

# Diferenciación anatómica foliar en poblaciones naturales de *Pinus caribaea* var. *caribaea* (Pinaceae) en Pinar del Río y Artemisa, Cuba

## Anatomical foliar differentiation on natural population of *Pinus caribaea* var. *caribaea* (Pinaceae) in Pinar del Río and Artemisa, Cuba

Gretel Geada-López<sup>1,\*</sup>, Rogelio Sotolongo-Sospedra<sup>1</sup>, Luitmila Pérez-del Valle<sup>1</sup> y Robert Ramírez-Hernández<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Forestales, Facultad de Ciencias Forestales y Agropecuarias, Universidad de Pinar del Río "Hermanos Saíz Montes de Oca", Calle José Martí, N° 300, Barrio Segundo Sur, e/ 27 de Noviembre y González Alcorta, Pinar del Río, Cuba. C.P. 20100. <sup>2</sup>Departamento de Geología, Facultad de Ciencias Técnicas, Universidad de Pinar del Río "Hermanos Saíz Montes de Oca", Calle José Martí, N° 300, Barrio Segundo Sur, e/ 27 de Noviembre y González Alcorta, Pinar del Río, Cuba. C.P. 20100. \*Autor para correspondencia (e-mail: [gabriel@upr.edu.cu](mailto:gabriel@upr.edu.cu)).

### RESUMEN

La variación de los caracteres anatómicos es crucial en el reconocimiento de la adaptabilidad ecológica, especialmente en *Pinus*. *Pinus caribaea* var. *caribaea* es un taxón endémico de Cuba occidental, en poblaciones puras o en simpatria con *Pinus tropicalis* y ocupa una gran variedad de ecótopos que se distinguen por las características del edatopo. El objetivo de esta investigación es determinar la variación anatómica de las acículas como respuesta adaptativa diferencial ante las condiciones ambientales determinadas por la litología, la altitud y la pendiente. Se muestrearon de 20 a 30 individuos de todos los ecótopos donde crece el taxón naturalmente. Se realizaron cortes transversales a 10 acículas de cada árbol y se evaluaron 12 variables anatómicas relacionadas con la regulación hídrica, el transporte y almacenamiento de metabolitos. Los resultados de los análisis estadísticos revelaron diferencias significativas entre ecótopos. El análisis de componentes principales mostró una relación entre variables anatómicas que siguen un patrón funcional de regulación hídrica y asimilación. Los análisis de conglomerados y de discriminante permitieron distinguir la formación de grupos por la relación de las variables anatómicas, principalmente por el efecto de la litología y las que más contribuyeron a diferenciarlos fueron las de regulación hídrica, metabolismo primario junto al grosor de la cutícula. Los resultados son una contribución a la conservación local del taxón pues la estructura de la variación anatómica es consecuencia de la evolución genética de las poblaciones y son muy importantes en estudios ecológicos y para el manejo silvicultural.

**Palabras clave:** acícula, adaptación, análisis multivariado, variación anatómica

### ABSTRACT

Variation of anatomical characters is crucial in the recognition of ecological adaptability, especially in *Pinus*. *Pinus caribaea* var. *caribaea* is an endemic taxon of Western Cuba that grows in pure populations or sympatry with *Pinus tropicalis* and occupies a great variety of ecotopes that are also distinguished by the characteristics of the edatope. The objective of this research is to determine the anatomical variation of the needles as an adaptive differential response to the environmental conditions determined by lithology, altitude and slope. From 20 to 30 individuals from all the ecotopes where the taxon grows naturally were sampled. Cross sections were made of 10 needles from each tree and 12 anatomical variables, related to water regulation, transport and storage of metabolites, were assessed. The results of the statistical analysis revealed significant differences between ecotopes. The principal component analysis showed a relationship between anatomical variables that follow a functional pattern of water regulation and assimilation. The cluster and discriminant analysis made possible to distinguish the formation of groups by the relationship of the anatomical variables, mainly due to the effect of lithology, and those that contributed the most to differentiate them were those of water regulation, primary metabolism together with cuticle thickness. The results are a contribution to the local conservation of the taxon since the structure of the anatomical variation is a consequence of the genetic evolution of the populations and are very important in ecological and for silvicultural management.

**Keywords:** needle, adaptation, multivariate analysis, anatomical variation

**Citación:** Geada-López, G., Sotolongo-Sospedra, R., Pérez-del Valle, L. & Ramírez-Hernández, R. 2021. Diferenciación anatómica foliar en poblaciones naturales de *Pinus caribaea* var. *caribaea* (Pinaceae) en Pinar del Río y Artemisa, Cuba. *Revista Jard. Bot. Nac. Univ. Habana* 42: 175-188.

**Recibido:** 23 de marzo de 2021. **Aceptado:** 13 de mayo de 2020. **Publicado en línea:** 21 de julio de 2021. **Editor encargado:** José Angel García-Beltrán.

### INTRODUCCIÓN

Los pinos en el trópico se distribuyen fundamentalmente en condiciones edáficas extremas, ya sea por las desfavorables características físico-químicas del sustrato o por aspectos orográficos (Samek & Risco-Rodríguez 1989, Farjon & Styles 1997). Estos hábitats de suelos muy pobres en nutrientes se acompañan, en muchos casos, con la baja disponibilidad de agua y regímenes de fuegos recurrentes, lo que implica una baja competencia con las angiospermas (Keeley 2012, Badik

& al. 2018) y la formación de masas continuas donde constituyen la especie dominante (Samek & Risco-Rodríguez 1989).

Las acículas juegan un rol importante en el proceso de aclimatación o adaptación, al ser el órgano responsable de la fotosíntesis, la asimilación del CO<sub>2</sub> atmosférico y el intercambio de gases. De ahí que ajusten o modifiquen la estructura anatómica de la acícula, para soportar ambientes desfavorables como respuesta diferencial a estos, lo cual a

largo plazo afectará la supervivencia y el crecimiento de la planta (Grill & al. 2004, López & al. 2010, Huang & al. 2016). Variaciones en la morfología y la estructura anatómica de la acícula entre individuos y poblaciones obedece a diferencias en las condiciones de edátopo y los regímenes de humedad del hábitat donde crecen (López & al. 2010, Tiwari & al. 2013, Ghimire & al. 2014, Meng & al. 2018) y pueden ser usados como un método rápido para explorar la variación genética entre poblaciones (Boratyńska & al. 2015a, 2015b, Zhang & al. 2017). Las dimensiones y distribución de los tejidos en la anatomía de la acícula han sido estudiadas fundamentalmente para especies con amplios rangos de distribución (Boratyńska & al. 2015a, Jankowski & al. 2017, 2019, Köbölkuti & al. 2017) y ambientes contrastantes (Boratyńska & al. 2015a, 2015b, Hodžić & al. 2020). Sin embargo, tales estudios son escasos en especies insulares donde las condiciones ambientales son más homogéneas, a pesar de su gran importancia económica y ecológica, y de ser usadas en plantaciones de distintos lugares del mundo, como es el caso de *Pinus caribaea* Morelet.

*Pinus caribaea* se encuentra naturalmente distribuida en el trópico, particularmente en México, América Central, Bahamas, Islas Turk y Caicos, el occidente de la isla de Cuba e Isla de la Juventud (Farjon & Filter 2013). Es una de las especies con distribución más sureña en el género, en particular en América continental (Francis 1992). Es la única con distribución continental e insular entre los pinos americanos y crece en sitios desde el nivel del mar hasta 700 msm, rara vez alcanza 1 000 msm en Mesoamérica. Por ello los suelos donde se desarrolla varían desde arcillas arenosas, ácidas y pobres en nutrientes hasta arcillas arenosas profundas con buen drenaje y arcillas puras (Farjon & Styles 1997, Farjon & Filter 2013).

Dadas las diferencias en cuanto a crecimiento, número de acículas por fascículos, tamaño de los conos, semillas articuladas o adnatas, ramificación, y ciertos rasgos fenológicos entre las poblaciones insulares de Bahamas y Cuba, así como entre estas y las mesoamericanas, Barret & Golfari (1962) subdividieron la especie en tres variedades. *Pinus caribaea* var. *hondurensis* (Sénécl.) Barrett & Golfari se desarrolla desde sureste de México, Belice, Guatemala, Honduras y Nicaragua, *P. caribaea* var. *bahamensis* (Griseb.) Barrett & Golfari en las Bahamas e Islas Turk y Caicos, y *P. caribaea* var. *caribaea* para el occidente de la isla de Cuba e Isla de la Juventud. En la actualidad dicha clasificación es acertada para referirse a una u otra variedad, dadas las diferencias en crecimiento (Francis 1992), comportamiento en plantaciones fuera de su rango natural como parte de pruebas de especies o procedencias (Graves 1981, Gibson 1982, Wang & al. 1999) y desde el punto de vista molecular (Zheng & Ennos 1999, Geadá-López & al. 2004, Jardón-Barbolla & al. 2011, Rebolledo-Camacho & al. 2018).

Los pinares ocupan alrededor del 50 % de la superficie forestal del occidente de Cuba, en Pinar del Río, Artemisa e Isla de la Juventud. Sin embargo, los pinares monotípicos continuos

de *Pinus caribaea* var. *caribaea* crecen solamente en la meseta de Cajalbana sobre sustratos de roca ultrabásica en el noreste de Pinar del Río (López-Almirall 1987, Samek & Risco-Rodríguez 1989). El resto de sus poblaciones se encuentran sobre pizarra, arenisca y arenas cuarcíticas (Samek & Risco-Rodríguez 1989) en el occidente de la isla de Cuba e Isla de la Juventud, en simpatria con *P. tropicalis* Morelet.

Desde el punto de vista silvicultural, *Pinus caribaea* var. *caribaea* es un taxón con más rápido crecimiento que *P. tropicalis* y mayor plasticidad ecológica por la variedad de sustratos donde se presenta. Fue utilizada con buenos resultados en los programas de reforestación de las décadas de 1960 a 1990, durante los cuales llegó a sustituir gran parte de pinares naturales de *P. tropicalis*. Sin embargo, estas plantaciones no tuvieron los incrementos productivos que se esperaban después de los 15 años de establecidas, en particular en aquellos sitios que originalmente correspondían a *P. tropicalis*. Asimismo, los esfuerzos en los programas de mejoramiento genético forestal le favorecieron y llegaron a establecerse ensayos de procedencias, de progenies, bancos y huertos semilleros. Diferencias entre procedencias fueron documentadas en cuanto a variables dendrométricas de interés para el aprovechamiento forestal (madera y resina), y entre progenies y clones de árboles plus (Álvarez-Brito & al. 1991a, Mercadet-Portillo & al. 2001, García-Quintana & al. 2007); así como diferencias en el comportamiento de algunas procedencias de este taxón fuera de su área natural de distribución (Wang & al. 1999, Dieters & al. 2006). Desde el punto de vista de la conservación, *Pinus caribaea* var. *caribaea* se encuentra En Peligro de extinción debido fundamentalmente al aprovechamiento de sus rodales y los incendios forestales (Farjon 2013). Sin embargo, González-Torres & al. (2016) la consideran como Preocupación Menor.

Investigaciones básicas que sustenten las diferencias en el diámetro, la altura y velocidad del crecimiento encontradas en las pruebas de procedencia y que podrían atribuirse a la existencia de adaptaciones locales de las poblaciones naturales de *Pinus caribaea* var. *caribaea* quedan por realizarse. Hasta el momento se dispone de dos estudios, el primero, aunque con una visión filogenética y limitaciones en el muestreo del número de individuos y localidades, mostró que en las poblaciones del taxón existía gran variación morfológica (López-Almirall 1982, 1987). El segundo, más reciente, detectó diferencias en las variables anatómicas en las acículas, entre poblaciones de *P. caribaea* var. *caribaea* en tres ecótopos de la especie donde habita en simpatria con *P. tropicalis* (Pérez-del Valle & al. 2020), pero este estudio se concentró en comprobar si en ambientes similares ambas especies mostraban diferencias anatómicas.

Por otra parte, se ha documentado diferenciación genética entre poblaciones naturales de *Pinus caribaea* var. *caribaea* con el uso de marcadores moleculares como isoenzimas (Nelson & al. 1994, Zheng & Ennos 1999), microsátelites del cloroplasto (cpDNA) (Geadá-López & al. 2004, Jardón-Barbolla & al. 2011) y nucleares (nSSR) (Rebolledo-Camacho & al.

2018). No obstante, en todos estos estudios han primado objetivos filogenéticos y biogeográficos con un número muy reducido de localidades e individuos.

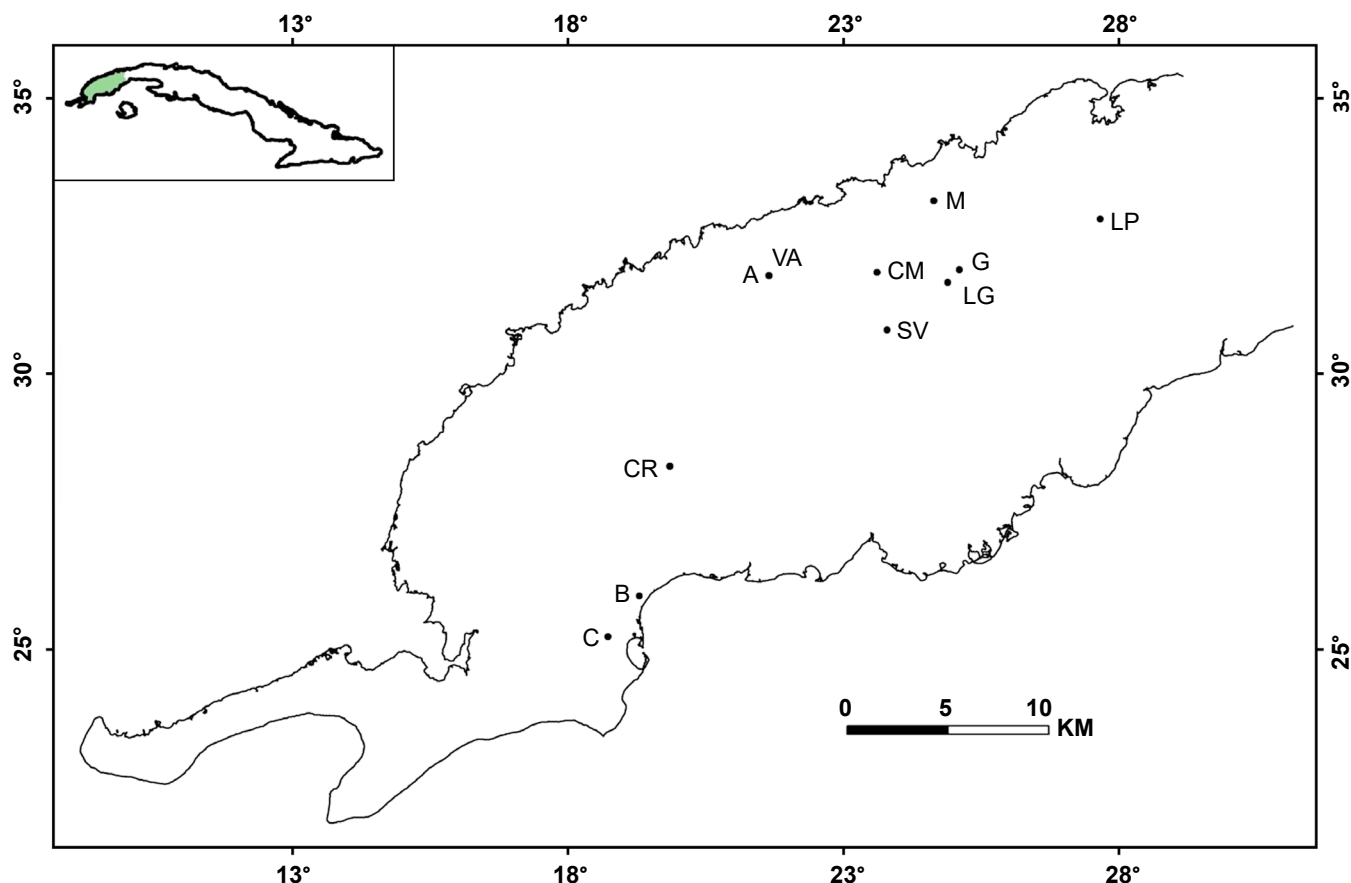
Dada la diversidad de ecótopos donde se encuentra la especie en Cuba y las diferencias morfoanatómicas y genéticas entre algunas de sus poblaciones, en este estudio se tiene como hipótesis que existe una respuesta diferencial en la estructura anatómica de la acícula en relación al ambiente donde crece. Por tanto, se propone como objetivo determinar la estructura en variación anatómica entre las poblaciones de *Pinus caribaea* var. *caribaea* a lo largo de su área de distribución natural, como base para el manejo de las procedencias y el re-establecimiento de fuentes semilleras.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras fueron tomadas en pinares naturales de *Pinus caribaea* var. *caribaea* (en adelante se tratará como *P. caribaea*) de las provincias Pinar del Río y Artemisa, Cuba (Figura 1), que representan todos los ecótopos en que está presente el taxón. Las localidades se caracterizaron por la composición litológica del sustrato (Pszczolkowski 1978),

el piso altitudinal (Magaz-García & al. 2006) y la pendiente (Cabrera-Bermudez 2002). La combinación de estos tres factores sirve de base para identificar los siete ecótopos que constituyen el factor que se analiza en este estudio. En cada localidad se recolectaron acículas de 20 a 30 individuos al azar y se seleccionaron las acículas que se hallaban en el tercio inferior de la copa (Tabla I).

Para la caracterización anatómica se realizaron cortes transversales en 10 acículas seleccionadas al azar de cada individuo. Para comprobar la continuidad de los canales de resina y de las hileras de estomas se realizaron cortes transversales cada 1 cm a lo largo de la acícula; como estos fueron continuos, se escogió la parte media de las acículas para las mediciones. Las observaciones se realizaron con un microscopio óptico NLCD-307B. Se midieron las siguientes variables anatómicas con un aumento de 400×: grosor de la cutícula (GC), grosor de la epidermis (GE), grosor de la hipodermis (GH) y número de capas de células de la hipodermis (CH), mientras con aumento de 100× se midieron: grosor del tejido de transfusión (PT), grosor del parénquima clorofílico (PC), diámetro del canal resinífero izquierdo (DCi), diámetro del



**Fig.1.** Distribución geográfica de las localidades incluidas en el estudio anatómico foliar de *Pinus caribaea*, Pinar del Río y Artemisa, Cuba occidental. A: Abra, B: Sabanalamar, C: Catalinas, CR: Cayo Ratones, CM: Cayo la Mula, G: Galalón, LG: La Güira, LP: Los Pinos, M: Marbajita, SV: San Víctor, VA: Valle Ancón.

**Fig.1.** Geographical distribution of the localities included in the foliar anatomical study of *Pinus caribaea*, Pinar del Río and Artemisa, Western Cuba. A: Abra, B: Sabanalamar, C: Catalinas, CR: Cayo Ratones, CM: Cayo la Mula, G: Galalón, LG: La Güira, LP: Los Pinos, M: Marbajita, SV: San Víctor, VA: Valle Ancón.

canal resinífero derecho (DCd), altura del haz vascular (HHv) y ancho del haz vascular (AHv), número de estomas (NE) y número de canales (NC). Todas las variables se definieron tal como Pérez-del Valle & al. (2020: Figura 1).

### Análisis estadístico

Para determinar el efecto conjunto de los tres factores de estudio (litología, piso altitudinal y pendiente), que se desglosan en los siete ecótopos o niveles (Tabla I), se realizó un análisis de varianza por rangos de Kruskal-Wallis ( $\alpha = 0,05$ ) y una prueba de comparación múltiple de pares entre las medias de los rangos de los tratamientos, según lo descrito en Conover (1999), ya que los datos no se ajustaron a una distribución normal. Se empleó un análisis de componentes principales, sobre la matriz de correlación de Pearson, para determinar la interdependencia de las variables analizadas. Se empleó un análisis de conglomerados, para reconocer la existencia de grupos entre los siete ecótopos de acuerdo a las variables anatómicas medidas. Para esto se utilizó el método de encadenamiento completo (*complete linkage*) y la distancia euclídeana al cuadrado. Se consideró como punto de corte o línea de referencia para la definición de los conglomerados una distancia igual al 50 % de la distancia euclídeana máxima.

En el análisis de discriminante se utilizaron como grupos *a priori* los que resultaron del análisis de conglomerados. Mediante este análisis, además de analizar la posición de cada grupo definido por las dos primeras funciones, se identificaron las variables que más contribuyeron a la discriminación entre grupos. Los datos fueron analizados con el programa *InfoStat* v.2015 (Di Rienzo & al. 2015).

## RESULTADOS

### Variación anatómica entre ecótopos

Las características de los ecótopos tienen un efecto significativo sobre las variables anatómicas de *Pinus caribaea* (Tabla II). De acuerdo a la prueba de comparación múltiple, los ecótopos donde difieren significativamente el mayor número de variables son los de litología San Cayetano-Areniscas grises respecto al resto, a diferencia de los ecótopos sobre serpentina (roca) que son más homogéneos. El grosor de la hipodermis y el grosor de la cutícula son las características que más difieren estadísticamente entre ecótopos, mientras el número de canales es la de menores diferencias.

Los individuos que pertenecen a las localidades sobre arenas cuarcíticas poseen los valores más bajos de grosor

**TABLA I**

### Georreferenciación y características de los ecótopos de las localidades incluidas en el estudio anatómico foliar de *Pinus caribaea*, Pinar del Río y Artemisa, Cuba occidental

AC-LLB-TII: Arenas cuarcíticas-llanuras bajas-terrenos llanos, AG-ALM-Tfi: Areniscas grises-alturas medias-terrenos fuertemente inclinados, AG-LLM-Tfi: Areniscas grises-llanuras medias-terrenos fuertemente inclinados, AG-SM-Tfi: Areniscas grises-submontañas-terrenos fuertemente inclinados, CM-SM-Tfi: Calizas micríticas-submontañas-terrenos fuertemente inclinados, R-ALM-Tfi: Serpentina-alturas medias-terrenos fuertemente inclinados, R-LLM-Tfi: Serpentina-llanuras medias-terrenos fuertemente inclinados.

**TABLE I**

### Geographical location and ecotopes features in the localities included in the foliar anatomical study of *Pinus caribaea*, Pinar del Río and Artemisa, Western Cuba

AC-LLB-TII: Quartz sands-lowland-plain, AG-ALM-Tfi: Gray sands-medium heights-strongly inclined, AG-LLM-Tfi: Gray sands-middle plains-strongly inclined, AG-SM-Tfi: Gray sands-submountains-strongly inclined, CM-SM-Tfi: Micritic limestones-submountains-strongly inclined, R-ALM-Tfi: Serpentine-medium heights-strongly inclined, R-LLM-Tfi: Serpentine-middle plains-strongly inclined.

Localidades	Coordenadas		Sustrato (Formación: Litología)	Piso altitudinal	Pendiente	Ecótopos
	Latitud N	Longitud W				
Sabanalamar	22°08'12,01"	83°58'34,99"	Siguanea: Arenas cuarcíticas	Llanuras bajas	Llano	AC-LLB-TII
Catalina	22°04'09,02"	84°01'49,01"				
Cayo La Mula	22°40'25,62"	83°34'04,76"	San Cayetano: Areniscas grises	Alturas medias	Fuertemente inclinado	AG-ALM-Tfi
Galalón	22°40'49,70"	83°25'23,41"				
San Víctor	22°34'48,60"	83°32'52,57"				
Valle Ancón	22°39'57,7"	83°45'32,17"	San Cayetano: Areniscas grises	Llanuras medias	Fuertemente inclinado	AG-LLM-Tfi
Cayo Ratones	22°21'0,6"	83°55'37,57"	San Cayetano: Areniscas grises	Submontañas	Fuertemente inclinado	AG-SM-Tfi
La Güira	22°39'35,27"	83°26'32,29"	Guasasa: Calizas micríticas	Submontañas	Fuertemente inclinado	CM-SM-Tfi
Los Pinos	22°46'01,24"	83°10'30,00"				
Marbajita	22°47'30,9"	83°28'10,44"	Serpentina: Roca	Alturas medias	Fuertemente inclinado	R-ALM-Tfi
Abra	22°39'56,82"	83°45'33,38"	Serpentina: Roca	Llanuras medias	Fuertemente inclinado	R-LLM-Tfi

de la epidermis, mayor número de capas de la hipodermis junto con los mayores grosores del tejido de transfusión. Las localidades cuyo sustrato es de serpentina (roca ultrabásica) tienen menor grosor y número de capas de células de la hipodermis, menores valores en altura y ancho del haz vascular, pero mayor grosor de la cutícula. Las localidades sobre areniscas grises tienen mayor grosor del parénquima clorofílico y diámetro de los canales de resina (Tabla II).

### Relación entre variables anatómicas

Para determinar la asociación de las variables se utilizaron los tres primeros componentes del análisis de componentes principales, que explicaron el 52,4 % de la variabilidad total. En la Tabla III se presentan los autovectores de cada variable en la matriz rotada con relación a cada componente y su proyección en el plano (Figura 2). El primer componente

explica la asociación de variables anatómicas vinculadas con la regulación hídrica, el grosor y el número de capas de células de la hipodermis, con el mayor peso, así como la altura y el ancho del haz vascular. El segundo componente correlaciona variables vinculadas con aspectos del metabolismo primario y secundario, como son el grosor del parénquima clorofílico y los diámetros de los canales de resina, estos últimos actúan como almacenes de metabolitos secundarios. En el tercer componente se correlacionan el número de estomas, el grosor del tejido de transfusión, el número de canales y el grosor de la cutícula, que tienen una función fundamentalmente protectora en la acícula. En la Figura 2, además de las variables por componente, se distinguen las posiciones más distantes en los componentes dos y tres del grosor de epidermis y el grosor de la cutícula respecto a las otras variables, ambas muy relacionadas con el control de la pérdida de agua.

**TABLA II**

### Valores medios y desviación estándar de las variables anatómicas de *Pinus caribaea* en siete ecótopos naturales, Pinar del Río y Artemisa, Cuba occidental

Medias con letras desiguales fueron significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) según la prueba de Kruskal-Wallis. Variables: GC: Grosor de la cutícula, GE: Grosor de la epidermis, GH: Grosor de la hipodermis, CH: Número de capas de células de la hipodermis, NE: Número de estomas, PT: Grosor del tejido de transfusión, NC: Número de canales, PC: Grosor del parénquima clorofílico, DCi: Diámetro del canal izquierdo, DCd: Diámetro del canal derecho, HHv: Altura del haz vascular, AHv: Ancho del haz vascular. Ecótopos: AC-LLB-TII: Arenas cuarcílicas-llanuras bajas-terrenos llanos, AG-ALM-Tfi: Areniscas grises-alturas medias-terrenos fuertemente inclinados, AG-LLM-Tfi: Areniscas grises-llanuras medias-terrenos fuertemente inclinados, AG-SM-Tfi: Areniscas grises-submontañas-terrenos fuertemente inclinados, CM-SM-Tfi: Calizas micríticas-submontañas-terrenos fuertemente inclinados, R-ALM-Tfi: Serpentina-alturas medias-terrenos fuertemente inclinados, R-LLM-Tfi: Serpentina-llanuras medias-terrenos fuertemente inclinados.

**TABLE II**

### Mean values and standard deviation of the anatomical variables of *Pinus caribaea* in seven natural ecotopes, Pinar del Río and Artemisa, Western Cuba

Means with different letters were significantly different ( $p < 0.05$ ) by the Kruskal-Wallis test. Variables: GC: Thickness of the cuticle, GE: Thickness of epidermis, GH: Thickness of the hypodermis, NE: Number of stomata, PT: Thickness of transfusion tissue, NC: Number of canals, PC: Thickness of chlorophyllic parenchyma, DCi: Diameter of left canal, DCd: Diameter of right canal, HHv: Height of vascular bundle, AHv: Width of vascular bundle. Ecotopes: AC-LLB-TII: Quartz sands-lowland-plain, AG-ALM-Tfi: Gray sands-medium heights-strongly inclined, AG-LLM-Tfi: Gray sands-middle plains-strongly inclined, AG-SM-Tfi: Gray sands-submountains-strongly inclined, CM-SM-Tfi: Micritic limestones-submountains-strongly inclined, R-ALM-Tfi: Serpentine-medium heights-strongly inclined, R-LLM-Tfi: Serpentine-middle plains-strongly inclined.

Variables	AC-LLB-TII (n = 51)	AG-ALM-Tfi (n = 90)	AG-LLM-Tfi (n = 30)	AG-SM-Tfi (n = 30)	CM-SM-Tfi (n = 48)	R-ALM-Tfi (n = 30)	R-LLM-Tfi (n = 36)	H
NE	17,8 ± 3,49 <sup>B</sup>	16,9 ± 3,09 <sup>B</sup>	18,13 ± 2,85 <sup>B</sup>	17,37 ± 2,17 <sup>B</sup>	17,73 ± 2,78 <sup>B</sup>	15,57 ± 2,31 <sup>A</sup>	16,89 ± 2,36 <sup>B</sup>	17,63*
NC	3,45 ± 1,06 <sup>B</sup>	2,96 ± 1,16 <sup>A</sup>	3,27 ± 1,05 <sup>AB</sup>	3,17 ± 1,05 <sup>AB</sup>	2,83 ± 0,95 <sup>A</sup>	2,93 ± 0,87 <sup>A</sup>	2,92 ± 0,94 <sup>A</sup>	14,52**
GC (µm)	2,06 ± 0,63 <sup>C</sup>	1,13 ± 0,3 <sup>A</sup>	1,47 ± 0,51 <sup>B</sup>	2,07 ± 0,25 <sup>C</sup>	1,1 ± 0,31 <sup>A</sup>	1,03 ± 0,18 <sup>A</sup>	1,96 ± 0,73 <sup>C</sup>	137,97***
GE (µm)	12,65 ± 2,8 <sup>A</sup>	15,61 ± 2,86 <sup>D</sup>	13,26 ± 1,73 <sup>AB</sup>	12,48 ± 2,17 <sup>A</sup>	13,89 ± 1,66 <sup>BC</sup>	14,99 ± 2,13 <sup>CD</sup>	13,04 ± 2,78 <sup>AB</sup>	57,88***
GH (µm)	49,18 ± 12,56 <sup>CD</sup>	50,42 ± 9,58 <sup>D</sup>	45,4 ± 11,75 <sup>BC</sup>	42,5 ± 9,8 <sup>B</sup>	54,44 ± 11,21 <sup>E</sup>	36,40 ± 5,49 <sup>A</sup>	32,74 ± 11,28 <sup>A</sup>	100,88***
CH	3,22 ± 0,54 <sup>D</sup>	2,96 ± 0,42 <sup>CD</sup>	2,80 ± 0,41 <sup>C</sup>	2,37 ± 0,49 <sup>B</sup>	3,04 ± 0,54 <sup>CD</sup>	2,00 ± 0 <sup>A</sup>	2,22 ± 0,42 <sup>AB</sup>	114,38***
PC (µm)	119,8 ± 15,22 <sup>AB</sup>	131,01 ± 24,27 <sup>C</sup>	144,76 ± 22,6 <sup>E</sup>	140,98 ± 18,3 <sup>DE</sup>	118,56 ± 15,49 <sup>A</sup>	126,27 ± 15,11 <sup>BC</sup>	132,53 ± 20,1 <sup>CD</sup>	50,62***
PT (µm)	115,73 ± 16,54 <sup>C</sup>	104,29 ± 18,43 <sup>AB</sup>	115,97 ± 20,49 <sup>C</sup>	110 ± 15,97 <sup>BC</sup>	100,54 ± 13,79 <sup>A</sup>	98,46 ± 14,26 <sup>A</sup>	101,64 ± 15,79 <sup>A</sup>	38,89***
DCi (µm)	66,33 ± 16,94 <sup>B</sup>	79,05 ± 17,46 <sup>CD</sup>	89,56 ± 23,96 <sup>D</sup>	81,4 ± 16,38 <sup>CD</sup>	54,13 ± 7,85 <sup>A</sup>	72,72 ± 18,96 <sup>C</sup>	72,58 ± 18,73 <sup>C</sup>	93,53***
DCd (µm)	62,66 ± 12,75 <sup>B</sup>	84,14 ± 19,29 <sup>D</sup>	94,51 ± 22,96 <sup>D</sup>	87,85 ± 18,93 <sup>D</sup>	52,99 ± 7,02 <sup>A</sup>	82,61 ± 19,29 <sup>D</sup>	70,88 ± 18,35 <sup>C</sup>	137,96***
HHv (µm)	314,78 ± 37 <sup>BC</sup>	308,82 ± 47,15 <sup>B</sup>	328,4 ± 61,88 <sup>CD</sup>	313,37 ± 48,67 <sup>BC</sup>	349,18 ± 40,14 <sup>D</sup>	297,38 ± 41,01 <sup>AB</sup>	276,59 ± 46,79 <sup>A</sup>	52,87***
AHv (µm)	484,7 ± 63,07 <sup>B</sup>	481,25 ± 80,61 <sup>B</sup>	503,01 ± 128,35 <sup>B</sup>	474,89 ± 69,95 <sup>B</sup>	585,51 ± 78,88 <sup>C</sup>	429,1 ± 67,63 <sup>A</sup>	407,56 ± 59,23 <sup>A</sup>	97,54***

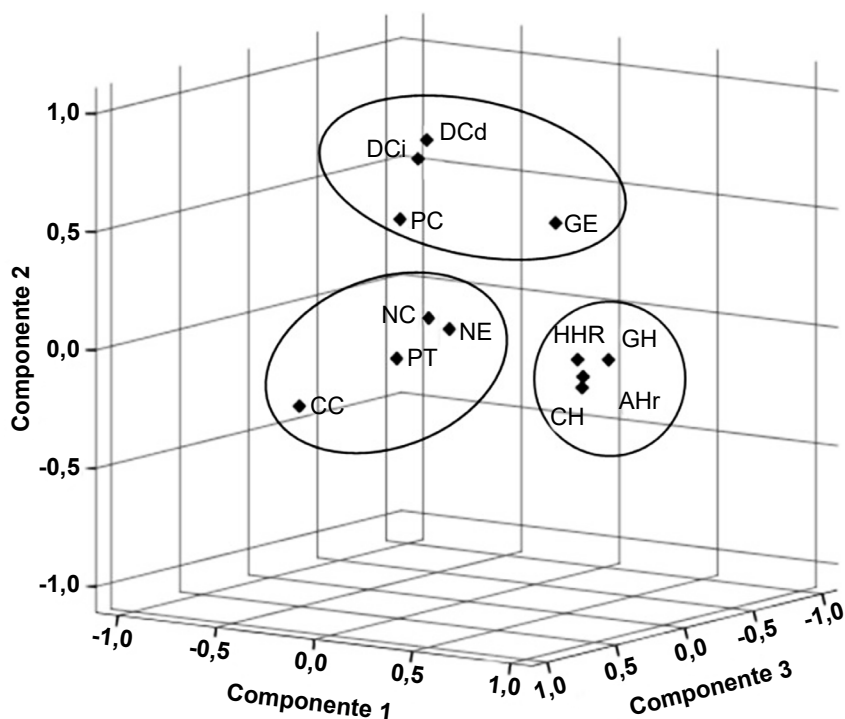
**TABLA III**

**Carga de las puntuaciones de las variables anatómicas de *Pinus caribaea* en el análisis de componentes principales**

**TABLE III**

**Loading scores of anatomical variables of *Pinus caribaea* in the principal component analysis**

Variables	Autovectores		
	Componente 1	Componente 2	Componente 3
Grosor de la hipodermis	0,721	-0,017	-0,001
Número de capas de células de la hipodermis	0,705	-0,111	0,168
Ancho del haz vascular	0,696	-0,069	0,148
Altura del haz vascular	0,627	-0,013	0,089
Diámetro del canal derecho	-0,171	0,827	0,044
Diámetro del canal izquierdo	-0,145	0,765	0,145
Grosor del parénquima clorofílico	-0,037	0,564	0,431
Grosor de la epidermis	0,330	0,497	-0,176
Número de estomas	0,387	0,178	0,696
Grosor del tejido de transfusión	0,069	0,011	0,607
Número de canales	0,221	0,199	0,600
Grosor de la cutícula	-0,445	-0,247	0,582
% Varianza	22,1	18,3	12,0



**Fig. 2.** Proyección en el plano de las variables anatómicas de *Pinus caribaea* definidos por los componentes principales. GC: Grosor de la cutícula, GE: Grosor de la epidermis, GH: Grosor de la hipodermis, CH: Número de capas de células de la hipodermis, NE: Número de estomas, PT: Grosor del tejido de transfusión, NC: Número de canales, PC: Grosor del parénquima clorofílico, DCi: Diámetro del canal izquierdo, DCd: Diámetro del canal derecho, HHv: Altura del haz vascular, AHv: Ancho del haz vascular.

**Fig. 2.** Projection of the anatomical variables of *Pinus caribaea* defined by principal component analyses. GC: Thickness of the cuticle, GE: Thickness of epidermis, GH: Thickness of the hypodermis, NE: Number of stomata, PT: Thickness of transfusion tissue, NC: Number of canals, PC: Thickness of chlorophyllic parenchyma, DCi: Diameter of left canal, DCd: Diameter of right canal, HHv: Height of vascular bundle, AHv: Width of vascular bundle.

### Diferenciación anatómica entre ecótopos

Según la posición de la línea de corte en el dendrograma del análisis de conglomerados se distinguen cuatro grupos (Figura 3). Estos están definidos principalmente por la litología de los ecótopos como principal factor de agrupación: en el primero se encuentran las localidades sobre arenas cuarcíticas (AC), en el segundo aquellas sobre areniscas grises (AG), el tercero las que se desarrollan sobre calizas micríticas (CM) y el cuarto los que están sobre serpentina (R). Dentro del segundo conglomerado, que agrupa los ecótopos sobre las areniscas grises, se forman dos subgrupos y es la elevación el factor que contribuye a su diferenciación.

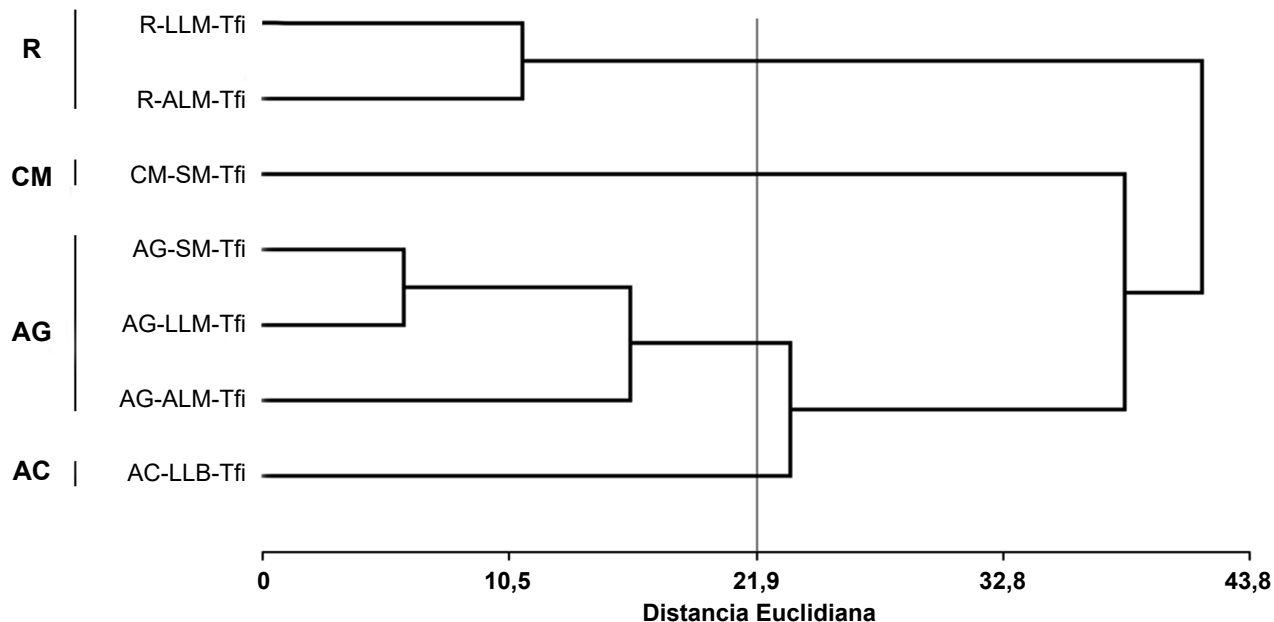
Las dos funciones discriminantes utilizadas para la clasificación (Tabla IV) permitieron explicar el 82,5 % de las variaciones entre los cuatro grupos definidos en el análisis de conglomerados: AC, AG, CM y R. De acuerdo a los coeficientes estandarizados las variables más importantes en la discriminación entre ecótopos, en la primera función son el ancho del haz vascular y el número de capas de células de la hipodermis. En la segunda función la variable de mayor peso discriminante es el grosor de la cutícula. En la Tabla IV se presentan los centroides de cada grupo y en la Figura 4 se representan las observaciones multivariadas en los cuatro grupos definidos *a priori*, en el espacio discriminante conformado por las dos funciones.

De acuerdo a los valores de los centroides, la primera función permite explicar el máximo de diferencias entre los ecótopos sobre arenas cuarcíticas (AC) y calizas micríticas (CM) respecto a los ecótopos sobre areniscas grises (AG) y serpentina (R), que se ubican hacia la parte negativa de este eje. Variables relacionadas con la regulación hídrica se asocian más con los dos primeros grupos, arenas cuarcíticas y calizas micríticas. La segunda función opone los ecótopos sobre arenas cuarcíticas (AC) de los que están sobre calizas micríticas (CM) y es el mayor valor del grosor de la cutícula la variable que más contribuye a la diferenciación de ambos grupos. Por sus valores y la posición, la segunda función no distingue bien entre los ecótopos de serpentina (R) y areniscas grises, pero sí entre estos con respecto a las arenas cuarcíticas.

### DISCUSIÓN

#### Variación anatómica entre ecótopos

Las diferencias estadísticamente significativas encontradas en las variables anatómicas entre las localidades que pertenecen a los diferentes ecótopos de *Pinus caribaea* (Tabla II), en especial hacia el interior de los ecótopos sobre areniscas grises, se atribuyen a la altitud, debido a que incluyen submontañas, alturas medias y llanuras medias. Las areniscas grises de la formación San Cayetano son las de mayor representación en el occidente de Pinar del Río, y cubren alrededor del 70 % de la superficie en el macizo montañoso de Guaniguanico,



**Fig. 3.** Dendrograma de la clasificación de los ecótopos de *Pinus caribaea* a partir de la distancia euclideana al cuadrado y método de encañamiento completo (correlación cofenética: 0,716). AC-LLB-Tfi: Arenas cuarcíticas-llanuras bajas-terrenos llanos, AG-ALM-Tfi: Areniscas grises-alturas medias-terrenos fuertemente inclinados, AG-LLM-Tfi: Areniscas grises-llanuras medias-terrenos fuertemente inclinados, AG-SM-Tfi: Areniscas grises-submontañas-terrenos fuertemente inclinados, CM-SM-Tfi: Calizas micríticas-submontañas-terrenos fuertemente inclinados, R-ALM-Tfi: Serpentina-alturas medias-terrenos fuertemente inclinados, R-LLM-Tfi: Serpentina-llanuras medias-terrenos fuertemente inclinados.

**Fig. 3.** Dendrogram of the classification of the ecotopes of *Pinus caribaea* based on square euclidean distances and complete linkage method (cophenetic correlation: 0.716). AC-LLB-Tfi: Quartz sands-lowland-plain, AG-ALM-Tfi: Gray sands-medium heights-strongly inclined, AG-LLM-Tfi: Gray sands-middle plains-strongly inclined, AG-SM-Tfi: Gray sands-submountains-strongly inclined, CM-SM-Tfi: Micritic limestones-submountains-strongly inclined, R-ALM-Tfi: Serpentine-medium heights-strongly inclined, R-LLM-Tfi: Serpentine-middle plains-strongly inclined.

**TABLA IV**

**Resultados del análisis de discriminante, coeficientes estandarizados de cada variable y centroides de los cuatro grupos de *Pinus caribaea* en las dos funciones discriminantes**

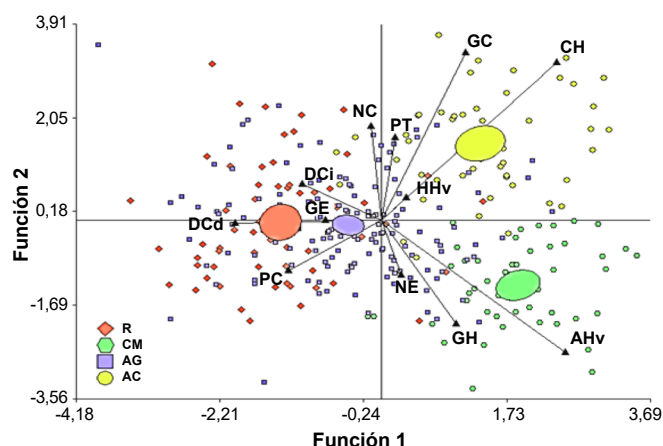
**TABLE IV**

**Results of the discriminant analysis, standardized coefficients of each variable and centroids of the four group of *Pinus caribaea* in the two discriminant functions**

	Función	
	1	2
<b>Autovalores</b>	1,35	0,65
<b>% variación</b>	55,78	26,71
<b>% variación acumulada</b>	55,78	82,5
<b>Variabes</b>	<b>Coefficientes estandarizados</b>	
Número de estomas	0,06	-0,22
Número de canales	-0,03	0,38
Grosor de la cutícula	0,24	0,68
Grosor de la epidermis	-0,15	0,00
Grosor de la hipodermis	0,21	-0,42
Número de capas de células de la hipodermis	0,49	0,64
Grosor del parénquima clorofílico	-0,26	-0,20
Grosor del tejido de transfusión	0,04	0,34
Diámetro del canal izquierdo	-0,22	0,15
Diámetro del canal derecho	-0,40	-0,01
Altura del haz vascular	0,07	0,09
Ancho del haz vascular	0,51	-0,53
<b>Grupo</b>	<b>Centroides</b>	
Arenas cuarcíticas	1,36	1,53
Areniscas grises	-0,45	-0,09
Calizas micríticas	1,88	-1,29
Serpentina	-1,38	-0,04

la cual incluye también parte de Artemisa (Pszczolkowski 1978, Martínez & al. 1994). A esta formación y litología se corresponden la mayor cantidad de poblaciones naturales de la especie, siempre asociada con *P. tropicalis* de manera que en ocasiones sus rodales forman cayos pequeños en lugares donde la fertilidad del suelo y la humedad es relativamente superior o hacia las zonas de colinas bajas (Samek & Risco-Rodríguez 1989). Además, dentro de estos ecótopos se observan una gran variedad de estados de meteorización de las areniscas grises, como las que forman las pizarras representadas por el ecótopo AG-LLM-Tfi (Martínez & al. 1994, Cobiella-Reguera & al. 1997) y que determinan diferencias en la profundidad y las propiedades físico-químicas del suelo, en particular el pH detectado por García-Quintana & al. (2009).

Los dos ecótopos sobre serpentina, a pesar de estar geográficamente distantes ( $\approx 32$  km), solo muestran diferencias en tres variables anatómicas: número de estomas, grosor de la cutícula y grosor de la epidermis. En la primera localidad, Marbajita,



**Fig. 4.** Ordenación de los ecótopos en las dos primeras funciones discriminantes, basado en variables anatómicas de *Pinus caribaea* representada en cuatro grupos definidos *a priori*. Los contornos corresponden a elipses de predicción al 95 % de probabilidad. GC: Grosor de la cutícula, GE: Grosor de la epidermis, GH: Grosor de la hipodermis, CH: Número de capas de células de la hipodermis, NE: Número de estomas, PT: Grosor del tejido de transfusión, NC: Número de canales, PC: Grosor del parénquima clorofílico, DCi: Diámetro del canal izquierdo, DCd: Diámetro del canal derecho, HHv: Altura del haz vascular, AHv: Ancho del haz vascular.

**Fig. 4.** Ordination of ecotopes in the first two discriminant functions based on anatomical variables of *Pinus caribaea* represented in three groups defined *a priori*. The contours correspond to prediction ellipses at 95 % probability. GC: Thickness of the cuticle, GE: Thickness of epidermis, GH: Thickness of the hypodermis, NE: Number of stomata, PT: Thickness of transfusion tissue, NC: Number of canals, PC: Thickness of chlorophyllic parenchyma, DCi: Diameter of left canal, DCd: Diameter of right canal, HHv: Height of vascular bundle, AHv: Width of vascular bundle.

ubicada en la altiplanicie de Cajálbana clasificado como alturas medias, la especie forma bosques puros. En la segunda, Abra, en un piso altitudinal de llanura media, aparece un rodal puro de *Pinus caribaea* sobre afloramientos de serpentina, dentro de un área cuya composición litológica fundamental es San Cayetano-areniscas grises, que en general se caracteriza por pinares donde *P. tropicalis* y *P. caribaea* crecen en simpatria.

Las diferencias en todas las variables anatómicas entre ecótopos pudieran ser el origen de cambios en algunos atributos ecofisiológicos (potencial hídrico y transpiración cuticular) encontradas por García-Quintana & al. (2009), cuando analizó 3-10 individuos de ocho localidades en Pinar del Río. Aunque los resultados fueron preliminares, los menores potenciales hídricos al amanecer se encontraron en la localidad sobre arenas cuarcíticas, que está representada en este estudio por las localidades Sabanalamar y Catalina. Los autores atribuyeron esto no solo a la poca capacidad de este sustrato de retener agua, sino al alto contenido de sodio en comparación con el resto. Además, estas localidades tuvieron el menor balance hídrico entre el potencial al amanecer y al atardecer, argumento que fue usado para reforzar la idea de mayor estrés hídrico en arenas cuarcíticas.

En el presente estudio, las acículas de *Pinus caribaea* en el ecótopo AC-LLB-TII muestran el mayor grosor de la cutícula, la



mayor cantidad de células de la hipodermis y entre los mayores valores de grosor del tejido de transfusión (Tabla II), todo ello relacionado con características vinculadas a los procesos de regulación hídrica. Grill & al. (2004) y Dörken & Stützel (2012) describen que las especies de *Pinus* que crecen en ambientes muy secos, generalmente desarrollan una cutícula prominente, gruesa y una hipodermis conformada por varias capas de células gruesas de forma circular. Por otra parte, el comportamiento detectado es similar al reportado para *P. canariensis* C. Sm. ex DC. (López & al. 2007), *P. heldreichii* Christ (Nikolić & al. 2019) y *P. sylvestris* L. (Galdina & Khazova 2019), y donde los tejidos protectores, en especial la epidermis y sus modificaciones, juegan un rol importante en la adaptabilidad a las condiciones áridas.

El aumento del grosor de la hipodermis no siempre está acompañado con un mayor número de capas de células de la hipodermis, aunque ambas características regulan las pérdidas de agua, en especial si se acompaña de esclereidas como elemento del tejido de sostén (Grill & al. 2004). Nikolić & al. (2014, 2019) en estudios de las poblaciones naturales de *Pinus heldreichii* en los Balcanes reportaron que hacia sitios más secos, debido a la pendiente y el sustrato, el grosor de la hipodermis y cutícula eran mayores, pero con un menor número de capas de la hipodermis.

Dörken & Stützel (2012) plantean que comúnmente se asume que los representantes de *Pinus* subg. *Diploxylon* tienen dos haces vasculares, cuando estos en realidad son un único haz separado por bandas de células de parénquima que pueden ser más o menos numerosas y lignificadas o no. Cambios en el tamaño de esta estructura parecen estar relacionados con la disponibilidad de agua en el suelo (Boratyńska & al. 2011, 2015b, Ghimire & al. 2014). En este estudio, los mayores valores de ancho y altura del haz vascular se detectaron en el ecótopo de arenas cuarcíticas. Esto se debe fundamentalmente a la gran cantidad de células de parénquima con esclereidas entre los tejidos vasculares que conforma el único haz vascular, que le confiere rigidez y mayor control de la pérdida de agua a la acícula. Estas características ayudan a evitar el colapso de los elementos del haz vascular en condiciones de pérdida de turgencia (Larcher 2003, Grill & al. 2004), comportamiento comprobado en la anatomía de *P. canariensis* cuando se somete a ensayos de sequía (Grill & al. 2004) y entre pruebas de procedencias establecidas en lugares secos y xéricos (López-Rodríguez 2009).

Los valores más altos de grosor del tejido de transfusión se detectaron en los ecótopos AC-LLB-TII y AG-LLM-Tfi (Tabla II). Este comportamiento ha sido reportado en sitios donde es necesario almacenar gran cantidad de agua junto a materiales de reserva (López & al. 2010), lo que representa en estas condiciones ecológicas un ahorro en la síntesis de compuestos y almacén de metabolitos (López-Rodríguez 2009, Esteban & al. 2010). Esta característica es ventajosa para plantas que experimentan períodos prolongados de estrés hídrico ya que permite mantener vivos los tejidos de la hoja ante prolongadas sequías (López-Rodríguez 2009, Hodžić & al. 2020). En los

ecótopos sobre serpentina se reduce el grosor del tejido de transfusión (Tabla II), al parecer debido a que estos suelos, por sus características físico-químicas, tienen mala infiltración y por tanto mayor disponibilidad de agua.

El número de canales varía muy poco entre los ecótopos, aunque hacia los lugares más secos aumentó ligeramente. Esta respuesta se ha observado en algunas especies asociado a un gradiente de precipitación y humedad, tales como *Pinus sylvestris* (Donnelly & al. 2016, Köbölkuti & al. 2017, Galdina & Khazova 2019, Jankowski & al. 2019), *P. tabuliformis* Carrière (Zhang & al. 2017, Meng & al. 2018), *P. thunbergii* Parl. (Ghimire & al. 2014), *P. yunnanensis* Franch. (Huang & al. 2016) y *Cedrus atlantica* (Endl.) G. Manetti ex Carrière (Bakkali & Amraoui 2018).

Hasta el momento no se comprende totalmente el rol de los canales de resina en la regulación del agua, pero se conoce su papel defensivo ante el ataque de plagas (Krokene & Nagy 2012, Krokene 2015). Se ha detectado que la mayor densidad de canales se asocia a áreas de menor disponibilidad de humedad (Jankowski & al. 2017, 2019) y su incremento en número y tamaño está correlacionado en *Pinus yunnanensis* con disminuciones de la precipitación y aumento de la temperatura, que contribuyen a reducir la influencia de la extrema sequía y el calor (Huang & al. 2016). Además, variaciones en este carácter inclusive han sido usados para demostrar la adaptación local en poblaciones de *P. heldreichii* (Nikolić & al. 2019, Hodžić & al. 2020), *P. tabuliformis* (Meng & al. 2018) y *P. yunnanensis* (Zhang & al. 2017). Sin embargo, existen registros donde la situación es inversa (López & al. 2008, Tyukavina & al. 2019). Los resultados en este estudio apuntan a que en *P. caribaea* predomina la función defensiva de los canales de resina, al tener en cuenta su poca variación en número.

### Relación entre variables anatómicas

La fuerte asociación entre las variables que explican el primer componente principal (Tabla III, Figura 2), puede atribuirse al refuerzo en el control de la pérdida de agua, al aumentar el grosor y el número de capas de células de la hipodermis, de conjunto con aumentos en el tejido de conducción. Todo ello, junto a la presencia de tejido de sostén que le confiere rigidez a la acícula (López & al. 2008) y de esclereidas en la hipodermis, le proporcionan estabilidad a las especies que se desarrollan en sitios de bajos potenciales de agua (Larcher 2003).

Las relaciones que se establecen entre las variables del segundo componente principal reconocen que a mayor asimilación aumenta la producción de metabolitos secundarios, de conjunto con el grosor de la epidermis, aunque este tejido varía muy poco entre ecótopos (Tabla III). Larcher (2003) y López-Rodríguez (2009) exponen que en lugares donde los individuos tienen acículas con mayor tejido fotosintético existe mayor producción de metabolitos secundarios que se acumulan en los canales de resina. Sin embargo, se ha reportado que la presencia de canales de resina amplios y

numerosos está condicionada más a la respuesta defensiva de factores abióticos o bióticos en relación con el mesofilo (Huang & al. 2016, Jankowski & al. 2017, 2019, Vázquez-González & al. 2020). En este estudio se observa que los canales son más numerosos en los ecótopos más secos (AC-LLB-TII) pero mucho más grandes en los ecótopos sobre areniscas grises (Tabla I).

La correlación positiva de las variables del tercer componente principal refuerza el papel de protección de estas. La fuerte relación entre el número de estomas y el grosor de la cutícula pudiera entenderse como una acción coordinada entre ambas estructuras para favorecer el intercambio de gases y la fotosíntesis (mayor número de estomas) y controlar la salida de agua (mayor grosor de la cutícula). Esto a su vez se relaciona con aumentos en el grosor del tejido de transfusión cuya función esencial, en las coníferas, es de almacenamiento de agua.

Por otra parte, Sitte & Kadereit (2002) interpretan una baja densidad estomática como una adaptación a sitios secos, aunque Larcher (2003) opina que la morfología de los estomas es el rasgo más importante en el control eficaz de la pérdida de agua y no la densidad de estos. Por ejemplo, estomas más pequeños en algunas especies proveen una mejor regulación a las pérdidas de agua (Donnelly & al. 2016, Liu & al. 2019). Sin embargo, pocos estudios se han concentrado en este aspecto de la morfología del estoma (Donnelly & al. 2016) y sí en su uso para identificar la presencia de algunas especies de pinos en un área donde se desconoce la causa de su desaparición, como es el caso de la presencia de *P. uncinata* Ramond ex DC. en Cantabria, España (Venturas & al. 2013).

### Diferenciación anatómica entre ecótopos

La relación entre los diferentes ecótopos (Figura 3) claramente separa las serpentinas y las calizas micríticas de las areniscas grises y las arenas cuarcíticas. Este patrón también se corresponde con la distribución geográfica de dichos ecótopos. Similar topología fue obtenida por García-Quintana & al. (2009) a partir de datos con 17 variables físico-químicas del suelo, transpiración cuticular y potencial hídrico en ocho localidades de Pinar del Río. Las principales diferencias con relación a este estudio corresponden a que García-Quintana & al. (2009) encontraron que la localidad sobre arenas cuarcíticas se separa de las dos sobre serpentina (dos localidades) y areniscas grises (cuatro); sin embargo, su estudio no incluyó todos los ecótopos donde la especie se distribuye y no considera su origen natural o plantado. Por lo que, el presente análisis basado en variables anatómicas es más consistente en el muestreo de la especie y facilitará otros estudios de ecofisiología, así como una mirada al programa de mejoramiento genético de la especie, en particular el manejo de las procedencias, la selección de fuentes semilleras y selección de árboles plus.

La diferenciación anatómica entre ecótopos es congruente, con la evolución geológica de parte de las provincias Pinar del Río y Artemisa. La gran variabilidad entre las areniscas

grises pudiera estar relacionada con el paquete rocoso erosionado a partir del Eoceno Medio (Cobiella-Reguera & al. 1997, Cobiella-Reguera 2008), lo cual origina cambios en la composición mineralógica del sustrato y de sus propiedades físico-químicas. Por ejemplo, el paquete donde predominan areniscas cuarcíticas originó sustratos ricos en sílice y más secos, que evolucionaron hacia las arenas cuarcíticas localizadas al sur de Pinar del Río, las que más tarde intervinieron en la composición litológica de la formación Sigüanea (IGP 2013). De ahí la similitud encontrada en las variables anatómicas entre estas areniscas grises y arenas cuarcíticas.

Las serpentinas se formaron como resultado de la expansión del protocaribe (Dilek & Furnes 2011) y tienen una composición eminentemente alúmina-magnésico-férrica, aunque en su composición pueden aparecer el níquel y el cobalto. Los sustratos pueden ser ricos en arcillas con la misma composición, muy pobres desde el punto de vista nutricional y con malas propiedades de infiltración, lo cual pudiera determinar una mejor disponibilidad de agua para la planta. Las calizas micríticas (formación Guasasa) es posterior a la formación San Cayetano, sus condiciones de sedimentación difieren del resto de los ecótopos, es muy pobre desde el punto de vista nutricional, menos ácida que las areniscas grises donde la infiltración del agua y el escurrimiento superficial ocurre a gran velocidad en comparación con estas (Pszczolkowski 1978). Por el origen geológico de este ecótopo, y la presencia de los pinos con plantas latifolias, en este deben estar las poblaciones periféricas de la especie.

La diferenciación en la estructura anatómica de la acícula corrobora las diferencias entre algunas procedencias de la especie desde el punto de vista dendrométrico (altura, diámetro, ramificación, rectitud del fuste y ángulo de inserción de las ramas) detectadas por Álvarez-Brito & al. (1991a) y García-Quintana & al. (2007). Sin embargo, estos autores evaluaron los ensayos de procedencia de localidades sobre sustratos de areniscas grises, serpentina y calizas micríticas.

La detección de variaciones anatómicas relacionadas con factores geográficos o ambientales no es un hecho aislado en coníferas (López & al. 2008, 2010, Donnelly & al. 2016), sino que son muy utilizados como indicadores de adaptación, filogénesis y estudios evolutivos (Xing & al. 2014, Köbölkuti & al. 2017, Bakkali & Amraoui 2018, Galdina & Khazova 2019, Nikolić & al. 2019, Hodžić & al. 2020). Meng & al. (2018) plantean que diferencias en la anatomía de la acícula están estrechamente asociadas a atributos ecofisiológicos y funcionales como la fotosíntesis, la respiración, el metabolismo del agua, el estado nutricional y la resistencia al estrés. Todo esto conduce a la adaptación a diferentes condiciones del medio, y esto a su vez podría ser la base de cambios en la productividad de los individuos y las poblaciones. De ahí que las diferencias encontradas entre los grupos generales de ecótopos (Tabla II) en los tejidos encargados de la asimilación, conducción, almacenamiento, metabolitos secundarios,

y los de regulación hídrica podrían, además, explicar las diferencias de rendimiento de resina entre procedencias de *Pinus caribaea* (Álvarez-Brito & al. 1991b).

Las variaciones en los tejidos encargados de regulación hídrica y el metabolismo primario y secundario juegan un papel fundamental en la respuesta diferencial a los cuatro ecótopos generales: arenas cuarcíticas (AC), areniscas grises (AG), calizas micríticas (CM) y serpentina (R) (Tablas III y IV). Tanto el análisis de componentes principales como el de discriminante, revelan que los tejidos de regulación hídrica explican mejor las relaciones y las variaciones existentes, y junto con los tejidos relacionados al metabolismo, maximizan las diferencias entre ecótopos. Como se aprecia en la Figura 4, la disposición de los ecótopos sigue un gradiente de estrés hídrico: hacia la derecha (parte positiva del eje 1) se encuentran los ecótopos más extremos (AC y CM) y hacia la izquierda los ecótopos sobre serpentina y areniscas grises. Esta última se ubica en una posición cercana de la intercepción de ambos ejes, lo que pudiera ser entendido como una condición ambiental intermedia pues ninguna variable lo distingue.

Si se tiene en cuenta que los areales de *Pinus caribaea* están extendidos principalmente en la serpentina y las areniscas grises es comprensible este resultado, lo cual cobra mucha importancia ya que los pinares puros de esta especie solo se encuentran sobre serpentina. Adamidis & al. (2014) en un estudio sobre estrategias de adaptación de especies y relaciones económicas foliares en hábitats serpentínicos y no serpentínicos, demostró que los rasgos foliares variaron significativamente en respuesta a la diferenciación del sustrato. El mismo conjunto de especies siguió una estrategia en su economía hídrica diferente en ambos tipos de sustratos. Por lo tanto, *P. caribaea* pudiera ser un ejemplo interesante para estudios ecológicos sobre mecanismos adaptativos a condiciones diferenciales de sustratos.

Los resultados de las pruebas de procedencias de *Pinus caribaea* en Cuba (Álvarez-Brito & al. 1991a, 1991b, Mercadet-Portillo & al. 2001, García-Quintana & al. 2007), entre algunas procedencias en China (Wang & al. 1999), las respuestas diferenciales de la procedencia Cajalbana en diferentes condiciones edáficas en Vietnam (Dieters & al. 2006) y en Australia (Dieters & Nikles 1997), así como las diferencias detectadas en este estudio apuntan a la existencia de ecotipos en la especie, los que además pueden distinguirse por las características anatómicas foliares. Por tanto, el manejo de los recursos genéticos de *P. caribaea* debe realizarse a la luz de estos resultados y refuerza la necesidad de la conservación local, pues la estructura de la variación se considera consecuencia de la evolución genética de las poblaciones y son muy importantes en estudios ecológicos y de mejoramiento genético (Jankowski & al. 2019). También es necesario llegar a un consenso relativo a su estado de conservación, dadas las diferentes categorías asignadas al taxón (Farjon 2013, González-Torres & al. 2016).

## CONCLUSIONES

La anatomía foliar de *Pinus caribaea* var. *caribaea* difiere entre ecótopos. Las características litológicas de estos, por su relación con la disponibilidad de agua, son el factor que más influye en su variación anatómica. Las variables que más contribuyen a la diferenciación fueron las relacionadas con la regulación hídrica, el metabolismo primario y secundario y el grosor de la cutícula.

## AGRADECIMIENTOS

Esta investigación forma parte de los resultados del proyecto PE-44 de la Universidad de Pinar del Río. En especial agradecemos a Caridad Ribera Calvo, Irmira Armas Amas, a los guías de campo y guardabosques que colaboraron en las colectas y al equipo del Laboratorio de Botánica de la institución. A los revisores anónimos y editores de la Revista del Jardín Botánico Nacional por sus sugerencias y comentarios durante el proceso editorial.

## CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

G. Geada-López concibió la idea original, diseñó la investigación y escribió la primera versión del manuscrito. R. Sotolongo-Sospedra realizó el análisis estadístico y revisión del documento. L. Pérez-del Valle desarrolló el trabajo de laboratorio, así como la compilación y procesamiento de los datos. R. Ramírez-Hernández realizó el análisis de los datos y revisión del documento. Todos los autores participaron en la recolectas del material en las localidades de estudio.

## CUMPLIMIENTO DE NORMAS ÉTICAS

**Conflicto de intereses:** Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

**Aprobación de ética:** Todos los autores han llevado a cabo el trabajo de campo y la generación de datos de forma ética, incluida la obtención de permisos adecuados.

**Consentimiento para la publicación:** Todos los autores han dado su consentimiento para publicar este trabajo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adamidis, G.C., Kazakou, E., Fyllas, N.M. & Dimitrakopoulos, P.G. 2014. Species Adaptive Strategies and Leaf Economic Relationships across Serpentine and Non-Serpentine Habitats on Lesbos, Eastern Mediterranean. *PLoS ONE* 9(5): e96034. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096034>
- Álvarez-Brito, A., Mercadet-Portillo, A., Echevarría, P., Hidalgo, E., Rodríguez, E., Martínez, J. & Suárez, E. 1991a. Estudio de interacción genotipo-ambiente en pruebas de procedencias de *Pinus caribaea* Morelet. *Bol. Tec. Forest.* 92(2): 3-13.
- Álvarez-Brito, A., Romero, A., Mesa, M. & Ramírez, P. 1991b. Variaciones mensuales de los rendimientos en las especies del género *Pinus* resinadas en Cuba. *Bol. Tec. Forest.* 92(2): 45-53.
- Badik, K.J., Jahner, J.P. & Wilson, J.S. 2018. A biogeographic perspective on the evolution of fire syndromes in pine trees (*Pinus: Pinaceae*). *R. Soc. Open Sci.* 53: 172412. <https://doi.org/10.1098/rsos.172412>
- Bakkali, N.E. & Amraoui, M.B. 2018. The length, number, and endodermis area of needles discriminate two genetically distinct populations of *Cedrus atlantica* Manetti in the Moroccan Middle Atlas. *Acta Soc. Bot. Pol.* 872: 3591. <https://doi.org/10.5586/asbp.3591>
- Barret, H.G. & Golfari, L. 1962. Descripción de dos nuevas variedades del "pino del Caribe". *Caribbean Forester* 23(2): 59-71.
- Boratyńska, K., Jasińska, A.K., Marcysiak, K. & Sobierajska, K. 2011. *Pinus uliginosa* from Czarne Bagno peat-bog Sudetes compared morphologically to related *Pinus* species. *Dendrobiology* 65: 17-28.

- Boratyńska, K., Sękiewicz, K., Jasińska, A.K., Tomaszewski, D., Iszkuto, G., Ok, T., Dagher-Kharrat, M.B. & Boratyński, A. 2015a. Effect of geographic range discontinuity on taxonomic differentiation of *Abies cilicica*. *Acta Soc. Bot. Pol.* 844: 419-480. <https://doi.org/10.5586/asbp.2015.027>
- Boratyńska, K., Jasińska, A.K. & Boratyński, A. 2015b. Taxonomic and geographic differentiation of *Pinus mugo* complex on the needle characteristics. *Syst. Biodivers.* 136: 581-595. <https://doi.org/10.1080/01472000.2015.1058300>
- Cabrera-Bermudez, J. 2002. Introducción al catastro ingeniero-geológico y geoambiental de la provincia de Pinar del Río, aplicando tecnología SIG. Tesis de Doctorado. Universidad de Pinar del Río.
- Cobiella-Reguera, J.L. 2008. Reconstrucción palinospástica del paleomargen mesozoico de América del Norte en Cuba occidental y el sudeste del Golfo de México. Implicaciones para la evolución del SE del Golfo de México. *Rev. Mex. Cien. Geol.* 253: 382-401.
- Cobiella-Reguera, J. L., Hernández-Escobar, A., Díaz-Díaz, N. & Obregón-Pérez, P. 1997. Estudio de algunas areniscas de la formación San Cayetano y Polier Sierra del Rosario, Cuba occidental. *Rev. Mex. Cien. Geol.* 143: 59-68.
- Conover, W.J. 1999. Practical Nonparametric statistics. John Willey & Sons, Inc. New York, USA.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M. & Robledo C.W. 2015. InfoStat versión 2015. Grupo InfoStat. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>
- Dieters, M.J. & Nikles, D.G. 1997. The genetic improvement of caribbean pine *Pinus caribaea* Morelet —building on a firm foundation. Pp. 33-52. En: Proceeding of 24th Southern Forest Tree Improvement Conference. Gainesville, FL, USA.
- Dieters, M.J., Thinh, H.H., Huong, P.T. & Nhan, H.D. 2006. Review of the performance and suitability of *Pinus caribaea* in Vietnam. Report prepared for CARD project 033/05VIE: Field evaluation and advanced vegetative mass-propagation technology for scaling up high-value plantations of *Pinus caribaea* and related hybrids in Vietnam. <http://tailieu.vn/xem-tai-lieu/review-of-the-performance-and-suitability-of-pinus-caribaea-in-vietnam.1104001.html>
- Dilek, Y. & Furnes, H. 2011. Ophiolite genesis and global tectonics: Geochemical and tectonic fingerprinting of ancient oceanic lithosphere. *Bull. Geol. Soc. Amer.* 123(3-4): 387-411. <https://doi.org/10.1130/B30446.1>
- Donnelly, K., Cavers, S., Cottrell, J.E. & Ennos, R.A. 2016. Genetic variation for needle traits in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Tree Genet. Genomes* 12: 40. <https://doi.org/10.1007/s11295-016-1000-4>
- Dörken, V.M. & Stützel, T. 2012. Morphology, anatomy and vasculature of leaves in *Pinus* (*Pinaceae*) and its evolutionary meaning. *Flora* 207: 57-62. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2011.10.004>
- Esteban, L.G., Martín, J.A., de Palacios, P., Fernández, F.G. & López, R. 2010. Adaptive anatomy of *Pinus halepensis* trees from different Mediterranean environments in Spain. *Trees* 24: 19-30. <https://doi.org/10.1007/s00468-009-0375-3>
- Farjon, A. 2013. *Pinus caribaea* var. *caribaea*. The IUCN Red List of Threatened Species 2013, e.T34184A2849737. <https://www.iucnredlist.org/species/34184/2849737>
- Farjon, A. & Filter, D. 2013. An Atlas of the world's Conifers: An analysis of their distribution, biogeography, diversity and conservation status. Brill, Leiden, Netherlands Brill, Leiden. <https://www.doi.org/10.1163/9789004211810>
- Farjon, A. & Styles, B.T. 1997. *Pinus* (*Pinaceae*). *Fl. Neotrop. Monogr.* 75.
- Francis, J.K. 1992. *Pinus caribaea* Morelet, Caribbean Pine: *Pinaceae*, Pine Family. Pp. 394-403. US Forest Service, Southern Forest Experiment Station, Institute of Tropical Forestry. New Orleans & Los Angeles, USA.
- Galdina, T. & Khazova, E. 2019. Adaptability of *Pinus sylvestris* L. to various environmental conditions. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* 316: 012002. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/316/1/012002>
- García-Quintana, Y., Álvarez-Brito, A. & Guízar-Nolazco, E. 2007. Ensayo de procedencias de *Pinus caribaea* var. *caribaea* en Alturas de pizarras, Viñales, Pinar del Río, Cuba. *Rev. Chapingo, Ser. Cienc. For. Ambient.* 132: 125-29.
- García-Quintana, Y., Flores, J., Geada-López, G. & Escarré-Estévez, A. 2009. Relación entre atributos ecofisiológicos de la especie vulnerable *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* y características ambientales de ocho localidades en Pinar del Río, Cuba. *Interciencia* 345: 344-349
- Geada-López, G., Karmiya, K. & Harada, K. 2004. Phylogeny of *Diploxylon* pines subgenus *Pinus*. *For. Genet.* 11(3-4): 213-221.
- Ghimire, B., Kim, M., Lee, J.-H. & Heo, K. 2014. Leaf anatomy of *Pinus thunbergii* Parl. (*Pinaceae*) collected from different regions of Korea. *Korean J. Pl. Taxon.* 442: 91-99. <https://doi.org/10.11110/kjpt.2014.44.2.91>
- Gibson, G. L. 1982. Genotype-environment interaction *Pinus caribaea*. Interim Report. Commonwealth Forestry Institute. London, UK.
- González-Torres, L.R., Palmarola, A., González-Oliva, L., Bécquer, E.R., Testé, E., Castañeira-Colomé, M.A., Barrios, D., Gómez-Hechavarría, J.L., García-Beltrán, J.A., Granado, L., Rodríguez-Cala, D., Berazaín, R. & Regalado, L. (comp.). 2016. Lista Roja de la flora de Cuba. *Bisbea* 10 (número especial 1): 33-283.
- Graves, A. 1981. Progress in the *Pinus caribaea* Morelet and *Pinus oocarpa* schiede international provenance trials. *Commonw. For. Rev.* 60(1): 35-43.
- Grill, D., Tausz, M., Pöllinger, U., Jiménez, M.S. & Morales, D. 2004. Effects of drought on needle anatomy of *Pinus canariensis*. *Flora* 199(2): 85-89. <https://doi.org/10.1078/0367-2530-00137>
- Hodžić, M.M., Hajrudinović-Bogunić, A., Bogunić, F., Marku, V. & Ballian, D. 2020. Geographic variation of *Pinus heldreichii* Christ from the Western Balkans based on cone and seed morphology. *Dendrobiology* 84: 81-93. <https://doi.org/10.12657/denbio.084.007>
- Huang, Y., Mao, J., Chen, Z., Meng, J., Xu, Y., Duan, A. & Li, Y. 2016. Genetic structure of needle morphological and anatomical traits of *Pinus yunnanensis*. *J. For. Res.* 27(1): 13-25. <https://doi.org/10.1007/s11676-015-0133-x>
- IGP [Instituto de Geología y Paleontología]. 2013. Léxico Estratigráfico de Cuba. Instituto de Geología y Paleontología, Centro Nacional de Información Geológica. La Habana, Cuba
- Jankowski, A., Wyka, T.P., Żytkowiak, R., Nihlgård, B., Reich, P.B. & Oleksyn, J. 2017. Cold adaptation drives variability in needle structure and anatomy in *Pinus sylvestris* L. along a 1,900 km temperate-boreal transect. *Funct. Ecol.* 31(12): 2212-2223. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12946>
- Jankowski, A., Wyka, T.P., Żytkowiak, R., Danusevičius, D. & Oleksyn, J. 2019. Does climate-related *in situ* variability of Scots pine *Pinus sylvestris* L. needles have a genetic basis? Evidence from com-

- mon garden experiments. *Tree Physiol.* 39(4): 573-589. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpy145>
- Jardón-Barbolla, L., Delgado-Valerio, P., Geada-López, G., Vázquez-Lobo, A. & Piñero, D. 2011. Phylogeography of *Pinus* subsection *Australes* in the Caribbean Basin. *Ann. Bot. (Oxford)* 107(2): 229-241. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq232>
- Keeley, J.E. 2012. Ecology and evolution of pine life histories. *Ann. For. Sci.* 69(4): 445-453. <https://doi.org/10.1007/s13595-012-0201-8>
- Köbölkuti, Z.A., Tóth, E.G., Ladányi, M. & Höhn, M. 2017. Morphological and anatomical differentiation in peripheral *Pinus sylvestris* L. populations from the Carpathian region. *Dendrobiology* 77:105-117. <https://doi.org/10.12657/denbio.077.009>
- Krokene, P. 2015. Conifer Defense and Resistance to Bark Beetles. Pp. 177-207. En: Vega, F.E. & Hofstetter, R.W. (ed.). *Bark Beetles Biology and Ecology of Native and Invasive Species*. Elsevier Inc. London, UK. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417156-5.00005-8>
- Krokene, P. & Nagy, N.E. 2012. Anatomical aspects of resin-based defences in pine. Pp. 67-86. En: Fett-Neto, A.G. & Rodrigues-Corrêa, K.C.S. *Pine Resin: Biology, Chemistry and Applications*. Research Signpost. Kerala, India.
- Larcher, W. 2003. *Physiological plant ecology*. 4th Ed. Springer. Berlin & Heidelberg, Germany.
- Liu, C., Li, Y., Xu, L., Chen, Zh. & He, N. 2019. Variation in leaf morphological, stomatal, and anatomical traits and their relationships in temperate and subtropical forests. *Sci. Rep.* 9(1): 5803. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42335-2>
- López, R., Climent, J. & Gil, L. 2008. From desert to cloud forest: The non-trivial phenotypic variation of Canary Island pine needles. *Trees* 22(6): 843-849. <https://doi.org/10.1007/s00468-008-0245-4>
- López, R., Climent, J. & Gil, L. 2010. Intraspecific variation and plasticity in growth and foliar morphology along a climate gradient in the Canary Island pine. *Trees* 24(2): 343-350. <https://doi.org/10.1007/s00468-009-0404-2>
- López, R., Zehavi, A., Climent, J. & Gil, L. 2007. Contrasting ecotypic differentiation for growth and survival in *Pinus canariensis*. *Austral. J. Bot.* 55(7): 759-769. <https://doi.org/10.1071/BT07016>
- López-Almirall, A. 1982. Variabilidad del género *Pinus* (*Coniferales: Pinaceae*) en Cuba. *Acta Bot. Cub.* 12: 1-32.
- López-Almirall, A. 1987. *Pinaceae*. Flora de la República de Cuba. Editorial Academia. La Habana, Cuba.
- López-Rodríguez, R. 2009. Diferenciación adaptativa entre poblaciones de *Pinus canariensis* Chr. Sm. ex DC. Universidad Politécnica de Madrid.
- Magaz-García, A. R., Hernández-Santana, J. R., Díaz-Díaz, J.L. & Hernández-Guerrero, I. 2006. Formación y consolidación de las morfoestructuras septentrionales de la región central del archipiélago cubano y su geodinámica reciente. *Invest. Geog.* 61: 7-23.
- Martínez, D., Vázquez, M., Chang, J.L., Denis, R., Fernández, O., Fernández de Lara, R. & Barrios, E. 1994. Generalización del mapa geológico a escala 1:100000 del Occidente de Cuba. Instituto de Geología y Paleontología. La Habana, Cuba.
- Meng, J., Chen, X., Huang, Y., Wang, L., Xing, F. & Li, Y. 2018. Environmental contribution to needle variation among natural populations of *Pinus tabulaeformis*. *J. For. Res.* 30(4): 1311-1322. <https://doi.org/10.1007/s11676-018-0722-6>
- Mercadet-Portillo, A., Marquetti, J. R., Alvarez-Brito, A., Pérez, M., Echevarría, P., Hidalgo, E., Ortiz, O., Rodríguez, E., Romeu, P., Avila, B., Parada, D., Yero, L., Sotolongo, P., Martínez, E., Maresma, H., González, A., Hechavarría, O., Hernández, O. & Paredes, L. 2001. Introducción de especies y procedencias en Cuba: Resultados de la investigación y proyecciones. *Recur. Genet. For.* 29: 15-18.
- Nelson, C. D., Nance, W. L. & Wagner, D. B. 1994. Chloroplast DNA variation among and within taxonomic varieties of *Pinus caribaea* and *Pinus elliottii*. *Canad. J. Forest. Res.* 24(2): 424-426. <https://doi.org/10.1139/x94-057>
- Nikolić, B., Bojović, S. & Marin, P. D. 2014. Morpho-anatomical properties of *Pinus heldreichii* needles from natural populations in Montenegro and Serbia. *Pl. Biosystems* 150(2): 254-263. <https://doi.org/10.1080/11263504.2014.984008>
- Nikolić, B., Mitic, Z., Bojovic, S., Matevski, V., Krivosej, Z. & Marin, P. 2019. Variability of needle morpho-anatomy of natural *Pinus heldreichii* populations from Scardo-Pindic mountains. *Genetika* 51(3): 1175-1184. <https://doi.org/10.2298/GENSR1903175N>
- Pérez-del Valle, L., Geada-López, G. & Sotolongo-Sospedra, R. 2020. Anatomía foliar comparada de *Pinus caribaea* var. *caribaea* y *P. tropicalis* (*Pinaceae*) en asociación simpátrica. *Revista Jard. Bot. Nac. Univ. Habana* 41: 163-174.
- Pszczolkowski, A. 1978. Geosynclinal sequences of the Cordillera de Guaniguanico in western Cuba; their lithostratigraphy, facies development, and paleogeography. *Acta Geol. Pol.* 28(1): 1-96.
- Rebolledo-Camacho, V., Jardón-Barbolla, L., Ramírez-Morillo, I., Vázquez-Lobo, A., Piñero, D. & Delgado, P. 2018. Genetic variation and dispersal patterns in three varieties of *Pinus caribaea* (*Pinaceae*) in the Caribbean Basin. *Plant. Ecol. Evol.* 151(1): 61-76. <https://doi.org/10.5091/plecevo.2018.1343>
- Samek, V. & Risco-Rodríguez, E. del 1989. Los pinares de la provincia de Pinar del Río, Cuba. Estudio sinecológico Editorial Academia. La Habana, Cuba.
- Sitte, P. & Kadereit, J.W. 2002. *Strasburguer - Tratado de Botánica*. 35th Ed. Ediciones Omega, S.A. Barcelona, España.
- Tiwari, S.P., Kumar, P., Yadav, D. & Chauhan, D.K. 2013. Comparative morphological, epidermal, and anatomical studies of *Pinus roxburghii* needles at different altitudes in the North-West Indian Himalayas. *Turkish J. Bot.* 37: 65-73. <https://doi.org/10.3906/bot-1110-1>
- Tyukavina, O. N., Neverov, N.A. & Klevtsov, D. N. 2019. Influence of growing conditions on morphological and anatomical characteristics of pine needles in the northern taiga. *J. For. Sci.* 65(1): 33-39. <https://doi.org/10.17221/126/2018-JFS>
- Vázquez-González, C., Sampedro, L., Rozas, V. & Zas, R. 2020. Climate drives intraspecific differentiation in the expression of growth-defence trade-offs in a long-lived pine species. *Scientific Reports* 10: 10584. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67158-4>
- Venturas, M., García, S., Fajardo, M., Collada, C. & Gil, L. 2013. Species selection for reforestations: What happens with historic local extinctions and habitat protection zones? A case study in the Cantabrian Range. *Eur. J. Forest. Res.* 132(1): 107-120. <https://doi.org/10.1007/s10342-012-0660-3>
- Wang, H., Malcolm, D.C. & Fletcher, A. M. 1999. *Pinus caribaea* in China: Introduction, genetic resources and future prospects. *For. Ecol. Manag.* 117: 1-15. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(98\)00479-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(98)00479-4)
- Xing, F., Mao, J., Meng, J., Dai, J., Zhao, W., Liu, H., Xing, Z., Zhang, H., Wang, X. & Li, Y. 2014. Needle morphological evidence of the

homoploid hybrid origin of *Pinus densata* based on analysis of artificial hybrids and the putative parents, *Pinus tabulaeformis* and *Pinus yunnanensis*. *Ecol. Evol.* 4(10): 1890-1902. <https://doi.org/10.1002/ece3.1062>

Zhang, M., Meng, J.-X., Zhang, Z.-J., Zhu, S.-L. & Li, Y. 2017. Genetic analysis of needle morphological and anatomical traits among nature populations of *Pinus tabulaeformis*. *J. Plant Stud.* 6(1): 62-75. <https://doi.org/10.5539/jps.v6n1p62>

Zheng, Y.Q. & Ennos, R. A. 1999. Genetic variability and structure of natural and domesticated populations of Caribbean pine *Pinus caribaea* Morelet. *Theor. Appl. Genet.* 98(5): 765-771. <https://doi.org/10.1007/s001220051133>