pinus* compreende $n = 12$ cromossomas, sendo que onze são metacêntricos e tão semelhantes quanto ao comprimento que é difícil distingui-los. Somente o décimo segundo é menor e submetacêntrico, podendo ser facilmente reconhecido. Ao analisar a meiose de híbridos, SAX⁴⁵ encontrou evidência adicional de morfologia cromossômica similar e compatibilidade genética entre espécies. O comportamento meiótico dos híbridos F1 foi próximo ao típico para a espécie, o que o levou a considerar como uma indicação de que mudanças estruturais nos cromossomas não representavam papel importante como um mecanismo de isolamento na especiação do gênero *Pinus*.

Apesar dos resultados de outros autores tenderem a confirmar o padrão geral cariotípico apresentado por SAX & SAX, indicações de possíveis diferenças cariotípicas também são encontradas na literatura. Ao estudar citologicamente as coníferas MEHRA & KHOSHOO (1956), citado por SAYLOR⁴⁷, criticamente examinaram o cariótipo de várias espécies de *Pinus*. Os autores descreveram oito constrições secundárias no complemento diplóide de uma espécie. SANTAMOUR⁴³, listou novas contagens de cromossomas em *Pinus* e *Picea* e também observou uma proeminente constrição secundária em *Pinus parviflora*.

* MEHRA, P.N. & KHOSHOO, T.N. Cytology of conifers I. Jour. Genetics, 54(1):165-180, 1956.

AASS (1957), citado por SAYLOR⁴⁷ examinou o cariótipo de 24 árvores morfologicamente atípicas de *Pinus sylvestris*, com o objetivo de determinar a existência de correlação entre os desvios morfológicos e poliploidia ou outras irregularidades citológicas. Apesar de não encontrar anormalidades citológicas, descreveu a ocorrência de constrições secundárias e de 2 pares de cromossomas menores que os demais.

Em estudo que incluiu o exame de material meiótico e mitótico de três árvores presumivelmente híbridas naturais entre *P. sylvestris* e *P. nigra*, VIDAKOVIC⁶⁰ apresentou evidências de variação cariotípica. Os cromossomas somáticos das supostas espécies parentais, bem como dos supostos híbridos, foram estudados quanto ao tamanho, para determinar diferenças no comprimento entre os cromossomas menores e maiores. Os resultados indicaram que esta diferença no tamanho dos cromossomas foi maior em *P. sylvestris* que em *P. nigra*, enquanto que as 3 árvores sob suspeita foram intermediárias entre os tipos parentais.

SAYLOR⁴⁸ estudou o grupo Lariciones (de acordo com a classificação de Shaw, 1914) e verificou que, em todas as espécies, o décimo primeiro cromossoma poderia ser diferenciado por apresentar centrômero sub-mediano, provavelmente originado de uma inversão pericêntrica, sendo portanto, diferente em relação a

* AASS, I. A cytological analysis of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) from Skjak, Norway, Meddel. Det. norske Skogforsoloesen, 14:96-109, 1957.

todas as outras espécies do grupo *Diploxylon*.

A ocorrência de constricções secundárias tem auxiliado a identificação de cromossomas individuais. Este marcador citológico tem sido encontrado em várias espécies de coníferas. NATARAJAN et alii³⁸, em estudo detalhado do cariótipo de *P. sylvestris* apresentou em seu idiograma, dois pares de cromossomas heterobraquiais, e constricção secundária em cinco pares de cromossomas.

FEDERICK⁴¹ encontrou diferenças interespecíficas em uma análise detalhada do cariótipo, baseada no tamanho e localização de constricções secundárias. O autor utilizou preparações do tecido do gametófito feminino, haplóide, e estudou os cromossomas na prometáfase mitótica. Nesta fase, como os cromossomas são mais longos que na metáfase, mostram grande número de constricções secundárias de tamanho variável. O autor observou que diferenças pequenas mas significantes no comprimento dos braços em cromossomas correspondentes de certas espécies de *Pinus* podem ser atribuídas à acumulação gradual de duplicações.

Variação cariotípica foi também encontrada entre procedências de *Pinus nigra*. KAYA et alii²⁵, através de análise de variância registraram diferenças significativas entre procedências de *P. Nigra* da França, Turquia, Iugoslávia, Grécia e duas localidades da Austria. Foram observadas variações quanto ao comprimento dos braços maiores e menores, comprimento total, relação de braços, índice centromérico e índice morfológico. Pela

integração das variáveis medidas, KAYA et alii²⁵ realizaram uma análise de grupo entre as fontes de sementes e constataram que as sementes procedentes da França e Austria formam um grupo, bem como as da Grécia e Iugoslávia. A procedência da Turquia, entretanto, formou um grupo isolado.

Nota-se, portanto, que quando o cariótipo das espécies do gênero *Pinus* é analisado somente quanto ao comprimento do cromossoma e relação de braços, a tendência dos autores é a de enfatizar a homogeneidade do complemento cromossômico. Realmente, a principal fonte de mudanças evolucionárias neste gênero foi provavelmente a mutação gênica. No entanto, quando KAYA et alii²⁵ e PEDERICK⁴¹ fizeram análises cromossômicas mais detalhadas, encontraram variação significativa tanto inter como intraespecífica. Portanto, o estudo detalhado da estrutura cromossômica em *Pinus* pode oferecer critérios úteis na determinação do relacionamento entre espécies.

2.4 ANATOMIA DA MADEIRA

O xilema secundário das coníferas tem estrutura relativamente simples. Um dos caracteres mais importantes é a ausência de vasos. Os elementos traqueoidais são imperfurados e constituem a maior parte da madeira de coníferas. Fibrotraqueóides podem ocorrer no lenho tardio. Nas Pinaceae, os traqueóides normalmente

apresentam pontuações areoladas uni - ou bisseriadas alternas ou opostas. No gênero *Pinus*, o parênquima axial é restrito àquele associado aos canais resiníferos, os quais ocorrem nos sistemas axial e radial. Os raios são em geral unisseriados. A presença de canais resiníferos faz com que alguns raios apareçam multisseriados (raios fusiformes). Os raios são constituídos de células parenquimáticas e de traqueóides radiais. As pontuações entre as células do parênquima radial e os traqueóides axiais são típicas para as espécies e podem ser utilizadas para fins de classificação e de estudos filogenéticos dos lenhos de coníferas (ESAU¹³).

Apesar da madeira relativamente simples do gênero *Pinus*,⁶² diferenças estruturais podem ser observadas. ZOBEL⁶² analisou a variação no comprimento dos traqueóides de algumas espécies de *Pinus* mexicanos e verificou que eles têm uma variação na estrutura da madeira entre árvores, entre povoamentos, entre sítios dentro da espécie e entre espécies. O autor enfatiza, no entanto, que as comparações são válidas quando se consideram as diferenças de idade e condições de crescimento das árvores comparadas. Neste trabalho, a média geral para comprimento de traqueóides, analisados em segmentos correspondentes a 10 anos de desenvolvimento da madeira (0-10 , 11 - 20 , 21 - 30 e 31 - 40 anéis de crescimento) à altura do DAP foi de 4,35 mm e 4,07 mm para *P. oocarpa* e *P. patula*, respectivamente.

De um modo geral, a variação entre árvores é grande, mas

alguns trabalhos mostram também variação entre espécies. COLE et alii (1966), citado por KOCH²⁸, verificaram que entre quatro espécies (*P. elliotii*, *P. taeda*, *P. palustris* e *P. ponderosa*), com idade entre 16 e 21 anos, no mesmo sítio, foi possível observar diferenças estatisticamente significantes que permitiram diferenciar *P. palustris* dos demais.

Em estudo envolvendo 16 espécies de coníferas, entre elas *P. oocarpa* var. *ochoterenai* e *P. patula*, PAZ PEREZ OLVERA & OLVERA CORONEL⁴⁰ encontraram diferenças entre espécies quanto às características anatômicas. *P. oocarpa* var. *ochoterenai* apresentou traqueóides longos com valor mínimo, média e valor máximo iguais a 3,53 mm - 5,31 mm - 6,92 mm, com diâmetro tangencial largo no lenho inicial (25-35-49 um) e *P. patula*, apresentou traqueóides curtos (1,13-2,03-2,80 mm) e diâmetro tangencial médio no lenho inicial (21-29-42 um).

FERREIRA et alii¹⁵ não observaram diferenças entre o comprimento dos traqueóides de *P. oocarpa* e *P. patula*, os quais na idade de seis anos apresentaram comprimento médio para as fibras. No entanto, *P. khasya* e *P. elliotii* apresentaram traqueóides curtos e longos, respectivamente. Quanto ao diâmetro dos traqueóides os autores observaram diferenças entre *P. elliotii* e as demais espécies de coníferas estudadas. *P. elliotii* apresen-

* COLE, D.E.; ZOBEL, B.J. & ROBERDS, J.H. Slash, loblolly, and longleaf pine in a mixed natural stand; a comparison of their wood properties, pulp yields, and paper properties. TAPPI, 49:161-166, 1966.

tou diâmetro de traqueóide médio, enquanto as demais apresentaram diâmetro de traqueóide largo.

O comprimento dos traqueóides varia muito entre árvores de uma espécie. Esta variação parece correlacionar-se positivamente com a idade da árvore (KOCH²⁸ ; ZOBEL et alii⁶³). MANWILLER^{*} (1966), citado por KOCH²⁸, observou que, em *Picea abies*, o comprimento de traqueóides aumenta progressivamente de 3,24 mm para árvores de 15 anos até 4,60 mm em árvores de 45 anos. Ele verificou, também, que árvores de mesma espécie e idade, com ritmo de crescimento diferente, apresentam diferenças quanto ao comprimento dos traqueóides. Árvores de crescimento rápido tem traqueóides mais longos.

JURBERGS²³ observou que em 15 árvores de *P. elliotii* o comprimento médio dos traqueóides no oitavo e nono anéis de crescimento (DAP) varia de 2,0 mm em uma árvore a 4,1 mm em outra.

Características anatômicas do *Pinus* de Tecun Umán foram estudadas, até o momento, em dois trabalhos. EGUILUZ & ZOBEL¹² estudaram a variação geográfica das propriedades da madeira de *P. tecunumanii* e verificaram que, com exceção do comprimento dos traqueóides, todas as características celulares medidas (espessura da parede celular, diâmetro do lúmen e diâmetro do traqueóide) mostraram grandes diferenças estatísticas entre lo-

* MANWILLER, F.G. southern pine cell walls and shrinkage. South Lumberman, 213 (2656):184-186, 1966.

cais e entre árvores. As medições foram feitas no décimo quinto e trigésimo anéis de crescimento para dois locais de coleta.

No boletim técnico do Instituto Nicaraguense de Recursos Naturais e do Ambiente (IRENA)²¹, foi feita a descrição das características anatômicas e das propriedades físico-químicas de *Pinus patula* subsp. *tecunumanii*. Nesse trabalho, o comprimento médio dos traqueóides foi de 5,10 mm (muito longos) enquanto que no trabalho anterior, a média geral para comprimento de traqueóides para os dois locais foi de 4,5 mm (longos). O diâmetro do lúmen e a espessura da parede dos traqueóides foram medidos nos dois trabalhos citados acima, no entanto, no trabalho do IRENA as medições foram feitas separadamente no lenho inicial e lenho tardio e no primeiro trabalho não, o que invalida a comparação entre essas características.

Tendo as coníferas uma estrutura simples e pouco variável, sua identificação é mais difícil do que a das folhosas. Portanto, pequenos caracteres estruturais são, muitas vezes, de grande importância para sua distinção. Nota-se, no entanto, que a literatura existente é escassa e que as características utilizadas são principalmente as medições de traqueóides axiais, deixando de lado outros tipos de células e detalhes que poderiam contribuir muito na identificação de madeiras e diferenciação de identidades taxonômicas.

2.5 MORFOLOGIA E ANATOMIA DE ACICULAS

A ampla distribuição do gênero *Pinus* e sua considerável importância econômica têm levado ao estudo de muitos aspectos de sua morfologia e anatomia foliar. A classificação e a identificação de muitas espécies de *Pinus* é baseada em características foliares (DURRELL⁸ ; HOSIE¹⁹ ; MARTINEZ³³).

A anatomia foliar de muitas espécies de *Pinus* tem sido investigada também em estudos de taxonomia e de variação genética em espécies e/ou populações nativas e implantadas (EGUILUZ¹⁰ ; KENG & LITTLE²⁷ ; MANCILLA E TOMAZELLO³¹ ; SALAZAR⁴² ; STYLES⁵⁴ ; STYLES et alii⁵⁷ ; VELAZQUEZ & PATINO VALERA⁵⁹). As alterações na estrutura normal das acículas, decorrentes da ação de agentes poluentes (EVANS & MILLER¹⁴ ; STEWART et alii⁵³) e de agentes patogênicos (HOFF & MC DONALD¹⁸) também têm sido estudadas através de técnicas histológicas.

De acordo com MARTINEZ³³ , no gênero *Pinus* o número de acículas nos fascículos varia segundo as espécies, podendo ser afetado pelas condições ambientais. As cifras mais comuns são de 3 a 5 e o comprimento varia desde meio centímetro até 40 cm ou mais. As margens das acículas são serrilhadas, isto é, as células epidérmicas apresentam "dentes" muito pequenos, muito próximos ou espaçados (Figura 1B). Em algumas espécies como *P. cembroides* e *P. quadrifolia*, as margens são lisas. Os estômatos encontram-se

em todas as faces das acículas, no entanto, em *P. ayacahuite*, estão presentes somente nas faces adaxiais. O número e a posição dos estômatos podem ajudar na identificação de espécies, apesar de ESAU¹³ afirmar que a característica mais frequentemente utilizada é o aspecto dos estômatos em vista frontal. A hipoderme (Figura 1C) pode ser constituída por camadas de células com espessura igual em toda sua extensão (*P. patula*) ou apresentar intrusões profundas no clorênquima (*P. douglasiana*). No clorênquima, formado de células parenquimáticas com invaginações (mesófilo plicado), aparecem os canais resiníferos em número variável, cujas posições (externa, média, interna ou septada) têm menor variação e podem ser tomadas como elemento sistemático (Figura 1C). Para dentro do clorênquima é encontrada a endoderme constituída de uma camada de células, limitando o cilindro central (Figura 11C). Estas células podem ter parede uniformemente delgada (*P. patula*) ou apresentar o lado externo espessado, podendo caracterizar algumas espécies. No cilindro central, os feixes vasculares são cercados por células parenquimáticas irregulares (tecido de transfusão), observando-se às vezes células adicionais, com paredes lignificadas denominadas células de reforço (Figura 11C). Os feixes vasculares podem apresentar-se em número de um (Haploxyton) ou dois (Diploxyton). Os fascículos de acículas são envolvidos em sua base por bainhas (constituídas por escamas), cujo comprimento e persistência também ajudam na iden-

tificação de entidades taxonômicas (Figura 1A).

O número e o comprimento de acículas no fascículo e o número e posição de canais resiníferos observados nas seções transversais das acículas são as características normalmente mais utilizadas como objeto de estudo. BARRETT verificou que em amostras de *P. patula* de diversas procedências, houve predominância de 3 acículas por fascículo e que nas procedências de menor latitude, apesar dessa predominância, ocorreu uma maior proporção relativa de fascículos com 4 e 5 acículas. Quanto aos canais resiníferos, os resultados indicaram que a espécie tem em geral 1 a 4 canais por acícula, predominando 3, com posição média, ainda que ocasionalmente tenham sido encontrados 1 ou 2 canais internos. Estes resultados estão de acordo com aqueles obtidos por MARTINEZ¹¹ e MANCILLA & TOMAZELLO¹¹ para a espécie.

O número de acículas por fascículo de *P. oocarpa* é predominantemente 5, as vezes 3 ou 4, comumente com 22 a 25 cm de comprimento. Os canais resiníferos são na grande maioria septais, geralmente em número de 5 a 8 (MARTINEZ¹¹).

EGUILUZ¹⁰, estudando a variação geográfica de *P. tecunumanii*, verificou que neste táxon é comum a presença de 4 acículas por fascículo com comprimento médio de 17,5 cm. O número médio foi de 3,4 canais resiníferos de posição predominantemente média. Neste trabalho o autor avaliou também outras características como número de estômatos e de fileiras de estômatos, número

de dentes nas margens das acículas, número de células esclerenquimáticas que cercam os canais resiníferos, número de células endodérmicas, número de camadas de células que formam a hipoderme, bem como, características de cone. Houve diferença estatística entre regiões e entre árvores dentro das regiões. Dois terços da variação foram atribuídos a diferenças entre árvores e o restante ficou dividido entre diferenças regionais e erro de amostragem.

55

Segundo STYLES⁵⁵, *Pinus patula* ssp *tecunumanii* apresenta normalmente 4 acículas por fascículo, envolvidas por bainhas finas e lisas. Encontram-se, também, fascículos com 3 e 5 acículas normalmente muito finas, pendulares ou estendidas. Os canais resiníferos aparecem em número de 2 ou 3, normalmente médios, o que, segundo o autor, torna este táxon semelhante ao *P. patula*. Estes dados aproximam-se daqueles obtidos por MARTINEZ³³ para a variedade *ochoterenai* de *P. oocarpa*, a qual STYLES sugere tratar-se do *Pinus* de Tecun Umán.

3 MATERIAIS E METODOS

3.1 ESPECIMENS E LOCAL DE COLETA

O material utilizado no presente estudo foi coletado em povoamentos implantados pela Freudenberg Agro Florestal Ltda. & Cia., na região de Agudos, São Paulo, Brasil.

Devido às diferentes interpretações quanto à posição taxonômica das procedências estudadas, optou-se pela denominação seguinte:

a) *Pinus oocarpa* Schiede, plantado em fevereiro de 1961, com origem provável da América Central, sendo que os locais de origem não são precisos porque a companhia não apresenta arquivos dos seus primeiros plantios;

b) *Pinus patula* Schiede & Deppe, de procedência da África do Sul, cujo plantio foi realizado em fevereiro de 1960;

c) *Pinus sp1*, árvores pertencentes ao povoamento de *Pinus oocarpa*, mas que se apresentam fenotipicamente diferentes, sendo que os técnicos da Companhia acreditam na possibilidade deste material tratar-se do *Pinus* de Tecun Umán;

d) *Pinus sp2*, plantado em maio de 1975 originário da Nicarágua, recebido como *P. oocarpa* procedência de YUCUL, que atualmente é considerado pelos florestais como sendo o *Pinus* de Tecun Umán.

Para cada espécime foram confeccionadas exsicatas de material botânico as quais foram incorporadas ao herbário do Departamento de Silvicultura e Manejo do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (EFC), cujos números de registro vão de 2124 a 2135.

3.2 METODOS

3.2.1 Citogenética

A análise dos cromossomas foi feita em meristemas de radículas de sementes germinadas de quatro árvores de *Pinus oocarpa*, *Pinus patula* e *Pinus* sp1. Não houve produção de sementes de *Pinus* sp2 durante o período de desenvolvimento deste trabalho.

Pontas de raízes de aproximadamente 5 mm de comprimento foram pré-tratadas com solução aquosa de colchicina a 0,05%, a 12 C durante 24 horas; colocadas em água deionizada por 1h e 30 minutos e fixadas em solução de álcool etílico p.a. - ácido acético p.a. (3:1) por 4 a 24 h.

Para a coloração empregou-se a técnica sugerida por GUERRA¹⁷, modificada. Após a fixação, as raízes passaram por três banhos de dez minutos em água deionizada, 10 minutos em ácido clorídrico 1 N a 60 C, banho rápido em água deionizada, nova água deionizada (máximo de 2 horas) e esmagamento em ácido

acético 45%. A laminula foi retirada pelo método do gelo-seco. A lâmina foi seca ao ar e corada com Giemsa 2% por 3 a 5 minutos e montada em Entellan.

3.2.1.1 Análise morfológica dos cromossomas

Para cada uma das três espécies analisadas foram selecionadas 80 metáfases, sendo 20 de cada árvore, as quais foram desenhadas e fotografadas. As medições foram feitas diretamente em fotografias ampliadas 2500X, com o auxílio de um analisador de imagens, tipo Videoplan da Kontron, o qual facilitou as medições dos cromossomas encurvados.

A medida do comprimento dos braços dos cromossomas foi feita a partir do centrômero até as extremidades. Portanto, o comprimento do cromossoma não inclui a constrição primária, embora as constrições secundárias estejam incluídas. Os braços maiores e menores de cada cromossoma foram denominados, respectivamente, de braços B1 e B2. As constrições secundárias foram designadas de acordo com a sua distância a partir do centrômero como uma porcentagem do comprimento do braço em proximal, mediana e distal.

As variáveis analisadas foram:

- a) comprimento do braço maior (B1);
- b) comprimento do braço menor (B2);

- c) comprimento total do cromossoma 1: $CT = B_1 + B_2$;
- d) presença de constrição secundária nos braços menor e maior (CB1 e CB2);
- e) relação de braços (SAYLOR⁴⁷): $RB = \frac{B_2}{B_1}$;
- f) comprimento total do lote haplóide: $CTLH = CT_1$;
- g) comprimento relativo do cromossoma 1: $CR = \frac{CT_1}{CTLH} \times 100$;
- h) índice morfológico: $IM = \frac{B_2}{B_1} \times CT_1$;
- i) índice centromérico: $IC = \frac{B_2}{CT_1} \times 100$.

O complemento haplóide foi numerado em ordem decrescente de I a XII. Portanto, os dados cariotípicos de cada célula foram analisados para cada um dos 12 cromossomas haplóides, exceto o comprimento total do lote haplóide que envolveu todos os cromossomas.

3.2.2 Anatomia da Madeira

As amostras de madeira, retiradas logo abaixo da casca, foram obtidas a partir de discos de árvores derrubadas ou por meio da sonda de Pressler ao nível do DAP (1,30 m do solo) a partir de 4 árvores adultas por espécie, conforme recomendações preconizadas pela norma COPANT 30:1-019.

Para o estudo do xilema secundario, os blocos de madeira foram amolecidos por meio de cozimento e cortados em micrótomo de deslizamento com espessura entre 18 e 20 micrômetros. Foram feitos cortes nos três planos anatômicos, isto é, cortes transversais, longitudinais radiais e tangenciais. A coloração dos cortes foi feita com corantes específicos (Saframina e Azul de Astra). Após coloração, os cortes foram submetidos à desidratação, para posterior montagem permanente das lâminas com Entellan.

Para a mensuração dos traqueóides constituintes da madeira foi realizada a maceração para a dissociação dos elementos celulares, através do método de Jeffrey (FREUND¹⁶).

As medições e descrições anatômicas foram feitas seguindo-se as recomendações da Norma COPANT 30:1-019⁷, com modificações (MUNIZ³⁷). Os resultados da maioria das medições foram expressos na forma de valor mínimo, médio e valor máximo.

3.2.3 Morfologia e Anatomia de Acículas

As amostras de acículas foram coletadas da parte inferior da copa das mesmas árvores nas quais se fez a coleta da madeira. A figura 1 apresenta um fascículo, um corte transversal e parte de um corte longitudinal de acícula.

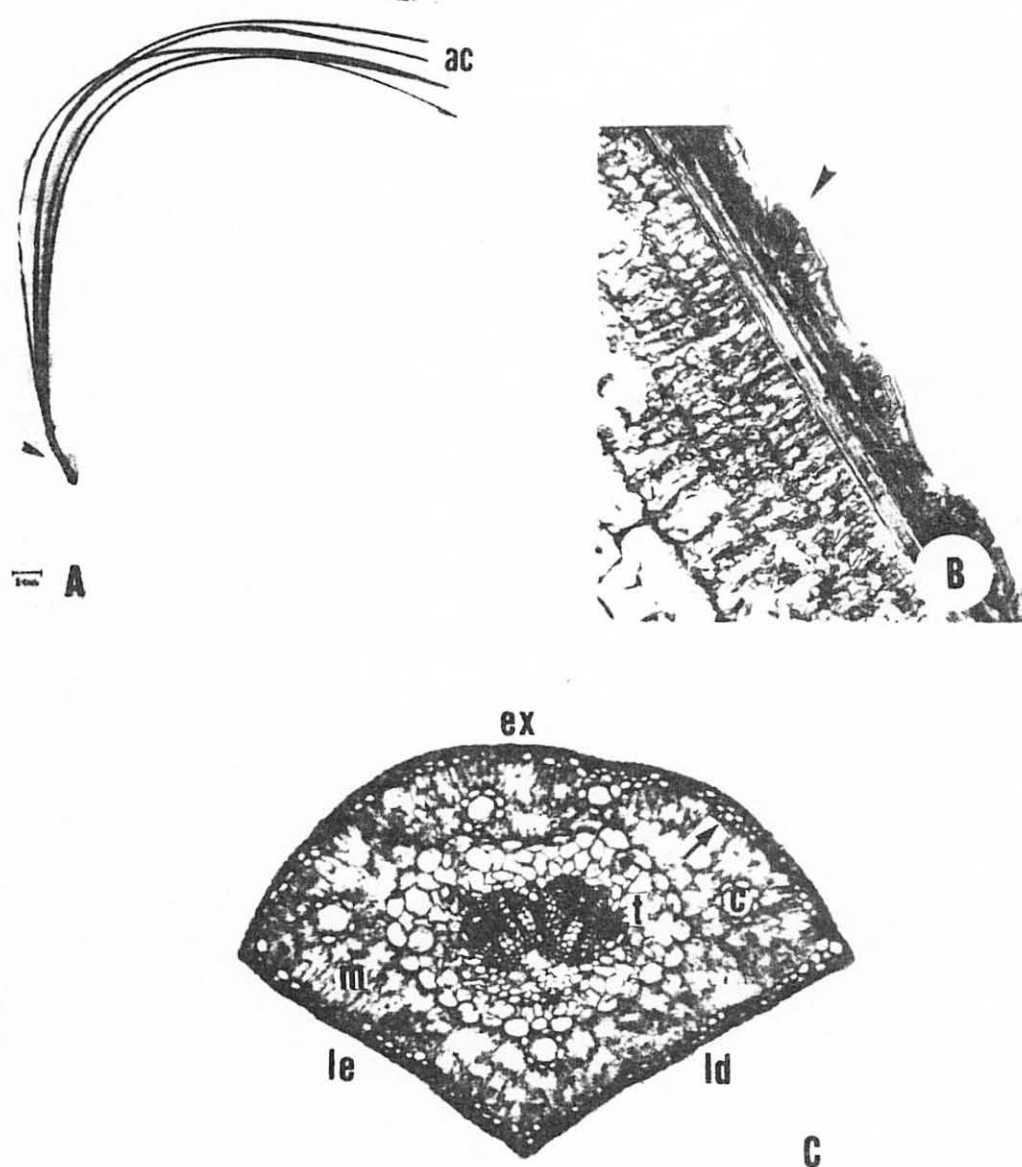


FIGURA 1 A FASCICULO MOSTRANDO BAINHA (SETA) E 5 ACICULAS (ac); B CORTE LONGITUDINAL DE ACICULA (998X) DE *Pinus sp1* MOSTRANDO MARGEM SERRILHADA (SETA); C: CORTE TRANSVERSAL DE ACICULA (80X) MOSTRANDO A FACE EXTERNA (ex), LATERAL DIREITA (ld), LATERAL ESQUERDA (le), HIPODERME (SETA), CANAIS RESINIFEROS (c), MESOFILO PLICADO (m), TECIDO DE TRANSFUSÃO (t)

3.2.3.1 Morfologia de acículas

A análise das características morfológicas foi feita utilizando-se os seguintes procedimentos e número de observações:

a) número de acículas por fascículo: a contagem das acículas foi feita em 30 fascículos de cada árvore;

b) comprimento de acículas: foram feitas medições em 30 acículas por árvore;

c) comprimento da bainha do fascículo (Figura 1A): as medições de bainha foram feitas em 20 fascículos inteiros;

d) número de fileiras de estômatos: foram feitas secções de aproximadamente 5 mm da região mediana de 20 acículas por árvore, as quais foram observadas em microscópio estereoscópico para a contagem do número de fileiras de estômatos das faces externa, lateral direita e lateral esquerda (Figura 1C).

e) número de estômatos: procedeu-se a avaliação desta característica na secção de 5 mm utilizada para a contagem do número de fileiras de estômatos, sendo que o número de estômatos dentro de uma distância de 1,0 mm foi contado em uma das fileiras centrais da face externa da acícula;

f) número de dentes na margem direita da acícula (Figura 1B): apesar da presença de serrilhado nas três margens da acícula, somente foi feita avaliação desta característica na margem direita, sendo o número de dentes contado dentro de um

espaço de 1 mm, nas mesmas secções de 5 mm utilizadas nas avaliações citadas, utilizando ocular milimetrada em microscópio de luz de campo claro.

O número de fileiras de estômatos, o número de estômatos e o número de dentes foram feitas de acordo com a técnica utilizada por EGUILUZ¹⁰, em seu estudo sobre a variação geográfica de características de acículas, cones e sementes de *Pinus tecunumanii*.

3.2.3.2 Anatomia de acículas

Os fascículos coletados foram conservados em solução aquosa de álcool a 70% e 20 acículas por árvore foram tomadas por amostragem.

Na confecção das lâminas seguiu-se o procedimento descrito por JOHANSEN²² com modificações. Secções de aproximadamente 1 cm de comprimento, retiradas da região média das acículas, foram fixadas no suporte de seccionamento do micrótomo de congelamento. Após o congelamento completo do material, procedeu-se à retirada dos cortes transversais e longitudinais com espessura de 18 a 20 micrômetros.

A coloração dos cortes foi feita com Safranina e Azul de Astra, durante 5 minutos. Após coloração, procedeu-se à desidratação para posterior montagem permanente das lâminas com

Entellan.

Foram considerados, para fins de análise, os 20 melhores cortes transversais de acículas por espécie, onde foram analisadas as seguintes características:

- a) forma das células epidérmicas ;
- b) forma da parede anticlinal das células subsidiárias dos estômatos ;
- c) desenvolvimento da hipoderme, de acordo com o número e disposição das camadas de células hipodérmicas, avaliando-se a intensidade de intrusão das mesmas no clorênquima ;
- d) número e posição dos canais resiníferos, sendo os mesmos considerados de acordo com MARTINEZ³³, como externos (contíguos à epiderme e incrustados na hipoderme); médios (no centro do parênquima clorofiliano ou clorênquima, sem tocar na epiderme e endoderme); internos (tocam a endoderme) e septais (tocam na epiderme e endoderme, ficando cercados por células hipodérmicas) ;
- e) número de camadas de células esclerenquimáticas que circundam os canais resiníferos ;
- f) número e regularidade de tamanho das células endodérmicas ;
- g) espessura da parede das células endodérmicas ;
- h) proximidade dos feixes vasculares; de acordo com MARTINEZ³³, os feixes podem apresentar-se separados, próximos e

distintos ou contíguos ;

i) presença de células de reforço, isto é, podem ocorrer no parênquima de células irregulares que cercam os feixes vasculares, algumas células adicionais, com paredes esclerosadas, estas células de reforço podem estar presentes dos dois lados do feixe vascular ou somente próximas do floema ou do xilema ;

j) presença de cristais.

3.2.4 Preparo da Chave Analítica

Foi elaborada uma chave analítica para a identificação das espécies estudadas. Essa chave foi confeccionada baseando-se nas características de estrutura da madeira e acículas.

3.2.5 Fotomicrografias

Para a realização das fotomicrografias, utilizou-se um fotomicroscópio Carl Zeiss, empregando-se o filme Copex Pan, Asa 12 da Agfa, para as metáfases mitóticas e o filme Panatomic-X, Asa 32 da Kodak para os corte anatômicos da madeira e de acículas e tecido macerado.

3.2.6 Análise Estatística

Foi efetuada a análise de variância para detectar a existência de variação entre espécies e entre árvores dentro das

espécies para todas as características citogenéticas, anatômicas e morfológicas mensuráveis, exceto para as constrictões secundárias. Para as constrictões secundárias foram registradas as frequências de ocorrência nos braços maiores (CB1) e menores (CB2) para todos os cromossomas. No cariótipo de cada espécie, foram registradas como regiões de constrictão secundária, somente aquelas encontradas em mais de 50% das metáfases analisadas.

As características cromossômicas, de madeira e acículas foram analisadas de acordo com o modelo:

$$Y_{jlk} = \mu + s_j + a_{l(j)} + e_{(j)lk}$$

onde,

Y_{jlk} = observação da amostra k dentro da árvore l e dentro da espécie j.

s_j = efeito da espécie j (j= 1,2,3,4)

$a_{l(j)}$ = efeito da árvore l (l=1,2,3,4) dentro da espécie j.

$e_{(j)lk}$ = efeito do erro experimental

Todos os efeitos foram considerados fixos, exceto o erro experimental.

As condicionantes básicas para a análise de variância foram verificadas através dos programas estatísticos de análise.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ESTRUTURA DOS CROMOSSOMAS

Semelhante aos resultados de estudos anteriores, o padrão cariotípico dos três taxa incluídos neste trabalho foi concordante com o cariótipo básico descrito para o gênero *Pinus*: complemento haplóide de 12 cromossomas, e exceto para o menor cromossoma que apresentou centrômero submediano e menor tamanho, os demais foram metacêntricos e semelhantes quanto ao comprimento total. Apesar desta semelhança no complemento básico dos três taxa, a análise estatística demonstrou a ocorrência de diferenças significativas entre *P. oocarpa*, *P. patula* e *Pinus* sp1. As tabelas 1 e 2 apresentam os dados sobre a estrutura dos cromossomas de *P. oocarpa*, *P. patula* e *Pinus* sp1. A figura 2 apresenta uma metáfase mitótica dos três taxa.

4.1.1 Cariótipo de *Pinus oocarpa*

Em *Pinus oocarpa*, o comprimento total do lote haplóide (CTLH) foi de 122,96 um, com o tamanho dos cromossomas apresentando um limite de variação de 11,84 um a 7,59 um (Tabela 1). Entre os cromossomas I e XII houve uma diferença em tamanho de 4,25 um, sendo que eles corresponderam a 9,62% e 6,17% do complemento haplóide, respectivamente (Tabela 2). A maior contri-

TABELA 1. VALORES MEDIOS EM MICROMETROS DAS VARIÁVEIS CROMOSSOMICAS DE *P. oocarpa*, *P. patula* E *Pinus* sp1. TRAÇOS VERTICAIS INDICAM OS LOCAIS DAS MAIORES DIFERENÇAS ENTRE COMPRIMENTO DE CROMOSSOMAS METACENTRICOS ADJACENTES. m REPRESENTA A PRESENÇA DE CONSTRIÇÃO SECUNDARIA MEDIANA. NAS LINHAS, AS MEDIAS DE CADA VARIÁVEL, SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE DE TUKEY AO NIVEL DE 5%

CROMOSSOMAS	BRAÇO MAIOR			BRAÇO MENOR			COMPRIMENTO TOTAL		
	<i>P. oocarpa</i>	<i>P. patula</i>	<i>Pinus</i> sp1	<i>P. oocarpa</i>	<i>P. patula</i>	<i>Pinus</i> sp1	<i>P. oocarpa</i>	<i>P. patula</i>	<i>Pinus</i> sp1
I	6,08 ab	m 6,26 a	5,82 b	m 5,76 ab	m 5,93 a	m 5,56 b	11,84 ab	12,90 a	11,38 b
II	5,83 ab	5,97 a	5,58 b	m 5,50 ab	5,66 a	5,29 b	11,33 ab	11,63 a	10,87 b
III	m 5,73 a	m 5,94 a	5,42 b	5,35 ab	5,50 a	m 5,15 b	11,08 a	11,44 a	10,57 b
IV	5,67 a	5,75 a	5,39 b	m 5,24 a	5,37 a	5,02 b	10,91 a	11,12 a	10,42 b
V	5,50 a	5,64 a	5,23 b	5,14 a	5,26 a	m 4,92 b	10,65 a	10,90 a	10,16 b
VI	5,45 a	m 5,55 a	5,19 b	5,04 a	5,17 a	4,82 b	10,49 a	10,72 a	10,02 b
VII	5,35 ab	5,49 a	5,14 b	4,95 a	5,07 a	m 4,72 b	10,30 a	10,57 a	9,86 b
VIII	5,29 a	5,42 a	5,06 b	4,85 a	m 4,96 a	m 4,62 b	10,14 a	10,38 a	9,68 b
IX	5,19 ab	m 5,36 a	5,01 b	4,72 a	4,84 a	m 4,49 b	9,91 ab	10,19 a	9,50 b
X	5,08 a	m 5,18 a	4,82 b	4,54 a	4,67 a	4,29 b	9,62 a	9,86 a	9,12 b
XI	4,93 a	5,06 a	4,63 b	4,18 ab	4,33 a	3,99 b	9,10 a	9,38 a	8,63 b
XII	4,61 a	4,74 a	4,39 b	2,98 a	2,96 a	2,78 b	7,58 a	7,66 a	7,17 b
							* CTLH = 122,96 a 126,05 a 117,36 b		

* CTLH = Complemento total do lote haplóide

TABELA 2. VALORES MEDIOS DERIVADOS DAS CARACTERISTICAS ENCONTRADAS NA TABELA 1 PARA *P. oocarpa*, *P. patula* E *Pinus* *spl.* TRAÇOS HORIZONTAIS INDICAM O CROMOSSOMA QUE QUEBROU A ORDEM DECRESCENTE DOS VALORES DE RB E IC. NAS LINHAS, AS MEDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NAO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE DE TUKEY AO NIVEL DE 5%

CROMOSSOMAS	RELACAO DE BRACOS			COMP. RELATIVO			INDICE MORFOLOGICO			INDICE CENTROMERICO		
	<i>P. oocarpa</i>	<i>P. patula</i>	<i>Pinus spl</i>	<i>P. oocarpa</i>	<i>P. patula</i>	<i>Pinus spl</i>	<i>P. oocarpa</i>	<i>P. patula</i>	<i>Pinus spl</i>	<i>P. oocarpa</i>	<i>P. patula</i>	<i>Pinus spl</i>
I	0,948 a	0,950 a	0,956 a	9,524 a	9,672 a	9,692 a	11,216 ab	11,566 a	10,869 b	48,632 a	48,664 a	48,841 a
II	0,946 a	0,950 a	0,950 a	9,213 a	9,226 a	9,259 a	10,701 ab	11,044 a	10,311 b	48,571 a	48,687 a	48,682 a
III	0,939 b	0,929 c	0,951 a	8,008 a	8,075 a	8,998 a	10,370 ab	10,607 a	10,034 b	48,351 a	48,096 a	48,710 b
IV	0,927 a	0,935 a	0,934 a	8,872 a	8,825 a	8,875 a	10,088 ab	10,383 a	9,713 b	48,042 a	48,274 a	48,243 a
V	0,937 a	0,935 a	0,942 a	8,658 a	8,651 a	8,656 a	9,954 ab	10,175 a	9,558 b	48,301 a	48,273 a	48,451 a
VI	0,928 a	0,933 a	0,930 a	8,531 a	8,504 a	8,535 a	9,713 ab	9,983 a	9,312 b	48,074 a	48,219 a	48,161 a
VII	0,928 a	0,926 a	0,922 a	8,376 a	8,382 a	8,398 a	9,531 a	9,761 a	9,068 b	48,062 a	48,015 a	47,921 a
VIII	0,919 a	0,919 a	0,915 a	8,249 a	8,235 a	8,255 a	9,307 a	9,505 a	8,835 b	47,836 a	47,905 a	47,693 a
IX	0,911 a	0,907 a	0,902 a	8,065 a	8,087 a	8,093 a	9,014 a	9,213 a	8,528 b	47,598 a	47,488 a	47,349 a
X	0,887 a	0,904 a	0,893 b	7,826 a	7,824 a	7,775 a	8,599 a	8,890 a	8,125 b	47,197 a	47,406 a	47,087 a
XI	0,854 a	0,860 a	0,866 a	7,405 a	7,445 a	7,355 a	7,739 ab	8,052 a	7,449 b	45,861 a	46,123 a	46,279 a
XII	0,650 a	0,629 b	0,633 b	6,174 a	6,075 a	6,110 a	4,920 a	4,816 ab	4,545 b	38,234 a	38,884 a	38,658 a

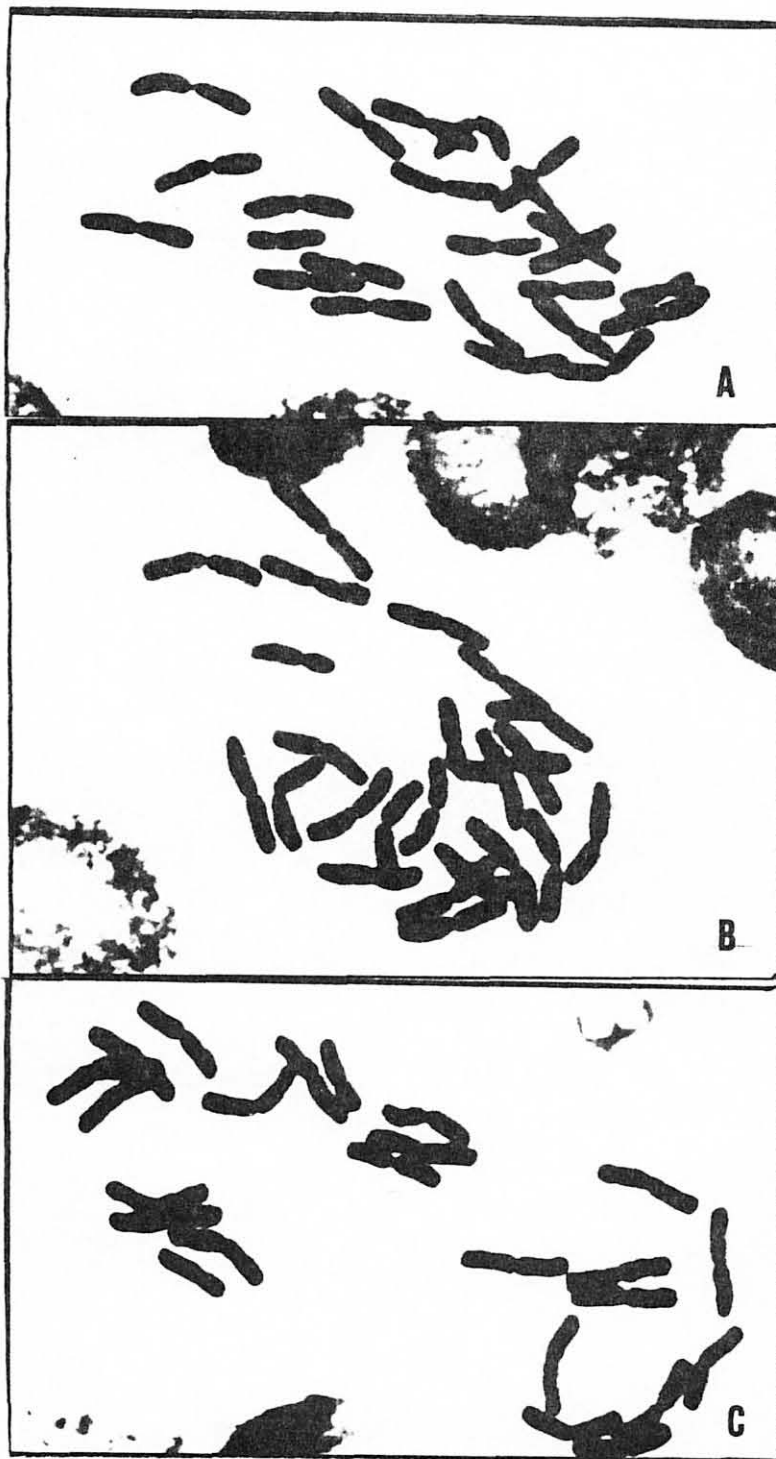


FIGURA 2. METAFASES MITOTICAS. - A: *Pinus oocarpa*;
B: *Pinus patula*; - C: *Pinus sp1* - (1950X)

buição para esta diferença foi dada pelo braço menor (2,78 μm).

Analisando o comprimento total dos 12 cromossomas dispostos em ordem decrescente de tamanho verifica-se que as maiores diferenças ocorreram entre I e II (0,51 μm), X e XI (0,52 μm) e XI e XII (1,51 μm). Os cromossomas de II a X apresentaram diferenças na ordem decrescente de comprimento total (CT) semelhantes. Este fato pode ser notado nas metáfases mitóticas onde os cromossomas I, XI e XII podem ser distinguidos com certa facilidade, enquanto que os demais são impossíveis de serem separados (Figura 2A). Os braços maior (B1) e menor (B2) contribuíram com praticamente o mesmo valor (0,25 e 0,26 μm) respectivamente, para a diferença entre I e II, enquanto que o B1 (0,15 μm) relativamente a B2 (0,36 μm) contribuiu com menos que o dobro da diferença entre os cromossomas X e XI. Estes dados indicam que o cromossoma XI apresenta centrômero mais afastado do centro, o que pode ser confirmado pelo valor da relação de braços (RB) na tabela 2. Entre os metacêntricos, o cromossoma XI apresentou o menor valor de RB. Como esperado, B2 deu a maior contribuição (1,2 μm) para a diferença entre os comprimentos dos cromossomas XI e XII.

Os cromossomas I, II, III e V apresentaram os maiores valores de RB, tendo, portanto, centrômeros mais medianos. Somente o cromossoma IV quebrou a seqüência decrescente dos valores de RB.

Os dados obtidos neste trabalho para comprimento e relação de braços, concordam parcialmente com aqueles obtidos por SAYLOR⁴⁹ para *Pinus oocarpa*. Conforme SAYLOR⁴⁸, as maiores diferenças entre o comprimento dos cromossomas metacêntricos adjacentes também ocorreram entre I e II e X e XI, no entanto, nos dois casos o braço menor contribuiu com a maior diferença. Os três cromossomas com centrômero mais próximo da região mediana, segundo SAYLOR⁴⁹, foram III, V e VIII. O cromossoma IX, entre os metacêntricos, apresentou a menor relação de braços.

Como foi observado para os valores de RB, a seqüência decrescente dos dados de índice centromérico (IC) foi interrompida pelo cromossoma IV (Tabela 2). Este fato era esperado uma vez que os valores de IC foram derivados dos valores de RB.

Os cromossomas de I a XII apresentaram resultados em ordem decrescente para índice morfológico (IM), semelhante ao que aconteceu para CT e CR (Tabelas 1 e 2).

Uma vez que mais de 50% das metáfases analisadas de *P. oocarpa* apresentaram constrições secundárias no braço maior do cromossoma III e nos braços menores dos cromossomas I, II e IV, estas foram consideradas para integrarem o cariótipo desta espécie. A média da distância destas constrições em relação ao centrômero mostrou que elas se encontram na região mediana dos braços. SAYLOR⁴⁹, usando o mesmo critério, encontrou constrições secundárias medianas nos braços menores dos cromossomas II, IV e

X de *Pinus oocarpa*. As diferenças no número e posição das constrições secundárias encontradas por diferentes autores para uma mesma espécie de *Pinus*, provavelmente podem ser explicadas pela inconsistência da frequência de distribuição das mesmas, de uma célula para outra.

4.1.2 Cariótipo de *Pinus patula*

Os dados sobre a estrutura dos cromossomas e uma metáfase mitótica representativa de *Pinus patula* estão nas tabelas 1 e 2 e figura 2B, respectivamente.

A espécie apresentou CTLH de 126,05 um, com valores de comprimento total entre 12,90 um e 7,66 um. A diferença de tamanho entre os cromossomas I e XII foi de 5,24 um, sendo que a maior contribuição para esta diferença foi dada pelo braço menor (2,97 um) o qual, em XII, teve aproximadamente a metade do comprimento do B2 do cromossoma I. O cromossoma I correspondeu a 9,67% e o cromossoma XII a 6,08% do complemento haplóide.

As maiores diferenças entre o tamanho dos cromossomas adjacentes ocorreu entre I e II (1,27 um), X e XI (0,48 um) e XI e XII (1,72 um). Como observado em *P. oocarpa*, B1 e B2 contribuíram com valores bem próximos (0,29 e 0,27 um, respectivamente) para a diferença entre os dois primeiros pares, enquanto que entre X e XI, a diferença no tamanho foi devida principalmente a

B2 (0,34 um). O braço menor contribuiu mais efetivamente (1,37 um) para a diferença entre os comprimentos dos dois últimos pares. Também em *P. patula*, os cromossomas I, XI e XII foram distinguidos mais facilmente que os demais nas metáfases mitóticas.

Entre os metacêntricos, I, II, IV e V apresentaram os centrômeros em posição mais próxima do centro, enquanto que o cromossoma XI apresentou o menor valor de RB (0,860). O cromossoma III quebrou a seqüência decrescente dos valores de relação de braço e de índice centromérico.

Para as variáveis IM, CT e CR os resultados apresentaram-se em ordem decrescente do primeiro ao último cromossoma (Tabelas 1 e 2).

O cromossoma I apresentou uma constrição mediana em cada braço. Os cromossomas III, VI, IX e X apresentaram constrições secundárias medianas nos braços maiores; o cromossoma VIII, no braço menor.

Segundo SAYLOR⁴⁹, *Pinus patula* apresenta constrições secundárias medianas no braço menor do cromossoma VII e nos braços maiores dos cromossomas II e III. No cromossoma IV o autor encontrou uma constrição distal no braço menor. As maiores diferenças entre cromossomas metacêntricos adjacentes, observadas por SAYLOR⁴⁹ coincidiram com as encontradas neste trabalho (entre cromossomas I e II e X e XI), no entanto, entre os cromossomas X e

XI, a maior contribuição para a diferença foi dada pelo braço maior. Os cromossomas com centrômero na posição mais próxima do centro foram II, III e VII.

4.1.3 Cariótipo de *Pinus sp1*

As tabelas 1 e 2 apresentam os dados sobre a estrutura dos cromossomas de *Pinus sp1* e a figura 2C apresenta uma metáfase mitótica da espécie.

Pinus sp1 apresentou CTLH de 117,36 μm , com cromossomas variando em seu comprimento de 11,38 a 7,17 μm . A diferença de tamanho entre os cromossomas I e XII foi de 4,21 μm . O braço menor do cromossoma XII tem a metade do comprimento do braço menor do cromossoma I, isto é, 2,78 μm . O cromossoma I e XII representam 9,69% e 6,11% do complemento haplóide, respectivamente.

Semelhante ao que foi observado em *P. occarpa* e *P. patula* as maiores diferenças entre cromossomas adjacentes ocorreram entre I e II (0,51 μm), X e XI (0,49 μm) e XI e XII (1,46 μm). A diferença entre os braços maiores e menores respectivamente, entre os cromossomas I e II foi de 0,24 e 0,27 μm ; X e XI de 0,19 e 0,30 μm e XI e XII de 0,24 e 1,21 μm .

Como ocorreu com *P. occarpa*, as posições de centrômero mais próximas da região mediana foram observadas nos cromossomas

I, II, III e V. Os cromossomas II e IV quebraram a ordem decrescente dos valores de RB e IC. O cromossoma XII, submetacêntrico, apresentou RB igual a 0,633 (Tabela 2).

Os valores de IM, CT e RC apresentaram-se em ordem decrescente do primeiro ao último par.

Constricções secundárias foram observadas no braço menor dos cromossomas I, III, V, VII, VIII e IX, na posição mediana.

4.2 DESCRIÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DA MADEIRA

A tabela 3 apresenta os valores sobre a estrutura da madeira e as figuras 3 a 10 apresentam as faces transversais, longitudinais radiais e tangenciais da madeira de *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus sp1* e *Pinus sp2*.

4.2.1 *Pinus oocarpa* Schiede

Anéis de Crescimento: Distintos. Transição do lenho inicial para tardio, brusca. Alguns anéis estreitos alternando com anéis mais largos.

Traqueóides Axiais: No lenho inicial, de secção poligonal, sem espaços intercelulares. No lenho tardio, os traqueóides apresentam-se com secção transversal retangular e com diâmetro radial menor. Traqueóides curtos a extremamente longos (2,25 -

TABELA 3. VALORES MEDIOS PARA CARACTERISTICAS DE ESTRUTURA DA MADEIRA DE *P. oocarpa*, *P. patula*, *pinus epi* E *pinus SP2*. NAS LINHAS, AS MEDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NAO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE DE TUKEY AO NIVEL DE 5%

Características da madeira					
<u>Traqueóides Axiais</u>	n	<u>P. oocarpa</u>	<u>P. patula</u>	<u>P. epi</u>	<u>P. SP2</u>
1. Diâmetro pontuações areoladas (um)	80	37,25 b	38,52 a	37,50 b	34,63 c
2. Diâmetro abertura pontuações areoladas (um)	80	9,66 c	11,91 b	9,72 c	13,50 c
3. Comprimento traqueóides (um)	80	3511,80 b	4107,30 a	3855,00 a	3322,00 b
4. Diâmetro maior (um)	80	53,31 b	47,38 c	56,78 a	53,78 ab
5. Diâmetro menor (um)	80	34,34 b	29,78 c	38,50 a	35,97 ab
<u>Raios</u>					
1. Número por mm	160	5,34 b	5,76 a	5,38 b	3,36 c
2. Altura em número de células	160	9,88 c	15,90 a	9,09 c	12,00 b
3. Altura em um	160	214,06 c	362,70 b	225,63 c	424,56 a
<u>Traqueóides Radiais</u>					
1. Diâmetro pontuações areoladas (um)	40	12,38 b	10,34 c	11,31 bc	17,13 a
2. Comprimento dos traqueóides (um)	120	198,87 c	181,82 c	234,10 b	379,56 a
3. Número de fileiras traqueóides radiais	56	4,52 b	5,52 a	4,32 b	4,57 b
4. Número de indenturas por mm	120	53,00 b	73,18 a	37,54 c	25,91 d
<u>Células Parenquimáticas</u>					
1. Comprimento células parenquimáticas (um)	120	271,50 b	257,39 c	297,17 b	303,99 a
2. Número de fileiras células parenquimáticas	56	3,98 b	5,45 a	3,27 b	5,32 a

a = no. observações por espécie					

3,51 - 6,48 mm), com diâmetro largo (40,00 - 53,31 - 75,00 um) e com paredes delgadas (10,00 - 34,34 - 60,00 um de diâmetro de lúmen).

Pontuações areoladas do lenho inicial com cerca de 37,25 um de diâmetro e com abertura arredondada com 9,66 um de diâmetro; em arranjo principalmente unisseriado, apresentando-se também bisseriadas opostas e alternas em menor proporção. Pontuações areoladas do lenho tardio mais escassas, com diâmetro menor e abertura em forma lenticular. Crássulas presentes.

Raios: Raios unisseriados e fusiformes. Raios unisseriados em número de 5,34 por mm, baixos, com 20,00 - 214,06 - 590,00 um e 1,00 - 9,08 - 23,00 células de altura. Células radiais de secção oval em plano tangencial, sem meatos no contato com traqueóides longitudinais. Tecido radial heterocelular. Raios com 2,00 - 4,52 - 10,00 fileiras de traqueóides radiais marginais e intercalares, com 56,60 - 198,87 - 454,56 um de comprimento. Traqueóides radiais com numerosas identuras (53 por mm), com algumas regiões com espessamentos espiralados. Identuras, em corte radial, com forma trapezoidal irregular, ondulada ou pontiagudas; pronunciadas. Traqueóides radiais marginais normalmente com forma regular, poucos formando projeções laterais sobre a célula vizinha. Traqueóides radiais providos de pares de pontuações areoladas com 12,38 um de diâmetro na região de contacto com traqueóides axiais. Campo de cruzamento com 1 a 6 pontuações predo-

minantemente taxodióides, apresentando pinóides, piceóides, cupressóides e fenestriiformes, com várias pontuações unilateralmente compostas.

Células do parênquima radial com 84,09 - 271,60 - 403,42 um de comprimento, com paredes horizontais e tangenciais finas. Raios com 1,00 - 3,98 - 15,00 fileiras de células parenquimáticas.

Canais Resiníferos: Canais axiais e radiais de origem esquizógena. Canais axiais em número de 1,28 por mm², com uma camada de células epiteliais de parede fina.

Outros Caracteres: Numerosos grãos de amido nas células do parênquima radial e resinífero.

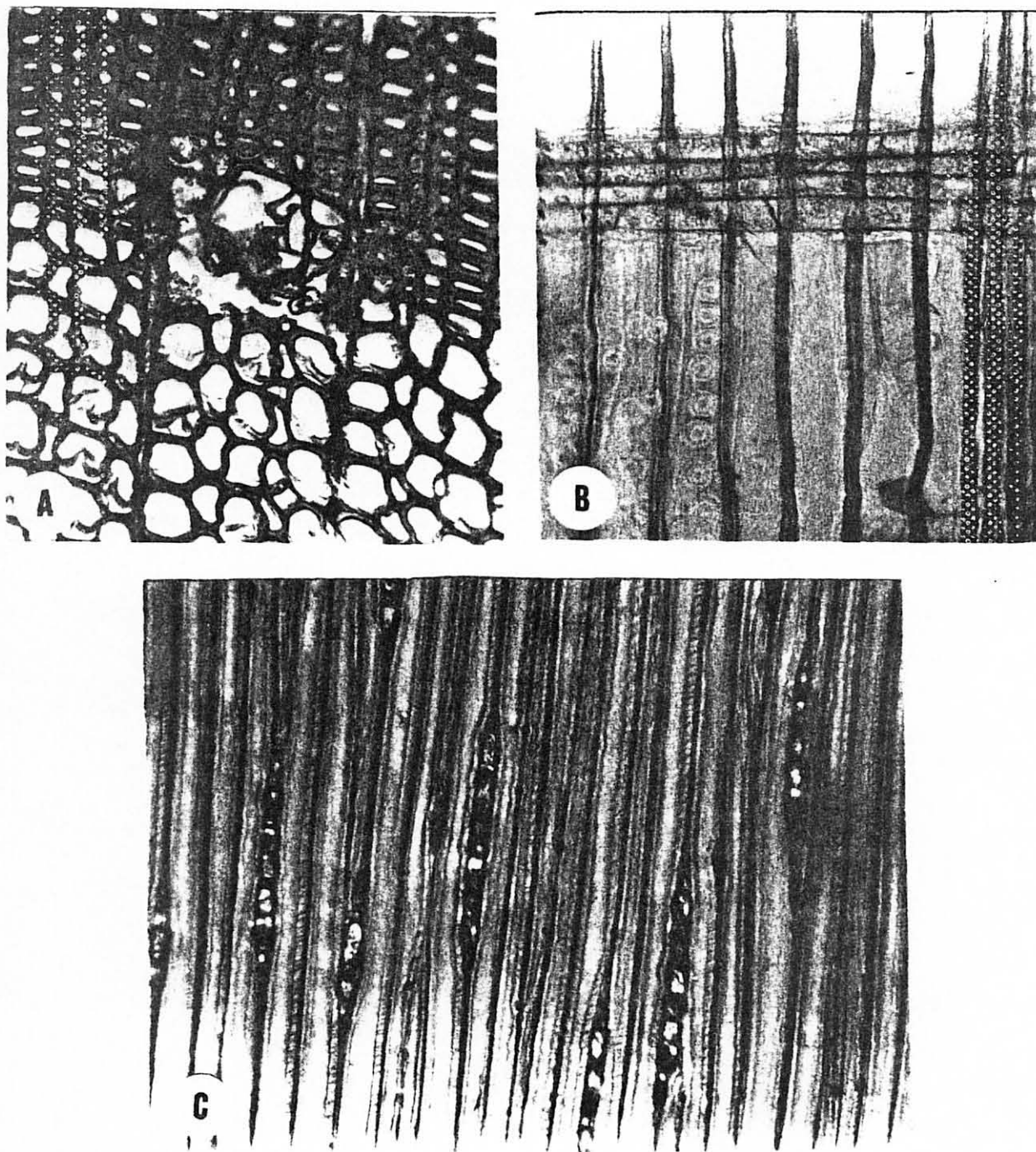


FIGURA 3. CORTE TRANSVERSAL (A), RADIAL (B) E TANGENCIAL (C) DA MADEIRA DE *Pinus oocarpa*. - 250X

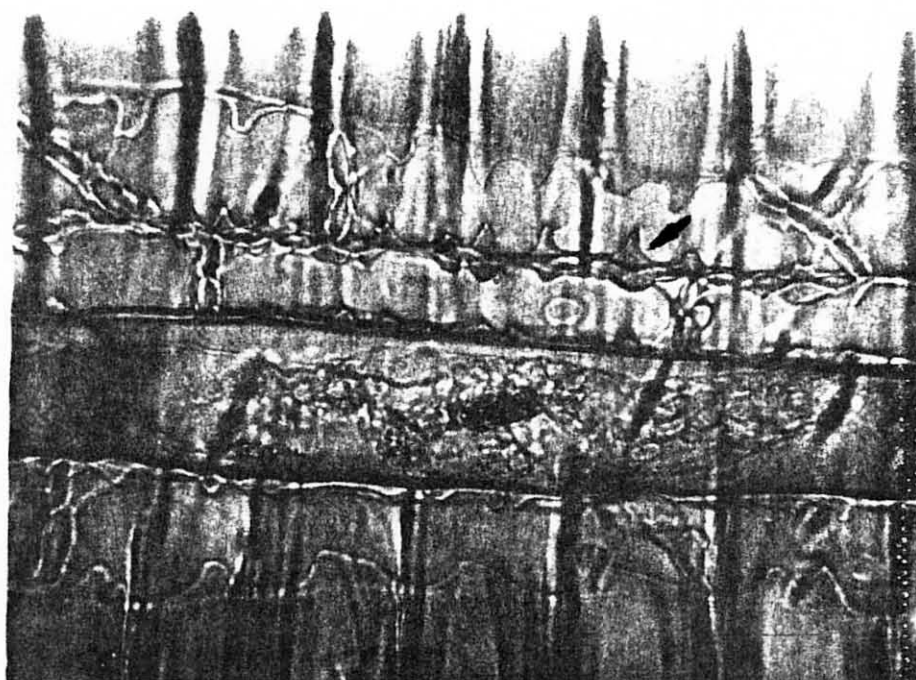


FIGURA 4. CORTE RADIAL (998X) DA MADEIRA DE *P. oocarpa* MOSTRANDO IDENTURAS NOS TRAQUEOIDES RADIAIS (SETA)

4.2.2 *Pinus patula* Schiede & Deppe

Anéis de Crescimento: Distintos. Transição do lenho inicial para tardio, brusca. Alguns anéis estreitos alternando com anéis mais largos.

Traqueóides Axiais: De secção poligonal no lenho inicial, sem espaços intercelulares. No lenho tardio, os traqueóides apresentam-se com secção transversal retangular e com diâmetro radial menor. Traqueóides muito curtos a extremamente longos (1,58 - 4,10 - 6,54 mm), de diâmetro largo (32,5 - 47,38 - 72,5 um) e com paredes delgadas (diâmetro do lúmen igual a 15,0 - 29,78 - 60,0 um).

Pontuações areoladas do lenho inicial, com cerca de 38,52 um de diâmetro e com abertura arredondada com 11,91 um de diâmetro; em arranjo principalmente unisseriado, apresentando bisseriadas opostas e alternas. No lenho tardio, as pontuações são mais escassas, com diâmetro menor e abertura em forma lenticular. Crássulas e transpasse presentes.

Raios: Raios unisseriados e fusiformes. Raios unisseriados com frequência de 5,76 por mm. Raios unisseriados altos com 50,00 - 362,70 - 1000,00 um e 1,0 - 15,90 - 43,00 células de altura. Células radiais de secção oval em plano tangencial, sem meatos no contato com traqueóides axiais.

Tecido radial heterocelular. Raios com 2,00 - 5,52 - 11,00 fileiras de traqueóides radiais marginais e intercalares, com 73,30 - 181,82 - 438,65 um de comprimento. Traqueóides radiais com indenturas muito numerosas (73,18 por mm), com forma pontiaguda, formando muitos espessamentos espiralados, muito pouco pronunciadas. Traqueóides radiais marginais de forma muito irregular. Traqueóides radiais providos de pares de pontuações areoladas com 10,34 um de diâmetro. Campo de cruzamento com 1 a 6 pontuações predominantemente taxodioides, podendo apresentar também pontuações pinóides, piceóides, cupressóides e fenestriiformes, com várias pontuações unilateralmente compostas.

Células do parênquima radial com 113,64 - 257,39 - 357,97 um de comprimento, com paredes horizontais e tangenciais finas. Raios com 1,00 - 5,45 - 14,00 fileiras de células parenquimáticas.

Canais Resiníferos: Canais axiais e radiais. Canais axiais em número de 1,63 por mm², com uma camada de células epiteliais de parede fina. Origem esquizógena.

Outros Caracteres: Grãos de amido nas células do parênquima radial e resinífero, ausentes.

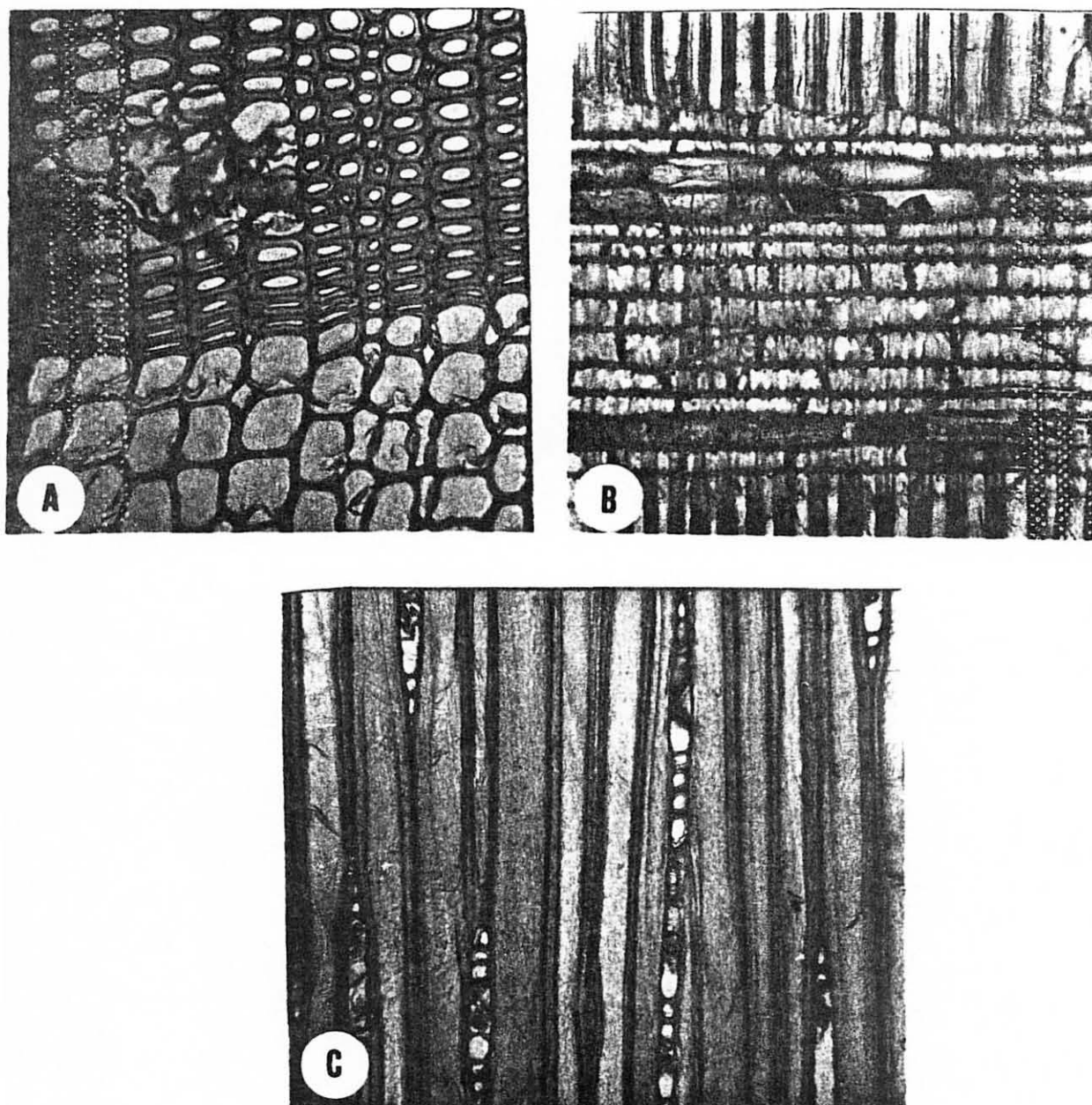


FIGURA 5. CORTE TRANSVERSAL (A), RADIAL (B) E TANGENCIAL (C) DA MADEIRA DE *Pinus patula*. - 250X



FIGURA 6. CORTE RADIAL (499X) DA MADEIRA DE *Pinus patula* MOSTRANDO IDENTURAS (i) NOS TRAQUEÓIDES RADIAIS E A FORMA IRREGULAR DOS TRAQUEÓIDES RADIAIS MARGINAIS (SETA)

4.2.3 *Pinus* sp1

Anéis de Crescimento: Distintos. Transição do lenho inicial para tardio, brusca. Alguns anéis estreitos alternando com anéis mais largos.

Traqueóides Axiais: De secção poligonal no lenho inicial, sem espaços intercelulares. No lenho tardio, os traqueóides apresentam-se com secção transversal retangular e com diâmetro radial menor. Traqueóides muito curtos a muito longos (1,68 - 3,86 - 6,00 mm), com diâmetro largo (35,00 - 56,78 - 82,5 um) e com paredes delgadas (8,00 - 38,50 - 67,50 um de diâmetro de

lumen).

Pontuações areoladas do lenho inicial com cerca de 37,50 μ m de diâmetro e com abertura arredondada com 9,72 μ m de diâmetro; em arranjo principalmente unisseriado, apresentando bisseriadas opostas e poucas bisseriadas alternas. Pontuações do lenho tardio mais escassas, com menor diâmetro e abertura em forma lenticular. Crássulas e trabéculas presentes.

Raios: Raios unisseriados e fusiformes. Raios unisseriados em número de 5,38 por mm, baixos, com 50,00 - 225,63 - 650,00 μ m e 1,00 - 9,09 - 24,00 células de altura. Células radiais de secção oval em plano tangencial, sem espaços intercelulares no contato com traqueóides longitudinais. Tecido radial heterocelular. Raios com 2,00 - 4,32 - 10,00 fileiras de traqueóides radiais marginais e intercalares, traqueóides radiais com 56,60 - 234,10 - 473,88 μ m de comprimento. Traqueóides radiais com número médio de indenturas (37,54 por mm), com forma trapezoidal irregular, onduladas ou pontiagudas; pronunciadas. Parede externa dos traqueóides marginais quase lisa, com pouco denticulado, ondulado. Traqueóides radiais marginais normalmente com forma regular, poucos formando projeções laterais sobre a célula vizinha. Traqueóides radiais providos de pares de pontuações areoladas com 11,31 μ m de diâmetro. Campo de cruzamento com 1 a 6 pontuações predominantemente taxodióides, podendo apresentar pontuações pinóides, piceóides, cupressóides e fenestriiformes; com várias

pontuações unilateralmente compostas.

Células do parênquima radial com 136,94 - 297,17 - 547,18 um de comprimento, com paredes horizontais e tangenciais finas. Raios com 1,00 - 3,27 - 10,00 fileiras de células parenquimáticas.

Canais Resiníferos: Canais axiais e radiais de origem esquizógena. Canais axiais em número de 1,33 por mm², com uma camada de células epiteliais de parede fina.

Outros Caracteres: Numerosos grãos de amido nas células do parênquima radial e resinífero.

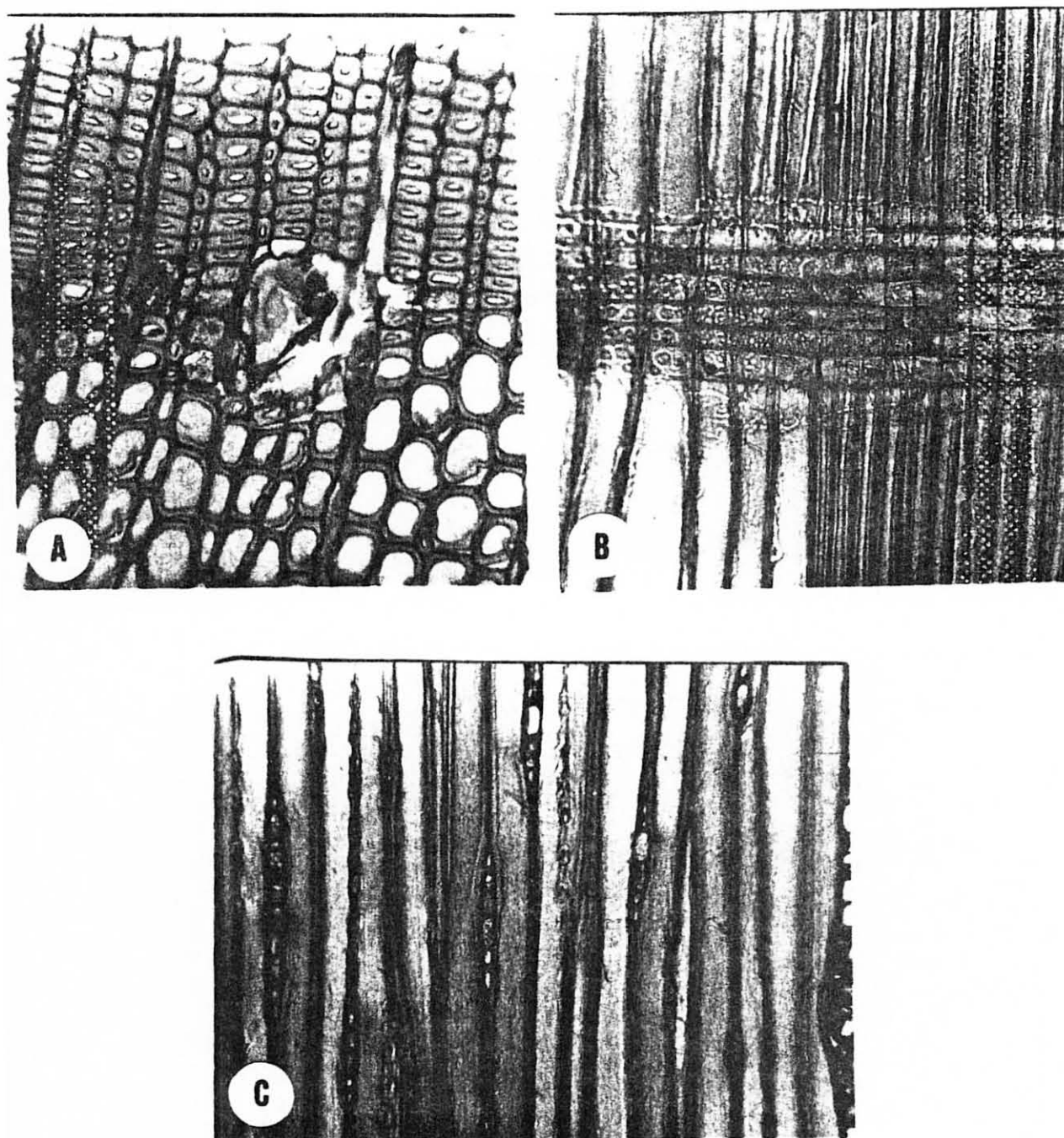


FIGURA 7. CORTE TRANSVERSAL (A), RADIAL (B) E TANGENCIAL (C) DA MADEIRA DE *Pinus* sp1. - 250X

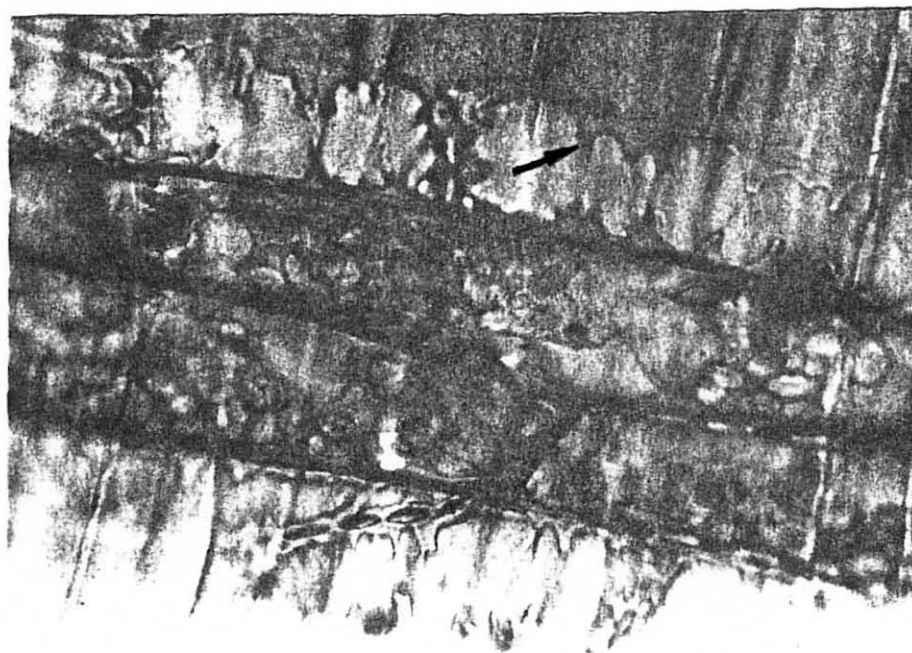


FIGURA 8. CORTE RADIAL (998X) DA MADEIRA DE *Pinus* sp1 MOSTRANDO IDENTURAS NOS TRAQUEÓIDES RADIAIS (SETA)

4.2.4 *Pinus* sp2

Anéis de Crescimento: Distintos. Transição abrupta do lenho inicial para tardio. Alguns anéis estreitos alternando com anéis mais largos.

Traqueóides Axiais: De secção poligonal no lenho inicial, sem espaços intercelulares. No lenho tardio, os traqueóides apresentam-se com secção transversal retangular a arredondada e com diâmetro radial menor. Traqueóides muito curtos a muito longos (1,71 - 3,32 - 5,31 mm), com diâmetro largo (35,00 - 53,78

72,50 um, e com paredes delgadas (10,00 - 35,97 - 60,00 um de diâmetro de lúmen.

Pontuações areoladas do lenho inicial com cerca de 34,63 um de diâmetro e com abertura arredondada, com 13,50 um de diâmetro, em arranjo principalmente unisseriado, mas apresentando bisseriadas opostas e bisseriadas alternas em menor proporção. Pontuações do lenho tardio mais escassas, com menor diâmetro e abertura de forma lenticular. Crássulas presentes.

Raios Raios unisseriados e fusiformes. Raios unisseriados em número de 3 36 por mm. muito altos, com 50,00 - 424,26 - 1020,00 um e 1,00 - 12,00 - 30,00 células de altura. Células radiais de secção oval no plano tangencial, sem meatos no contato com traqueóides longitudinais.

Tecido radial heterocelular. Raios com 1,00 - 4,57 - 11,00 fileiras de traqueóides radiais marginais e intercalares; traqueóides radiais longos, com 136,37 - 379,56 - 909,12 um de comprimento. Traqueóides radiais com poucas indenturas (25,91 por milímetro) com forma pontiaguda e ondulada, pouco pronunciadas. Traqueóides intercalares geralmente com paredes mais lisas que os marginais. Traqueóides marginais com formas normalmente regular, alguns formando projeções laterais sobre a célula vizinha. Traqueóides radiais providos de pares de pontuações areoladas com 17,13 um de diâmetro. Campo de cruzamento com 1 a 5 pontuações predominantemente taxodióides podendo apresentar pinóides, piceóides, cu-

pressoides e fenestriiformes; com varias pontuações unilateralmente compostas.

Células do parênquima radial com 176,14 - 303,99 - 614,22 um de comprimento, com paredes horizontais e tangenciais finas. Raios com 1,00 - 5,32 - 24,00 fileiras de células parenquimáticas.

Canais Resiniferos: Canais axiais e radiais de origem esquizógena. Canais axiais em número de 1,10 por mm², com células epiteliais de parede fina.

Outros Caracteres: Numerosos grãos de amido nas células do parênquima radial e resinifero.

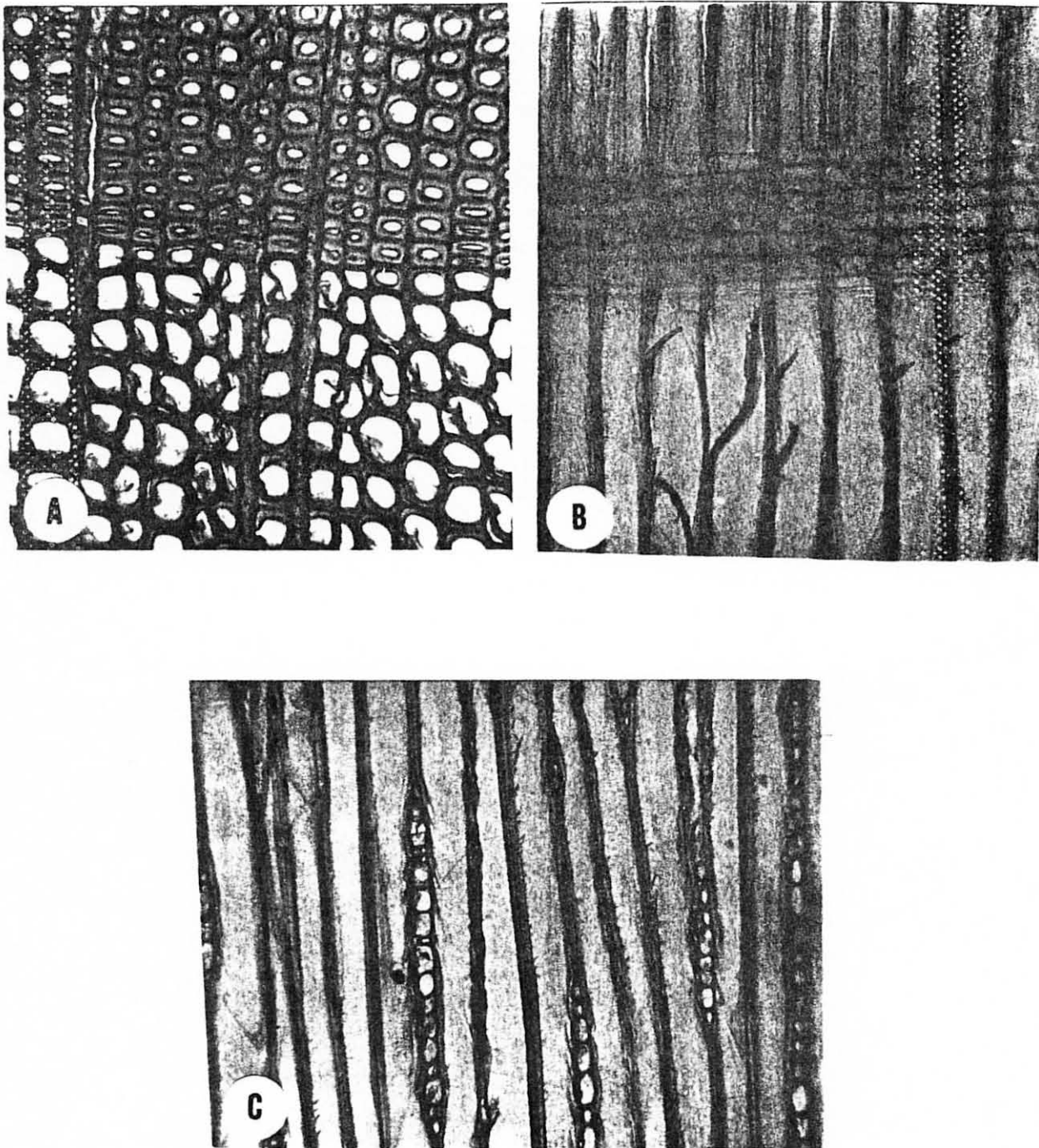


FIGURA 9. CORTE TRANSVERSAL (A), RADIAL (B) E TANGENCIAL (C) DA MADEIRA DE *Pinus* sp2. - 250X

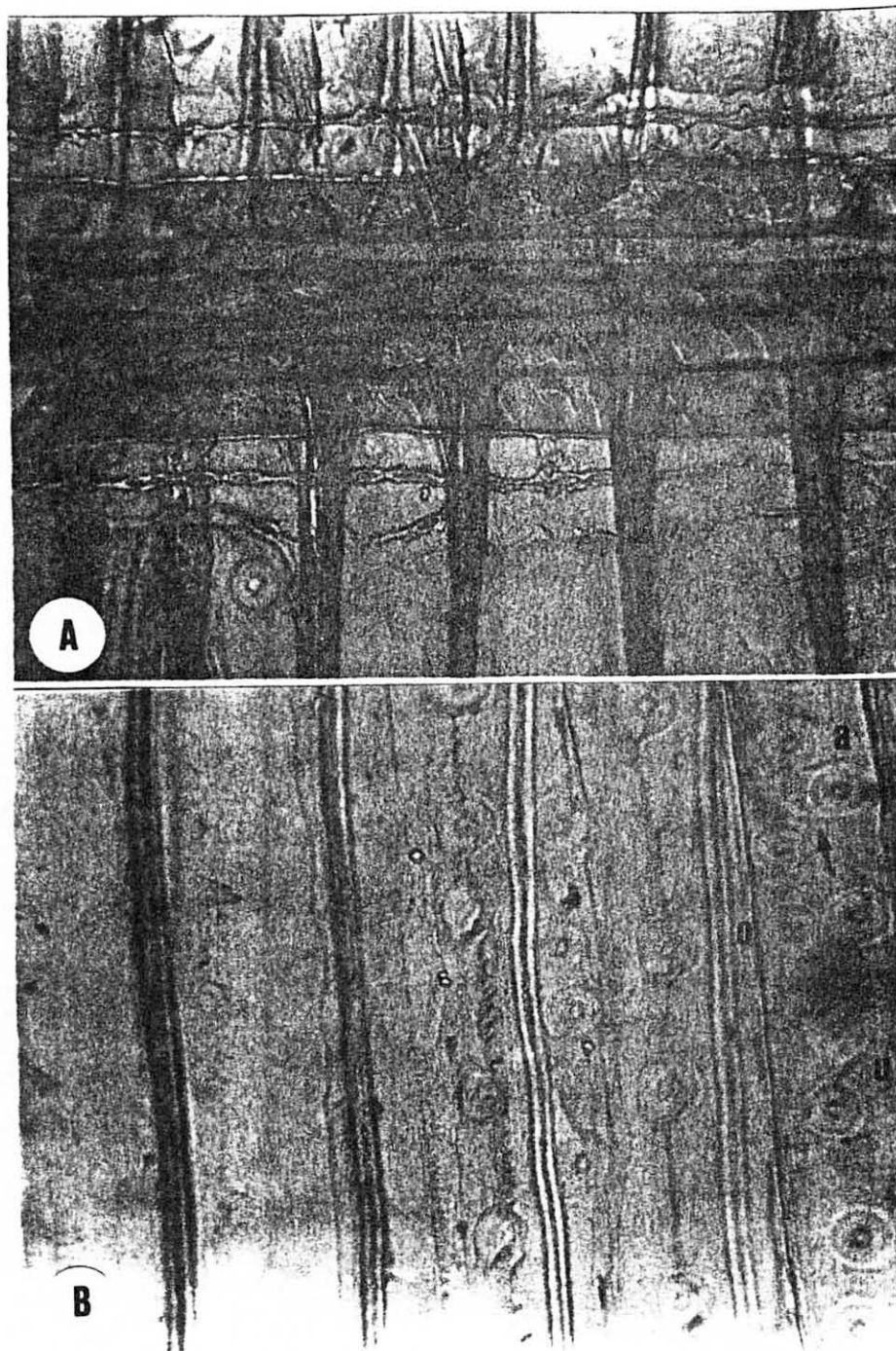


FIGURA 10. CORTES RADIAIS DA MADEIRA DE *Pinus* sp2. A: IDENTURAS POUCO NUMEROSAS E POUCO PRONUNCIADAS (499X); B: TRACHEOIDES AXIAIS MOSTRANDO PONTUAÇÕES UNISSERIADAS (u), BISSERIADAS OPOSTAS (o), ALTERNAS (a) E CRASSULAS (SETA)

4.3 DESCRIÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MORFOLOGICAS E ANATOMICAS DE ACICULAS

A tabela 4 apresenta os dados sobre a estrutura de acículas e as figuras 11 a 14 ilustram as características de acículas de *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus* sp1 e *Pinus* sp2.

4.3.1 *Pinus oocarpa* Schiede

Morfologia de Acículas: Fascículos com predominantemente 5 (raramente 4) acículas de 19,00 - 23,97 - 28,00 cm de comprimento. Acículas grossas. Bainha do fascículo com 15,00 - 19,99 - 25,00 mm de comprimento. Estômatos em números de 10,68 - 12,64 - 15,34 por mm, na face externa. Acículas com 4,00 - 6,15 - 9,00 fileiras de estômatos na face externa, 3,00 - 5,53 - 7,00 na lateral esquerda e 3,00 - 5,70 - 7,00 na lateral direita. Na margem direita 4,06 - 5,59 - 7,19 serrações por mm de acículas.

Anatomia de Acículas: Seção transversal triangular.

Epiderme com células quadrangulares com parede externa fortemente espessada e de forma convexa. Estômatos com células subsidiárias de parede anticlinal ondulada.

Hipoderme com leve intrusão no clorênquima (2,00 - 3,14 - 6,00 camadas de células). Clorênquima com 2,00 - 4,23 - 6,00 canais resiníferos, dos quais, 48,67% foram septais 28,67%

TABELA 4. VALORES MEDIOS PARA CARACTERISTICAS DE ACICULAS DE *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus sp1*, E *Pinus sp2*. NAS LINHAS, AS MEDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NAO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE DE TUKEY AO NIVEL DE 5%

Características de acicula	n	<i>P. oocarpa</i>	<i>P. patula</i>	<i>P. sp1</i>	<i>P. sp2</i>
1. No. de aciculas/fasciculo	80	4,96 a	2,99 d	4,83 b	3,79 c
2. Comprimento acicula (cm)	80	23,97 a	24,15 a	24,48 a	19,77 b
3. Comprimento bainha (mm)	72	18,99 a	14,68 c	19,03 b	14,74 c
4. No. fileiras estômatos lateral direita	40	5,70 a	2,73 d	5,13 b	3,43 c
5. No. fileiras estômatos lateral esquerda	40	5,53 a	2,63 c	5,03 b	5,28 ab
6. No. fileiras estômatos face externa	40	6,15 a	6,95 a	5,78 ab	5,28 b
7. No. estômatos por mm	40	12,64 b	15,84 a	12,52 b	12,96 b
8. No. dentes por mm da face lateral direita	40	5,59 a	5,10 b	4,83 bc	4,62 c
9. No. canais resiníferos	120	4,23 b	3,60 c	5,21 a	1,52 d
10. No. células endodérmicas	40	34,28 a	25,95 b	35,28 a	24,00 c
11. No. camadas de células da hipoderme	120	3,14 b	2,29 c	3,25 a	1,89 d
Freqüência da posição dos canais resiníferos	80	S=(48,67) I=(28,67) E=(18,66) M=(4,00)	M=(51,50) I=(38,50) E=(6,25) S=(3,75)	I=(55,74) M=(27,00) E=(9,00) S=(8,20)	M=(95,70) I=(4,30)

n = no. observações por espécie

E, M, I, S = canais resiníferos com posição externa, média, interna e septal, respectivamente; valores em porcentagem.

internos, 18,66% externos e 4,00% médios. Canais resiníferos com uma camada de células esclerenquimáticas.

Células endodérmicas de tamanho irregular, com parede externa espessada e em número de 25,00 - 34,28 - 42,00.

Dois feixes vasculares normalmente separados, com células de reforço (fibras esclerenquimáticas) próximas ao floema e xilema. Cristais do tipo estilóide e quadrangular nas células do parênquima de raio do floema.

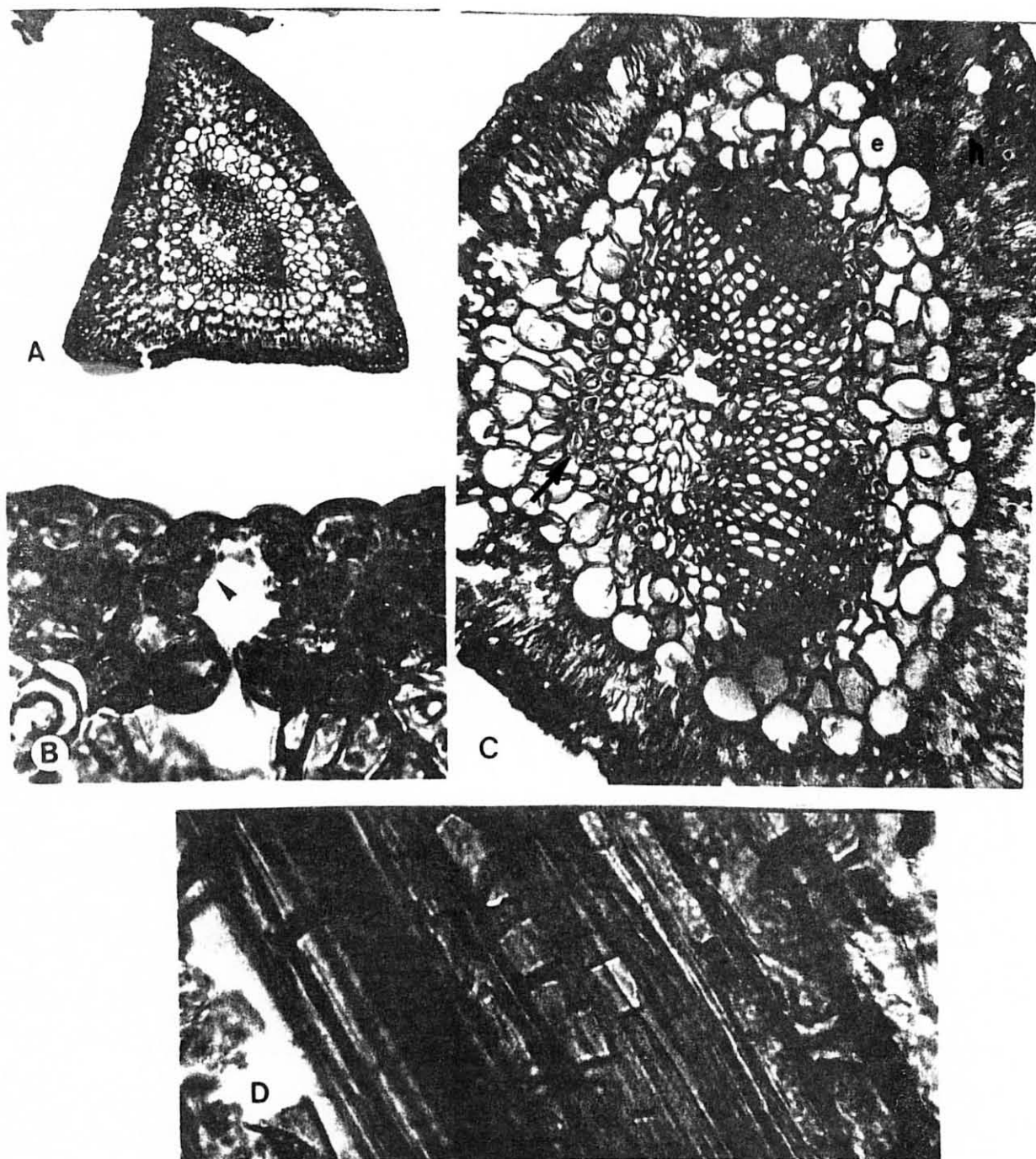


FIGURA 11. *P. oocarpa*. CORTES TRANSVERSAIS DE ACICULA-A: SEÇÃO TRANSVERSAL TRIANGULAR (80X); B: ESTOMATO COM CELULAS SUBSIDIARIAS DE PAREDE ANTICLINAL ONDULADA (SETA) - 998X; C: HIPODERME COM LEVE INTRUSÃO (h), CELULAS ENDODERMICAS (e) COM PAREDE EXTERNA ESPESSADA E TAMANHO IRREGULAR, CELULAS DE REFORÇO PRESENTES (SETAS) - 250X. CORTE LONGITUDINAL-D: CRISTAIS NAS CELULAS DO PARENQUIMA DE RAIO DO FLOEMA (998X)

4.3.2 *Pinus patula* Schiede & Deppe

Morfologia de Acicula: Aciculas com 21,10 - 24,15 - 31,00 cm de comprimento, em número de 3 (raramente 2) por fascículo. Aciculas delgadas. Bainha do fascículo com 9,00 - 14,68 - 20,00 mm de comprimento. Estômatos em número de 12,00 - 15,84 - 19,34 por mm, na face externa. Aciculas com 4,00 - 6,05 - 9,00 fileiras de estômatos na face externa, 1,00 - 2,63 - 4,00 na face lateral esquerda e 2,00 - 2,73 - 4,00 na face lateral direita; 3,44 - 5,10 - 6,56 serrações por mm na margem direita.

Anatomia de Acicula: Aciculas com secção transversal triangular.

Epiderme com células quadrangulares com a parede externa fortemente espessada e de forma convexa. Estômatos com células subsidiárias de parede anticlinal lisa.

Hipoderme com 1,00 - 2,29 - 4,0 camadas de células (sem intrusão no clorênquima).

Clorênquima com 0,0 - 3,60 - 7,0 canais resiníferos, sendo 51,50% médios, 38,50% internos, 6,25% externos e 3,75% septais e com uma camada de células esclerenquimáticas. Células endodérmicas em número de 2,0 - 25,95 - 30,00, com parede celular fina e de tamanho quase regular. Dois feixes vasculares próximos e distintos; geralmente sem células de reforço que, quando presentes, são poucas, próximas do floema e com paredes pouco escler-

pouco esclerosadas.

Presença de cristais do tipo estilóide e quadrangular nas células do parênquima de raio do floema.

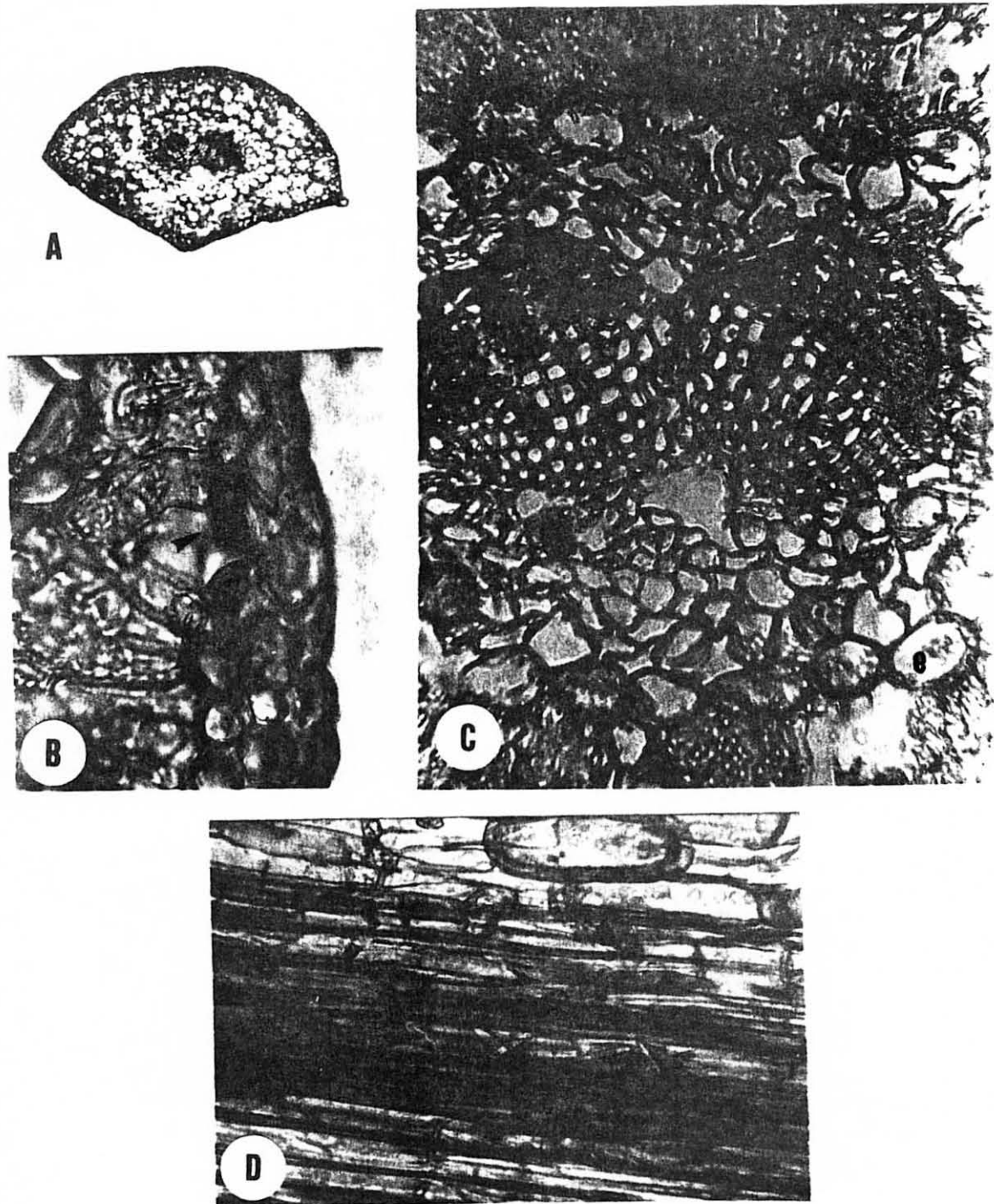


FIGURA 12. *P. patula*. CORTES TRANSVERSAIS DE ACICULA-A: SEÇÃO TRANSVERSAL TRIANGULAR (80X); B: ESTOMATO COM CELULAS SUBSIDIARIAS DE PAREDE ANTICLINAL LISA (SETA) - 998X; C: CELULAS ENDODERMICAS (e) COM PAREDE FINA E DE TAMANHO MAIS REGULAR, CELULAS DE REFORÇO AUSENTES (499X). CORTE LONGITUDINAL-D: CRISTAIS NAS CELULAS DO PARENQUIMA DE RAIJO DO FLOEMA (998X)

4.3.3 *Pinus* sp1

Morfologia de Acículas: Acículas com 17,00 - 24,28 - 29,70 cm de comprimento, predominantemente em número de 5, raramente 4 por fascículo. Acículas grossas. Bainha do fascículo com 15,00 - 19,03 - 28,00 mm de comprimento. Estômatos em número de 6,0 - 12,52 - 14,68 por mm na face externa. Acículas com 3,00 - 5,78 - 8,00 fileiras de estômatos na face externa, 3,00 - 5,03 - 8,00 na face lateral esquerda e 3,00 - 5,13 - 8,00 na face lateral direita. Serrações em número de 3,75 - 4,83 - 6,25 por mm na margem direita.

Anatomia de Acículas: Acículas com secção transversal triangular.

Epiderme com células quadrangulares com parede externa fortemente espessada e de forma convexa. Estômatos com células subsidiárias de parede anticlinal ondulada.

Hipoderme com leve intrusão no clorênquima (2,00 - 3,25 - 5,00 camadas de células).

Clorênquima com 2,00 - 5,21 - 9,00 canais resiníferos sendo 55,74% internos, 27,00% médios, 9,00% externos e 8,20% septais; com uma camada de células esclerenquimáticas.

Células endodérmicas em número de 30,00 - 35,28 - 40,00, com parede externa espessada e com tamanho irregular.

Feixes vasculares separados ou próximos e distintos.

Células de reforço (fibras esclerenquimáticas) dos dois lados dos feixes condutores.

Presença de cristais dos tipos estilóides e quadrangulares nas células do parênquima de raio do floema.

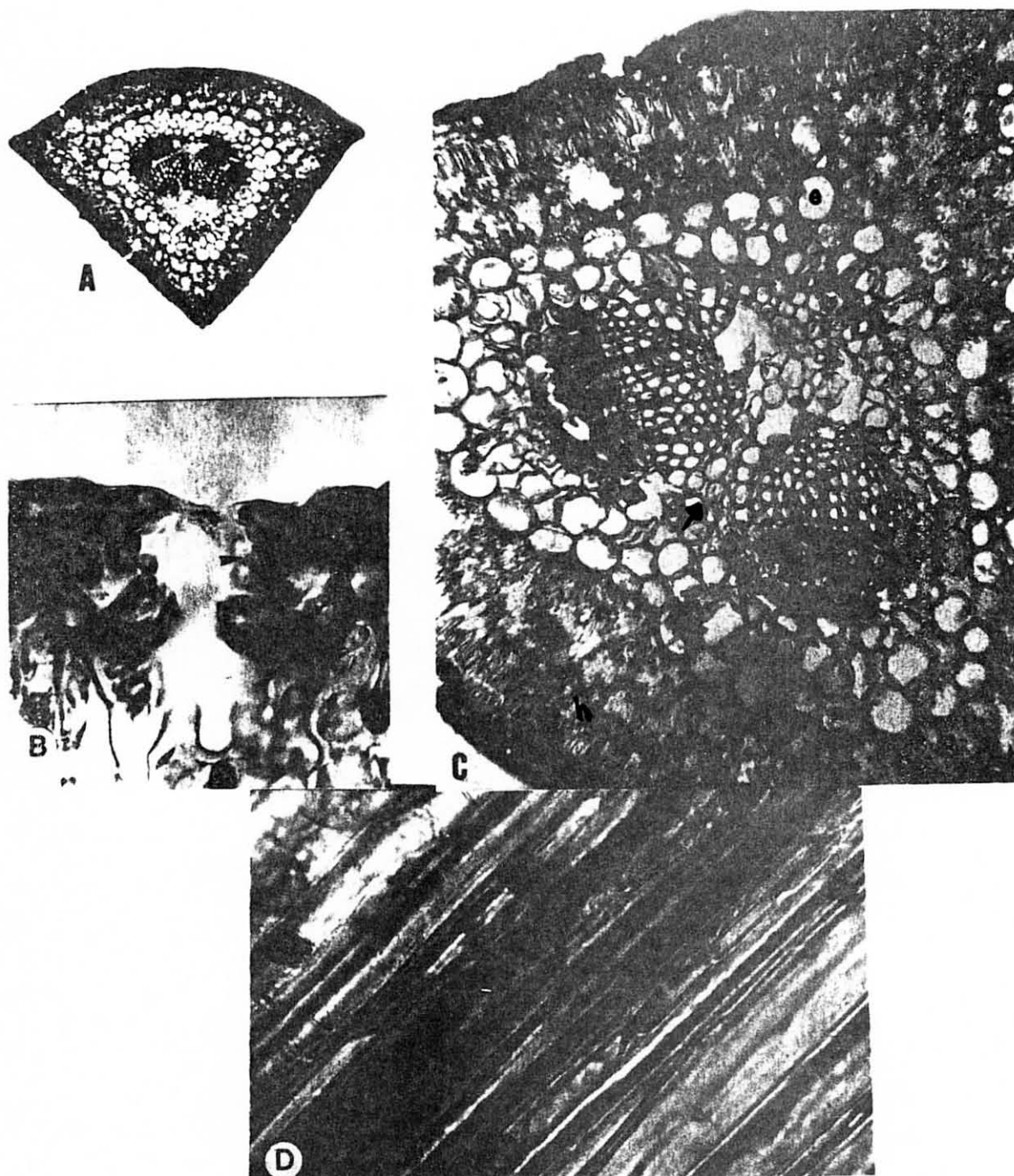


FIGURA 13. *Pinus* sp1. CORTES TRANSVERSAIS DE ACICULA - A: SEÇÃO TRANSVERSAL TRIANGULAR (80X) - B: ESTOMATO COM CELULAS SUBSIDIARIAS DE PAREDE ANTICLINAL ONDULADA (SETA) - 998X; C: HIPODERME COM LEVE INTRUSÃO (h), CELULAS ENDODERMICAS (e) COM PAREDE EXTERNA ESPESSADA E DE TAMANHO IRREGULAR, CELULAS DE REFORÇO PRESENTES (SETAS) - 250X. CORTE LONGITUDINAL - D: CRISTAIS NAS CELULAS DO PARENQUIMA DE RAIOS DO FLOEMA (998X)

4.3.4 *Pinus sp2*

Morfologia de Acicula: Fascículos com predominantemente 4 acículas, variando de 3 a 5; com 11,00 - 19,77 - 23,30 cm de comprimento. Acículas delgadas. Bainha do fascículo com 10,00 - 14,74 - 21,00 mm de comprimento. Estômatos em números de 6,00 - 12,96 - 16,68 por mm, na face externa. Acículas com 3,00 - 5,28 - 8,00 fileiras de estômatos na face externa, 2,00 - 5,28 - 6,00 na lateral esquerda e 2,00 - 3,43 - 6,00 na lateral direita.

Na margem direita, 3,75 - 4,62 - 5,94 serrações por mm de acicula.

Anatomia de Acículas: Secção transversal triangular.

Epiderme com células quadrangulares com parede externa fortemente espessada e de forma convexa. Estômatos com células subsidiárias de parede antidual ondulada.

Hipoderme sem intrusão no clorênquima (1,00 - 1,89 - 4,00 camadas de células).

Clorênquima com 0,00 - 1,52 - 2,00 canais resiníferos dos quais 95,70% são médios e 4,30% internos. Canais resiníferos com uma camada de células esclerenquimáticas.

Células endodérmicas com tamanho irregular, com parede externa espessada e em número de 19,00 - 24,00 - 30,00. Dois feixes vasculares separados ou próximos e distintos, normalmente sem células de reforço. Em algumas acículas aparecem poucas

células de reforço, próximas do floema e com paredes pouco esclerosadas.

Presença de cristais do tipo estilóide e quadragular nas células do parênquima de raio do floema.

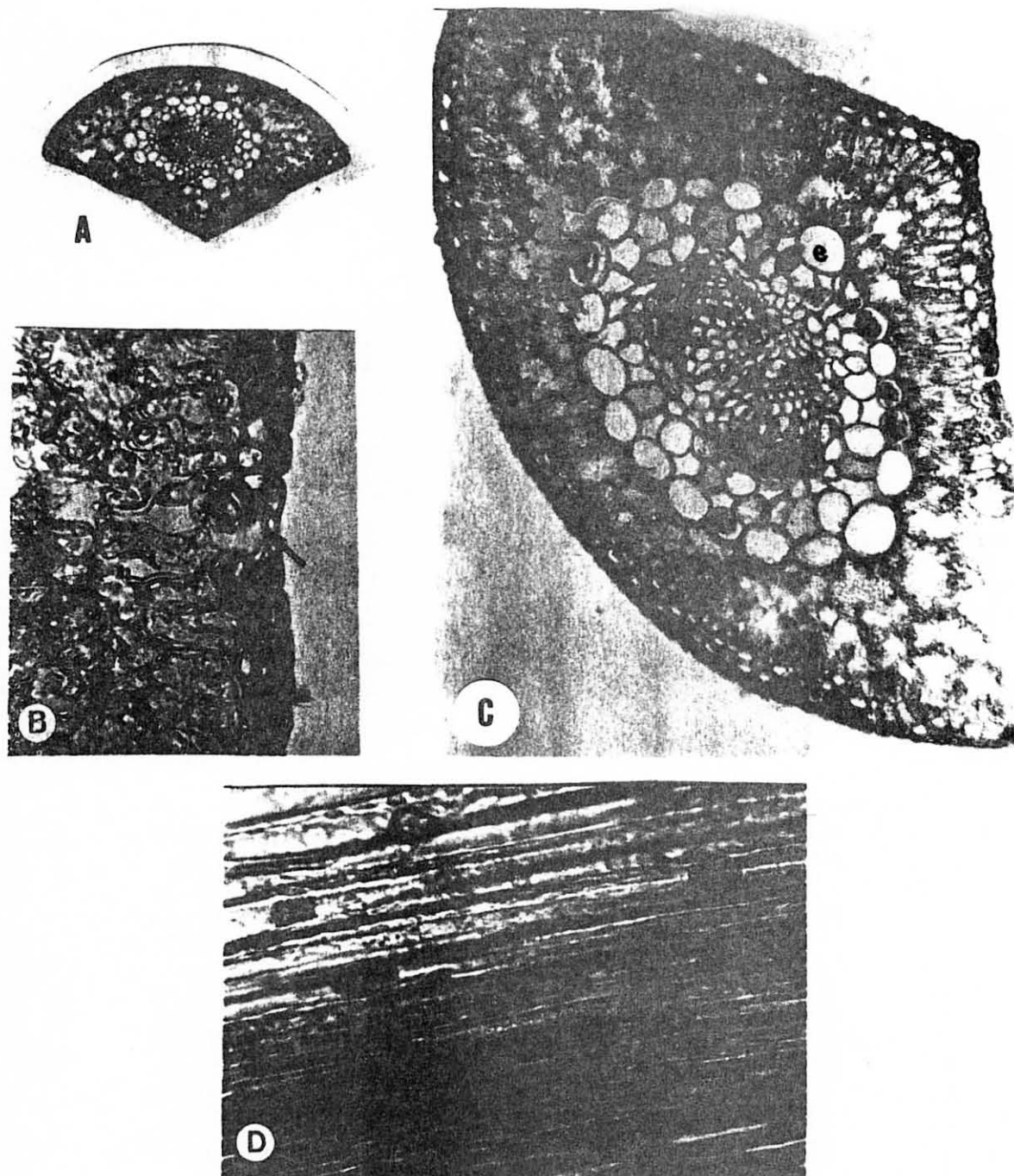


FIGURA 14. *Pinus* sp2. CORTES TRANSVERSAIS DE ACICULA - A: SEÇÃO TRANSVERSAL TRIANGULAR (80X); B: ESTOMATO COM CELULAS SUBSIDIARIAS DE PAREDE ANTICLINAL ONDULADA (SETA) - 499X; C: CELULAS ENDODERMICAS (e) COM PAREDE EXTERNA ESPESSADA E TAMANHO IRREGULAR; CELULAS DE REFORÇO AUSENTES (250X). CORTE LONGITUDINAL - D: CRISTAIS NAS CELULAS DO PARENQUIMA DE RAIOS DO FLOEMA (998X)

4.4 VARIAÇÃO INTRAESPECÍFICA

O teste F para comparação das variâncias demonstrou a existência de diferenças significativas ao nível de 1% e 5% entre árvores e entre espécies, tanto para as variáveis cromossômicas como para as de madeira e acículas (Tabelas A1 e A6). A maior variação, no entanto, ficou para as diferenças interespecíficas.

Através da aplicação do teste de Tukey para a comparação das médias entre árvores para cada espécie verificou-se que para as variáveis cromossômicas, a maior diferença ocorreu principalmente entre as árvores de *P. oocarpa*, seguida pelas de *Pinus* sp1. As árvores de *P. patula* não mostraram variação para as características cromossômicas.

Uma das árvores de *P. oocarpa* mostrou-se significativamente diferente das demais para 9 dos 12 cromossomas. Em todos os casos onde houve diferença, esta ocorreu quanto ao comprimento dos braços maiores ou menores, ou, quanto ao comprimento total do cromossoma e, sempre, os comprimentos foram menores que os das demais árvores. Os valores obtidos para os cromossomas desta árvore aproximam-se daqueles encontrados para *Pinus* sp1, o qual apresentou comprimentos de B1, B2 e conseqüentemente CT, menores que os de *P. oocarpa*. Como a seleção das árvores de *P. oocarpa* e *Pinus* sp1 foi feita em um mesmo povoamento baseada em caracteres fenotípicos, poder-se-ia sugerir que houve um erro de amostragem

e que essa árvore seria uma representante de *Pinus* sp1. Se assim fosse, a presença dessa árvore entre as árvores de *P. oocarpa* teria diminuído a diferença entre este táxon e *Pinus* sp1. Como os resultados das características de madeira e acículas não se comportaram dessa maneira, uma explicação para a variação no comprimento entre cromossomas correspondentes entre árvores de uma espécie poderia ser ocorrência do fenômeno do cromossoma pegajoso (sticky phenomenon).

Esse fenômeno, muito comum entre as espécies de *Pinus* (BORZAN & PAPES⁵) poderia ser a causa da extensão de certos cromossomas, o que levaria à variação no comprimento entre os cromossomas. Durante o desenvolvimento deste trabalho, no período de seleção das melhores metáfases, pôde-se notar uma maior facilidade na obtenção de metáfases com cromossomas espalhados em *P. patula*. A maior dificuldade ocorreu para *P. oocarpa* e *Pinus* sp1. Desde que a mesma técnica foi utilizada para as três espécies, pode-se sugerir que a ocorrência deste fenômeno depende da espécie e que ele aparece com maior frequência em *P. oocarpa* e *Pinus* sp1, sendo menos frequente em *P. patula*.

Segundo uma revisão de BORZAN & PAPES⁵, esse fenômeno¹ foi considerado como um comportamento normal (BORZAN, 1977),

1. BORZAN, Z. Contribution to the karyotype analysis of the European black pine (*Pinus nigra* Arn.). Ann. Forest, 8(3):29-50, 1977.

descrito como frequente na meiose (KLASTERSKA & NATARAJAN, 1975)¹, resultante de mutação gênica (BEADLE, 1932)², ou induzido por radiação gama (RAO & RAO, 1977)³. Mc GILL et alii (1974)⁴ mostraram que o brometo de etídio causa uma alta incidência de cromossoma pegajoso em cultura de células de mamíferos e verificou ao microscópio eletrônico que ocorrem conexões submicroscópicas de várias larguras de cromatina periférica entre cromossomas não homólogos. MARKS³² observou que em muitas espécies, a omissão do fixador etanol-acético durante o processo de preparação dos cromossomas a partir de pontas de raízes, diminuiu muito o aparecimento de cromossomas pegajosos na metáfase.

A variação intraespecífica para as características de madeira e acículas foi grande; para a maioria das variáveis houve diferença significativa a nível de 5% para os 4 taxa estudados.

Esta variação era esperada uma vez que as espécies do gênero *Pinus* são alógamas e, as estudadas neste trabalho, princi-

1. KLASTERSKA, I. & NATARAJAN, A.T. Stickiness in *Rosa* meiosis induced by hybridisation. *Carvologia*, 28:81-88, 1975.

2. BEADLE, G.W. A gene for sticky chromosomes in *Zea mays*. *Ztschr. f. ind. Abst. Vererbungslehre*, 63:195-217, 1932.

3. RAO, P.N. & RAO, R.N. Gamma-ray induced meiotic chromosome stickiness in tomato. *Theor. Appl. Genet.*, 50:247-252, 1977.

4. Mc GILL, M.; PATHAK, S. & HSU, T.C. Effects of ethidium bromide on mitosis and chromosomes: a possible material basis for chromosome stickiness. *Chromosoma* (Berl.), 47:157-166, 1974.

palmente *P. oocarpa*, *Pinus sp1* e *Pinus sp2* tem ampla distribuição geográfica. As populações que ocorrem em habitats de diferentes condições ecológicas adaptam-se de maneira diferente e, embora sejam classificadas como pertencentes a uma espécie, geralmente variam na expressão do seu genoma em função de sua adaptação a diferentes habitats. A variação na expressão da constituição genética pode também ocorrer dentro de um mesmo habitat. EGUILUZ¹⁰ em seu trabalho sobre a variação geográfica do *Pinus* de Tecun Umán verificou que este apresenta um padrão de variação descontínuo e que as maiores diferenças ocorreram entre árvores dentro de uma mesma região.

4.5 VARIAÇÃO INTERESPECÍFICA

Apesar da homogeneidade observada quanto ao comprimento dos cromossomas entre *P. oocarpa* e *P. patula*, algumas diferenças ocorreram como a relação de braços do cromossoma III, a posição das constrictões secundárias, a seqüência dos cromossomas com centrômero mais mediano e uma tendência de maior complemento para *P. patula* (Tabelas 1 e 2).

Pinus sp1, no entanto, mostrou-se significativamente diferente de *P. oocarpa* e *P. patula*, com algumas exceções, onde apresentou-se igual ao *P. oocarpa* (Tabela 1). As diferenças foram devidas ao comprimento de B1 e B2 o que levou a diferenças em CT, CTLH e IM. O complemento cromossômico de *Pinus sp1* é menor que o das outras duas espécies.

Contudo, é preciso observar que o comprimento relativo dos cromossomas não mostrou diferenças interespecíficas e que a morfologia, com exceção dos cromossomas III, X e XII (Tabela 2), não apresentou variação. Essa variação no comprimento dos braços maior e menor leva-nos a concordar com aqueles autores que estudaram o cariótipo do gênero *Pinus* e concluíram que a evolução de suas espécies se deu principalmente devido a ocorrência de mutações gênicas e pequenas deleções e/ou adições cromossômicas.

A pequena diferença entre o comprimento dos cromossomas adjacentes no idiograma, principalmente entre os cromossomas de

II a X, aconteceu de modo semelhante para as três espécies. Como a diferença entre I e II; X e XI; XI e XII foi maior, existiu menor risco destes cromossomas terem sido colocados na ordem reversa. O cromossoma I é o maior (visivelmente maior que o II), os cromossomas XI e XII são os menores e além disso, o XII é submetacêntrico, e ambos diferem do comprimento de seus adjacentes (Figura 2).

Pode-se deduzir, portanto, que a variação observada para os cromossomas I, XI e XII é próxima da variação efetiva, e que a variação observada para os demais é muito baixa em relação à variação efetiva de seus comprimentos e que poderia ter ocorrido um risco na reversão da ordem para os cromossomas II a X.

Levando em consideração que a ordem reversa é um fato entre cromossomas de espécies de *Pinus* (MATERN & SIMAK^{34,35} e CHETTY et alii⁶), devido à semelhança no comprimento e morfologia, as constrições secundárias, poderiam facilitar a identificação de cromossomas individuais. O idiograma (Figura 15) mostra que houve coincidência de ocorrência de CS medianas no braço menor do cromossoma I das três espécies; no braço menor do cromossoma VIII de *P. patula* e *Pinus sp1* e no braço maior do cromossoma III de *P. oocarpa* e *P. patula*. As demais CS observadas foram de localização específica.

No entanto, a diferenciação de cromossomas individuais seria possível se a frequência de distribuição das CS fosse mais

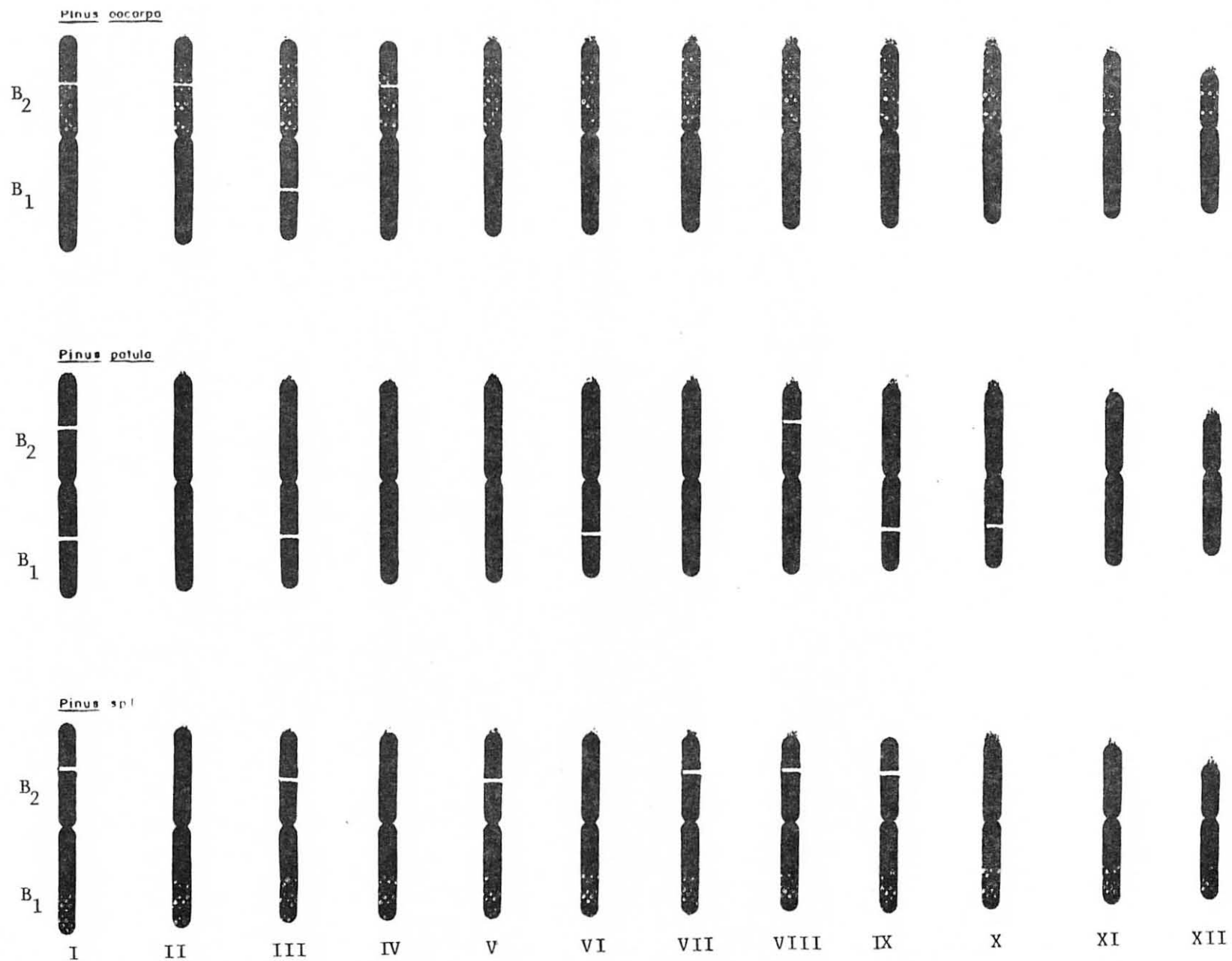


FIGURA 15. IDIOGRAMA DOS CROMOSSOMAS I A XII DE *P. oocarpa*, *P. patula* E *Pinus sp1*. AS FALHAS NOS BRAÇOS CROMOSSOMICOS INDICAM A LOCALIZAÇÃO DAS CONSTRIÇÕES SECUNDARIAS. AUMENTO DE 3125X. B1 = BRAÇO MAIOR; B2 = BRAÇO MENOR

consistente de uma célula para outra. Durante a observação e análise das metáfases mitóticas verificou-se uma alta variação na frequência e posição da CS, a qual parece estar relacionada com a distensão e contração de partes dos cromossomas. Os cromossomas de *Pinus*, sendo longos, são sensíveis às pressões de esmagamentos que, aliadas ao fenómeno sticky, fazem com que apareçam diferentes níveis de contração dificultando a observação das constrições secundárias ou afetando a posição em relação ao centrômero e a visualização das mesmas. Isto poderia ser atribuído, em parte, às técnicas citogenéticas usadas na cariotipagem (KAYA²⁵, SAYLOR⁴⁷) ou poderia ser inerente à baixa atividade das regiões organizadoras dos nucléolos, uma vez que nem sempre uma CS representa uma região de organização do nucléolo (MACPHERSON & FILION³⁰; SATO et alii⁴⁴; SAYLOR⁴⁸).

Pelo exposto, pode-se concluir que as CS não podem ser utilizadas como um critério único para a identificação de cromossomas de espécies de *Pinus*, mas podem ser usadas como marcadores adicionais, como argumenta KAYA²⁵.

O uso de métodos de coloração diferencial poderia tornar possível encontrar diferenças interespecíficas. O bandeamento NOR, o qual evidencia as regiões organizadoras do nucléolo, poderia permitir a melhor localização das constrições secundárias. A obtenção de bandas C também poderia informar quantitativamente o DNA altamente repetitivo o que seria de utilidade para

diferenciação das CS. Durante o período de preparação das lâminas utilizou-se a coloração convencional, a coloração com nitrato de prata para a obtenção de bandas NOR e a coloração com Giemsa para a obtenção de bandas C. Não se obteve resultados satisfatórios para ambas as técnicas de bandeamento. As poucas metáfases onde se conseguiu bandas C, foram em *Pinus sp1*, as quais apresentaram cromossomas sobrepostos impedindo a caracterização dos mesmos (Figura 16).

Neste trabalho, o cariótipo das três espécies foi organizado de acordo com o comprimento do braço menor. A partir daí foi determinado o padrão dos braços maiores dos cromossomas. Essa metodologia foi empregada com o objetivo de comparar os cariótipos de *P. occarpa* e *P. patula*, anteriormente analisados por SAYLOR⁴⁹. Diferente do que foi observado por esse autor, não se encontrou, após a caracterização do idiograma de cada espécie pelas médias das árvores, cromossomas apresentando comprimento de B1 interrompendo a ordem decrescente dos cromossomas (Tabela 1). Isto indica que o arranjo dos cromossomas poderia ter sido feito utilizando B1 ou B2 e que a metodologia utilizada para as medições dos cromossomas nas fotografias, através do videoplan, foi apropriada.

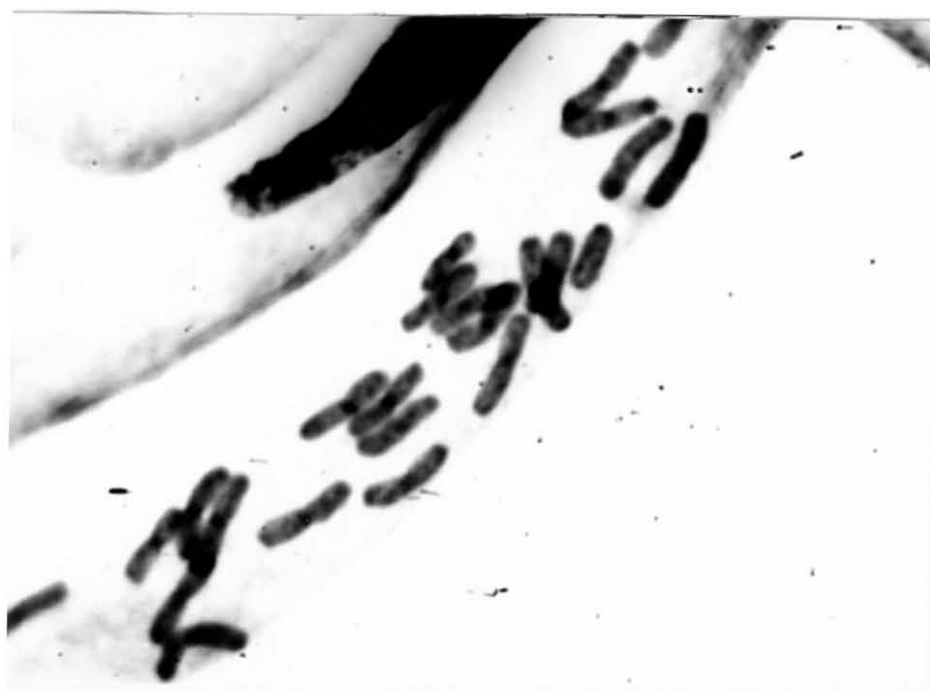


FIGURA 16. METAFASE MITOTICA DE *Pinus sp1* MOSTRANDO CROMOSSOMAS APRESENTANDO BANDAS C CENTROMERICAS E TELOMERICAS. AUMENTO 1950X

De acordo com o que foi observado, as diferenças mais marcantes entre os três taxa foram:

- a) o complemento cromossômico de *Pinus sp1* diferiu das 2 outras espécies, ficando mais próximo do complemento cromossômico de *P. oocarpa*;
- b) os comprimentos dos braços maiores dos cromossomas I, II, VII e IX e dos braços menores de I, II, III e XI de *Pinus sp1* não diferiram significativamente dos de *P. oocarpa*;
- c) os cromossomas I, II, III e V de *P. oocarpa* e *Pinus sp1* foram os mais metacêntricos enquanto que de *P. patula*, foram os cromossomas I, II, IV e V;
- d) o cromossoma IV quebrou a ordem decrescente dos valores de

relação de braços e índice centromérico em *Pinus* sp1 e *P. oocarpa*.

e) a frequência de metafases com cromossomas pegajosos foi maior em *P. oocarpa* e *Pinus* sp1 e menor em *P. patula*.

Considerando esses itens e que não houve diferença significativa quanto ao comprimento relativo dos cromossomas entre as três espécies, pode-se afirmar que o complemento cromossômico de *Pinus* sp1 aproxima-se mais do de *P. oocarpa* que de *P. patula*.

SAYLOR⁴⁹, quando comparou o cariótipo das espécies da subseção *Oocarpae*, concluiu que as espécies da Califórnia (*P. radiata*, *P. muricata* e *P. attenuata*) apresentam padrão cromossômico diferente daquelas da América Latina (*P. oocarpa*, *P. patula*, *P. greggii* e *P. pringlei*) e, que as da América Latina formam um grupo menos uniforme. Suas conclusões basearam-se naqueles cromossomas cujos braços maiores quebraram a ordem de seqüência descendente de comprimento e nos valores de relação de braços.

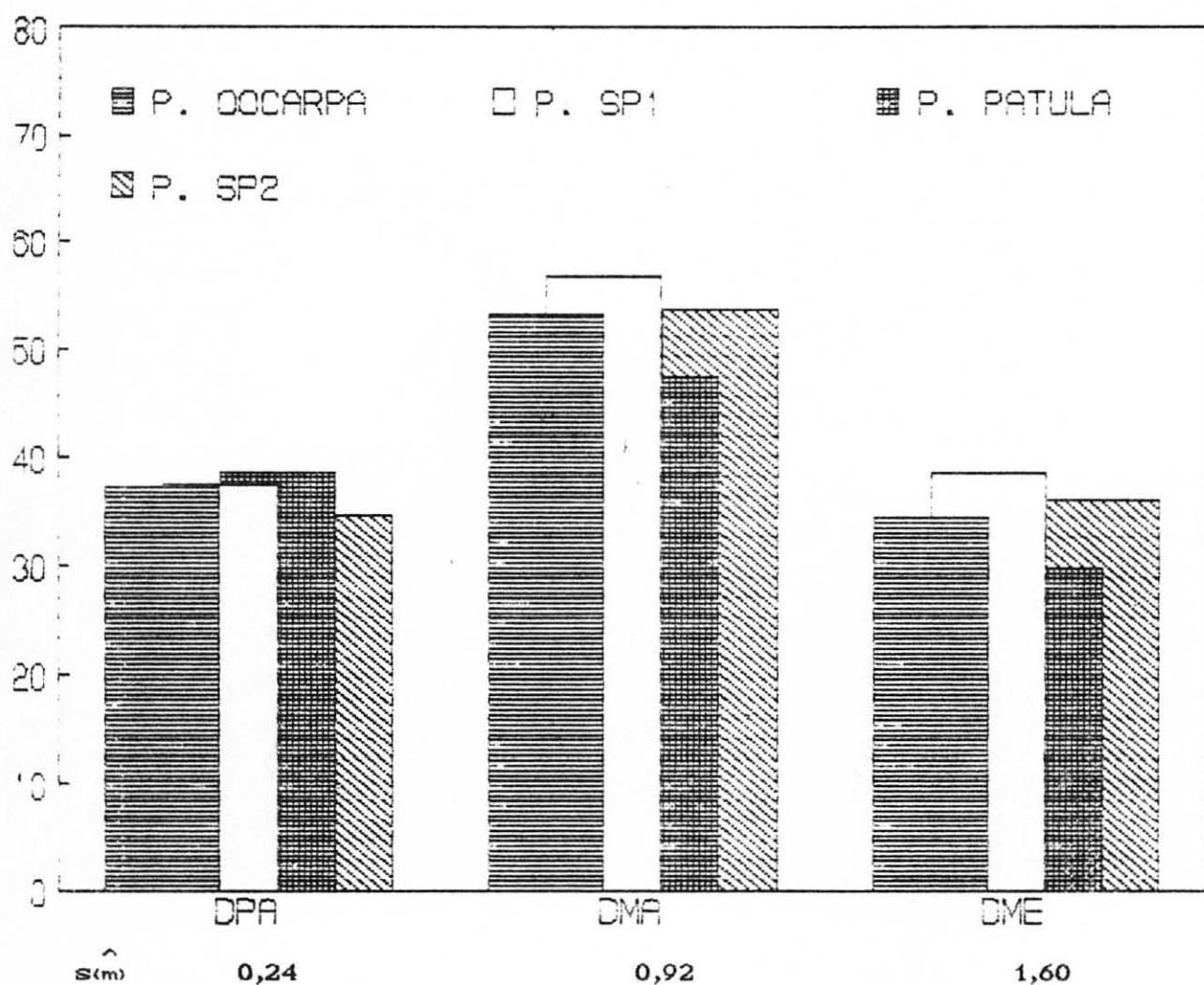
Quanto à estrutura da madeira e acículas, houve diferença significativa interespecífica para todas as características (Tabelas 3 e 4).

Comparando as médias dos quatro taxa, verifica-se que eles podem ser separados em dois grupos, isto é, aquele onde estariam *P. oocarpa* e *Pinus* sp1 e um segundo, onde ficariam *P. patula* e *Pinus* sp2. Dentro desses dois grupos, com algumas ex-

ceções, ou as médias são semelhantes ou, apesar de diferirem significativamente a nível de 5%, apresentam-se muito próximas. Este agrupamento também foi observado para características não mensuráveis como forma de indenturas nos traqueóides radiais, forma da parede celular de células subsidiárias dos estômatos, posição de canais resiníferos, intrusão da hipoderme no clorênquima e presença de células de reforço.

Comparações das variáveis mensuráveis de madeira e acículas podem ser observadas nas figuras 17 a 21. Características como número de raios (Figura 18), altura de raios (Figura 19), número de acículas por fascículo, número de camadas da hipoderme (Figura 20), comprimento da bainha do fascículo, e número de células endodérmicas (Figura 21), que são comumente utilizadas para fins de classificação, evidenciaram a separação dos taxa nos dois grupos citados anteriormente. E ainda, com exceção do comprimento de bainha do fascículo, *Pinus patula* e *Pinus sp2*, diferiram mais entre si do que *P. oocarpa* e *Pinus sp1*.

Características secundárias como diâmetro das pontuações areoladas dos traqueóides axiais (Figura 17) e dos traqueóides radiais (Figura 18), entre outras, também apresentaram-se como as características primárias, isto é, confirmando a ocorrência dos dois grupos e enfatizando que apesar de *P. patula* e *Pinus sp2* pertencerem ao mesmo grupo, apresentam diferenças que permitem separá-los em categorias taxonômicas distintas.



LEGENDA:

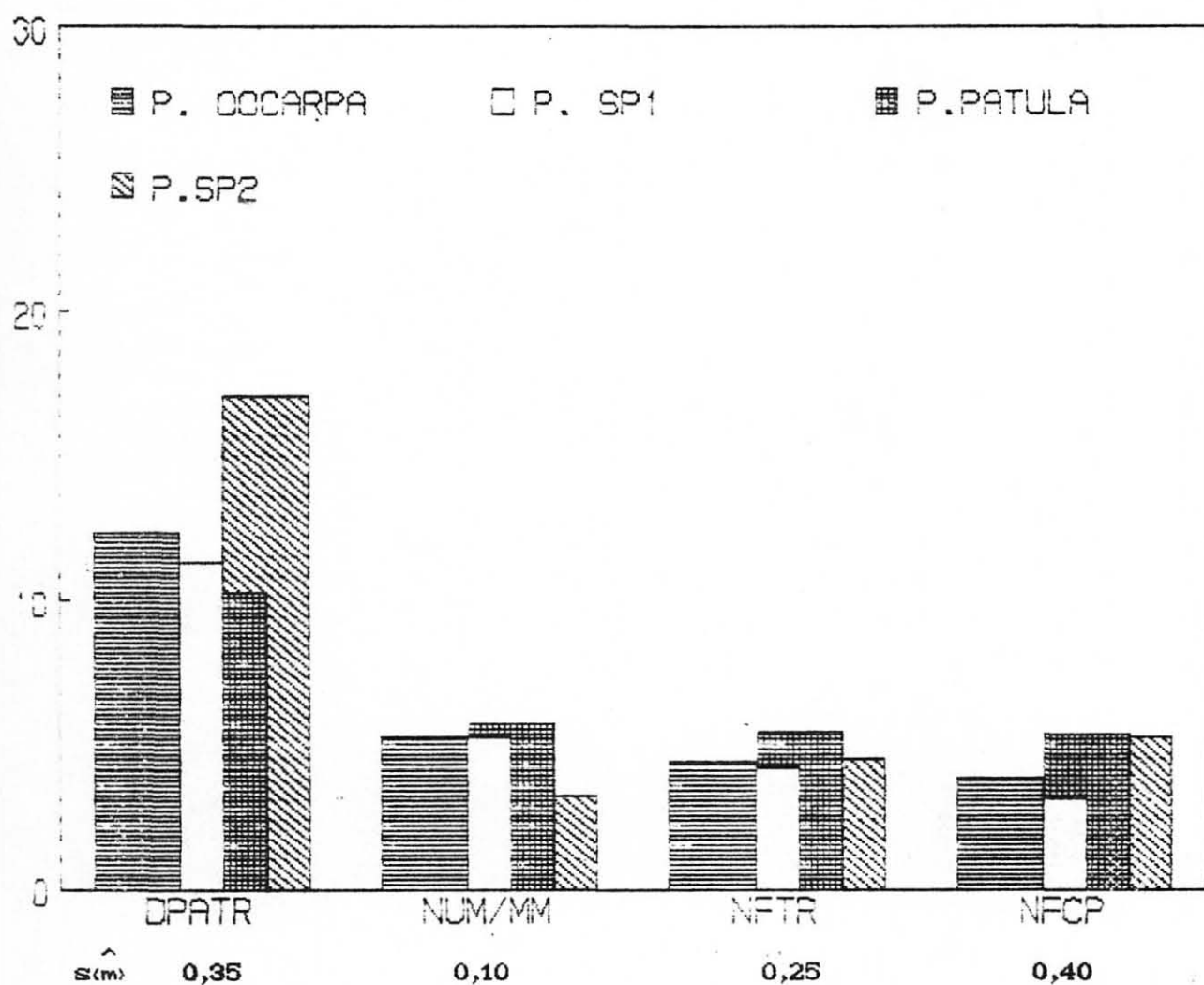
DPA: Diâmetro das pontuações areoladas dos traqueóides axiais (μm).

DMA: Diâmetro total dos traqueóides axiais (μm).

DME: Diâmetro do lumen dos traqueóides axiais (μm).

$\hat{s}(m)$: Erro padrão da média.

FIGURA 17. COMPARAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DOS TRAQUEÓIDES AXIAIS ENTRE *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus sp₁* e *Pinus sp₂*



LEGENDA:

DPATR: Diâmetro das pontuações areoladas dos traqueóides radiais (μm).

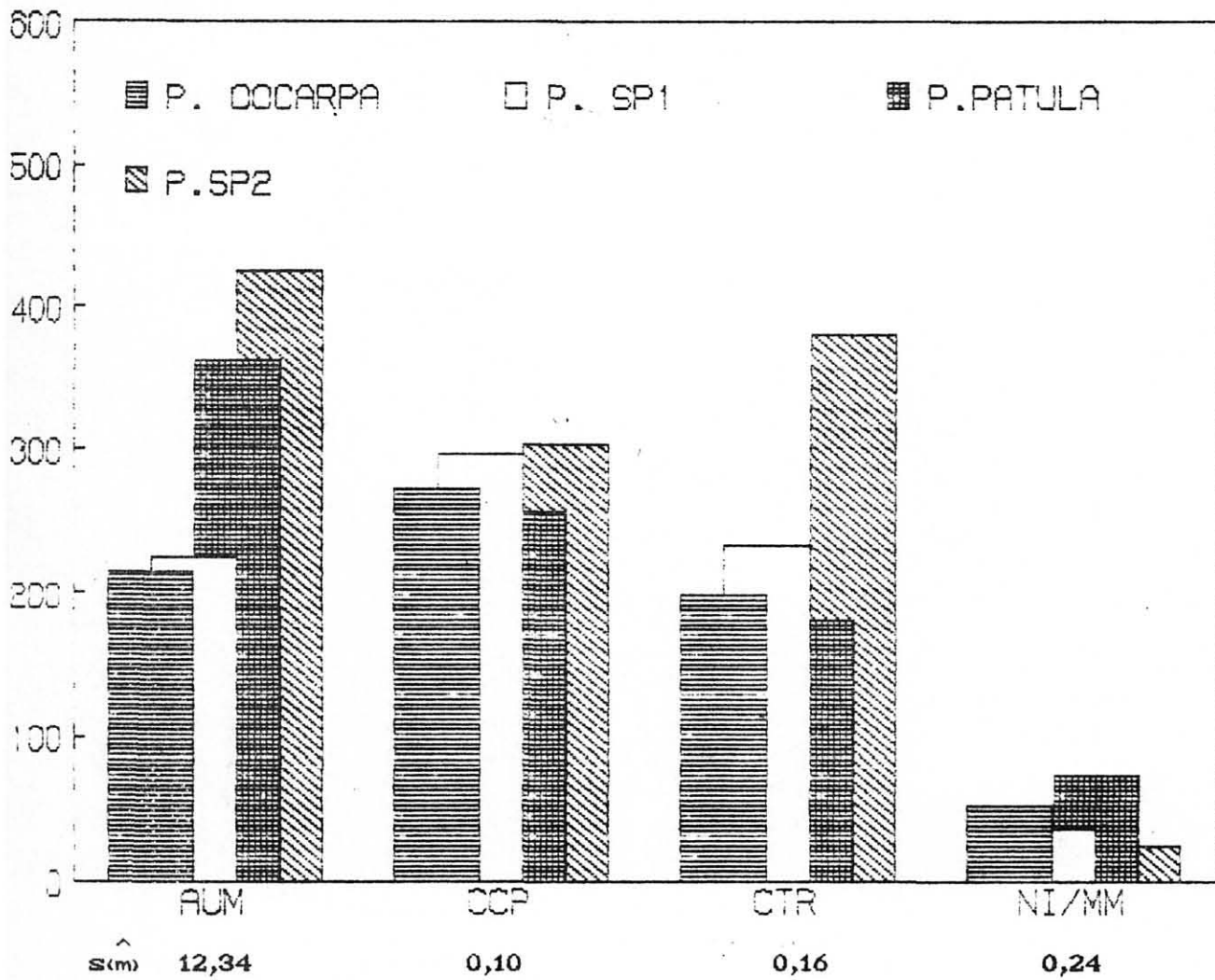
NUM/MM: Número de raios por milímetro.

NFTR: Número de fileiras de traqueóides radiais.

NFCP: Número de fileiras de células parenquimáticas.

$\hat{s}(m)$: Erro padrão da média.

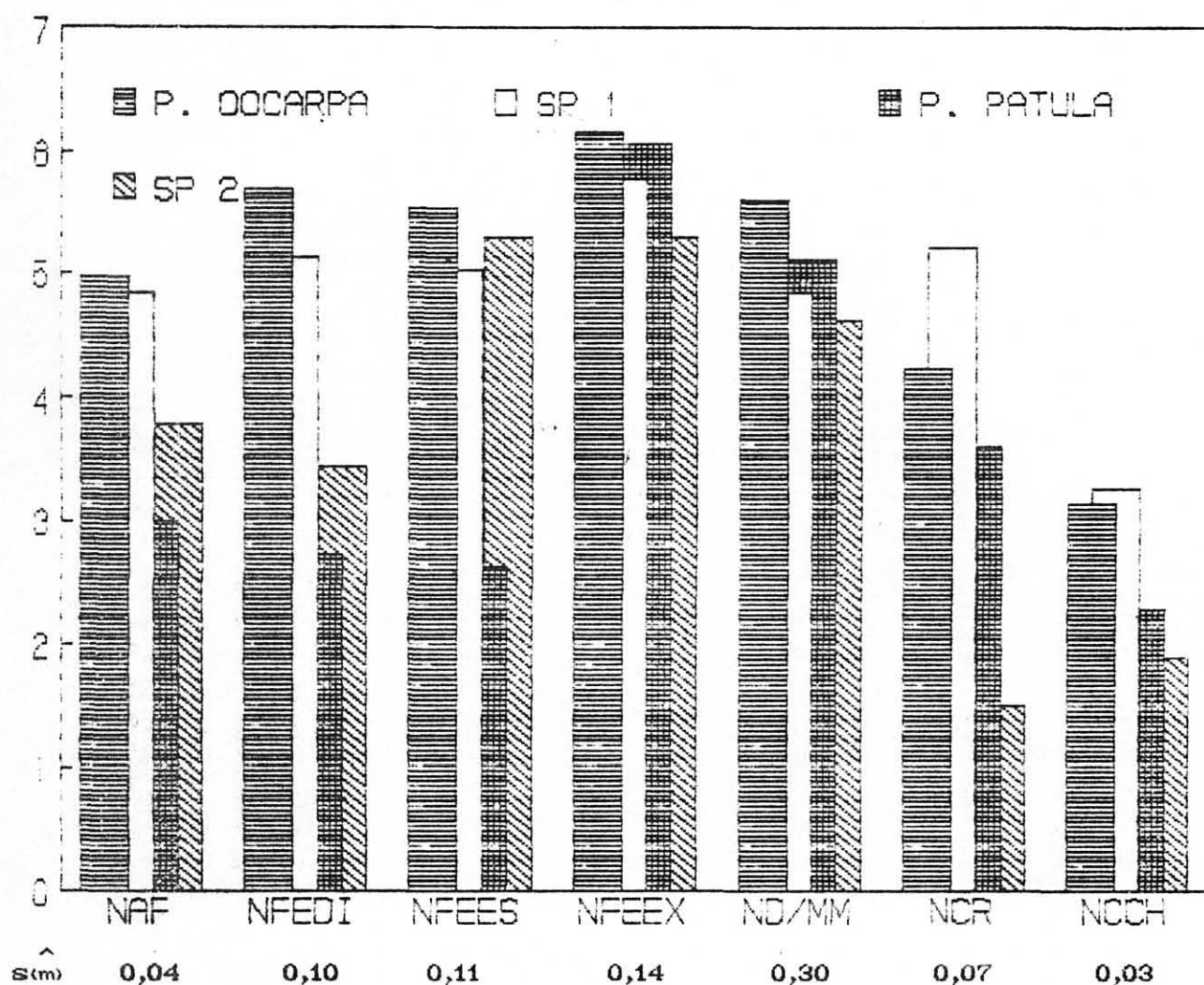
FIGURA 18. COMPARAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DE RAIOS (DIÂMETRO DE PONTUAÇÕES AREOLADAS, NÚMERO DE RAIOS, NÚMERO DE FILEIRAS DE TRAQUEÓIDES RADIAIS, NÚMERO DE FILEIRAS DE CÉLULAS PARENQUIMÁTICAS) ENTRE *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus sp₁* e *Pinus sp₂*



LEGENDA:

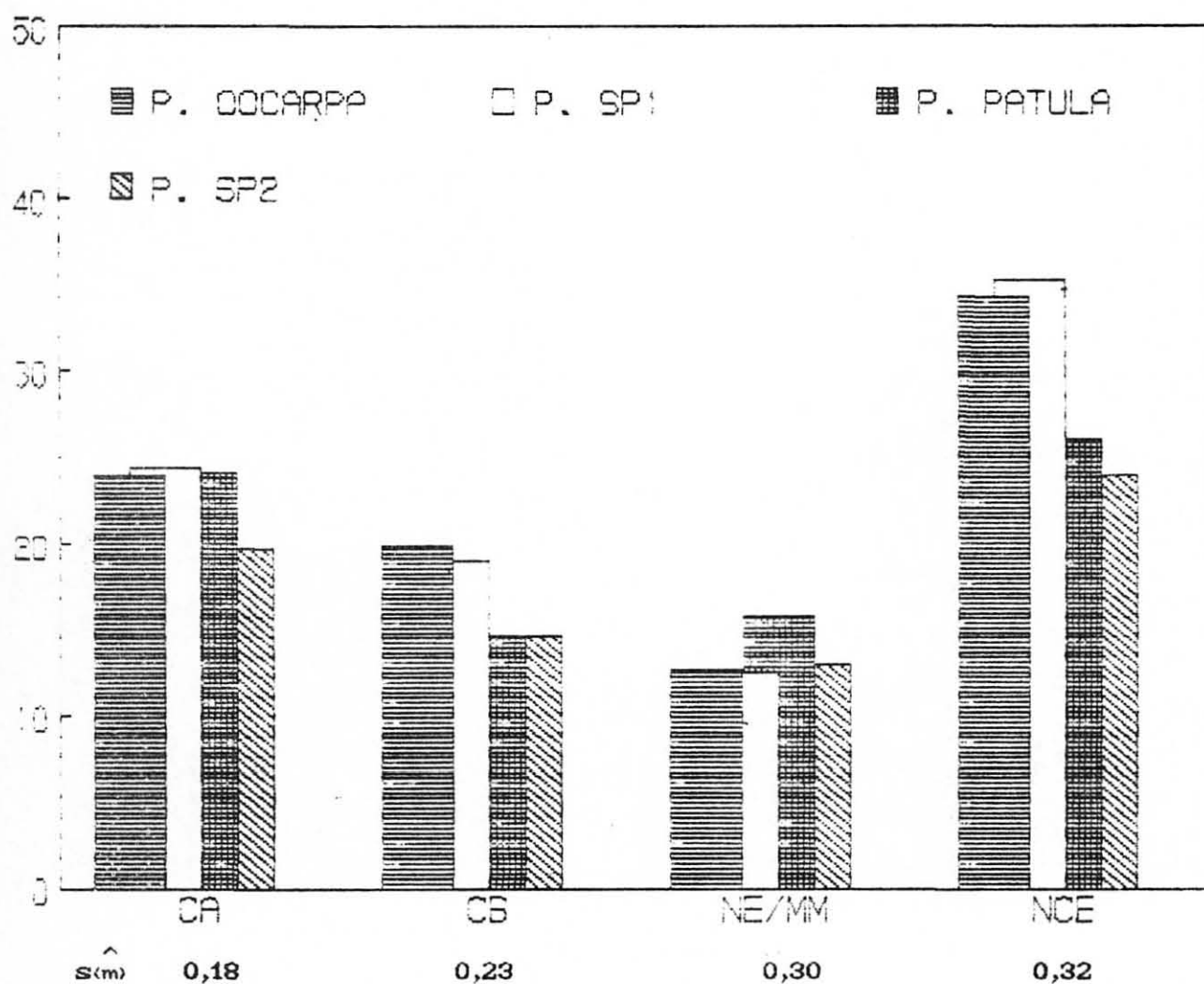
- AUM:** Altura dos raios em micrômetros.
CCP: Comprimento das células parenquimáticas (μm).
CTR: Comprimento dos traqueóides radiais (μm).
NI/MM: Número de indenturas por milímetro.
 $\hat{s}(m)$: Erro padrão da média.

FIGURA 19. COMPARAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DE RAIO (ALTURA, COMPRIMENTO DE CÉLULAS PARENQUIMÁTICAS, COMPRIMENTO DE TRAQUEÓIDES RADIAIS, NÚMERO DE IDENTURAS) ENTRE *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus sp₁* e *Pinus Sp₂*

**LEGENDA:**

- NAF:** Número de acículas por fascículo.
NFEDI: Número de fileiras de estômatos na face lateral direita.
NFEES: Número de fileiras de estômatos na face lateral esquerda.
NFEEX: Número de fileiras de estômatos na face externa.
ND/MM: Número de dentes por milímetro.
NCR: Número de canais resiníferos.
NCCH: Número de camadas de células da hipoderme.
 $\hat{s}(m)$: Erro padrão da média.

FIGURA 20. COMPARAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DE ACÍCULAS ENTRE *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus sp₁* e *Pinus sp₂*



LEGENDA:

- CA: Comprimento de acícula (cm).
 CB: Comprimento da bainha do fascículo (mm).
 NE/MM: Número de estômatos por milímetro.
 NCE: Número de células endodérmicas.
 s(m): Erro padrão da média.

FIGURA 21. COMPARAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DE ACÍCULA (COMPRIMENTO DE ACÍCULA E BAINHA, NÚMERO DE ESTÔMATOS E DE CÉLULAS ENDODÉRMICAS) ENTRE *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus sp₁* e *Pinus sp₂*

4.5.1 Chave Dicotômica para Identificação de *Pinus oocarpa*, *Pinus patula*, *Pinus* sp1, e *Pinus* sp2, Utilizando Características de Madeira e Acículas.

1. Raios unisseriados baixos com menos de 650 μ m de altura, com geralmente 3 a 4 fileiras de células parenquimáticas. Traqueóides radiais com indenturas pronunciadas com formas trapezoidal irregular, ondulada e pontiaguda. Fascículos com bainhas de 20 mm de comprimento, variando entre 15 e 28 cm. Acículas grossas, com estômatos de células subsidiárias de parede anticlinal ondulada; canais resiníferos septais ou internos; 25 a 42 células endodérmicas com parede externa espessada; hipoderme com leve intrusão no clorênquima e células de reforço presentes nos 2 lados dos feixes condutores.....2
2. Traqueóides radiais com numerosas indenturas (53 por mm), formando muitos espessamentos espiralados. Acículas com lateral direita com geralmente 6 dentes por mm; com 2 a 6 canais resiníferos, predominando 4, principalmente septais*P. oocarpa*
- 2^a. Traqueóides radiais com poucas indenturas (38 por mm). Acículas com lateral direita com geralmente 5 dentes por mm, com 2 a 9 canais resiníferos, predominando 5, principalmente internos
.....*Pinus* sp1: (variante de *P. oocarpa*)

- 1'. Raios unisseriados altos com até 1020 μ m de altura, geralmente com mais de 5 fileiras de células parenquimáticas. Traqueóides radiais com indenturas pouco pronunciadas com formas pontiagudas e/ou ondulada. Fascículos com bainha de 15 μ m, variando entre 9 e 21 μ m. Acículas delgadas, com estômatos de células subsidiárias de parede anticlinal lisa ou ondulada; canais resiníferos médios; 19 a 30 células endodérmicas com parede externa fina ou espessa; hipoderme sem intrusão no clorênquima e ausência de células de reforço 3
3. Número de raios normalmente 6, variando de 3 a 10 por mm; traqueóides radiais mais curtos, medindo em média 182 μ m de comprimento, com numerosas indenturas (geralmente 73 por mm) com forma pontiaguda. Traqueóides radiais com pontuações aeroladas de 10 μ m de diâmetro. Traqueóides radiais marginais com forma muito irregular. Fascículos com predominantemente 3 acículas (raramente 2), normalmente com 24 μ m de comprimento, podendo variar entre 21 e 31 μ m. Geralmente 3 canais resiníferos, podendo estar ausentes ou em número de até 7. Acículas com células endodérmicas com parede externa fina. Estômatos com células subsidiárias de parede anticlinal lisa *P. patula*

3'. Número de raios normalmente 3, variando de 1 a 6 por mm; traqueóides radiais mais longos, medindo em média 380 um de comprimento, com poucas indenturas (geralmente 26 por mm), com formas pontiaguda e ondulada. Traqueóides radiais com pontuações areoladas de 17 um de diâmetro. Traqueóides radiais marginais com forma normalmente regular. Fascículos com predominantemente 4 acículas (raramente 3 ou 5) normalmente com 20 cm de comprimento, variando entre 11 e 23 cm. Geralmente 2 canais resiníferos, podendo estar ausentes. Acículas com células endodérmicas com parede externa espessada. Estômatos com células subsidiárias de parede anticlinal ondulada.....
*Pinus* sp2: *P. patula* ssp *tecunumanii*

4.6 POSIÇÃO TAXONOMICA DE *Pinus* sp1 e *Pinus* sp2

Pinus sp1, apesar de apresentar o comprimento de seus cromossomas significativamente diferente de *P. oocarpa* e *P. patula*, apresentou um padrão cariotípico e comportamento dos cromossomas (fenômeno sticky) mais próximos do de *P. oocarpa*. As características de madeira e acículas também definem bem a aproximação deste táxon com *P. oocarpa*.

Portanto, pode-se dizer que as árvores fenotipicamente diferentes observadas no povoamento de *P. oocarpa* implantado pela Freudenberg Agro Florestal Ltda e Cia. não pertencem ao *Pinus* de Tecun Umán, mas sim, à espécie *P. oocarpa*. As diferenças observadas podem ser resultantes da alta variação intraespecífica ou podem indicar que as sementes utilizadas na implantação eram provenientes de povoamentos mistos e, portanto, resultantes de introgressão. Dada a excelente adaptação dessas árvores, poderiam ser utilizadas no desenvolvimento de uma raça local.

Pinus sp2, avaliado somente quanto às características de madeira e acículas, mostrou claramente que está mais próximo de *P. patula*. Os resultados do presente estudo estão de acordo com aqueles obtidos por STYLES⁵⁵ e como os dele, são indicativos de que *Pinus* sp2 deve ter a categoria subespecífica e ser considerado como *P. patula* subesp. *tecunumanii*.

5 CONCLUSÕES

- 1 As características de madeira e acículas permitiram a distinção das espécies com maior facilidade do que as características cromossômicas.
- 2 As variáveis cromossômicas que mais contribuíram para a separação dos taxa foram: comprimento dos braços maior e menor, comprimento total dos cromossomas, relação de braços e comprimento relativo.
- 3 Entre as características de madeira, as mais indicadas para a separação dos taxa foram: altura e número dos raios por mm, comprimento dos traqueóides radiais, diâmetro das pontuações areoladas dos traqueóides radiais, número por mm e forma das indenturas dos traqueóides radiais, forma de traqueóides marginais.
- 4 Entre as características de acículas, as mais indicadas para a separação dos taxa foram: comprimento da bainha do fascículo, comprimento e número de acículas, número e posição de canais resiníferos, número de células endodérmicas, forma da parede periclinal das células subsidiárias dos estômatos, presença de células de reforço, espessamento da parede externa das células endodérmicas, número de camadas de células da hipoderme.

- 5 *Pinus* sp1 apresentou características semelhantes ao *P. oocarpa* e, portanto, conclui-se que se trata de uma variante desta espécie. Por apresentar desempenho superior em relação à espécie típica recomenda-se que seja verificada a viabilidade dessas árvores serem utilizadas no desenvolvimento de uma raça local.

- 6 A procedência YUCUL de *P. oocarpa* (*Pinus* sp2) deve ser considerada como uma subespécie, isto é, *P. patula* Schiede & Deppe subespécie *tecunumanii* (Eguiluz & Perry) Styles.

SUMMARY

CHROMOSOMES, WOOD AND NEEDLE CHARACTERISTICS FOR THE TAXONOMIC DEFINITION OF TECUN UMAN PINE

The structures of chromosomes, wood and needles were used with the objective to identify different phenotypes of unknown origin in *P. oocarpa* stands, as well as to clarify the taxonomic position of Tecun Umán pine. This taxon is considered to be a species, *P. tecunumanii*, very related to *P. oocarpa* by EGUILUZ and PERRY¹¹ and as a subspecies of *P. patula* (*P. patula* ssp. *tecunumanii*) by STYLES⁵⁵.

Phenotypically different trees found in a stand of *P. oocarpa* showed a caryotypic pattern and wood and needle traits very close to *P. oocarpa* and so, were considered to belong to the same taxon. However, they presented a higher performance than the usual trees and we suggest a study to check the possibility to use them to develop land races. *P. oocarpa* from Yucul region, recently considered to be the Tecun Umán Pine was shown to be more related to *P. patula* and should be considered a subspecies of it.

A P E N D I C E

TABELA A1. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA VARIÁVEIS CROMOSSOMICAS DE *P. occarpa*,
P. patula E *Pinus sp1*

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MÉDIOS													
		EB1	CCV	EB2	CCV	CCV	CCV	RB	CV	CR	CV	IH	CV	IC	CV
- Entre Espécie/Cromossoma	1	22 3,92**	111,68	22,83**	111,54	113,42**	111,49	0,000	10,48	0,09	3,10	9,72 **	11,72	1,01	1,65
Entre Arvore/Esp./Cromos.	1	19 2,94**	--	2,60**	--	111,04**	--	0,000	--	0,21 *	--	9,90 **	--	0,59	--
- Entre Espécie/Cromossoma	2	22 3,06**	111,58	22,80**	111,24	111,67**	111,29	0,000	10,53	0,04	2,65	10,75 **	11,31	0,34	1,58
Entre Arvore/Esp./Cromos.	2	19 2,20**	--	22,05**	--	68,46**	--	0,000	--	0,04	--	8,02 **	--	0,60	--
- Entre Espécie/Cromossoma	3	22 5,38**	111,78	22,55**	111,09	115,41**	111,29	0,010 **	10,64	0,14	2,48	6,62 **	11,11	7,60 **	1,85
Entre Arvore/Esp./Cromos.	3	19 2,22**	--	11,99**	--	68,32**	--	0,001 **	--	0,05	--	7,81 **	--	2,15 **	--
- Entre Espécie/Cromossoma	4	22 2,86**	111,70	22,41**	110,86	110,43**	111,09	0,000	10,71	0,06	2,52	9,02 **	10,98	1,27	2,08
Entre Arvore/Esp./Cromos.	4	19 2,50**	--	11,93**	--	68,76**	--	0,000	--	0,05	--	6,94 **	--	1,37	--
- Entre Espécie/Cromossoma	5	22 3,39**	110,99	22,37**	110,72	111,41**	110,74	0,000	10,64	0,00	2,00	7,83 **	11,02	0,74	1,86
Entre Arvore/Esp./Cromos.	5	19 1,85**	--	11,77**	--	77,18**	--	0,000	--	0,03	--	6,98 **	--	0,71	--
- Entre Espécie/Cromossoma	6	22 2,76**	111,27	22,42**	110,75	110,30**	110,91	0,000	10,75	0,02	1,66	9,12 **	10,95	0,43	1,74
Entre Arvore/Esp./Cromos.	6	19 1,68**	--	11,60**	--	66,50**	--	0,000	--	0,03	--	6,29 **	--	0,86	--
- Entre Espécie/Cromossoma	7	22 2,59**	111,42	22,53**	110,77	110,28**	110,91	0,000	10,79	0,01	2,67	9,98 **	11,04	0,41	2,24
Entre Arvore/Esp./Cromos.	7	19 1,87**	--	11,53**	--	66,69**	--	0,001 *	--	0,06	--	5,76 **	--	2,46 **	--
- Entre Espécie/Cromossoma	8	22 2,62**	111,41	22,43**	110,60	110,13**	110,79	0,000	10,10	0,01	2,42	9,47 **	11,01	0,45	2,37
Entre Arvore/Esp./Cromos.	8	19 1,77**	--	11,49**	--	66,46**	--	0,000	--	0,08 *	--	5,56 **	--	1,15	--
- Entre Espécie/Cromossoma	9	22 2,44**	111,73	22,46**	110,68	89,80**	110,86	0,000	10,07	0,02	3,03	9,93 **	10,76	1,25	2,33
Entre Arvore/Esp./Cromos.	9	19 1,99**	--	11,38**	--	66,63**	--	0,000	--	0,08	--	4,79 **	--	1,60	--
- Entre Espécie/Cromossoma	10	22 2,75 **	111,25	22,93**	110,66	111,33**	110,70	0,001 *	11,15	0,07	2,86	11,93 **	11,17	1,99	2,52
Entre Arvore/Esp./Cromos.	10	19 1,68 **	--	11,30**	--	55,91**	--	0,000	--	0,04	--	4,66 **	--	0,60	--
- Entre Espécie/Cromossoma	11	22 3,72 **	112,16	22,22**	112,00	111,63**	111,45	0,000	11,63	0,17	4,68	7,28 **	13,41	3,23	4,14
Entre Arvore/Esp./Cromos.	11	19 1,35 **	--	1,38**	--	55,39**	--	0,000	--	0,16	--	5,63 **	--	3,46	--
- Entre Espécie/Cromossoma	12	22 2,43 **	111,76	11,02**	117,22	65,58**	111,97	0,010 *	15,71	0,20	5,89	2,99 **	16,40	6,74	7,70
Entre Arvore/Esp./Cromos.	12	19 1,47 **	--	0,67**	--	64,31**	--	0,000	--	0,10	--	2,05 **	--	4,37	--
Resíduo	2736	0,39	--	0,29	--	11,28	--	0,000	--	0,06	--	1,14	--	1,85	--

* significativo a 5% pelo teste F

** significativo a 1% pelo teste F

CV em porcentagem

EB1 = Braço maior

EB2 = Braço menor

CCV = Comprimento total

RB = Relação de braços

CCR = Comprimento Relativo

IHe e IC = Índices morfológico e centromérico, respectivamente.

TABELA A2. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA COMPRIMENTO TOTAL DO LOTE HAPLOIDE (CTLH) DE *P. oocarpa*, *P. patula* E *Pinus sp1*

FONTES DE VARIACÃO	GL	QUADRADOS MEDIOS	CV (%)
Entre Espécies	2	1550,19 **	25,88
Entre Arvores/Espécie	9	998,60 **	
Resíduo	228	170,19	

** significativo a 1% pelo teste F

TABELA A3. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA CARACTERÍSTICAS DA MADEIRA (TRAQUEÓIDES AXIAIS) DE *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus sp1* E *Pinus sp2*

TRAQUEÓIDES AXIAIS

FONTES DE VARIACÃO	GL	QUADRADOS MEDIOS				
		Comprimento -2	Díam. Maior	Díam. Menor	Díam.P.Aerol.	Díam.Ab.P.Aer.
Entre Espécies	3	109,00 x 10 **	198,43 **	172,20 **	35,39 **	44,23 **
Entre Arvores/Espécie	12	67,03 x 10 **	36,09 **	39,24 **	4,69 **	2,24 **
Resíduo	304	7,81 x 10 -2	10,77	14,52	0,72	0,38
CV (%)		22,67	15,54	27,49	5,73	13,75

** significativo a 1% pelo teste F

TABELA A4. RESUMO DA ANALISE DE VARIANCIA PARA CARACTERISTICAS DA MADEIRA (RAIOS E TRAQUEOIDES RADIAIS) DE *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus* sp1 E *Pinus* sp2

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MEDIOS				GL	Q. MEDIOS	GL	QUADRADOS MEDIOS				GL	QUADRADOS MEDIOS	
		Número	Altura (cel.)	Altura (um)					Diãa.P.T.	No. Ident.	Comp. Traq.	Comp. C.P.		No. F. Traq.	No. F. C.P.
Entre Espécies	3	187,69	0,01666 **	0,017164 **		3	57,88 **	3	607,31 **	301,04 **	77,17 **	3	16,01 **	62,66 **	
Entre Arvores/Espécie	12	16,27	0,0104 **	0,0562 **		12	1,20 **	12	22,88 **	7,37 **	10,48 **	12	5,66	17,16 *	
Residuo	624	1,75	0,0030	0,0244		144	0,81	464	6,64	3,01	1,29	208	3,63	8,75	
CV (%)		26,70	47,44	50,90			17,55		49,36	39,61	22,85		40,28	65,59	

* significativo a 5% pelo teste F

** significativo a 1% pelo teste F

TABELA A5. RESUMO DA ANALISE DA VARIANCIA PARA CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DE ACICULAS DE *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus* sp1 E *Pinus* sp2

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MEDIOS		GL	QUADRADOS MEDIOS	GL	QUADRADOS MEDIOS			
		No. Acicula	Comp. Acicula				Comp. Bainha	Fil. Est. (Ext.)	Fil. Est. (Rsq.)	Fil. Est. (Dir.)
Entre Espécies	3	69,29 **	396,29 **	3	563,70 **	3	6,14 **	71,89 **	78,82 **	223,39 **
Entre Arvores/Espécie	12	1,48 **	141,29 **	12	99,73 **	12	8,81 **	6,43 **	9,14 **	20,20 **
Residuo	1304	0,10	2,54	272	3,79	144	0,95	0,52	0,40	3,65
CV (%)		7,72	6,90		11,39		15,85	15,67	14,81	9,45

** significativo a 1% pelo teste F

TABELA A6. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS DE ACÍCULAS DE *P. oocarpa*, *P. patula*, *Pinus* sp1 E *Pinus* sp2

FONTES DE VARIÂÇÃO	QUADRADOS MÉDIOS		QUADRADOS MÉDIOS			QUADRADOS MÉDIOS	
	GL	No. Canais Resin.	GL	No. Dentes	No. Cel. Radod.	GL	Camadas Hipod.
Entre Espécies	3	292,87 **	3	73,06 **	1312,55 **	3	52,70 **
Entre Árvores/Espécie	12	61,55 **	12	23,29 **	94,80 **	12	2,52 **
Resíduo	464	0,51	144	3,71	4,17	464	0,08
CV (%)		3,64		11,12	6,83		2,64

** significativo a 1% pelo teste F

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. AGUILAR, J.I. Pinos de Guatemala. 2. ed. La Aurora, Guatemala, Ministerio da Agricultura, 1958. 32 p.
2. AGUILAR, J.I. Pinos de Guatemala. Ministerio de Agricultura. 1962. 33 p.
3. BARNES, R.D. & STYLES, B.T. The closed - cone pines of Mexico and Central America. Commonwealth Forestry Review, 62(2):81-84. 1983.
4. BARRETT, W.H.G. Variación de caracteres morfológicos en poblaciones naturales de *Pinus patula* Schlecht. et Cham. en México. IDIA - Suplemento Florestal, 7: 9-35, 1972.
5. BORZAN, Z. & PAPES, D. Karyotype analysis in *Pinus*: a contribution to the standardization of the karyotype analysis and review of some applied techniques. Silvae Genetica, 27 (3/4):144-150, 1978.
6. CHETTY, C.K.R.; UPADHAYA, L.P. & KEDHARNATH, S. Estimation of risk of reversal of arms and order of chromosomes in karyotypes analysis of *Pinus roxburghii* Sarg. Indian Forester, 96:811-816, 1970.
7. COMISSION PANAMERICANA DE NORMAS TECNICAS. 30.1-019, novembro, 1973.

8. DURRELL, L.W. Notes on some North American conifers based on leaf characters. Proc. Iowa Acad. Sci., 23: 519-582, 1916.
9. DVORAK, D.W. One-year provenance/progeny test results of *Pinus tecunumanii* from Guatemala established in Brazil and Colombia. Commonwealth Forestry Review, 64(1):57-65, 1985.
10. EGUILUZ-PIEDRA, T. Geographic variation in needles, cones and seeds of *Pinus tecunumanii* in Guatemala. Silvae Genetica, 33(2-3): 72-79, 1984.
11. EGUILUZ-PIEDRA, T. & PERRY, J.P.Jr. *Pinus tecunumanii*: una especie nueva de Guatemala. Ciencia Florestal, 8(41): 3-22, 1983.
12. EGUILUZ-PIEDRA, T. & ZOBEL, B.J. Geographic variation in wood properties of *Pinus tecunumanii*. Wood and Fiber Science, 18(1): 68-75, 1986.
13. ESAU, K. Anatomia das plantas com sementes. São Paulo, Edgard Blücher, 1976. 293 p.
14. EVANS, L.S. & MILLER, P.R. Comparative needles anatomy and relative ozone sensitivity of four species of pines. Canadian Journal of Botany, 50: 1067-1071, 1972.
15. FERREIRA, M.; MELLO, H.A.; MOURAO, M.A.S.; BANZATTO, A.C. Estudos preliminares de algumas características anatómicas

- de coníferas e folhosas. Q solo, - 61(1): 79-82, 1969.
16. FREUND, H. Handbuch der mikroskopie in der technik. Frankfurt, Umschan Verlag, 1970. 5, pt. 2, 379 p.
17. GUERRA, M.S. O uso de giemsa na citogenética vegetal; comparação entre a coloração simples e o bandeamento. Ciência e Cultura, 37 (2): 190-193, 1983.
18. HOFF, R.J. & Mc DONALD, G.I. Hypersensitive reaction in *Pinus armandii* caused by *Cronartium ribicola*. Canadian Journal of Forestry Research, 5(1): 146-148, 1975.
19. HOSIE, R.C. Native trees of Canada. Canadian Forestry Service, Department of the Environment, Ottawa., 1969.
20. INTERNATIONAL CODE OF BOTANICAL NOMENCLATURE. 1978. Adotado pelo XII Congresso Internacional de Botânica de Leningrado (1975).
21. IRENA, Características anatómicas y propiedades físico-mecánicas del pino. (*Pinus patula* subsp. *tecunumanii*). Boletín Técnico do Instituto Nicaraguense de Recursos Naturales y del Ambiente. No. 8. Managua, Nicaragua, Septiembre de 1987.
22. JOHANSEN, D.A. Plant microtechnique. Mc. Graw-Hill Book Company, Inc. New York and London. 1940. 523 p.

23. JURBERGS, K.A. Determining fiber length fibrillar angle, and springwood - summerwood ratio in slash pine. Forest Science, 9:181-187, 1963
24. KAGEYAMA, P.Y.; R. VENCOVSKY; M. FERREIRA, & N. NICOLIELO. Variação genética entre procedências de *Pinus oocarpa* Schiede na região de Agudos - SP. IPEE, Piracicaba (14):77-120, 1977.
25. KAYA, Z.; CHING, K.K. & STAFFOR, S.G. A statistical analysis of karyotypes of european black pine (*Pinus nigra* Arnold) from different sources. Silvae Genetica, 34 (4/5):148-156, 1985.
26. KEMP, R.H. International provenance research on Central American Pines. Commonwealth Forestry Review, 52: 55-66, 1973.
27. KENG, H. & LITTLE Jr. E.L. Needle characteristics of hybrid pines. Silvae Genetica, 10(5):131-146, 1961.
28. KOCH, P. Utilization of the southern Pines. Vol. I. U.S. Department of Agriculture Forest Service. Southern Forest Experiment Station. 734 p. 1972.
29. LITTLE, J.R. & CRITCHFIELD, W.B. Subdivision of the genus Pinus (pines). Washington, USDA. Forest Service, 1969. 51

p. (Miscellaneous Publication, n. 1144).

30. MAC PHERSON, P. & FILLION, G. Karyotype analysis and the distribution of constitutive heterochromatin in five species of *Pinus*. J. Hered. 72(3):193-198, 1981.
31. MANCILLA, F.S.G. & TOMAZELLO, M. Caracterização anatômica de acículas de espécies e variedades de *Pinus*. IPEF, Piracicaba, 28:49-56, 1984.
32. MARKS, G.E. A rapid HCl/toluidine blue squash technic for plant chromosomes. Stain Technology 48:229-231, 1973.
33. MARTINEZ, M. Los pinos mexicanos. 2a. edição, Ediciones Botas, Mexico, 1948, 361 p.
34. MATERN, B. & SIMAK, M. Statistical problems in karyotype analysis. Hereditas, 59 (14):280-288, 1968.
35. MATERN, B. & SIMAK, M. On some statistical problems connected with the identification of chromosomes. Research Note No. 11, from Dept. of Forest Biometry, Royal College of Forestry, Stockholm, 81 p. 1969.
36. MITTAK, W.L. Fortalecimiento al sector florestal. Guatemala. Estudios para la reforestación nacional. FAO/FO: DP/GUA/72/006. Documento de Trabajo 25. 1977. 64 p.

37. MUNIZ, G.I.B. de. Descrição da estrutura e ultraestrutura da madeira de cinco espécies de Prosopis da Argentina e análise da metodologia. Curitiba, 1986. 192 f. Dissertação. Mestrado. Universidade Federal do Paraná.
38. NATARAJAN, A.T.; OHBA, K. & SIMAK, M. Karyotypes analysis in *Pinus sylvestris*. Hereditas, 47:379-382, 1961.
39. NICOLIELO, N. & GARNICA, J.B. Observações sobre o comportamento e o programa de melhoramento para *Pinus oocarpa* Schiede-Agudos - SP. Silvicultura, 29:119-120, 1983.
40. PAZ PEREZ OLVERA, C. de la & OLVERA CORONEL, P. Anatomia de la madera de 16 Espécies de Coníferas. Boletín Técnico No. 69, Septiembre de 1981. ISSN 0185 - 2310, México, D.F.
41. FEDERICK, L.A. Chromosome relationship between *Pinus* species. Silvae Genetica, 19:171-180, 1970.
42. SALAZAR, R. Genetic variation in needles of *Pinus caribaea* var. *hondurensis* Barr. et Golf. from natural Stands. Silvae Genetica, 32(1/2): 52-59, 1983.
43. SANTAMOUR, F.S., Jr.: New Chromosome counts in *Pinus* and *Picea*. Silvae Genética, 9(3):87-88, 1960.

44. SATO, S.; HIZUME, M. & KAWAMURA, S. Relationship between secondary constrictions and nucleolus organizing regions in *Allium sativum* chromosomes. Protoplasma, 105:77-85, 1980
45. SAX, K. Meiosis in interespecific pine hybrids. Forestry Science, 6:135-138, 1960.
46. SAX, K. & SAX, H. J. Chromosome number and morphology in the conifers. J. Arnold Arboretum, 14:357-375, 1933.
47. SAYLOR, L.C. A karyotype analysis of selected species of *Pinus*. Silvae Genetica, 10:77-84, 1961.
48. _____. Karyotype analysis of *Pinus* - group Lariciones. Silvae Genetica, 13:165-170, 1964.
49. _____. Karyotype analysis of the genus *Pinus*-subgenus *Pinus*. Silvae Genetica, 21:155-163, 1972.
50. _____. Karyotype analysis of the genus *Pinus*-subgenus *Strobus*. Silvae Genetica, 32:119-124, 1983.
51. SCHWERDTFEGGER, F. Informe al gobierno de Guatemala sobre la entomologia florestal de Guatemala. Vol. I. Los Pinos de Guatemala. Informe FAO/ETAP. No. 202. 58 pp., 1953.

52. STANLEY, B.T. & STEYERMARK, J.A. Flora of Guatemala. Fieldiana. Botany, 24(1): 40-56, 1958.
53. STEWART, D.; TRESHOW, M. & HARMER, F.M. Pathological anatomy of conifer needle necrosis. Canadian Journal of Botany, 51: 983-988, 1973.
54. STYLES, B.T. Studies of variation in Central American Pines. 1. The identity of *Pinus oocarpa* var. *ochoterenai* Martinez. Silvae Genetica, 25(3-4):109-118, 1976.
55. STYLES, B.T. The identity of Schwerdtfeger's Central American pine. Forest Genetic Resources Information. No. 13. FAO, ROME. p. 47-51, 1985.
56. STYLES, B.T. *Pinus patula* Schiede & Deppe subsp. *tecunumanii* (Eguiluz & Perry) Styles. FAO Data Book on Endangered Arboreal Species and Provenances. Rome (in press).
57. STYLES, B.T.; STEAD, J.W. & ROLPH, K.J. Studies of variation in Central American pines putative hybridization between *Pinus caribaea* var. *hondurensis* and *Pinus oocarpa*. Turrialba, 32(3): 229-242, 1982.
58. SWANSON, C.P.: Cytology and Cytogenetics. Macmillan and Co. Ltd., London, 1960. 596 p.

59. VELAZQUEZ, B.B. & PATINO VALERA, F. Variation morfologica en características de hojas y conos de *Pinus pseudostrabus* var. ooxana en poblaciones naturales en los altos de Chiapas. Boletín técnico. INIF, (14):1-47, 1982.
60. VIDAKOVIC, M., Investigations on the intermediate type between the Austrian and Scots pine. Silvae Genetica 7(1):12-19, 1958.
61. WRIGHT, J.A; GIBSON, G.L.; BARNES, R.D. Variation of stem volume and wood density of provenances of *Pinus oocarpa* and *P. patula* ssp. *tecunumanii* at Agudos, São Paulo, Brazil. IPEF, Piracicaba, 32:21-23, 1986.
62. ZOBEL, B.J. Variation in specific gravity and tracheid length for several species of Mexican pine. Silvae Genetica, 14(1):1-12, 1965.
63. ZOBEL, B.J.; Mc ELWEE, R.L.; BROWNE, C. Interrelationship of wood properties of loblolly pine. Sixth South. Forest Tree Impr. Conf. Proc., 1961:142-163, 1961.