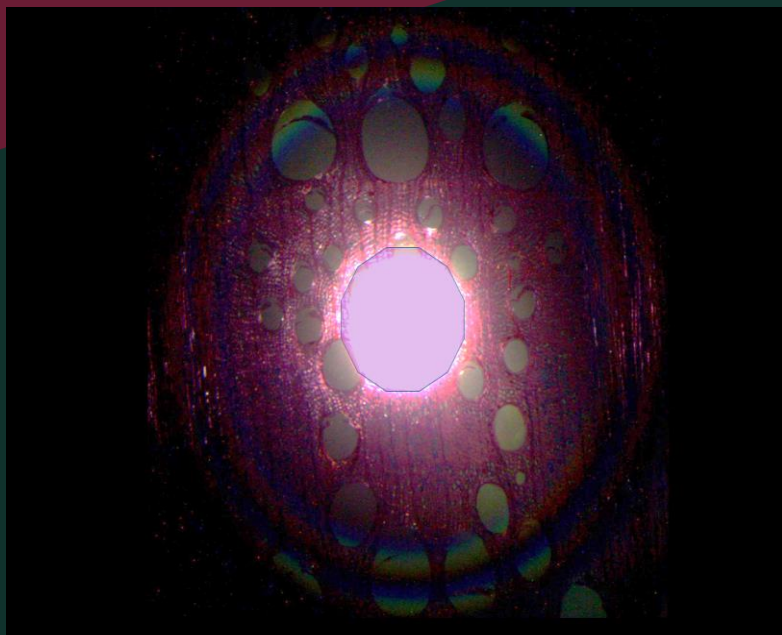


TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE IMAGEN SOBRE LA ANATOMÍA DE LA MADERA, APLICADA A ESTUDIOS DENDROCRONOLÓGICOS

Vicenta Constante García
José Villanueva Díaz
Erika Nava Reyna
Aldo Rafael Martínez Sifuentes



Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Av. Progreso no. 5, Barrio de Santa Catarina
Alcaldía Coyoacán, C.P. 04010, Ciudad de México.
Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en
Relación Agua Suelo Planta Atmósfera
Gómez Palacio, Durango, México
Folleto Técnico No. 52, diciembre 2021
ISBN: 978-607-37-1370-2
Registro de Derecho de Autor: 2021

DIRECTORIO INSTITUCIONAL

SECRETARIA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL

Dr. Víctor Manuel Villalobos Arámbula
Secretario

Ing. Víctor Suárez Carrera
Subsecretario de Alimentación y Competitividad

Dr. Salvador Fernández Rivera
Coordinador General de Desarrollo Rural

Lic. Ignacio Ovalle Fernández
Director General de Seguridad Alimentaria Mexicana

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS

Dr. Luis Ángel Rodríguez del Bosque
Encargado del Despacho de los Asuntos Correspondientes a la Dirección
General del INIFAP

Dr. Alfredo Zamarripa Colmenero
Coordinador de Investigación, Innovación y Vinculación

Dr. Luis Ortega Reyes
Coordinador de Planeación y Desarrollo

Lic. José Humberto Corona Mercado
Coordinador de Administración y Sistemas

Dr. Schiaffini Barranco Dante
Titular de la Dirección General Adjunta de la Unidad Jurídica

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN DISCIPLINARIA EN RELACIÓN AGUA-SUELO-PLANTA-ATMÓSFERA

Dr. Juan Estrada Ávalos
Director del CENID

**Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas
y Pecuarias**

Progreso No. 5
Barrio de Santa Catarina
Delegación Coyoacán
C.P. 04010, México, D.F.
Teléfono (55) 3871 – 8700

ISBN: 978-607-37-1370-2

Primera edición 2021

No está permitida la reproducción total de esta publicación, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia u otros métodos, sin el permiso previo y por escrito de la institución.

**TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE IMAGEN SOBRE LA
ANATOMÍA DE LA MADERA, APLICADA A
ESTUDIOS DENDROCRONOLÓGICOS**

Vicenta Constante García
José Villanueva Díaz
Erika Nava Reyna
Aldo Rafael Martínez Sifuentes

Contenido

INTRODUCCIÓN	1
TÉCNICAS ANATÓMICAS EMPLEADAS EN ESTUDIOS	
DENDROCRONOLÓGICOS	3
1. Colecta de muestras	3
2. Parámetros anatómicos sobre el plano transversal de angiospermas y gimnospermas leñosas	6
2.1 Parámetros anatómicos del anillo anual en gimnospermas leñosas.....	6
2.2 Parámetros anatómicos del anillo anual de angiospermas leñosas.....	8
3. Temporalidad de secciones y criterios dendrocronológicos	11
3.1 Visualización, sincronidad y fechado de crecimientos anuales.....	12
3.2 Criterios estadísticos dendrocronológicos	13
4. Obtención de imágenes macro y microscópicas	14
4.1 Obtención de micro-diapositivas	15
4.1.1 Ablandamiento de las muestras	16
4.1.2 Cortes histológicos	17
4.1.3 Tinción en cortes histológicos.....	19
4.1.4 Deshidratación de los cortes.....	20
4.1.5 Montado de cortes	21
4.1.6 Secado de cortes	22
4.2 Preparación de imágenes compuestas o micro-diapositivas	22
4.2.1 Equipo y toma de imágenes	23
4.2.2 Parámetros ópticos	24
4.2.3 Sistema de iluminación.....	24
4.2.4 Toma de imágenes en el microscopio	24
4.2.5 Superposición de imágenes	25
4.2.6 Composición de imágenes	26
4.2.6.1. Carga de imágenes	27
4.2.6.2. Configuración de panorama	27
4.2.6.3. Crear panorama	30
4.2.7. Calibración	31
5. Preparación de muestras para análisis de imagen en secciones transversales	33
5.1 Preparación de muestras en secciones transversales	34
5.2 Creación de imágenes compuestas en secciones transversales.....	35

6. Cuantificación de imágenes utilizando rodajas y crecimientos anuales obtenidos con barrena	36
7. Estudios de caso	41
7.1 Estudio a nivel microscópico. Porcentaje de vasos en madera temprana y tardía en encino	41
7.2 Estudio a nivel macroscópico. Análisis de imagen sobre los crecimientos anuales de mezquite como soporte a planes de manejo forestal.....	43
CONSIDERACIONES GENERALES	46
AGRADECIMIENTOS	47
LITERATURA CITADA	48

TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE IMAGEN SOBRE LA ANATOMÍA DE LA MADERA, APLICADA A ESTUDIOS DENDROCRONOLÓGICOS

Vicenta Constante García
José Villanueva Díaz
Erika Nava Reyna
Aldo Rafael Martínez Sifuentes

INTRODUCCIÓN

Uno de los eventos biológicos más importantes en la historia de la vida de la tierra es sin duda la colonización de las plantas terrestres (Raven y Edwards, 2001). Su gran travesía a lo largo de las diferentes eras geológicas las ha llevado a pasar de un sistema que les permitía regular el contenido hídrico y prevenir la deshidratación, hasta un sistema vascular con presencia de estomas, raíces y otros tejidos para obtener agua (Raven y Edwards, 2001; Sperry, 2003). Este cambio, consistió en pasar de un soporte hidrostático a un soporte basado en la lignificación de la pared celular, acompañado por la evolución del tejido esclerenquimático que rodea el sistema vascular (Sperry, 2003; Raven, 1977). Estas características, les permitió desarrollar una alta capacidad fotosintética, que se tradujo en un mayor potencial vegetativo y reproductor (Brodrribb *et al.*, 2005; Brodrribb *et al.*, 2012).

Así, el tejido que hoy se conoce como xilema, es el resultado de un cúmulo de ajustes evolutivos impresos en cada adaptación a lo largo del ciclo de vida de las especies (Chave *et al.*, 2009; Poorter *et al.*, 2010). Por lo que el estudio de la anatomía en respuesta a cambios

a través del tiempo constituye un área de oportunidad para entender la evolución de las diversas especies arbóreas hasta llegar a su estado actual. No obstante, las características anatómicas del xilema son numerosas con detalles pequeños de gran finura (IAWA, 1989; IAWA, 2004), que requieren de un procesamiento cuidadoso al momento de cuantificar los rasgos anatómicos (Arbellay *et al.*, 2012; Scholz *et al.*, 2013; von Arx *et al.*, 2015).

Hoy en día, el análisis de imágenes ejecutado mediante softwares especializados en anatomía de la madera es fundamental para generar bases de datos de componentes anatómicos de diversas especies vegetales. Estos avances permiten asociar las características de la anatomía de la madera a factores bióticos y abióticos que impactan a las especies estudiadas, algunos ejemplos de estos estudios son: las interacciones clima-crecimiento (Olano *et al.*, 2013; Castagneri *et al.*, 2015; Rita *et al.*, 2015), las respuestas al estrés de las plantas (Fonti *et al.*, 2012) y las funciones intrínsecas (Petit *et al.*, 2011; Olson *et al.*, 2014; Guet *et al.*, 2015), entre otras relaciones. Desde esta perspectiva, no es sorprendente que el análisis cuantitativo de las características anatómicas del xilema se haya convertido en un campo prometedor de la dendrocronología, tomando en cuenta que éstas representan un archivo natural que ofrece información con una alta resolución intra-anual (Fonti *et al.*, 2010).

No obstante, las investigaciones que consideran este tipo de análisis se han visto afectadas por las limitaciones metodológicas y los procedimientos de

recopilación de datos, que requieren largos periodos de tiempo para su obtención (von Arx y Carrer, 2014). Además, las metodologías clásicas no toman en cuenta el tiempo en el que fueron creados estos rasgos anatómicos, dejando de lado información relevante que muestra la respuesta de las plantas leñosas al ambiente, y ante un clima cada vez más desafiante para los ecosistemas terrestres.

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo es mostrara las técnicas de análisis de imagen para aumentar la eficiencia en los análisis anatómicos temporales, en donde las imágenes a gran resolución son un insumo fiable para los softwares de cuantificación anatómica.

TÉCNICAS ANATÓMICAS EMPLEADAS EN ESTUDIOS DENDROCRONOLÓGICOS

En general, la toma de muestras depende del objetivo de la investigación. Este apartado se basa en la obtención de muestras en angiospermas y gimnospermas leñosas, enfocándose sobre el plano transversal, un aspecto importante para el análisis de estudios temporales y flujo de agua. Para ello, se toma en cuenta la obtención de incrementos radiales con taladro y secciones transversales con motosierra.

1. Colecta de muestras

En estudios anatómicos enfocados al análisis de las estructuras a través del tiempo, el procedimiento de obtención de muestras es prácticamente similar al muestreo con fines dendrocronológicos (Villanueva-Díaz *et al.*, 2009; Natalini y Alejano, 2017). No obstante, es

importante tomar medidas específicas para obtener mejores resultados.

Para la obtención de incrementos anuales en especies arbóreas con un taladro de Pressler, el muestreo se realiza perpendicular al eje de crecimiento del tallo, tronco o fuste principal. En coníferas, se recomienda el uso de taladros con un diámetro interno de 10 a 12 mm, con el cual, se obtiene una mayor cantidad de madera con fines de análisis anatómicos. Para la obtención de muestras se sugiere el uso de barrenas debidamente afiladas que realicen un corte perfecto durante su inserción para la obtención de los incrementos, ya que de otra manera pueden ocasionar núcleos comprimidos que producen grietas microscópicas dentro de la estructura de los anillos anuales que inciden con frecuencia a lo largo del área más débil, esto es, los límites de los anillos y/o los rayos. Como resultado de lo anterior, las secciones que se obtienen de estos incrementos se fraccionan haciendo difícil obtener una sección continua, que puede ser perjudicial en la obtención de información (Gärtner y Schweingruber, 2013).

En estudios específicos sobre el cambium vascular se utilizan inclusive herramientas especializadas para captar el crecimiento de esta sección (Figura 1a). El uso de barrenas con diámetros mayores a 5 mm en especies de hojosas (angiospermas) (Figura 1b) no es recomendable debido a la dureza de la madera, que puede dañar el taladro y hasta provocar su rompimiento; por lo anterior, en estas especies se recomienda obtener secciones transversales con motosierra, ya sea de

árboles vivos, muertos o de tocones de aprovechamientos previos (Figura 1c). Al terminar el corte con motosierra se realiza un etiquetado sobre la rodaja para su identificación y se recubre con hule delgado para su protección, con el fin de mantener las secciones integras en el transporte al laboratorio.

Posterior al muestreo de campo con taladro en especies de gimnospermas, los núcleos de crecimiento se incrustan en molduras de madera para fijar la muestra y facilitar su manejo. Finalmente, los datos de cada incremento se registran en la moldura para su identificación (Villanueva-Díaz *et al.*, 2009; Natalini y Alejano, 2017).

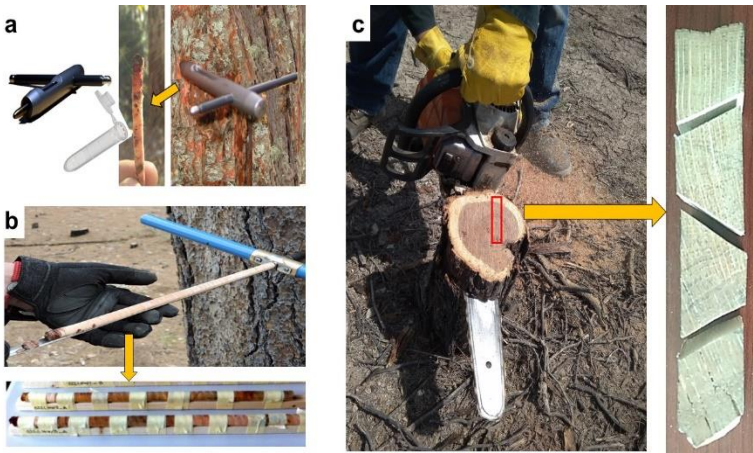


Figura 1. Obtención de muestras con diferentes herramientas. a) uso de un Trepbor comúnmente empleado en estudios de xilogénesis, b) empleo de taladro de Pressler, c) utilización de motosierra para la obtención de rodajas. Fuente: realización propia.

En el caso de que las muestras sean utilizadas para análisis químicos, isótopos o de densidad, se recomienda fijar los cilindros de madera en conductos de

cables abiertos o en una placa o lámina corrugada de una sola cara (Gärtner y Schweingruber, 2013).

2. Parámetros anatómicos sobre el plano transversal de angiospermas y gimnospermas leñosas

Los estudios dendrocronológicos se han desarrollado de manera particular en especies de coníferas presentes en regiones templadas y frías. En este tipo de clima, las especies muestran estacionalidad, lo que favorece la formación de madera homogénea con anillos anuales bien definidos y de fácil identificación, lo cual es menos frecuente en especies de angiospermas leñosas cuya estructura anatómica es más compleja (Fritts, 1976; Cuny *et al.*, 2014). Este apartado tiene la finalidad de mostrar los rasgos anatómicos principales, la medición básica sobre el plano transversal y mencionar algunas variables a obtener a partir de las mediciones básicas.

2.1 Parámetros anatómicos del anillo anual en gimnospermas leñosas

El anillo anual de las gimnospermas se compone de dos bandas perfectamente diferenciadas; una formada en primavera (madera temprana), que se caracteriza por la presencia de traqueidas con paredes celulares delgadas y diámetros grandes (Zobel y Van Buijtenen, 1983); la otra banda (madera tardía) se forma durante el verano y se caracteriza por la presencia de traqueidas con paredes celulares gruesas y diámetros pequeños (lignificadas). La transición entre ambas bandas puede ser gradual o abrupta, y constituyen parte del xilema secundario (Parham y Gray, 1984; Cuny *et al.*, 2014).

Independientemente de lo anterior, para un análisis dendrocronológico con un enfoque intra-anual existe una serie de características a medir que se muestran en la Figura 2.

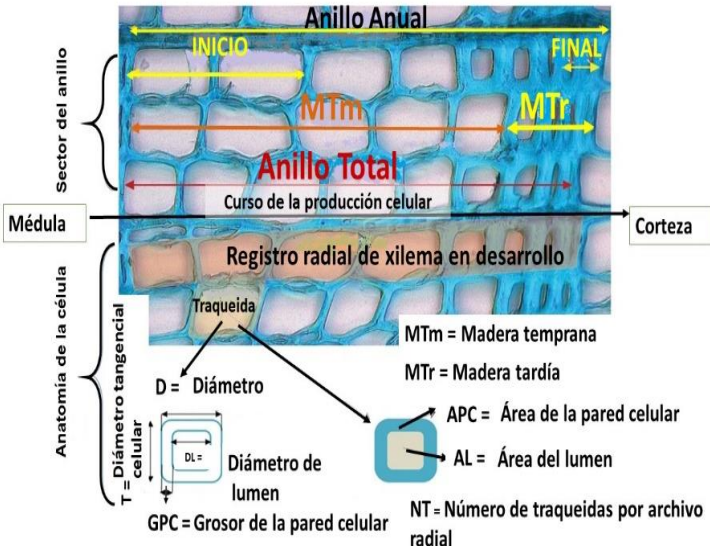


Figura 2. Corte transversal del anillo anual de una gimnosperma y variables anatómicas medibles (Fonti *et al.*, 2013).

Los parámetros a medir en el anillo anual son una fuente de información en los análisis de la variabilidad climática intra-anual (Pacheco *et al.*, 2016) u otros fenómenos internos del árbol.

De manera que, a través de los rasgos anatómicos, ubicados en el plano transversal (Figura 3), tales variables como el diámetro del lumen, grosor de la pared celular, número de traqueidas, entre otras características, se puede llegar a entender procesos fisiológicos más complejos dentro de la planta (Castagneri *et al.*, 2015).

¿Qué medir en gimnospermas?

Tamaño del lumen celular
Grosor de la pared celular
Posición de la célula

¿Qué calcular?

Parámetros hidráulicos
Fuerza mecánica
Densidad de la madera
Madera temprana y tardía

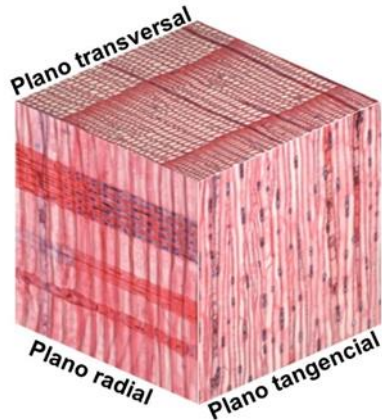


Figura 3. Planos de cortes en gimnospermas. Variables a medir y determinaciones que se pueden generar a partir mediciones básicas (von Arx *et al.*, 2017).

El presente documento hace énfasis en el plano transversal; sin embargo, en el plano radial y tangencial existen otras variables de interés que pueden ser exploradas utilizando análisis de imagen.

2.2 Parámetros anatómicos del anillo anual de angiospermas leñosas

Los estudios dendrocronológicos en angiospermas leñosas fueron desarrollados en las últimas décadas con el objetivo de entender el comportamiento de los anillos anuales en el tiempo, particularmente en las regiones subtropicales (Stahle *et al.*, 1999; Worbes *et al.*, 2003; Therrell *et al.*, 2007).

Dentro del grupo de las angiospermas leñosas, los anillos de crecimiento anual se diferencian por la presencia de vasos o poros; no obstante, también existen diferencias marcadas dentro del parénquima axial, tipo de fibras, fibrotraqueidas, tamaño del lumen y

engrosamiento de la pared celular de los elementos leñosos (Carlquist, 1988).

De acuerdo con González y Eckstein (2003), el límite entre la madera temprana y tardía en las angiospermas se distingue por el tamaño del vaso; es decir, se considera como madera temprana la porción del anillo compuesta exclusivamente por vasos grandes que forman una banda continua. Por otra parte, la madera tardía, presenta vasos con una distribución definida, donde los vasos generalmente presentan menor tamaño (González y Eckstein, 2003; Pérez-Olvera y Dávalos-Sotelo, 2008) (Figura 4).

En contraste a las gimnospermas, en el grupo de angiospermas existe un gran número de parámetros a medir, dado que exhiben una gran diversidad de rasgos anatómicos (Carlquist, 1988; Crivellaro y Schweingruber, 2015) (Figura 4).

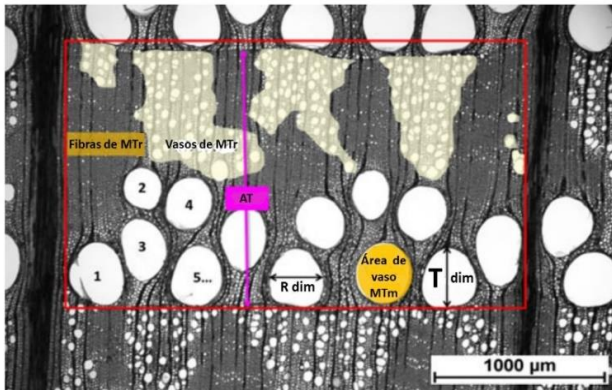


Figura 4. Parámetros anatómicos cuantitativos en cada anillo de crecimiento anual de las angiospermas leñosas. AT: Anillo total, MTm: Madera temprana, MTr: Madera tardía, Tdim: Dimensión tangencial del vaso de la MTm, Rdim: Dimensión radial del vaso de la MTm (Gričar *et al.*, 2013).

Los parámetros básicos a medir en la sección transversal son: el número de vasos por μm^2 , el área de los mismos (μm^2), el área conductiva de vasos en la madera temprana (% seccional ocupado por los vasos) y la densidad de vasos o número de vasos en la madera temprana o tardía por milímetro cuadrado ($\text{n}^\circ/\text{mm}^2$) (Gricar *et al.*, 2013). Estos parámetros se asocian con las estrategias del ciclo de vida de las especies arbóreas (Poorter *et al.*, 2010), o bien, con la resistencia del xilema a la cavitación dentro de una población arbórea (Guet *et al.*, 2015); de esta manera, algunas de estas características básicas son utilizadas para calcular otros parámetros (Figura 5).

¿Qué medir en angiospermas?

- Tamaño del lumen celular
- Grosor de la pared celular
- Posición de la célula
- Agrupación de células
- Número de conductos/densidad

¿Qué calcular?

- Parámetros hidráulicos
- Fuerza mecánica
- Densidad de la madera
- Madera temprana y tardía

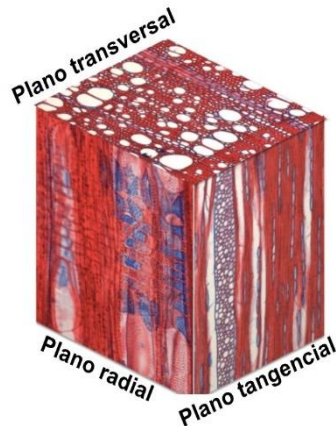


Figura 5. Planos para cortes anatómicos en la madera de angiospermas, variables a medir y calcular (von Arx *et al.*, 2017).

Estos mismos rasgos, se pueden estudiar a través del tiempo y brindar información valiosa para una amplia gama de áreas científicas, tales como paleobotánica, ecología y fisiología de las plantas (Zimmermann, 1983;

Fonti *et al.*, 2010; Pittermann, 2010; Gasson, 2011; Choat *et al.*, 2012).

Por otro lado, tanto las traqueidas como los vasos juegan un papel crucial en el transporte de agua desde las raíces hasta las hojas. Ambos tipos de células también llamados elementos traquearios o simplemente conductos, muestran una amplia diversidad anatómica con respecto a su tamaño, forma, disposición y agrupación (Carlquist, 2001), lo cual es el primer paso para la descripción a nivel macroscópica dentro del plano transversal.

3. Temporalidad de secciones y criterios dendrocronológicos

En trabajos dendrocronológicos, la determinación del ancho del anillo y sus bandas de crecimiento intra-anual (madera temprana, madera tardía) se pueden detectar de manera más clara con el apoyo de estudios anatómicos, especialmente cuando la especie de interés pertenece a las angiospermas, cuya madera es más compleja (Figuras 4, 5). Posterior a ello, se debe llevar a cabo el fechado de los crecimientos con técnicas dendrocronológicas convencionales que permiten definir con exactitud el año de su formación (Fritts, 1976; Bräker, 2002).

Particularmente en este trabajo, se enfatiza el estudio de los crecimientos anuales en un plano transversal, en donde las imágenes previas describen las características anatómicas a medir en especies de gimnospermas y de angiospermas leñosas, respectivamente, tomando en cuenta la temporalidad.

3.1 Visualización, sincronización y fechado de crecimientos anuales

Esta actividad dentro del proceso es crucial, dado que fundamenta la temporalidad o fechado de cada crecimiento para análisis anatómicos; es decir, a partir de las muestras debidamente datadas, se sustentará el crecimiento de los respectivos cortes anatómicos, los cuales, se obtendrán del conjunto de secciones o incrementos, que presenten una clara concordancia en sus crecimientos para una región o sitio en particular.

El trabajo de preparación de muestras debe permitir una visualización correcta de las bandas anuales e intra-anuales (Figura 6).

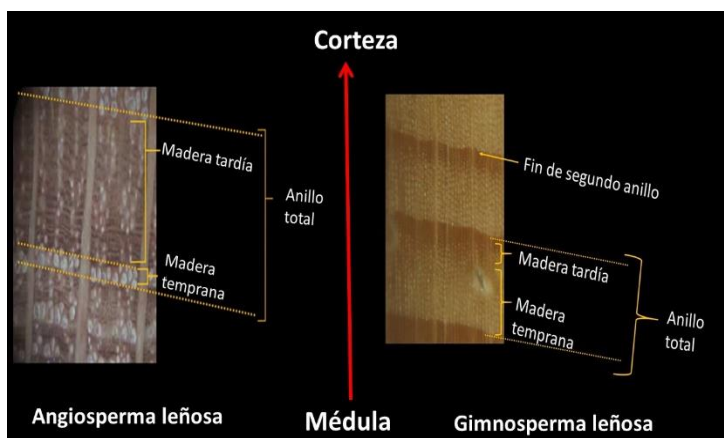


Figura 6. Determinación de la madera temprana y tardía en secciones de madera pulida de dos especies: una de angiosperma (izquierda) y otra de gimnosperma (derecha). Fuente: Realización propia.

En angiospermas, las identificaciones de las bandas intra-anuales marcan la pauta para identificar el

crecimiento anual y detectar patrones de crecimiento para un datado correcto de la madera.

Este patrón de crecimiento es único para cada sitio de muestreo y funciona como una especie de código único e irrepetible. Aunque existen años muy característicos (secos = anillo pequeño, húmedos = anillo grande) dentro de una región, las muestras del sitio dictan la peculiaridad para cada lugar.

3.2 Criterios estadísticos dendrocronológicos

Los estudios anatómicos microscópicos (traqueidas, fibras, poros etc.) referenciados en el tiempo, deben de ser respaldados por un gran número de muestras, para cumplir con los criterios estadísticos de una adecuada réplica en el número de series de tiempo (Figura 7).

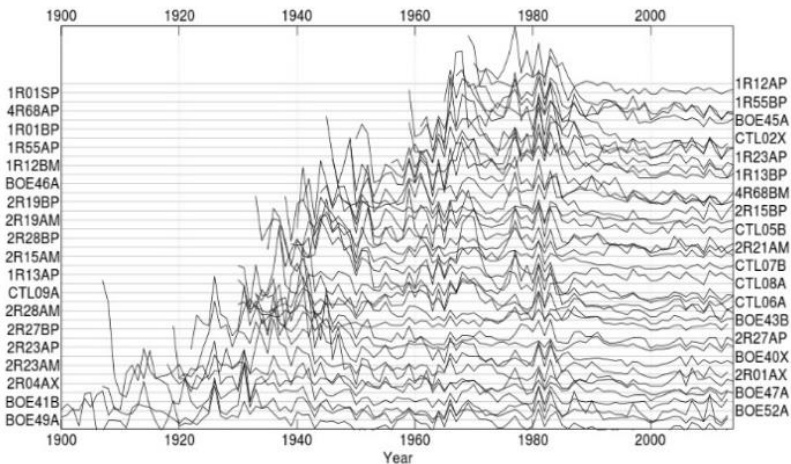


Figura 7. Sincronicidad en los crecimientos anuales de *Pinus pseudostrobus* Lindl., en un bosque mixto de coníferas en el estado de Nuevo León. La cronología desarrollada cumple con los criterios estadísticos para el desarrollo de estudios dendrocronológicos (Constante-García, 2016).

Por otra parte, las cronologías desarrolladas deben cumplir con criterios estadísticos dendrocronológicos básicos, tales como: I) sensibilidad media (MS), estadístico que evalúa la variabilidad en el crecimiento de un año al otro; II) coeficiente de autocorrelación de primer orden (AR1), el cual estima la influencia del año previo en el crecimiento del año actual; III) correlación media entre árboles (Rbt), que mide la señal climática común entre series; IV) relación señal/ruido (SNR), que indica la porción de la señal climática presente en la cronología con relación a otros factores de disturbio y finalmente, V) la señal expresada de la población (EPS), en donde un valor de $EPS \geq 0.85$ se utiliza a menudo como un umbral, en el que la cronología se considera suficientemente sólida para la reconstrucción climática (Wigley *et al.*, 1984).

El cumplimiento de los criterios anteriores permite establecer un valor estadístico al fechado exacto de los crecimientos, así como la validez estadística de la serie temporal, a partir de los cuales se caracterizan los rasgos anatómicos.

4. Obtención de imágenes macro y microscópicas

Dentro de esta sección, se ilustran dos grandes ejemplos: uno a nivel microscópico utilizando cortes histológicos y un segundo a nivel macroscópico empleando secciones transversales o rodajas de arbolado.

El procedimiento para este objetivo consiste en dos pasos básicos: 1) obtención de imágenes, ya sea en cortes histológicos, rodajas o virutas, y 2) la elaboración

de imágenes compuestas, principal insumo para los programas de cuantificación anatómica (Figura 8).

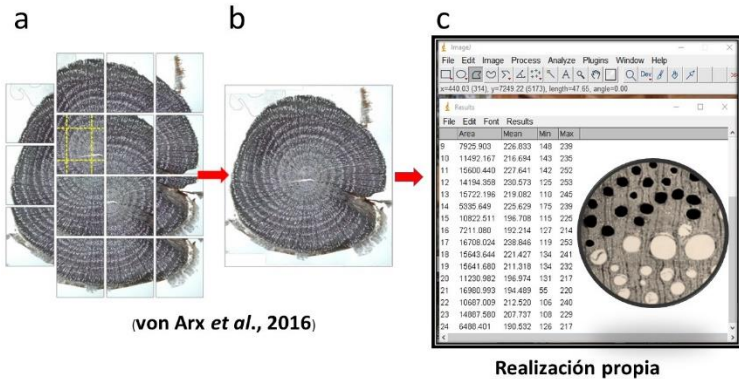


Figura 8. Proceso de medición y análisis de imagen para una rodaja de árbol: a) fotografías por secciones; b) concatenación de imágenes y; c) cuantificación de las características anatómicas.

En este tipo de estudios las imágenes generalmente se realizan sobre ramas, raíces y tallos de diferentes tamaños. En este apartado se expone paso a paso cada uno de las fases en la obtención de las imágenes.

4.1 Obtención de micro-diapositivas

De acuerdo con Franke y Quenneville (2011), la realización de cortes anatómicos clásicos se obtiene de cubos de albura y duramen con dimensiones generalmente de 2 cm x 2 cm extraídos del plano transversal, tangencial y radial para su análisis respectivo (Pérez-Olvera y Dávalos-Sotelo, 2008; Pacheco *et al.*, 2016).

No obstante, los estudios sobre anatomía de madera basados en datos temporales, generalmente se realizan

a través de secciones transversales extraídas del fuste a 1.30 m de altura sobre el nivel del suelo.

4.1.1 *Ablandamiento de las muestras*

Las muestras de crecimiento colectadas con taladro de Pressler para análisis de imagen, requieren de subsecciones en forma diagonal. La razón de este patrón, se basa en que cada corte anatómico representa una imagen que se unirá a la siguiente utilizando rasgos en común. El corte en forma diagonal, ayudará a que ambas imágenes compartan rasgos o características similares (Figuras 9).



Figura 9. a) Patrón de corte diagonal: b) patrón de corte recomendado para dar continuidad cronológica al crecimiento. Fuente: (von Arx *et al.*, 2017).

El corte se debe de realizar con una segueta para evitar eliminación de la superficie para el análisis, como es el caso de una sierra cuyo grosor de disco resulta considerablemente grande.

Es importante recalcar, que la muestra seleccionada para el corte histológico, provenga de muestras datadas con exactitud al año de formación (Figura 10).

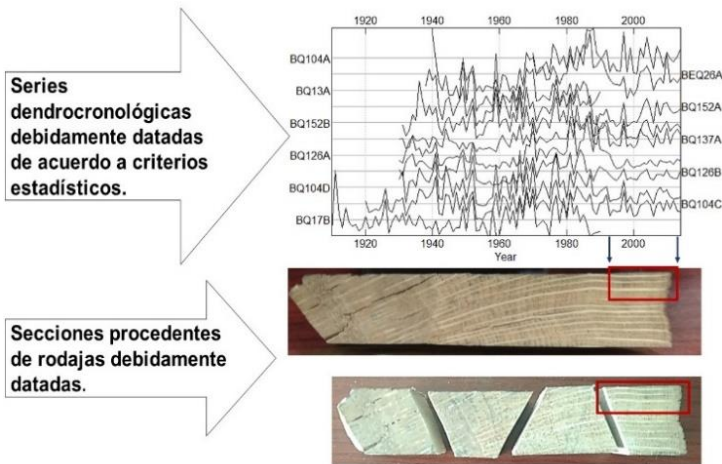


Figura 10. Series que respaldan el fechado del corte histológico. Sección marcada en rojo señala el lugar del corte a realizar. Fuente: realización propia.

Posteriormente, las secciones se suavizan en agua destilada a punto de ebullición por dos horas, y a continuación, se realizan los cortes anatómicos (Gärtner y Schweingruber, 2013).

El procedimiento en el ablandamiento de los tejidos puede ser muy similar en algunos trabajos (Pacheco *et al.*, 2016; Prendin *et al.*, 2020). Sin embargo, se recomienda para la especie de interés, aplicar el procedimiento más adecuado acorde a la facilidad y calidad del corte obtenido en cada metodología aplicada.

4.1.2 Cortes histológicos

De acuerdo con Gärtner y Schweingruber (2013), en los cortes anatómicos se pueden realizar inspecciones

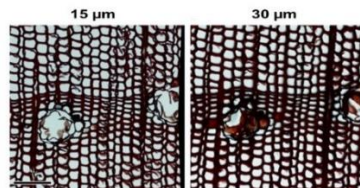
microscópicas con un grosor de corte mínimo de 10 a 20 micras y hasta un grosor máximo de 60 μm . En gimnospermas algunos trabajos utilizan cortes de 8 a 20 μm (Lenz *et al.*, 2013; Olano *et al.*, 2014; Pacheco *et al.*, 2016; Martin-Benito *et al.*, 2017); mientras que las angiospermas muestran un rango entre 8 a 25 μm (Fonti *et al.*, 2012; González-González *et al.*, 2013; Gricar *et al.*, 2013; Prendin *et al.*, 2020). Lo anterior no es una regla, en ambos grupos se busca obtener un corte lo más fino posible.

Es importante señalar que, en un corte de mayor espesor, se dificulta la medición de ciertos rasgos del tejido que requieren de más definición visual. Por lo anterior, la exploración con diferentes tipos de corte es recomendable, ya que la densidad de la madera (relación entre madera y volumen) varía de una especie a otra.

La realización de cortes anatómicos se debe realizar utilizando un micrótomo (Figura 11) evitando fisuras. Los cortes deben ser limpios, lo suficientemente delgados para mostrar con claridad los rasgos de las células, sin llegar al grado de fraccionar la estructura del tejido debido a cortes demasiado delgados.



Fuente: realización propia



Fuente: Von Arx *et al.*, 2016

Figura 11. Grosor de corte y definición visual de las células.

Una vez realizado el corte, y para evitar el quiebre por falta de humedad, éstos deben de ser cubiertos con gotas de glicerol (glicerol, CAS 56-81-5) (33 % = una parte de glicerol concentrado y dos partes de agua), el cual debe ser retirado con agua destilada para continuar la rutina de tinción.

Dentro de este apartado, se recomienda que las navajas sean sustituidas continuamente, dado que se requiere una buena calidad en el corte.

4.1.3 Tinción en cortes histológicos

Después de realizado el corte, se procede a efectuar un manchado o tinción del corte con el fin de distinguir las estructuras lignificadas, de aquellas no lignificadas (Gärtner y Schweingruber, 2013).

Para esta rutina, se emplea únicamente la safranina y el Astra Blue (Basic Blue 140, CAS 82864-57-1). El proceso de tinción se inicia con la preparación de safranina (1 g de polvo de safranina + 100 ml de agua destilada), y Astra Blue (0.5 g de polvo de color azul Astra + 2 ml de ácido acético (CAS 64-19-7) concentrado + 100 ml de agua destilada).

Posterior a la aplicación del tinte, se deja reposar por lo menos 5 minutos y finalmente se lava con agua destilada utilizando una piseta para eliminar el exceso de tinte (Gärtner y Schweingruber, 2013) (Figura 12).



Figura 12. Tinción de la muestra con los tintes vegetales Astral Blue y safranina. Fuente: realización propia.

Cabe mencionar que el tono del corte anatómico puede controlarse a través del tiempo de exposición de la safranina, ya que un menor tiempo al recomendado (5 minutos) se obtendrán tonos más claros.

4.1.4 Deshidratación de los cortes

Este proceso consiste en lavar los cortes con etanol diluido de forma gradual. Esta sección debe durar de 2 a 3 minutos posterior a la tinción (Gärtner y Schweingruber, 2013) (Figura 13).

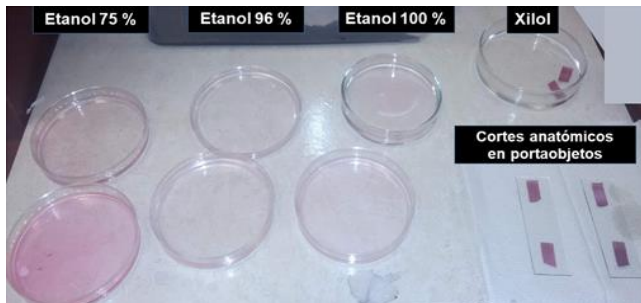


Figura 13. Proceso de deshidratación, lavado con xilol y montaje sobre portaobjetos. Fuente: realización propia.

Al finalizar la deshidratación con etanol, los cortes son lavados en xilol (xileno, CAS 106-42-3); si al enjugar el corte se torna lechoso (blanquecino), se debe repetir el proceso de deshidratación, ya que esto indica que no está suficientemente deshidratado.

La aplicación del xilol permite que las células se vuelvan transparentes, contribuyendo a una mejor nitidez al momento de realizar el análisis.

4.1.5 Montado de cortes

Como siguiente paso, se cubre el corte histológico con una gota de bálsamo de Canadá al 100 % y sobre el mismo, se coloca un vidrio protector o cubreobjetos, procurando abarcar el tamaño total del corte o sección. Se debe evitar la presencia de burbujas, para lo cual, el vidrio protector se deja caer suavemente y que por gravedad se acople al corte. Cada portaobjeto debidamente montado debe ser aislado con una película plástica y puesto en una lámina metálica sujetado herméticamente con un imán (Gärtner y Schweingruber, 2013) (Figura 14).



Figura 14. Los cortes se sujetan bajo la presión de un imán sobre una lámina metálica. Fuente: elaboración propia.

En un corte histológico montado en un portaobjeto de dimensiones normales (25 x 75 mm) la cantidad de bálsamo es quizá equivalente a una gota derramada por una jeringa de medida grande. Se debe procurar no exceder las cantidades de bálsamo, debido a que es difícil el secado de esta resina en el siguiente paso.

4.1.6 Secado de cortes

De acuerdo con Gärtner y Schweingruber (2013), los cortes se colocan en un horno a 60°C durante 12 h. Posteriormente se dejan enfriar a una temperatura de 20°C y finalmente, al retirar las laminillas se limpia el portaobjeto que contiene el corte utilizando un cúter o navaja para eliminar el excedente de bálsamo. Al terminar el montaje y secado de los cortes histológicos se inicia la fase de análisis visual utilizando el microscopio.

4.2 Preparación de imágenes compuestas o micro-diapositivas

Al realizar un análisis bajo el microscopio, es común realizar un acercamiento para una mejor apreciación de los rasgos que se quieren examinar; al efectuar este acercamiento, el campo de visión disminuye, cubriendo realmente una superficie muy pequeña. Debido a esto, las muestras anatómicas a menudo no encajan en un el marco de imagen capturada, particularmente cuando se trabaja con muestras que involucran varios años, como es el caso de las series dendrocronológicas. Este problema puede ser resuelto al obtener varias imágenes superpuestas unidas en una sola imagen. Para lograr lo anterior, se inicia con la obtención de fotografías

individuales, que posteriormente se concatenan creando una sola imagen que cubre una mayor superficie para el análisis. Esta unión no sólo aporta una mayor superficie, sino que, de acuerdo a la configuración de unión se elimina el ruido óptico que influye en la medición.

4.2.1 Equipo y toma de imágenes

Actualmente existen equipos de microscopía de alta tecnología, que incluyen un sistema de toma de imagen; aunque a nivel microscópica es factible implementar una cámara para microscopio con una resolución mínima de 5 megapíxeles, utilizando un adaptador adecuado (Figura 15). La toma de imágenes se realiza empleando el software de la propia cámara, a través del cual, se selecciona la resolución (alta o baja), el tipo de formato (JPG, GIF, etc.) y otras propiedades.

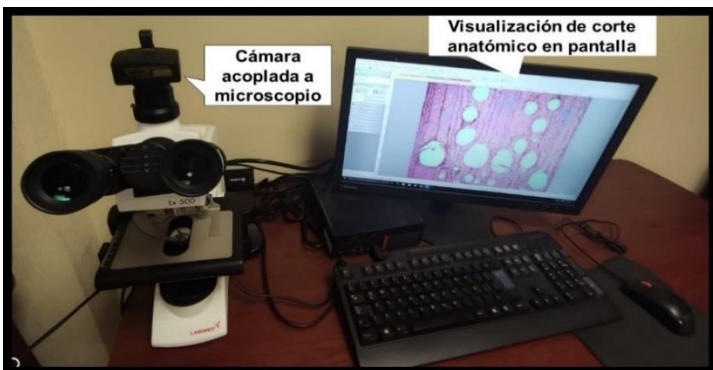


Figura 15. Microscópico con un sistema de iluminación “khöler”, acoplado a una cámara. Fuente: realización propia.

La ejecución correcta del traslape, se puede llevar a cabo implementando una rejilla que se encuentra en las herramientas básicas del software “ToupView” o

cualquier otro programa compatible con la cámara utilizada.

4.2.2 Parámetros ópticos

En madera de angiospermas, se recomienda que la toma de imágenes sobre el corte histológico se lleve a cabo con el objetivo 4x, ya que proporciona una resolución de 0.7 a 1.0 píxeles/ μm , suficientes para analizar componentes celulares como los vasos o poros, presentes en el anillo anual. En el caso de estructuras de menor dimensión como las fibras, se recomiendan utilizar objetivos de mayor resolución como el de 10x (von Arx *et al.*, 2016).

4.2.3 Sistema de iluminación

Una tinción mal realizada, una cantidad de luz incorrecta (demasiado alta o muy baja), o un balance inadecuado en el color, provocará un contraste con imágenes deficientes. Por esta razón, se recomienda el empleo del sistema de iluminación “Köhler”. Este sistema proporciona una homogeneidad de luz sobre el campo de visión (Benner y Probst, 1994). Por tanto, es indispensable trabajar con un microscopio que lo tenga incorporado, el cual no necesita ningún tipo de filtro y el uso del mismo generalmente es asistido por el proveedor del equipo microscópico. En caso de no ser así, se recomienda consultar la referencia siguiente (García-Escudero *et al.*, 2017).

4.2.4 Toma de imágenes en el microscopio

En este paso, se procede a tomar imágenes superpuestas, moviendo sistemáticamente la muestra,

mientras se capturan las imágenes (Figura 16). Para el caso del corte histológico derivado del paso anterior (tinción), se requiere únicamente del movimiento de la platina del microscopio para tomar consecutivamente las imágenes.

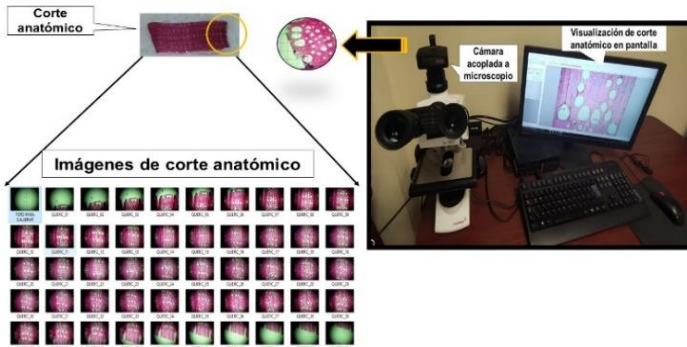


Figura 16. Toma de imágenes de forma consecutiva bajo el microscopio utilizando el software ToupView. Fuente: realización propia.

En este proceso, es importante tomar una fotografía a una rejilla graduada con unidades tales como micras, milímetros o centímetros con la finalidad de llevar a cabo la conversión a pixeles. La toma de la fotografía, se debe llevar a cabo bajo los mismos parámetros sobre los cuales se realiza la toma de imágenes del corte anatómico, de no ser así, las medidas serán incorrectas dando un falso positivo sobre los datos. Este proceso es llamado “calibración” y se explica en el punto 4.2.7 a mayor detalle.

4.2.5 Superposición de imágenes

Una superposición o traslape adecuado en la serie fotográfica asegura una cantidad adecuada de fotografías que favorece el hilvanado de las imágenes.

En el caso de angiospermas, la superposición debe de oscilar en un 20%, mientras que para las gimnospermas se recomienda entre 30% y 40% (von Arx *et al.*, 2016) (Figura 17).

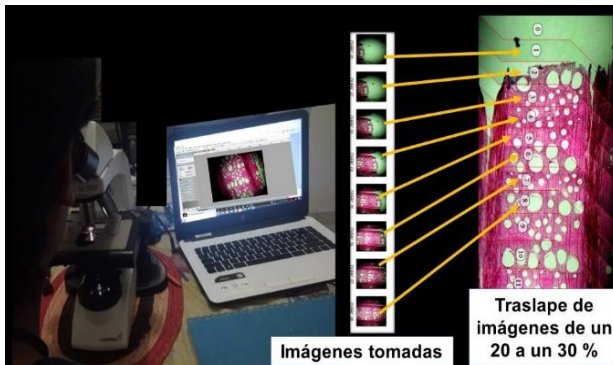


Figura 17. Traslape en la toma de imágenes consecutivas utilizando un microscopio con una cámara digital. Fuente: realización propia.

Es importante recordar en este punto el uso asignado del tipo de objetivos microscópicos a utilizar, de acuerdo al grupo al que pertenece, angiospermas o gimnospermas (visto en la sección 4.2.2).

4.2.6 Composición de imágenes

El siguiente apartado pretende familiarizar al interesado en el manejo del programa PTGui, el cual es ampliamente utilizado en estudios sobre la medición de características microscópicas en series temporales (von Arx y Carrer, 2014; Carrer *et al.*, 2015; Souto, 2015; von Arx *et al.*, 2015).

Para el mejor uso de la aplicación se recomienda su descarga en la página oficial "<https://www.ptgui.com>" en donde se pueden obtener tutoriales y la versión de prueba para una mejor apreciación de las ventajas que

ofrece. A continuación, se da una breve descripción de su funcionamiento.

El software presenta una interfaz práctica y su manejo se basa en tres pasos:

1. Carga de imágenes
2. Configuración de panorama
3. Creación de panorama

4.2.6.1. Carga de imágenes

El software demanda en primera instancia cargar las imágenes a PTGui, desde el almacenamiento hasta el propio programa para la unión de la mismas.

Las imágenes deben de estar ordenadas a través de un número dado para que, en automático se respete el orden asignado. Una vez en el sistema, el software detecta las propiedades de la cámara (distancia focal, tipos de lente); no obstante, es necesario verificar los datos en las celdas correspondientes que arroja el mismo programa.

4.2.6.2. Configuración de panorama

Dentro de esta etapa, se permite constituir y editar la unión del mosaico fotográfico (imagen compuesta). La opción de “alineación de imágenes” permite ensamblar las fotografías de acuerdo a un número asignado para cada fotografía, de tal forma, que la unión de las mismas se lleva a cabo por la similitud de rasgos que comparten, haciendo un efecto en cadena con todas las imágenes involucradas (Figura 18).

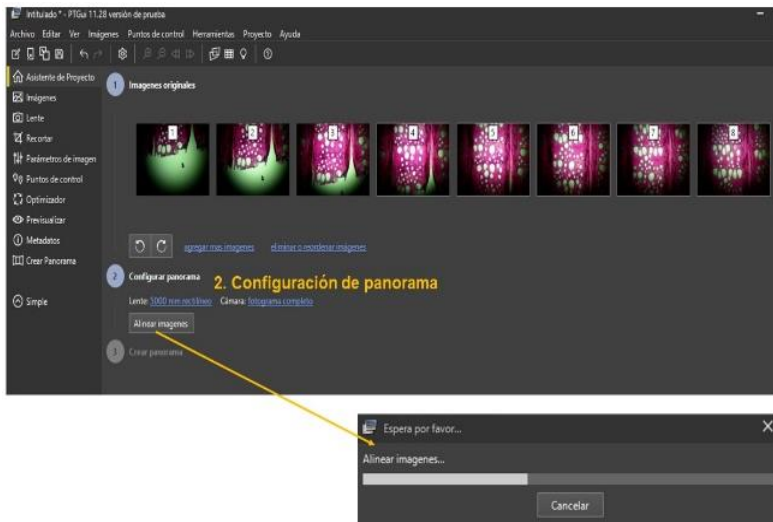


Figura 18. Proceso para la creación de un editor visual de la imagen compuesta, que se ejecuta al presionar la opción de “alinear imágenes”. Fuente: realización propia.

Adicionalmente, el programa indica aquellas imágenes que presentan pocos rasgos en común con las adyacentes, denominadas por el programa como “huérfanas”. Este aparatado es sin duda el de mayor importancia, ya que gracias a esta función se permite la adición de puntos de control o de unión entre las fotografías de forma manual.

La finalidad de este proceso consiste en aumentar el número de puntos clave, reforzando las imágenes con menor cantidad de asociación entre las mismas. Se puede decir que el programa ofrece una interfaz amigable para una manipulación de forma manual (Figura 19).



Figura 19. Rasgos asociados entre imágenes. El recuadro azul indica la fotografía seleccionada para examinar. Las imágenes señaladas con flechas blancas indican aquellas que comparten rasgos con la imagen seleccionada. Fuente: realización propia.

Dentro de la opción “configuración del programa” también se brinda un editor que permite la visualización de todas las imágenes unidas, esto ayuda a visualizar la porción cubierta de cada fotografía en la estructura (corte histológico), accediendo a su manipulación y definición del límite (Figura 20).

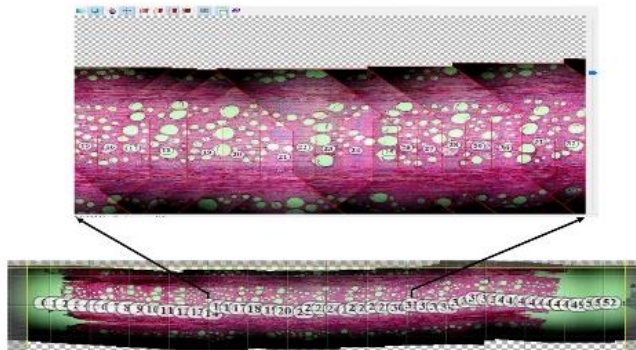


Figura 20. Visualización de la serie fotográfica. La línea amarilla indica el límite del panorama final. Cada línea roja representa una porción de la foto que cubre la superficie del corte. Fuente: elaboración propia.

Al finalizar la rutina se genera una evaluación, mostrando un mensaje de “bueno”, “malo” o “regular” de acuerdo a la asociación entre los rasgos de una imagen y otra (Figura 21).

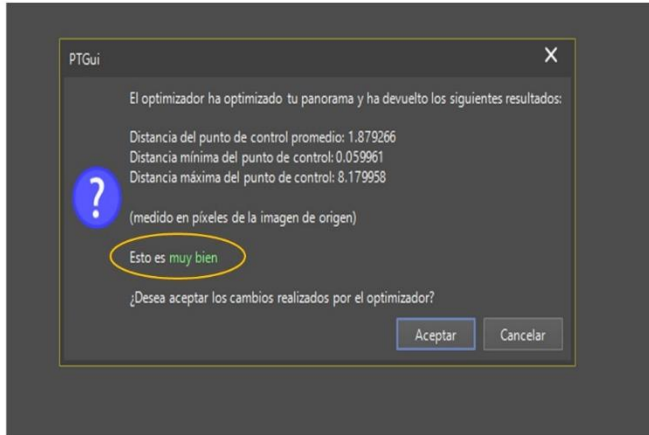


Figura 21. Estadísticas sobre los puntos de control (distancia entre ellos), así como una calificación de la unión en las imágenes. Fuente: elaboración propia.

Una mala evaluación crea un mensaje en automático para agregar o quitar puntos de control, y de esta manera, mejorar la calidad de la unión o cocido de las imágenes.

4.2.6.3. Crear panorama

En esta última fase, el software brinda algunas indicaciones sobre las características de la imagen compuesta y define la ruta para guardar el producto final (Figura 22).

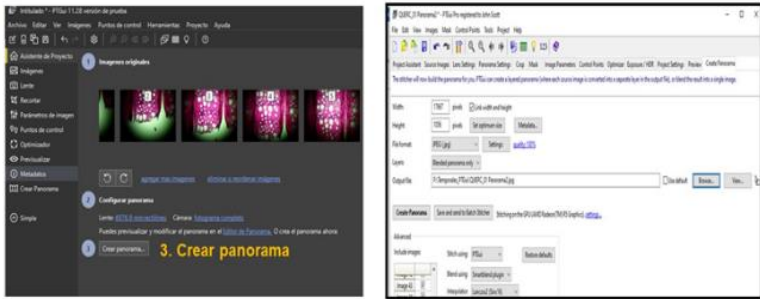


Imagen compuesta



Figura 22. Imagen compuesta utilizando el programa PTGui. Fuente: realización propia.

Es importante mencionar que existen otros programas que realizan la fusión de imágenes bajo el mismo mecanismo, estos son: AutoStitch, Microsoft IC, PS Reposition; cada uno con sus propias ventajas y desventajas, por lo que se recomienda explorarlos tomando en cuenta la precisión requerida, así como el costo de los mismos.

4.2.7. Calibración

En la cuantificación de estructuras anatómicas es indispensable la conversión de píxeles a un sistema de unidades (μm , mm o cm). A este proceso se le conoce como “calibración”. El primer paso para calibrar es definir una medida de referencia utilizando las unidades de interés. Así, por ejemplo, la referencia para las imágenes que componen el corte histológico de ejemplo, se obtiene tomando una fotografía a una rejilla microscópica graduada (Figura 23a), la toma de la misma deber ser bajo los mismos parámetros ópticos

(objetivo, acercamiento, enfoque) utilizados en la serie fotográfica del corte anatómico.

En el ejemplo, la verificación de la cantidad de píxeles dentro de esta medida se obtiene empleando el software ImageJ (Rasband, 2016).

Dentro de este programa, se extrae la imagen de la rejilla, y sobre la misma se efectúa una serie de mediciones en una distancia conocida (Figura 23b).

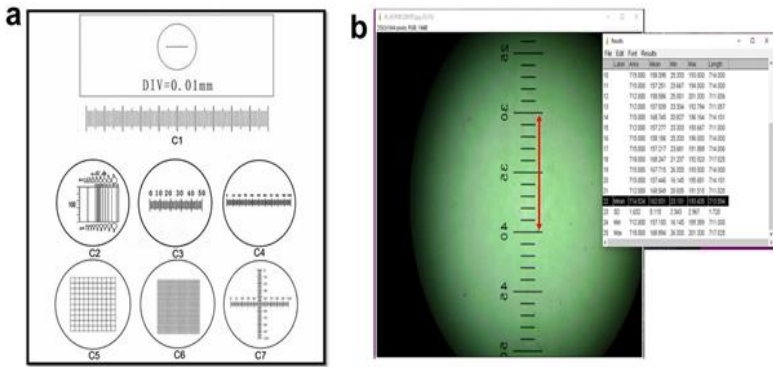


Figura 23. a) Ejemplo de rejillas graduadas b) ejecución de 21 mediciones sobre una superficie de 1 mm = 1000 μ m. Fuente: realización propia.

El trazo sobre la imagen mide la distancia de la referencia en píxeles, el promedio de las mediciones es un dato útil en la conversión a las unidades de interés. Para ello, se puede utilizar cualquier programa diseñado para la cuantificación de variables mediante imágenes (Figura 24).

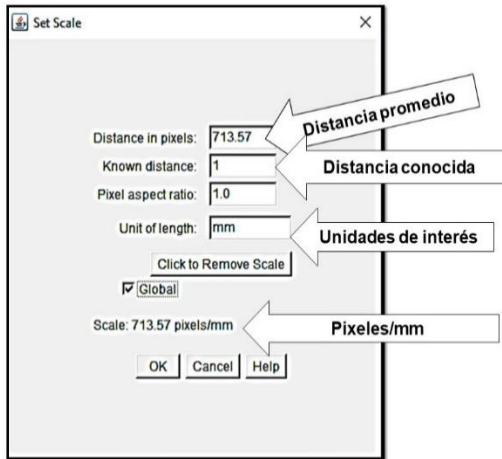


Figura 24. Ventana del programa ImageJ para convertir píxeles a mm. Fuente: realización propia.

La calibración debe realizarse una vez obtenida la imagen compuesta, siendo esto un requisito al iniciar cualquier medición de tipo microscópico o macroscópica.

5. Preparación de muestras para análisis de imagen en secciones transversales

En el apartado siguiente, se pretende describir a grandes rasgos una rutina sobre el trabajo en especies de angiospermas leñosos.

Las técnicas de análisis de imagen son una herramienta que se pueden utilizar a nivel microscópico (medición de fibras, pared de traqueidas, diámetro, tamaño de lumen etc.) y macroscópico (medición de madera temprana, tardía y anillo total). Éstas pueden ser utilizadas en caso de no tener equipos de medición forestal, los cuales generalmente son poco accesibles por su elevado costo. Tomando en cuenta que este tipo de análisis realizados

a nivel macroscópico, solamente se utiliza un estereoscopio, la cámara y el uso de softwares libres como el programa ImageJ.

5.1 Preparación de muestras en secciones transversales

En esta sección se describe a grandes rasgos una rutina sobre la preparación en especies de angiospermas leñosas a nivel macroscópico. Para el procesamiento de la sección trasversal, se recomienda un exhaustivo trabajo de las muestras con limas de 60 a 350 granos para el lijado y un pulido hasta de 1500 granos. El objetivo consiste en visualizar los crecimientos anuales difíciles de identificar (Figura 25) y bandas intra-anales como madera temprana y tardía.

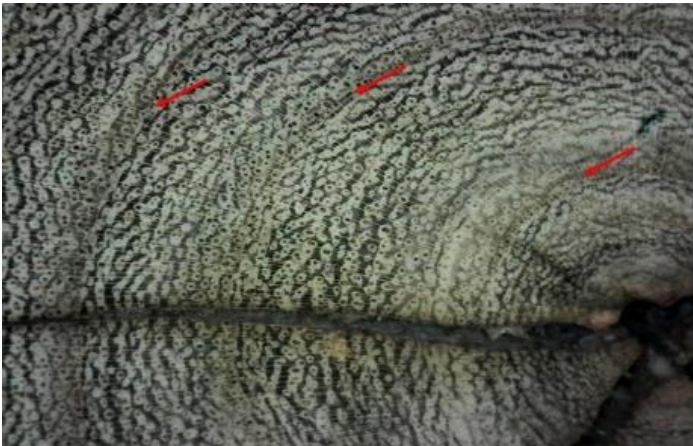


Figura 25. Anillos de mezquite (*Prosopis* spp.) a nivel macroscópico. Fuente: realización propia.

Esta especie en particular (mezquite), presenta anillos definidos a partir de una banda de parénquima terminal

muy tenue, por lo que, si el lijado no es el adecuado, las mediciones pueden llegar a ser poco confiables.

5.2 Creación de imágenes compuestas en secciones transversales

La toma de imágenes a nivel macroscópico se puede llevar a cabo utilizando una cámara profesional con una resolución mínima de 30 megapíxeles, la cual es suficiente resolución para tomar las imágenes requeridas en esta actividad; en cuanto al soporte que la sostiene, éste puede ser sustituido por una base de madera que permita la movilidad de la muestra. La sección se desliza en cada una de las exposiciones fotográficas hasta cubrir la totalidad la superficie (Figura 26).



Figura 26. Cámara montada en una base de un estereoscopio para realizar imágenes en secciones transversales de mezquite. Fuente: realización propia.

Se sugiere que la cámara no tenga ningún tipo de movimiento, además se debe procurar que las muestras no se encuentren inclinadas al momento de la captura.

Para llevar a cabo la concatenación de imágenes utilizando el programa PTGui, la “Carga de imágenes”, “Configuración de panorama” y “Creación de panorama” siguen exactamente los mismos pasos del ejemplo anterior (Corte anatómico). Todo el proceso se resume en las imágenes tomadas a la rodaja utilizando este software (Figura 27a). La calibración se realiza utilizando una referencia en la sección transversal (papel milimétrico). Sobre la misma se realizan las mediciones de la cantidad de píxeles dentro de la superficie asignada (Figura 27b).

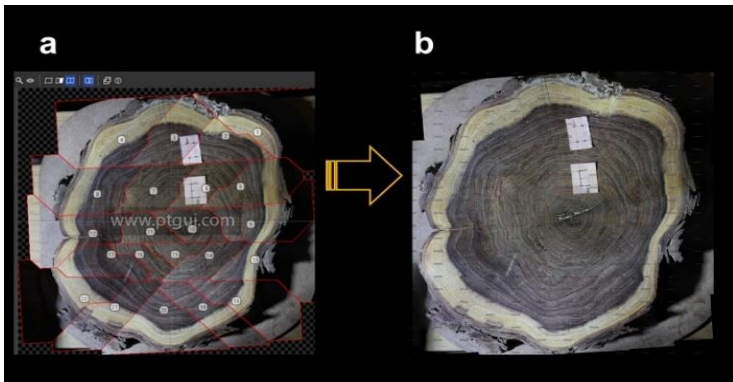


Figura 27. a) Imágenes que cubren la sección transversal en líneas rojas; b) Imagen compuesta o producto final. Fuente: realización propia.

Obtenida la imagen a nivel macroscópico, se puede utilizar la medición en estudios de productividad e incrementos periódicos anuales.

6. Cuantificación de imágenes utilizando rodajas y crecimientos anuales obtenidos con barrena

Para fines prácticos, se describe un ejemplo sobre la medición a nivel microscópico, pero en incrementos

sugiere la delimitación de los anillos, auxiliándose con alguna marca (Lápiz) que no comprometa la integridad de la muestra (Figura 29).

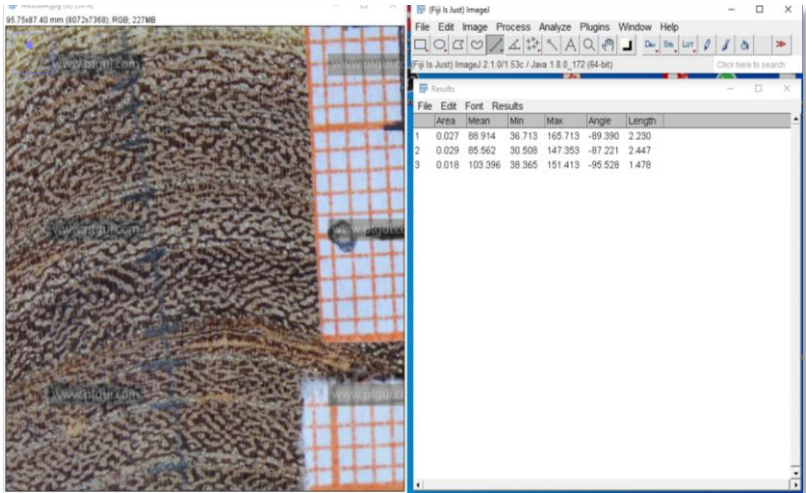


Figura 29. Medición de anillos anuales de mezquite utilizando el programa "ImageJ". Fuente: realización propia.

En la actualidad existe una gran cantidad de softwares para el análisis de imagen, cada uno se diferencia considerablemente en su funcionalidad, uno de ellos es el ImageJ de código libre, relativamente fácil de utilizar; no obstante, existen softwares más especializados como WinCELL y ROXAS.

A continuación, se expone un cuadro de los programas más utilizado, la capacidad de análisis y precisión en la medición, entre otros aspectos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Descripción de algunos softwares para la cuantificación de características anatómicas (von Arx *et al.*, 2017).

	Herramientas	Tamaño de célula	Espesor de la pared celular	Análisis de anillos de árboles	Filtrado de Célula	Objeto Modelo	Edición interactiva	Algunas otras características	Licencia
Herramientas especializadas	ROXAS	Si	Automática	Automática	Tamaño, color, forma, contexto	Vector	Si	Análisis de imágenes grandes (hasta 1,000,000 de celdas) - Gran conjunto de parámetros de salida anatómicos - Procesamiento automático de imágenes - Opciones de procesamiento por lotes - Biblioteca en línea y personalización de configuraciones	Libre, pero requiere de una plataforma de imagen Pro-Plus (6.1 u otra versión más reciente),
	WinCELL	Si	Automática	Automática	Tamaño, color, forma.	Pixel	No	- Gran conjunto de parámetros de salida anatómicos - Opciones de procesamiento por lotes - Personalización de configuraciones a medida - Control de microscopio y escáner	Comercial

Continuación

	Herramientas	Tamaño de célula	Espesor de la pared celular	Análisis de anillos de árboles	Filtrado de Célula	Objeto Modelo	Edición interactiva	Algunas otras características	Licencia
Herramientas generales	ImageJ	Si	Manual	No	Tamaño y forma	Vector	Si	- Gran colección de complementos por comunidad - Herramientas de desarrollo de macros	Libre
	CellProfiler	Si	Manual	No	Tamaño, color y forma	Vector	Si	- Análisis por lotes de grandes conjuntos (> 1000) de imágenes - Automatización del flujo de trabajo mediante módulos.	Libre
	Image-Pro Plus	Si	Manual	No	Tamaño, color y forma	Vector	Si	- Potentes funciones de análisis y procesamiento de imágenes - Herramientas de desarrollo de macros.	Comercial
	NIS-Elements	Si	Manual	No	Tamaño y forma	Vector	Si	-Herramientas de desarrollo de macros - Control de microscopio.	Comercial
	AxioVision	Si	Manual	No	Tamaño y forma	Vector	Si	-Automatización de flujo de trabajo y herramientas de desarrollo de macros. - Control de microscopio interactivo.	Comercial

7. Estudios de caso

En este apartado se pretende mostrar algunos de los resultados obtenidos al utilizar los procedimientos descritos previamente y aplicados a dos especies de angiospermas leñosas, donde la cuantificación se realizó a nivel microscópico y macroscópico, utilizando la metodología expuesta.

7.1 Estudio a nivel microscópico. Porcentaje de vasos en madera temprana y tardía en encino

La especie arbórea utilizada en el análisis microscópico fue encino (*Quercus canbyi* Trel.), especie ubicada en ecosistemas vulnerables al aumento de temperatura e incremento de sequías. Por ello, el análisis del tamaño de los conductos de agua (vasos) es importante para entender la capacidad de conducción hídrica y la tolerancia a la sequía, relacionado con la eficiencia del sistema hidráulico y tamaño de los vasos dentro del xilema (Comstock y Sperry, 2000). El objetivo de este trabajo, consistió en cuantificar los vasos de la madera temprana y tardía en cada anillo de crecimiento anual en el período 1995-2012.

La obtención de muestras en campo y la preparación de las mismas para la elaboración de cortes anatómicos se llevó a cabo siguiendo los procedimientos aquí expuestos. La medición se realizó utilizando el programa ImageJ para Windows (versión 1.5).

Finalmente, para cada anillo de crecimiento, se estimó el porcentaje de la superficie de vasos de la madera temprana y tardía, tomando en cuenta el total de las superficies medidas dentro del mismo (Figura 30).

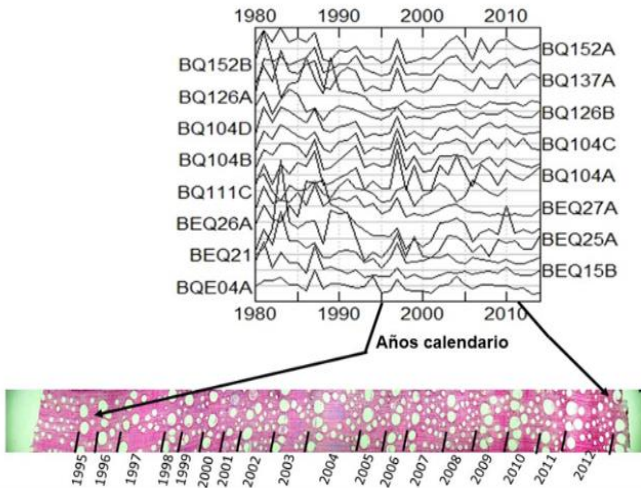


Figura 30. Series de crecimiento anual, que respaldan el corte histológico. Delimitación de los anillos anuales de encino para la cuantificación de la madera temprana (vasos grandes) y de la tardía (vasos pequeños).

El análisis visible sobre la imagen permite mostrar que la madera tardía representa una mayor proporción del crecimiento anual. No obstante, los vasos de mayor tamaño de la madera temprana constituyen una mayor superficie en su crecimiento representado por más del 80 %, en comparación con los poros de la madera tardía, que representa sólo 17 % (Cuadro 2).

Los resultados obtenidos sugieren incrementar los estudios de la madera temprana, ya que una gran amplitud en sus vasos indica una gran demanda del agua del árbol al momento de su desarrollo, conocimiento necesario ante un cambio climático evidente. Diversos estudios se han basado en la madera temprana, tomando en cuenta la importancia que tiene en el transporte del agua en el árbol, y por ello, se considera como un dato proxy de alto potencial en reconstrucciones de clima (Gricar *et al.*, 2013; Souto, 2015).

Cuadro 2. Porcentaje de madera temprana y tardía en el crecimiento anual de *Quercus canbyi* Tel.

Año	SVMTm (μm^2)	% SVMTm	SVMTr (μm^2)	% SVMTr
1995	75280	90	8812	10
1996	65540	83	13311	17
1997	52769	67	26450	33
1998	63500	87	9260	13
1999	62583	85	10705	15
2000	64907	88	8899	12
2001	68560	90	7353	10
2002	59735	83	12630	17
2003	67568	83	14038	17
2004	65773	78	18592	22
2005	92490	87	13570	13
2006	53556	82	11887	18
2007	54703	80	13522	20
2008	52014	81	12159	19
2009	48996	75	16619	25
2010	76777	81	18592	19
2011	58702	84	11186	16
2012	62224	83	12533	17
Promedio	63649	83	13340	17
Max	92490		26450	
Min	48996		7353	
Desviación	10521		4520	

SVMTm=Superficie de vaso de la madera temprana

SVMTr Superficie de vasos de la madera tardía

7.2 Estudio a nivel macroscópico. Análisis de imagen sobre los crecimientos anuales de mezquite como soporte a planes de manejo forestal

El siguiente estudio se llevó a cabo en el año 2019, en una especie perteneciente al género *Prosopis*, comúnmente conocido como mezquite, género con amplia distribución en

comunidades de matorrales de las zonas áridas de México (González-Medrano, 2012; Palacios, 2006). Este género, carece de planes de aprovechamiento en la mayoría de las áreas de distribución y existe una tendencia a aprovechar el recurso de forma clandestina. Lo anterior, sí bien es originado por falta de conocimiento y asesoramiento técnico, también es derivado de la complicada estructura de su crecimiento, que dificulta definir con exactitud su incremento radial anual (Ríos-Saucedo *et al.*, 2011; Villanueva-Díaz y Hernández-Reyna, 2004). El objetivo del estudio consistió en aportar información acerca de la edad y la estimación de las tasas de crecimiento anual en poblaciones de mezquite, ubicadas en el municipio de San Pedro, Coahuila.

El muestreo radicó en obtener secciones transversales de los diámetros más representativos de la estructura diamétrica presente en el sitio. La preparación de las secciones se llevó a cabo siguiendo los procedimientos expuestos.

Los resultados indican que los individuos de mezquite en este sitio presentan el mayor incremento radial en los primeros años de vida (6 a 11 años), posterior a esta edad, tienden a disminuir en crecimiento (Figura 31).

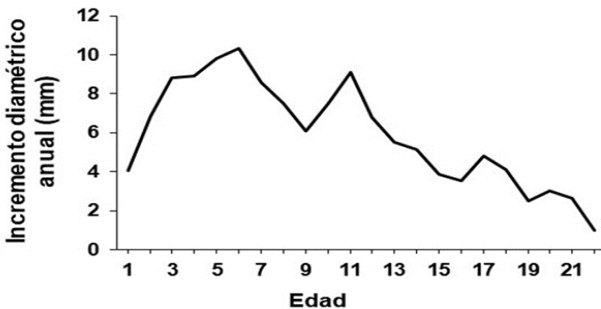


Figura 31. La edad de mayor crecimiento de los especímenes de mezquite ocurre entre 6 y 11 años en individuos hasta de 22 años de edad.

Esta información es útil para definir la edad conveniente para realizar un aprovechamiento del arbolado, considerando que los diámetros aprovechables requieren tener ciertas dimensiones según el uso al que vayan a ser sujetos (Canizales-Velázquez, 2016; Ríos-Saucedo *et al.*, 2011; Villanueva-Díaz y Hernández-Reyna, 2004).

En el estudio, se determinó la presencia de individuos hasta de 22 años de edad y un diámetro promedio de 9.1 cm, esto representa un incremento medio anual de 5.96 mm /año (Figura 32). Los resultados preliminares proporcionan información técnica para determinar la estructura de edad de la población y el turno de aprovechamiento para un uso sustentable del mezquite en sitios de la Comarca Lagunera.

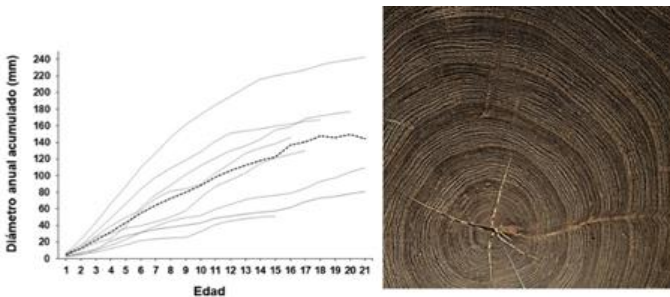


Figura 32. Las líneas grises representan las series individuales y la línea negra punteada el promedio de las series. A la derecha se aprecian el grosor de los anillos anuales de mezquite para el sitio de estudio como parte de las muestras involucradas.

Se sugiere incrementar este tipo de investigaciones en la región, además de incrementar el número de individuos para mejores resultados y generar información más confiable para explotación racional del mezquite.

Los casos expuestos dejan en claro la versatilidad de la metodología, la cual, puede ser aplicada desde la medición de características anatómicas importantes en la explicación

de los rasgos pertenecientes al sistema hídrico de la planta y su posible respuesta al clima, hasta aportar información sobre la productividad anual de especies.

CONSIDERACIONES GENERALES

El cambio del xilema en plantas vasculares ante un aumento en la demanda hídrica y disminución de la concentración de CO₂ durante el período Carbonífero y Pérmico (Raven y Edwards, 2001) indica una evolución de un xilema típico de gimnospermas con traqueidas y diámetros de 80 µm, hasta el xilema de las angiospermas con lúmenes de hasta 500 µm. Este tipo de datos fueron posibles gracias al análisis anatómico del cambium vascular, lo que refleja, la utilidad de la anatomía en relación a la evolución del xilema de las plantas superiores, respecto a los cambios ambientales.

En la actualidad, el calentamiento global propicia eventos climáticos extremos que provocan la extinción forestal en diferentes ecosistemas (Allen *et al.*, 2010; Allen *et al.*, 2015). En la mayoría de los estudios, se observa una disminución en el crecimiento radial previo a la muerte del arbolado (Cailleret *et al.*, 2017) con bajas tasas de crecimiento asociadas a una mayor defoliación de la copa (Guada *et al.*, 2016). Sin embargo, tal caída en el crecimiento de los árboles antes del evento de mortalidad puede abarcar de 1 hasta 100 años. Comúnmente, el decrecimiento en especies de gimnospermas a largo plazo se encuentra asociado a una disminución gradual en el rendimiento hidráulico de los individuos decaídos. Por su parte, las angiospermas suelen mostrar reducciones del crecimiento relativamente pequeños a corto plazo, con fallas hídricas y un agotamiento en las reservas de carbono. No obstante, asociar patrones de crecimiento particulares de árboles en declive a los

principales mecanismos, como las fallas hídricas vs. falta de carbono (McDowell *et al.*, 2008), es todo un reto.

Ante esto, se llega a la conclusión de que, para poder tener una mayor comprensión de los eventos climáticos extremos y la respuesta de las especies forestales, se deben basar en un mejor conocimiento sobre la función del árbol a largo plazo. Así, los anillos de los árboles datados con técnicas dendrocronológicas y los rasgos anatómicos de la madera constituyen información valiosa para cuantificar la respuesta de los árboles a los factores de estrés ambiental a través de un enfoque multidisciplinario (Battipaglia *et al.*, 2014).

El presente documento aporta un seguimiento metodológico de forma sencilla, generalmente presente de forma dispersa y poco articulada en diversos artículos de investigación científica. Además, ofrece una idea fluida de ambos métodos: el dendrocronológico y el proceso anatómico, contribuyendo así a la realización de estudios que involucran temas desafiantes, como la respuesta de ecosistemas vulnerables al calentamiento global, en donde los rasgos anatómicos son archivos detallados de la respuesta de los árboles al ambiente y representan un reservorio que puede ser discernido utilizando las técnicas descritas, las cuales agilizan los análisis cuantitativos de rasgos anatómicos.

AGRADECIMIENTOS

Para la generación de la información contenida en el presente documento y su publicación, se agradece el apoyo otorgado a través del proyecto titulado “Estudios dendrocronológicos de poblaciones de encino (*Quercus* spp) en el norte de México para reconstrucción de clima, biomasa aérea y captura de carbono”, No. SIGI: 856534886.

LITERATURA CITADA

- Abrantes, J., Campelo, F., García-González, I., y Nabais, C. (2013). Environmental control of vessel traits in *Quercus ilex* under Mediterranean climate: Relating xylem anatomy to function. *Trees - Structure and Function*, 27(3), 655–662.
<https://doi.org/10.1007/s00468-012-0820-6>
- Allen, C. D., Breshears, D. D., y McDowell, N. G. (2015). On underestimation of global vulnerability to tree mortality and forest die-off from hotter drought in the Anthropocene. *Ecosphere*, 6(8), 1–55.
<https://doi.org/10.1890/ES15-00203.1>
- Allen, C. D., Macalady, A. K., Chenchouni, H., Bachelet, D., McDowell, N., Vennetier, M., Kitzberger, T., Rigling, A., Breshears, D. D., Hogg, E. H. (Ted.), Gonzalez, P., Fensham, R., Zhang, Z., Castro, J., Demidova, N., Lim, J. H., Allard, G., Running, S. W., Semerci, A., y Cobb, N. (2010). A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest Ecology and Management*, 259(4), 660–684. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.09.001>
- Arbellay, E., Corona, C., Stoffel, M., Fonti, P., y Decaulne, A. (2012). Defining an adequate sample of earlywood vessels for retrospective injury detection in diffuse-porous species. *PLoS ONE*, 7(6), e38824.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038824>
- Battipaglia, G., De Micco, V., Sass-Klaassen, U., Tognetti, R., y Mäkelä, A. (2014). Special issue: WSE symposium: Wood growth under environmental changes: The need for a multidisciplinary approach. *Tree Physiology*, 34(8), 787–791. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpu076>
- Benner, G., y Probst, W. (1994). Köhler illumination in the TEM: Fundamentals and advantages. *Journal of*

Microscopy, 174(3), 133–142.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.1994.tb03461.x>

Borja, D., González-González, G. B. ., Rozas, V., y García-González, G. I. (2014). Earlywood vessels of the sub-Mediterranean oak *Quercus pyrenaica* have greater plasticity and sensitivity than those of the temperate *Q. petraea* at the Atlantic-Mediterranean boundary. *Trees - Structure and Function*, 28(1), 237–252.

<https://doi.org/10.1007/s00468-013-0945-2>

Bräker, O. U. (2002). Measuring and data processing in tree-ring research – a methodological introduction. *Dendrochronologia*, 20(1–2), 203–216.

<https://doi.org/10.1078/1125-7865-00017>

Brodribb, Tim J., Holbrook, N. M., Zwieniecki, M. A., y Palma, B. (2005). Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: Impacts on photosynthetic maxima. *New Phytologist*, 165(3), 839–846.

<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01259.x>

Brodribb, Timothy J., Pittermann, J., y Coomes, D. A. (2012). Elegance versus Speed: examining the competition between conifer and angiosperm trees. *International Journal of Plant Sciences*, 173(6), 673–694.

<https://doi.org/10.1086/666005>

Cailleret, M., Jansen, S., Robert, E. M. R., Desoto, L., Aakala, T., Antos, J. A., Beikircher, B., Bigler, C., Bugmann, H., Caccianiga, M., Čada, V., Camarero, J. J., Cherubini, P., Cochard, H., Coyea, M. R., Čufar, K., Das, A. J., Davi, H., Delzon, S., ... Martínez-Vilalta, J. (2017). A synthesis of radial growth patterns preceding tree mortality. *Global Change Biology*, 23(4), 1675–1690.

<https://doi.org/10.1111/gcb.13535>

Canizales-Velázquez, P. A. (2016). Análisis de la estructura forestal de comunidades semiáridas en el noreste de

México. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Forestales. Subdirección de Posgrado. Linares N.L 104p.

Carlquist, S. (1988). Comparative Wood anatomy systematic. Springer-Verlag, Berlín, Alemania.

Carlquist, S. (2001). Carlquist 2001 Comparative wood anatomy systematic ecological and evolutionary aspects of dicotyledon wood. 2nd edn. Berlin, Germany: Springer.

Carrer, M., von Arx, G., Castagneri, D., y Petit, G. (2015). Distilling allometric and environmental information from time series of conduit size: the standardization issue and its relationship to tree hydraulic architecture. *Tree Physiology*, 35(1), 27–33.
<https://doi.org/10.1093/treephys/tpu108>

Castagneri, D., Petit, G., y Carrer, M. (2015). Divergent climate response on hydraulic-related xylem anatomical traits of *Picea abies* along a 900-m altitudinal gradient. *Tree Physiology*, 35(12), 1378–1387.
<https://doi.org/10.1093/treephys/tpv085>

Chave, J., Coomes, D., Jansen, S., Lewis, S. L., Swenson, N. G., y Zanne, A. E. (2009). Towards a worldwide wood economics spectrum. *Ecology Letters*, 12(4), 351–366.
<https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01285.x>

Choat, B., Jansen, S., Brodribb, T. J., Cochard, H., Delzon, S., Bhaskar, R., Bucci, S. J., Feild, T. S., Gleason, S. M., Hacke, U. G., Jacobsen, A. L., Lens, F., Maherali, H., Martínez-Vilalta, J., Mayr, S., Mencuccini, M., Mitchell, P. J., Nardini, A., Pittermann, J., ... Zanne, A. E. (2012). Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature*, 491(7426), 752–755.
<https://doi.org/10.1038/nature11688>

Comstock, J. P., y Sperry, J. S. (2000). Theoretical considerations of optimal conduit length for water

transport in vascular plants. *New Phytologist*, 148(2), 195–218.

<https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00763.x>

Constante-García, V. (2016). Aplicación De Técnicas Dendrocronológicas en *Pinus pseudostrobus* Lindl. y *Quercus canbyi* Trel. Para Analizar la Influencia Climática y el cambio de uso de suelo. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Forestales. Subdirección de Posgrado. Linares N.L 123p.

Crivellaro, A., y Schweingruber, F. H. (2015). Stem anatomical features of Dicotyledons. University of Padova. Padova, Italy. 159 p.

Cuny, H. E., Rathgeber, C. B. K., Frank, D., Fonti, P., y Fournier, M. (2014). Kinetics of tracheid development explain conifer tree-ring structure. *New Phytologist*, 203(4), 1231–1241. <https://doi.org/10.1111/nph.12871>

Fonti, P., Heller, O., Cherubini, P., Rigling, A., y Arend, M. (2012). Wood anatomical responses of oak saplings exposed to air warming and soil drought. *Plant Biology*, 15(SUPPL.1), 210–219. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2012.00599.x>

Fonti, P., von Arx, G., García-González, I., Eilmann, B., Sass-Klaassen, U., Gärtner, H., y Eckstein, D. (2010). Studying global change through investigation of the plastic responses of xylem anatomy in tree rings. *New Phytologist*, 185(1), 42–53. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03030.x>

Fonti, Patrick, Bryukhanova, M. V., Myglan, V. S., Kirdyanov, A. V., Naumova, O. V., y Vaganov, E. A. (2013). Temperature-induced responses of xylem structure of *Larix sibirica* (Pinaceae) from the Russian Altay. *American Journal of Botany*, 100(7), 1332–1343.

<https://doi.org/10.3732/ajb.1200484>

Franke, B., y Quenneville, P. (2011). Numerical modeling of the failure behavior of dowel connections in wood. *Journal of Engineering Mechanics*, 137(3), 186–195. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EM.1943-7889.0000217](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EM.1943-7889.0000217)

Fritts, H. C. (1976). *Tree Rings and Climate*. London New York. 567 p.

García-Escudero, A., Navarro-Bustos, G., Umbría-Jiménez, S., González-Cámpora, R., y Galera-Davidson, H. (2017). Planos conjugados y sistema de iluminación de Köhler en microscopía óptica. *Revista Española de Patología*, 50(2), 113–123. <https://doi.org/10.1016/j.patol.2016.11.002>

Gärtner, H., y Schweingruber, F. (2013). Microscopic preparation techniques for plant stem analysis. In *IAWA Journal* (Vol. 34, Issue 4.). https://www.researchgate.net/publication/253341899_Microscopic_Preparation_Techniques_for_Plant_Stem_Analysis

Gasson, P. (2011). How precise can wood identification be? Wood anatomy's role in support of the legal timber trade, especially cites. *IAWA Journal*, 32(2), 137–154. <https://doi.org/10.1163/22941932-90000049>

González-González, B. D., García-González, I., y Vázquez-Ruiz, R. A. (2013). Comparative cambial dynamics and phenology of *Quercus robur* L. and *Q. pyrenaica* Willd. in an Atlantic forest of the northwestern Iberian Peninsula. *Trees - Structure and Function*, 27(6), 1571–1585. <https://doi.org/10.1007/s00468-013-0905-x>

González-Medrano, F. (2012). Las zonas áridas y semiáridas de México y su vegetación. In *Las zonas áridas y semiáridas de México*. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Insituto Nacional de Ecología. 173

p.

- González, I. G., y Eckstein, D. (2003). Climatic signal of earlywood vessels of oak on a maritime site. *Tree Physiology*, 23(7), 497–504.
<https://doi.org/10.1093/treephys/23.7.497>
- Gricar, J., De Luis, M., Hafner, P., y Levanic, T. (2013). Anatomical characteristics and hydrologic signals in tree-rings of oaks (*Quercus robur* L.). *Trees - Structure and Function*, 27(6), 1669–1680.
<https://doi.org/10.1007/s00468-013-0914-9>
- Gričar, J., De Luis, M., Hafner, P., y Levanič, T. (2013). Anatomical characteristics and hydrologic signals in tree-rings of oaks (*Quercus robur* L.). *Trees - Structure and Function*, 27(6), 1669–1680.
<https://doi.org/10.1007/s00468-013-0914-9>
- Guada, G., Camarero, J. J., Sánchez-Salguero, R., y Cerrillo, R. M. N. (2016). Limited growth recovery after drought-induced forest dieback in very defoliated trees of two pine species. *Frontiers in Plant Science*, 7(APR2016), 1–12.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00418>
- Guet, J., Fichot, R., Lédée, C., Laurans, F., Cochard, H., Delzon, S., Bastien, C., y Brignolas, F. (2015). Stem xylem resistance to cavitation is related to xylem structure but not to growth and water-use efficiency at the within-population level in *Populus nigra* L. *Journal of Experimental Botany*, 66(15), 4643–4652.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erv232>
- IAWA. (1989). IAWA List of microscopic features for hardwood Identification. International Association of Wood Anatomists (IAWA). *IAWA Bull.*, 10(3), 219–332.
https://www.iawawebsite.org/uploads/soft/Abstracts/IAWA_A_list_of_microscopic_features_for_hardwood_identification.pdf

- IAWA. (2004). IAWA List of microscopic features for softwood identification. International Association of Wood Anatomists (IAWA). *AWA Journal*, 25(1), 1–70.
<https://doi.org/10.1163/22941932-90000349>
- Lenz, A., Hoch, G., y Körner, C. (2013). Early season temperature controls cambial activity and total tree ring width at the alpine treeline. *Plant Ecology and Diversity*, 6(3–4), 365–375.
<https://doi.org/10.1080/17550874.2012.711864>
- Martin-Benito, D., Anchukaitis, K., Evans, M., del Río, M., Beeckman, H., y Cañellas, I. (2017). Effects of drought on xylem anatomy and water-use efficiency of two co-occurring pine species. *Forests*, 8(9), 332.
<https://doi.org/10.3390/f8090332>
- McDowell, N., Pockman, W. T., Allen, C. D., Breshears, D. D., Cobb, N., Kolb, T., Plaut, J., Sperry, J., West, A., Williams, D. G., y Yezpez, E. a. (2008). *New Ohy*. 178.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02436.x>
- Natalini, F., y Alejano, R. (2017). Técnicas y herramientas para la preparación de muestras extraídas de árboles para el análisis dendrocronológico. In 7° Congreso Forestal Español. Gestión del monte: Servicios Ambientales y Bioeconomía. Sociedad Española de la Ciencia Forestal. Plasencia. Cáceres, Extremadura.
- Olano, J. M., Arzac, A., García-Cervigón, A. I., von Arx, G., y Rozas, V. (2013). New star on the stage: Amount of ray parenchyma in tree rings shows a link to climate. *New Phytologist*, 198(2), 486–495.
<https://doi.org/10.1111/nph.12113>
- Olano, J. M., Linares, J. C., García-Cervigón, A. I., Arzac, A., Delgado, A., y Rozas, V. (2014). Drought-induced increase in water-use efficiency reduces secondary tree growth and tracheid wall thickness in a Mediterranean

conifer. *Oecologia*, 176(1), 273–283.
<https://doi.org/10.1007/s00442-014-2989-4>

Olson, M. E., Anfodillo, T., Rosell, J. A., Petit, G., Crivellaro, A., Isnard, S., León-Gómez, C., Alvarado-Cárdenas, L. O., y Castorena, M. (2014). Universal hydraulics of the flowering plants: vessel diameter scales with stem length across angiosperm lineages, habits and climates. *Ecology Letters*, 17(8), 988–997.
<https://doi.org/10.1111/ele.12302>

Pacheco, A., Camarero, J. J., y Carrer, M. (2016). Linking wood anatomy and xylogenesis allows pinpointing of climate and drought influences on growth of coexisting conifers in continental Mediterranean climate. *Tree Physiology*, 36(4), 502–512.
<https://doi.org/10.1093/treephys/tpv125>

Palacios, a. (2006). Los Mezquites Mexicanos : biodiversidad y distribución geográfica. *Bol. Soc. Argent. Bot.*, 41(1–2), 99–121.

Parham, R. A., y Gray, R. L. (1984). Parham R A and Gray RL 1984 The chemistry of solid wood. Formation and structure of Wood. American Chemical Society Vol.pdf.

Pérez-Olvera, C. de la P., y Dávalos-Sotelo, R. (2008). Algunas características anatómicas y tecnológicas de la madera de 24 especies de *Quercus* (encinos) de México. *Madera y Bosques*, 14(3), 43–80.
<https://doi.org/10.21829/myb.2008.1431206>

Petit, G., Anfodillo, T., Carraro, V., Grani, F., y Carrer, M. (2011). Hydraulic constraints limit height growth in trees at high altitude. *New Phytologist*, 189(1), 241–252.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03455.x>

Pittermann, J. (2010). The evolution of water transport in plants: an integrated approach. *Geobiology*, 8(2), 112–

139. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4669.2010.00232.x>

Poorter, L., McDonald, I., Alarcón, A., Fichtler, E., Licona, J. C., Peña-Claros, M., Sterck, F., Villegas, Z., y Sass-Klaassen, U. (2010). The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. *New Phytologist*, 185(2), 481–492.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03092.x>

Prendin, A. L., Carrer, M., Karami, M., Hollesen, J., Bjerregaard Pedersen, N., Pividori, M., Treier, U. A., Westergaard-Nielsen, A., Elberling, B., y Normand, S. (2020). Immediate and carry-over effects of insect outbreaks on vegetation growth in West Greenland assessed from cells to satellite. *Journal of Biogeography*, 47(1), 87–100. <https://doi.org/10.1111/jbi.13644>

Rasband, W. S. (2016). ImageJ. Bethesda, MD: U. S. National Institutes of Health. Rasband, W. S. (1997–2016). ImageJ. Bethesda, MD: U. S. National Institutes of Health. <https://imagej.nih.gov/ij/>.

Raven, J. A. (1977). The evolution of vascular land plants in relation to supracellular transport processes. *Advances in Botanical Research*, 5(C), 153–219.
[https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(08\)60361-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(08)60361-4)

Raven, J. A., y Edwards, D. (2001). Roots: evolutionary origins and biogeochemical significance. *Journal of Experimental Botany*, 52(suppl_1), 381–401.
https://doi.org/10.1093/jxb/52.suppl_1.381

Ríos-Saucedo, J. C., Trucíos-Caciano, R., Núñez-Valenzuela, L. M., Sosa-Pérez, G., y Rosales-Serna, R. (2011). Importancia de las poblaciones de mezquite en el norte-centro de México.
https://www.researchgate.net/profile/Julio_Rios_Saucedo/publication/304749878_Importancia_de_las_poblacion

es_de_mezquite_en_el_nortecentro_de_Mexico/links/5779af0508ae4645d611f27c/Importancia-de-las-poblaciones-de-mezquite-en-el-norte-centro-de-Mexico.pdf

- Rita, A., Cherubini, P., Leonardi, S., Todaro, L., y Borghetti, M. (2015). Functional adjustments of xylem anatomy to climatic variability: insights from long-term *Ilex aquifolium* tree-ring series. *Tree Physiology*, 35(8), 817–828. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpv055>
- Scholz, A., Klepsch, M., Karimi, Z., y Jansen, S. (2013). How to quantify conduits in wood? *Frontiers in Plant Science*, 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00056>
- Souto, H. . (2015). Análisis espacio-temporal de los vasos primaverales de *Quercus robur* L. y *Quercus pyrenaica* Willd.: Respuesta al estrés climático en la transición atlántico mediterránea. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. Lugo, España. 211p <http://hdl.handle.net/10347/14755>.
- Sperry, J. S. (2003). Evolution of water transport and xylem structure. *International Journal of Plant Sciences*, 164(S3), S115–S127. <https://doi.org/10.1086/368398>
- Stahle, D. ., Mushove, P. ., Cleaveland, M. ., Roig, F., y Haynes, G. . (1999). Management implications of annual growth rings in *Pterocarpus angolensis* from Zimbabwe. *Forest Ecology and Management*, 124(2–3), 217–229. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(99\)00075-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(99)00075-4)
- Therrell, M. D., Stahle, D. W., Mukelabai, M. M., y Shugart, H. H. (2007). Age, and radial growth dynamics of *Pterocarpus angolensis* in southern Africa. *Forest Ecology and Management*, 244(1–3), 24–31. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.03.023>
- Villanueva-Díaz, J., Cerano-Paredes, J., Constante-García, V., Montes-González, L. E., y Vázquez-Selem, L. (2009).




Muestreo Dendrocronológico: colecta, preparación y procesamiento de núcleos de crecimiento y secciones transversales. CENID-RASPA. INIFAP. ISBN:978-607-425-141-8. 49 pag.

- Villanueva-Díaz, J., y Hernández-Reyna, A. (2004). Estructura y crecimiento anual de algunas mezquiteras en San Luis Potosí. *Ciencia Forestal En México.*, 29(96), 7–27.
- von Arx, G., Arzac, A., Olano, J. M., y Fonti, P. (2015). Assessing conifer ray parenchyma for ecological studies: Pitfalls and Guidelines. *Frontiers in Plant Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01016>
- von Arx, G., y Carrer, M. (2014). ROXAS – A new tool to build centuries-long tracheid-lumen chronologies in conifers. *Dendrochronologia*, 32(3), 290–293. <https://doi.org/10.1016/j.dendro.2013.12.001>
- von Arx, G., Crivellaro, A., Prendin, A. L., Cufar, K., y Carrer, M. (2016). Quantitative wood anatomy — Practical Guidelines. *Frontiers in Plant Science*, 7(781), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00781>
- von Arx, G., Prendin, A. L., Crivellaro, A., Carrer, M., Wazny, T., y Morino, K. (2017). Quantitative wood anatomy using ROXAS from samples to data. Swiss Federal Research Institute WSL; Università Degli Studi Di Padova, University of Arizona, 4th International Training School, 1-226pp.
- Wigley, T. M. L., Briffan, K. R., y Jones, P. . (1984). On the average value of correlated time series, with applications in dendroclimatology and hydrometeorology. *American Metodological Society*, 23, 2001–2213. [https://doi.org/doi/pdf/10.1175/15200450\(1984\)023%3C0201:OTAVOC%3E2.0.CO;2](https://doi.org/doi/pdf/10.1175/15200450(1984)023%3C0201:OTAVOC%3E2.0.CO;2)

- Worbes, M., Staschel, R., Roloff, A., y Junk, W. . (2003). Tree ring analysis reveals age structure, dynamics and wood production of a natural forest stand in Cameroon. *Forest Ecology and Management*, 173(1–3), 105–123. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(01\)00814-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(01)00814-3)
- Zimmermann, M. H. (1983). Xylem Structure and the ascent of sap. In *A Springer Series in Wood Science* (Vol. 58, Issue 12). Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-22627-8>
- Zobel, B. J., y Van Buijtenen, J. (1983). Wood variation its causes and control. *Springer Series in wood Science*. Verlag.355p.

Centros Nacionales de Investigación Disciplinaria, Centros de Investigación Regional y Campos Experimentales



-  Sede de Centro de Investigación Regional
-  Centro Nacional de Investigación Disciplinaria
-  Campo Experimental

COMITÉ EDITORIAL DEL CENID-RASPA

Presidente: Dr. José Luis González Barrios
Secretario: Dr. Juan Estrada Ávalos
Vocales: Dr. José Alberto Urrieta Velázquez
M.C. Cristo Omar Puente Valenzuela

Revisor técnico

Dr. Artemio Carrillo Parra
Universidad Juárez del Estado de Durango
Instituto de Silvicultura e Industria de la Madera

Edición y Diseño

M.C. Vicenta Constante García

La presente publicación se terminó de imprimir en el mes de diciembre del año 2021 en los talleres de Carmona Impresores S.A de C.V., Blvd Paseo del Sol # 115 Col, Jardines del Sol, Torreón Coahuila, C.P. 27014.

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN DISCIPLINARIA EN LA RELACIÓN AGUA SUELO PLANTA ATMÓSFERA

Dr. Juan Estrada Ávalos
Director

Dr. Aldo Rafael Martínez Sifuentes
Jefe de Operaciones

Lic. Flor Carina Espinoza Delgadillo
Jefe Administrativo

Personal Investigador

M.C. Palmira Bueno Hurtado
Dr. Ernesto Alonso Catalán Valencia
Dr. Julián Cerano Paredes
M.C. Vicenta Constante García
M.C. Gerardo Delgado Ramírez
M.C. Gerardo Esquivel Arriaga
Dr. Juan Estrada Ávalos
Dr. José Luis González Barrios
Dr. Guillermo González Cervantes
Dr. Marco Antonio Inzunza Ibarra
M.C. Rosario Jacobo Salcedo
M.C. Sergio Iván Jiménez Jiménez
M.C. Hilario Macías Rodríguez
M.C. Mariana de Jesús Marcial Pablo
Dr. Jesús Arcadio Muñoz Villalobos
Dra. Erika Nava Reyna
M.C. Cristo Omar Puente Valenzuela
Dr. Ignacio Sánchez Cohen
Dr. Ramón Trucios Caciano
Dr. José Alberto Urrieta Velázquez
Dra. Ma. Magdalena Villa Castorena
Dr. José Villanueva Díaz



AGRICULTURA
SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL

inifap
Instituto Nacional de Investigaciónes Forestales y Agropecuarias

www.gob.mx/inifap

El xilema es un testigo fiel de los cambios evolutivos impresos en cada adaptación, surgidas a partir de las demandas que implicaron compensaciones en términos de recursos invertidos y de estrategias realizadas a lo largo del ciclo de vida de las especies. Así, la anatomía de la madera se convierte en un área que puede aportar respuesta a una serie de preguntas. No obstante, las características anatómicas son numerosas y requieren de un procesamiento delicado durante la cuantificación, además del manejo de una gran cantidad de datos. El presente escrito va dirigido a profesionales, técnicos y estudiantes interesados en técnicas de análisis de imagen para eficientizar el análisis de anatomía en series temporales dendrocronológicas; donde las imágenes compuestas son el insumo principal para los softwares de cuantificación anatómica.

 @inifapmx

 @inifap

 /INIFAP1

 @inifap