UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES

DEPARTAMENTO DE MANEJO DE RECURSOS FORESTALES

CARACTERIZACIÓN ANATÓMICA DE LA EPIDERMIS FOLIAR EN *Sequoia sempervirens* (D. Don)

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Forestal

DENISE ANDREA TERZI RODRÍGUEZ

Profesores Guías: Sr. Manuel Toral Ibáñez. Ingeniero Forestal, Doctor en Ciencias Forestales, Recursos Naturales
Sra. Adelina Manríquez Leiva. Profesora de Estado.

Santiago, Chile

2008

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES
DEPARTAMENTO DE MANEJO DE RECURSOS FORESTALES

CARACTERIZACIÓN ANATÓMICA DE LA EPIDERMIS FOLIAR EN *Sequoia sempervirens* (D. Don)

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Forestal

DENISE ANDREA TERZI RODRÍGUEZ

Calificaciones:	Nota	Firma
Prof. Guía Sr. Manuel Toral Ibáñez	6,0	……
Prof. Guía Sra. Adelina Manríquez Leiva	6,0	……
Prof. Consejero Sr. Patricio Corvalán Vera	6,5	……
Prof. Consejero Srta. Karen Peña	6,2	..……..

DEDICATORIA

A mí familia…

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por permitir el desarrollo de esta memoria y por acompañarme siempre en el largo camino de la vida.

A todos los que me acompañaron en el desarrollo de la memoria, en especial:

- A mis padres y hermanos, por su apoyo incondicional.
- A mis amigos por estar siempre dispuestos y disponibles cuando necesite de sus consejos.
- A mis profesores:
    - Sra. Adelina Manríquez, por su amabilidad, apoyo, paciencia, cariño, gracias por ser tan noble y buena persona.
    - Don Manuel Toral, aunque no me tenía fe, lo logré, gracias por esperarme y por haberme acogido en su proyecto.
    - Srta. Karen Peña, por sus consejos.
    - Don Patricio Corvalán, por revisar a tiempo los resultados.
    - Don Sergio Mora, por ser tan “seco”.
    - Sra. Paulette Naulin, por ayudarme a construir este sueño.
- A mí querida Panchita (Sra. Francisca Riveros), por las innumerables tardes de distensión que alguna vez sostuvimos en su oficina.
- Y a todos los que hicieron posible la colecta de las muestras y su análisis en el laboratorio.

Muchas Gracias

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN

ABSTRACT

1. INTRODUCCIÓN 1

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 2

2.1 Antecedentes generales de *Sequoia sempervirens* 2

2.1.1 Distribución 2

2.1.2 Características del sitio 3

2.1.3 Antecedentes en Chile 3

2.1.4 Descripción de *Sequoia sempervirens* 3

2.2 Las hojas 7

2.3 Aparatos estomáticos 8

2.3.1 Efectos ambientales sobre los estomas 12

3. MATERIAL Y MÉTODO 14

3.1 Material 14

3.1.1 Material biológico 14

3.1.2 Materiales y reactivos de laboratorio 15

3.2 Método 15

3.2.1 Determinación del tamaño de los estomas, densidad, tipo y anatomía de la célula acompañante 17

3.2.2 Determinación del grosor de la cutícula y relación con el tamaño y forma de los estomas 19

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 21

4.1 Descripción de los estomas 24

4.1.1 Largo del estoma 25

4.1.2 Ancho del estoma 27

4.2 Ancho de banda estomática 29

4.3 Densidad estomática 32

4.4 Determinación del tamaño del estoma en un corte transversal 35

4.4.1 Determinación del diámetro mayor de la célula oclusiva izquierda 36

4.4.2 Determinación del diámetro menor de la célula oclusiva izquierda 37

4.4.3 Determinación del diámetro mayor de la célula oclusiva derecha 38

4.4.4 Determinación del diámetro menor de la célula oclusiva derecha 39

4.5 Determinación del tamaño de la célula subsidiaria o acompañante 40

4.5.1 Determinación del diámetro mayor de la célula subsidiaria izquierda 42

4.5.2 Determinación del diámetro menor de la célula subsidiaria izquierda 43

4.5.3 Determinación del diámetro mayor de la célula subsidiaria derecha 44

4.5.4 Determinación del diámetro menor de la célula subsidiaria derecha 45

4.6 Descripción anatómica de la epidermis y mesófilo de la hoja de Secuoya 46

5. CONCLUSIÓN 48

6. BIBLIOGRAFÍA 49

7. APÉNDICE 54

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Frecuencia de estomas en el envés de la hoja de algunas especies 11

Cuadro 2. Frecuencia estomática por mm^2.....12

Cuadro 3. Resumen de las mediciones realizadas con su valor medio y desviación estándar. 21

Cuadro 4. Mediciones del largo de estoma. 54

Cuadro 5. ANDEVA largo de estoma.....55

Cuadro 6. Test de Ficher aplicado al largo de estomas centrado sólo en las muestras que presentan diferencias.....55

Cuadro 7. Mediciones ancho de estoma.....56

Cuadro 8. ANDEVA ancho de estoma. 56

Cuadro 9. Test de Ficher aplicado al ancho de estomas centrado sólo en las variables que presentan diferencia. 57

Cuadro 10. Mediciones ancho de banda estomática en mm. 57

Cuadro 11. ANDEVA ancho de banda. 58

Cuadro 12. Mediciones densidad estomática. 58

Cuadro 13. ANDEVA densidad estomática. 59

Cuadro 14. Test de Ficher aplicado a la densidad estomática centrado sólo en las variables que presentan diferencia.....59

Cuadro 15. Mediciones diámetro mayor célula oclusiva izquierda.....60

Cuadro 16. ANDEVA diámetro mayor célula oclusiva izquierda. 60

Cuadro 17. Mediciones diámetro menor célula oclusiva izquierda.....61

Cuadro 18. ANDEVA diámetro menor célula oclusiva izquierda. 61

Cuadro 19. Mediciones diámetro mayor célula oclusiva derecha. 62

Cuadro 20. ANDEVA diámetro mayor célula oclusiva derecha.....62

Cuadro 21. Mediciones diámetro menor célula oclusiva derecha. 63

Cuadro 22. ANDEVA diámetro menor célula oclusiva derecha. 63

Cuadro 23. Mediciones diámetro mayor célula subsidiaria izquierda. 64

Cuadro 24. ANDEVA diámetro mayor célula subsidiaria izquierda. 64

Cuadro 25. Mediciones diámetro menor célula subsidiaria izquierda. 65

Cuadro 26. ANDEVA diámetro menor célula subsidiaria izquierda. 65

Cuadro 27. Mediciones diámetro mayor célula subsidiaria derecha. 66

Cuadro 28. ANDEVA diámetro mayor célula subsidiaria derecha. 66

Cuadro 29. Mediciones diámetro menor de célula subsidiaria derecha. 67

Cuadro 30. ANDEVA diámetro menor ancho célula subsidiaria derecha. 67

Cuadro 31. Test de Ficher aplicado al ancho célula subsidiaria derecha centrado sólo en las variables que presentan diferencia. 68

Cuadro 32. Mediciones del ancho de la hoja en mm para el corte transversal. 68

Cuadro 33. Mediciones del espesor de la hoja en mm para el corte transversal. 69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. *Sequoia semprervirens* 5

Figura 2. Rama, ramilla y hojas de Secuoya 6

Figura 3. Esquema de la cavidad subestomática. 9

Figura 4. Estoma hundido. 10

Figura 5. Estoma hundido de coníferas, *Pinus sp* (a) y *Pinus pinea* (b). 11

Figura 6. Rodal Frutillar (a), Voipir (b) y Antiquina (c).....14

Figura 7. Distribución de las muestras en el rodal.....16

Figura 8. Exposición de las muestras en el árbol. 16

Figura 9. Esquema de medición tamaño estoma. 18

Figura 10. Esquema de medición tamaño transversal del estoma. 20

Figura 11. Estoma de *Sequoia sempervirens*.....24

Figura 12. Largo promedio del estoma por factor. 25

Figura 13. Diferencia estadísticamente comprobada para el largo del estoma, por localidad y exposición en el árbol.....26

Figura 14. Ancho promedio del estoma por factor. 27

Figura 15. Diferencia estadísticamente comprobada para el ancho del estoma, según localidad. 28

Figura 16. Bandas estomáticas de *Sequoia sempervirens*. 29

Figura 17. Ancho de banda promedio por factor en mm. 30

Figura 18. Intervalos de confianza sin diferencia para el ancho de banda, por localidad.....30

Figura 19. Estomas en la superficie adaxial de la hoja. 31

Figura 20. Estomas de *Sequoia sempervirens*. 32

Figura 21. Densidad estomática promedio por factor en 1 mm^2. 33

Figura 22. Diferencia estadísticamente comprobada, por localidad. 33

Figura 23. Estoma de *Sequoia sempervirens*, vista desde arriba de la hoja. 34

Figura 24. Corte transversal hoja *Sequoia sempervirens*, en la cual se indica las mediciones realizadas a la célula oclusiva. 35

Figura 25. Diámetro mayor de la célula oclusiva izquierda, en promedio por factor. 36

Figura 26. Intervalos de confianza sin diferencia significativa, por factor. 36

Figura 27. Diámetro menor célula oclusiva izquierda en promedio por factor. 37

Figura 28. Intervalos de confianza sin diferencias significativas, por factor. 37

Figura 29. Diámetro mayor célula oclusiva derecha en promedio por factor. 38

Figura 30. Intervalos de confianza sin diferencias significativas, por factor. 38

Figura 31. Diámetro menor célula oclusiva derecha en promedio por factor. 39

Figura 32. Intervalos de confianza sin diferencias significativas, por factor. 39

Figura 33. Conjunto de estomas en una hoja. 40

Figura 34. Estoma cerrado abaxial. 41

Figura 35. Estoma adaxial. 41

Figura 36. Diámetro mayor célula subsidiaria izquierda en promedio por factor. 42

Figura 37. Intervalos de confianza sin diferencias significativas, por factor. 42

Figura 38. Diámetro menor célula subsidiaria izquierda en promedio por factor 43

Figura 39. Intervalos de confianza sin diferencias estadísticas significativas, por factor. ...43

Figura 40. Diámetro mayor célula subsidiaria derecha en promedio por factor. 44

Figura 41. Intervalos de confianza sin diferencias significativas, por factor. 44

Figura 42. Diámetro menor célula subsidiaria derecha en promedio por factor. 45

Figura 44. Hoja entera de *Sequoia sempervirens*, en corte transversal. 46

Figura 45. Corte transversal de la hoja de *Sequoia sempervirens*. 47

RESUMEN

El estudio tiene como objetivo caracterizar anatómicamente la epidermis foliar de la especie *Sequoia sempervirens* D. Don (Endl).

Se determina el tamaño del estoma, forma, densidad, tipo y anatomía de las células oclusivas y subsidiarias, de acuerdo a tres factores analizados, Latitud (lugar de emplazamiento de las muestras colectadas), ubicación del árbol dentro del rodal (Borde o Interior) y exposición de las ramillas en el árbol (Norte o Sur).

Los principales resultados indican que los estomas se encuentran hundidos en la epidermis y son de gran tamaño. Las células oclusivas tienen forma de riñón, las células subsidiarias se diferencian en forma y tamaño de las epidermales, además por tener pared celular más delgada.

El largo y ancho promedio de los estomas es de 34,5 µ y 14 µ respectivamente. La densidad de estomas varía entre 147 y 35 por mm^2. Para el ancho de banda los resultados varían entre 1,34 mm y 0,3 mm. En el corte transversal los valores del diámetro mayor y menor de las células oclusivas varían entre los rangos 32µ – 11µ y 9µ – 6µ respectivamente, para las células subsidiarias 34µ – 14µ y 17µ – 5µ.

Los resultados entregados por el análisis de varianza indican que la latitud es el único factor que afecta el tamaño y densidad de los estomas, éstos aumentan en largo, ancho y densidad a medida que aumenta la latitud sur, esto da cuenta que la especie se desarrolla mejor en lugares con mayor humedad y precipitaciones. El ancho de banda, las células oclusivas y subsidiarias del estoma no se ven afectadas en su anatomía por la latitud, posición en el rodal ni por la exposición en el árbol.

Palabras claves: *Sequoia sempervirens*, Secuoya, epidermis, estoma, células oclusivas y subsidiarias.

ABSTRACT

The study has as objective to characterize anatomically the epidermis foliate of the species *Sequoia sempervirens* D.Don (Ende).

Size of the stomata, form, density, type and anatomy of the guard (occlusive) and subsidiary cell is determinate, according to three analyzed factors, Latitude that is the place of emplacement of the collected samples, Location of the tree inside the small wood (Edge or Interior) and exposure of the sprig in the tree (North or South).

The main results show that the stomata are sunk in the epidermis and of great size. The guard cells having kidney-like shape, the subsidiary cells differ from the epidermal for having a thinner cellular wall.

The stomata features for the length and width is 34,5 µ and 14 µ in average, respectively. The density is between 147 and 35 per mm^2. The bandwidth range is between 1,34 mm and 0,3 mm. The transverse cross-section are 32µ – 11µ and 9µ – 6µ for the higher and smaller guard cell diameter, respectively. For subsidiary cells, the values are 34µ – 14µ and 17µ – 5µ.

The results delivered by the analysis of variance indicate that the latitude is the only one that affects the size and density of the stomata. As latitude increases, the length, width and density also increase. These results show us that *Sequoia sempervirens* development is enhanced in damper and rainy locations. On the other hand, neither the bandwidth nor the guard and subsidiary cells of the stomata are in anatomy affected for the latitude, small wood position or for the exposure in the tree.

Key words: *Sequoia sempervirens*, Secuoya, epidermis, stomata, guard and subsidiary cells.

1. INTRODUCCIÓN

Sequoia sempervirens (Secuoya) es una de las especies arbóreas más antiguas en el mundo. En Chile se ha propuesto como una alternativa para la diversificación, debido a sus características estructurales y noble madera de alto valor económico.

Esta especie presenta condiciones apropiadas para su efectivo establecimiento en el sur del país, gracias a las similitudes climáticas que Chile presenta con respecto a la costa de California en los Estados Unidos, de donde es originaria. En consecuencia se han realizado ensayos de introducción en diferentes localidades del sur de Chile, los cuales han tenido excelente resultado en el tiempo, existiendo rodales de más de 40 años de edad, hecho que indica que esta especie podría presentar adaptaciones específicas a las diferentes condiciones climáticas en donde se desarrolla.

Al ser Secuoya un importante productor de biomasa foliar, es interesante medir, analizar, describir y comparar, los atributos que esta especie presenta en su anatomía foliar que le permiten adaptarse a los diferentes lugares de emplazamiento.

Este estudio tiene como objetivo general caracterizar anatómicamente la epidermis foliar de la especie, en la regiones VII, IX y X, con principal atención en los estomas por su importancia para el intercambio gaseoso con el medio ambiente. Como objetivos específicos se presentan: a- determinar el tamaño de los estomas, densidad de éstos, tipo y anatomía de la célula acompañante (células subsidiaria) de acuerdo a: localidad, ubicaron en el rodal y exposición en el árbol. b- determinar el grosor de la cutícula y relacionar éste con el tamaño y forma de los estomas para cada uno de los siguientes factores: localidad, ubicación en el rodal y exposición en el árbol.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Antecedentes generales de *Sequoia sempervirens*

Sequoia sempervirens (D. Don), es el árbol más grande del mundo pudiendo llegar a medir 112 m de altura y 9 m de DAP, es una especie de gran interés debido a que posee un crecimiento relativamente rápido, su madera de color rojizo intenso, resistente a la pudrición, es bien valorada por el mercado mundial. Se le conoce con los nombres comunes de redwood, Coast redwood, California redwood, Sequoia costera, Palo colorado y en Chile como Sequoia, Secuoya o Alerce Americano. Debido a lo anterior en esta memoria se usará el nombre común de Secuoya, por ser el más usado en el idioma Español (INDAP, 1968; Jensen y Salisbury, 1997; Earle, 2002).

Secuoya es el árbol maderero más productivo de Estados Unidos y constituye una fuente importante de fibra de gran calidad, además presenta alta capacidad de respuesta a los disturbios provocados por el fuego, inundaciones, derrumbes y cosechas, gracias al rebrote de sus cepas (Douhovnikoff *et al*, 2004).

2.1.1 Distribución

Secuoya es endémica de la costa Norte de California y suroeste de Oregón, ocupa una banda de tierra que se extiende 750 km de norte a sur y 8 a 56 km de este a oeste. Los árboles prosperan en esta zona de clima suave, donde las lluvias de invierno y la niebla de verano proporcionan una temperatura uniforme y un alto nivel de humedad a lo largo de todo el año (Griffith, 1992; Brinegar, 2001).

Puede desarrollarse en rodales puros o en asociación con las especies: Pino Oregón (*Pseudotsuga menziesii* [Mirb.] Franco) principalmente, Aliso rojo (*Alnus rubra* Bong.) y Roble de California (*Lithocarpus densiflora* [Hook. & Arn.] Rehd.) (Fox, 1996).

2.1.2 Características del sitio

Se desarrolla en climas de tipo mediterráneo marítimo, donde los inviernos son frescos y lluviosos, y los veranos secos. El promedio anual de las precipitaciones es de 1.800 mm. Los veranos son atenuados por una densa niebla, que reduce el estrés de la sequía, disminuyendo la evapotranspiración y agregando humedad al suelo. Se piensa que la humedad de la niebla proporciona un 30% a 40% del abastecimiento de agua a la Secuoya. Las temperaturas medias anuales varían entre 10 y 16°C. Se ha visto que no son resistentes a heladas permanentes (Griffith, 1992; INFOR, 1998).

Se encuentra desde el nivel del mar hasta los 915 msnm, pero la mayoría se emplaza entre los 100 a 703 msnm (Griffith, 1992).

La Secuoya tiene una afinidad fuerte para los suelos aluviales, profundos y húmedos. Los materiales parentales comunes para ésta son: piedras areniscas, pizarras y conglomerados (Griffith, 1992; Earle, 2002).

2.1.3 Antecedentes en Chile

Las condiciones apropiadas para su desarrollo se extienden desde Valparaíso por la costa, internándose al Valle Central a la altura de Linares hasta Puerto Montt, en suelos bien drenados y profundos, con resultados satisfactorios, en especial entre la VII y la X Región. La rotación para los sitios es de 30 y 40 años (Kannegiesser, 1990).

En Chile se encuentran plantaciones en numerosas localidades tales como: Antiquina, Voipir, Llancacura, Trafún, Campanario, Correltue, Piedras Blancas, Frutillar, etc. (Toral, *et al*, 2005).

2.1.4 Descripción de *Sequoia sempervirens*

Sequoia sempervirens pertenece a la familia Taxodiaceae la cual destaca por presentar las especies de mayor tamaño y altura dentro del reino vegetal. Con árboles siempreverdes, semipersistente o caducos; monoicos, de troncos derechos; hojas en arreglo a veces en

espiral y otras dispersadas, siendo éstas las principales características morfológicas que definen a la familia (Wu y Raven, 1999; Espinoza, 2002).

Según Wu y Raven (1999), en la clasificación taxonómica de la familia Taxodiaceae, la Secuoya presenta: hojas escamosas en la rama principal y linear en las ramas laterales; conos con 15 a 20 semillas, escamoso, madurando en el primer año.

Árboles de 60 a 110 m de altura y 3 a 9 m de diámetro a la altura del pecho. De tronco amplio y reforzado en la base y a menudo con hinchazones redondas o nudos. Levemente ahusado. Cuando jóvenes presentan crecimiento cónico y monopódico, ya más viejos, son estrechamente cónicos, irregulares y abiertos. Corteza de color rojo marrón, de más o menos 35 centímetros de espesor, gruesa, resistente y fibrosa, con surcos profundos de cantos amplios y escamosos, las ramas van creciendo hacia abajo, levemente levantadas, las ramillas son delgadas, de color verde oscuro, bifurcadas en un plano y terminando en una yema escamosa. Las ramillas están dispuestas ascendentemente hacia el ápice de la rama y los brotes fértiles están fuertemente apegados a la ramita. Las hojas tienen una disposición espiralada con respecto a la ramilla, son sésiles y presentan dimorfismo foliar (Earle, 2002) (Figuras 1 y 2).

Las hojas del género *Sequoia* se disponen en espiral, son sésiles, con dimorfismo foliar, en la rama principal las hojas están muy adheridas y levemente separadas, son linear – oblongas, escamiformes, en las ramas laterales están dispuestas en dos filas, estas pueden ser sésiles, lineales. Superficie adaxial con pequeñas líneas estomáticas interrumpidas o ninguna, superficie abaxial con dos bandas estomáticas blancas, base torcida y las puntas de las hojas en forma de agujas (Cronquist, 1969; Edwin y Nimmo, 1987; Wu y Raven, 1999; Tormo, 2003).

Figura 1. *Sequoia sempervirens*

Figura 2. Rama, ramilla y hojas de Secuoya

Las hojas miden 1 a 30 mm de largo, generalmente con estomas en ambas caras, en la superficie adaxial con pequeñas líneas estomáticas interrumpidas o ninguna, en la cara abaxial dos bandas estomáticas blancas. La base de las hojas está torcida y fuertemente unida al tallo, las puntas son agudas de forma aciculada (Earle, 2002).

Los estomas de Secuoya son similares a los del ciprés calvo, pero más grandes. Es posible que los estomas de Secuoya tengan el tamaño inapropiado y por ésto no controlan la pérdida de agua. Podría ser esta la razón por la que esta especie necesita abundante agua y neblina para crecer (Libby, 1996).

Secuoya parece tener una reserva adecuada de variedad genética para adaptarse a los diversos desafíos ambientales. Aún así hay un detalle anatómico estructural que puede restringir su amplia adaptación. En las hojas las células oclusivas del estoma no están bien desarrolladas para regular la transpiración exitosamente, por esta razón se adapta bien a las regiones costeras de California, donde la humedad y la niebla de verano son condiciones naturales (Ahuja, 1996).

2.2 Las hojas

Las hojas por lo general presentan forma laminar y simetría dorsiventral. La epidermis forma la capa más exterior y el tejido vascular se halla distribuido de forma variable en el tejido fundamental. La hoja presenta un crecimiento apical definido, que contrasta con el tipo de crecimiento continuo del tallo. La superficie externa es relativamente grande, la abundancia de cloroplastos en el tejido fundamental y la estrecha relación espacial entre los tejidos vascular y fundamental sugieren una especialización dirigida a la fotosíntesis, estas características facilitan la exposición de los cloroplastos a la luz y favorecen el acceso del agua y gases a las células encargadas de la fotosíntesis (Cortés, 1980; Esau, 1985; Izco y Barreno, 1997).

En contraste al tallo, la hoja presenta sólo tejidos primarios, no tiene tejidos de reserva y su capacidad para restaurar sus tejidos está limitada, siendo el órgano más expuesto a cambios y fenómenos metereológicos. En plantas perennes se forman constantemente nuevas hojas y las viejas las pierden. Las hojas están limitadas en masa (Esau, 1985).

Las hojas de las coníferas siempre son simples y usualmente muy angostas; tienen desde un centímetro a varios de longitud y más o menos 4 milímetros de ancho. A estas hojas se les denomina comúnmente agujas. La traza foliar tiene un haz en algunas familias y dos en otras. Estas hojas son típicamente alternas en espiral (dísticas), bastante cerrada, y menos común opuestas o verticiladas. Son firmes, con células epidérmicas pequeñas, de pared y cutícula gruesa. Los estomas están hundidos y frecuentemente nacen en bandas longitudinales definidas. A menudo bajo la epidermis hay una hipodermis que consiste en una a tres capas de células pequeñas de pared gruesa, las hojas aciculares y escamiformes tienen uno a dos haces centrales vasculares y a menudo el haz esta rodeado por una endodermis definida cuyas células presentan Bandas de Caspary. El tejido entre la endodermis y el haz esta compuesto por células parenquimatosas más o menos lignificadas denominadas tejido de transfusión. El mesófilo esta compuesto principal o totalmente por clorénquima a menudo con uno o más canales resiníferos esquizógenos. En las hojas anchas el clorénquima tiende a diferenciarse en una capa superior de parénquima empalizado y una inferior de parénquima esponjoso (Cronquist, 1969).

Las coníferas presentan xeromorfismo, es decir adaptaciones morfológicas y estructurales que permiten una mayor resistencia a la sequía con respecto a otras especies. En casos de sequía muy prolongada son capaces de sobrevivir, ya que pueden ahorrar agua cerrando sus estomas y desarrollan gruesas cutículas que les protegen de la desecación. Esta propiedad junto con la forma lineal de sus hojas, hacen que las plantas sufran un menor calentamiento de su superficie y disminuyan las pérdidas de agua por evaporación (Fuertes, 2001).

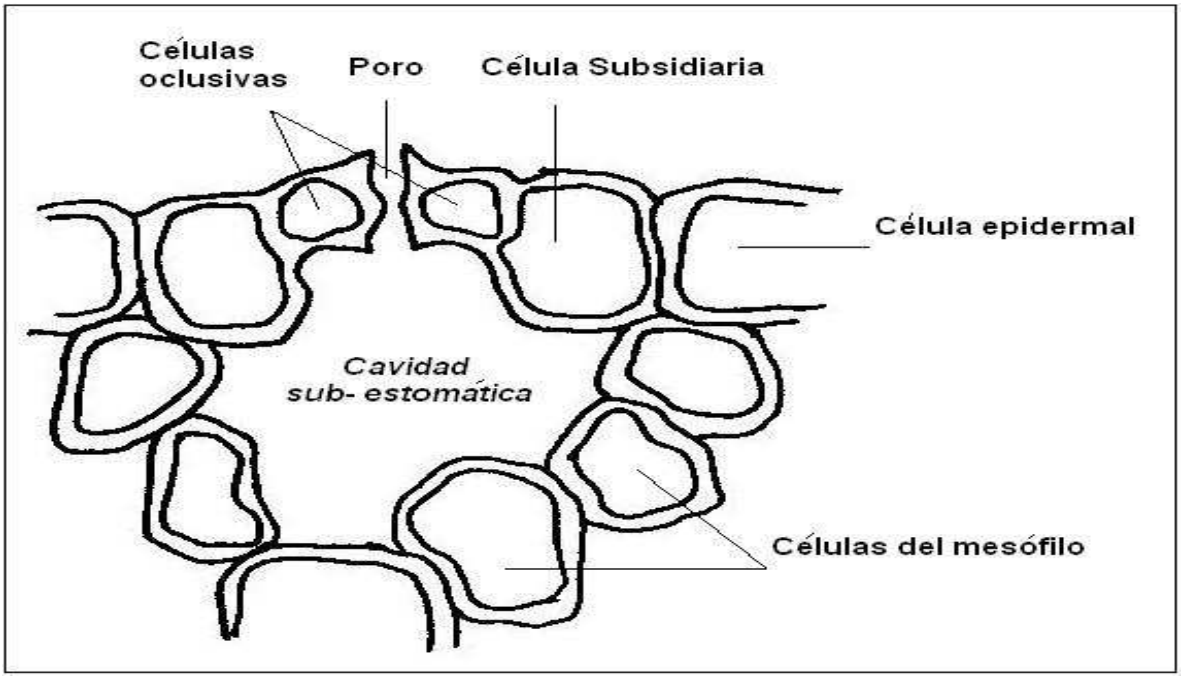
2.3 Aparatos estomáticos

Los estomas están presentes en las hojas de todas las plantas superiores y en órganos de plantas primitivas tales como musgos y helechos (Azcón-Bieto y Talon, 2000; Gómez, 2004).

Se trata de pequeñas aberturas que se encuentran principalmente en la epidermis de las hojas y de tallos herbáceos jóvenes. Su función es doble: permitir el intercambio gaseoso y mantener un adecuado nivel hídrico en la planta. La transpiración se realiza para regular la temperatura foliar (Villee, 1996; Gómez, 2004; Kinase, 2004).

Cada estoma esta formado por dos células oclusivas, de guarda o guardianes, unidas por sus extremos y separadas entre si por una hendidura intercelular llamada poro u ostíolo que pone en contacto el aire exterior con un espacio intercelular del mesófilo, presenta además, dos o más células subsidiarias (Figura 3). La apertura del poro está regulada por las células oclusivas las cuales por cambios de turgencia lo abren o cierran, esto depende de la disponibilidad de CO_2 y H_2O. Los estomas son los que regulan el intercambio gaseoso, en especial la transpiración (Strasburger, 1994; Jensen y Salisbury, 1997).

Las células oclusivas se distinguen de las células epidermales por su forma y tamaño, tienen cloroplastos menos frecuentes, más pequeños y de diferente morfología que los de las células del mesófilo (Strasburger, 1994; Azcón-Bieto y Talon, 2000).



Fuente: Meidner y Mansfield, 1968

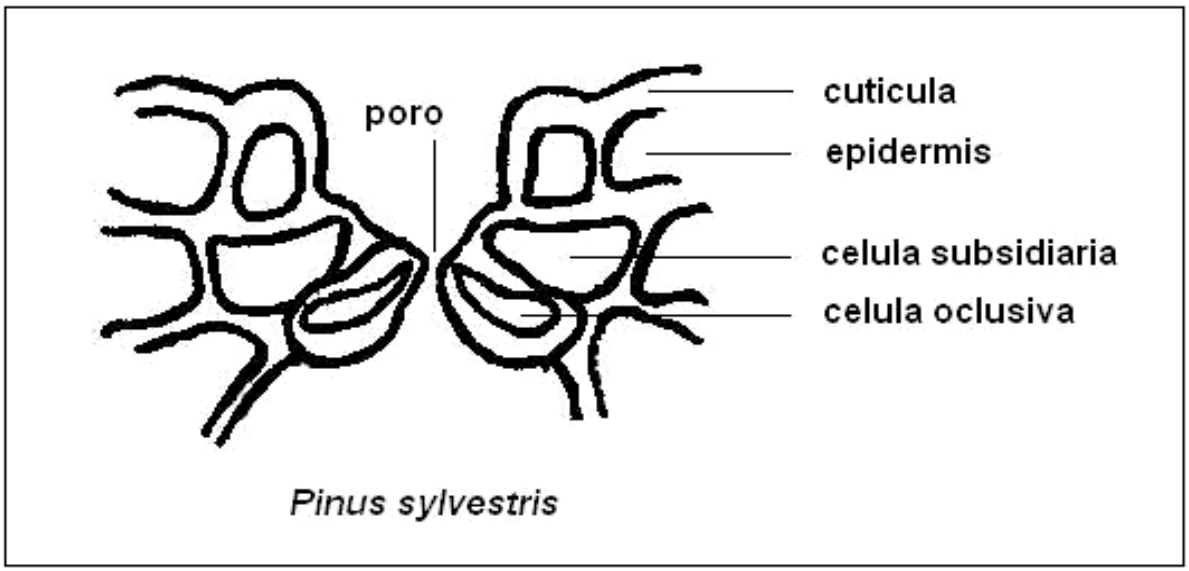
Figura 3. Esquema de la cavidad subestomática.

La pared cóncava que bordea el poro es engrosada, mientras que la pared dorsal, que limita con las células epidérmicas es delgada. La disposición de las microfibrillas de celulosa, que refuerzan la pared celular, determina la forma de la célula y juegan un papel importante en la apertura y cierre del poro estomático. Las células oclusivas de forma arriñonada, tienen microfibrillas de celulosa que se extienden radialmente hacia fuera desde el poro en forma de abanico, esto se llama micelación radial. Cuando la célula oclusiva absorbe agua aumenta su longitud, especialmente a lo largo de la pared dorsal, produciéndose el hinchamiento hacia fuera. Las microfibrillas tiran (traccionan) la pared interna que bordea el poro con ellas, lo que produce la apertura del estoma (Jensen y Salisbury, 1997; Hernández, 2001; Nadeau y Sack, 2003).

Los estomas son característicos de las epidermis cutinizadas. Se encuentran principalmente en el envés de la hoja (Strasburger, 1994).

Las hojas con estomas en ambas caras se denominan anfiestomáticas, las que los tienen en la epidermis superior o cara adaxial se denominan epiestomáticas las que los tienen en la epidermis inferior o cara abaxial se denominan hipoestomáticas (Meidner y Mansfield, 1968; Metcalfe y Chalk, 1979; Azcón-Bieto y Talon, 2000).

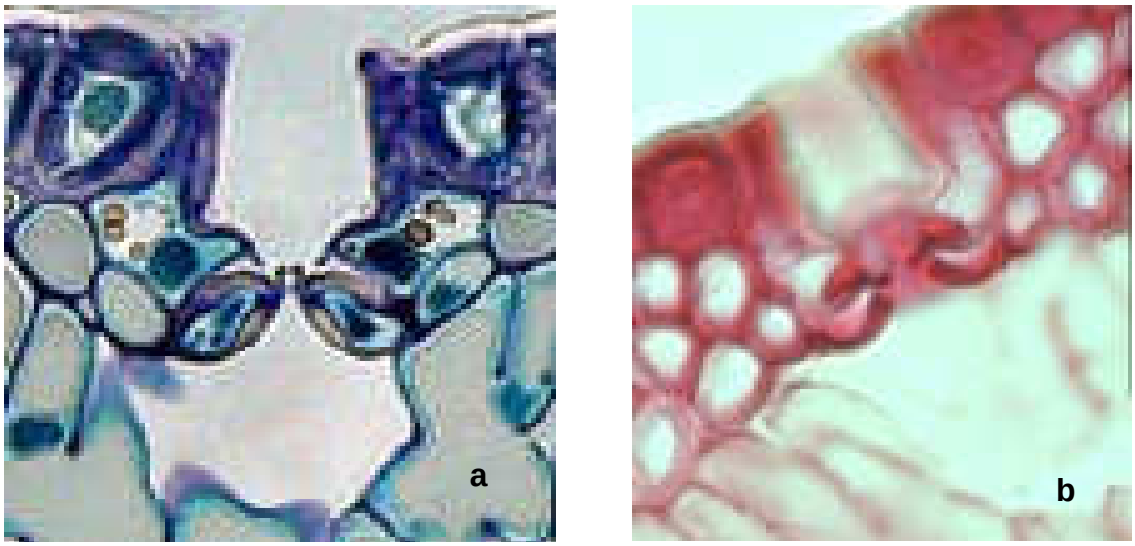
En plantas con mucha humedad en el ambiente, la transpiración es difícil, por lo que el estoma se presenta en la parte superior de la hoja. En ambientes secos, el estoma se encuentra hundido en la epidermis como es el caso de *Pinus sylvestris,* Figura 4 (Meidner y Mansfield, 1968; Hetherington y Woodward, 2003; Gómez, 2004).



Fuente: Meidner y Mansfield, 1968.

Figura 4. Estoma hundido.

En las gimnospermas las células oclusivas se encuentran por debajo de las células subsidiarias, el poro u ostiolo queda encriptado o hundido en la epidermis lo cual hace más lenta la transpiración, en la figuras 5 se observa el estoma hundido de las coníferas, esta es una adaptación a la sequía (Torres, 2002).



Fuente: Gonzáles y Arbo, 2007 (a); Torres, 2002 (b).

Figura 5. Estoma hundido de coníferas, *Pinus sp* (a) y *Pinus pinea* (b).

En diferentes especies se pueden encontrar bandas estomáticas; en algunas, las bandas se distribuyen en la epidermis adaxial como es el caso de *Isoetes histrix* y en otras, en la epidermis abaxial como es el caso de Secuoya (Earle, 2002; Prada y Rolleri, 2003).

Cuadro 1. Frecuencia de estomas en el envés de la hoja de algunas especies

Especie	**Estomas por mm^2**
Allium cepa	175
Zea mays	108
Helianthus annus	175
Vicia faba	75
Pinus sylvestris	120
Cyclanthus bipartitus	112
Genoma spinescens	23
Podocarpus pittieri	124
Grafenrieda latifolia	363
Matelea manarae	76

Fuente: Hernández, 2002.

El número de estomas por unidad de área varía no sólo entre especies (Cuadro uno) si no que también dentro de una misma especie, debido a las adaptaciones al medio ambiente donde se desarrolla (Meidner y Mansfield, 1968).

Como se observa en el cuadro dos dentro de la misma hoja se encuentran variaciones en la densidad estomática dependiendo si es medida en la epidermis superior (adaxial) o inferior (abaxial).

Cuadro 2. Frecuencia estomática por mm^2

Especie	Superior	Inferior
Abies nordmanniana	--	110
Cedros deodara	84	85
Pinus sylvestris	120	120
Picea pungens	39	39
Larix decidua	14	16
Aesculus hippocastanum	--	210
Carpinus betulus	--	170
Eucalyptus globulus	--	370
Quercus robur	--	340
Tilia europea	--	370

Fuente: Meidner y Mansfield, 1968.

El aumento o disminución del número de estomas influye en la resistencia al flujo de agua y gas en la planta. La disminución en la frecuencia estomática reduciría la tasa de pérdida de agua, ajustándose a la disponibilidad de ésta (Silva *et al*, 1999).

2.3.1 Efectos ambientales sobre los estomas

Los estomas se adaptan a los cambios locales y globales en todas las escalas de tiempo desde minutos a milenios. Datos recientes establecen su importancia central dentro de la fisiología de la planta, evolución y ecología global. La morfología estomática, su distribución y comportamiento responde a un espectro de señales, desde intracelular hasta el cambio climático (Cronquist, 1988; Hetherington y Woodward, 2003).

Según Arroyave (2003), podemos encontrar diferentes efectos ambientales que influyen en los estomas tales como:

- Disponibilidad de agua en el suelo: cuando las hojas se comienzan a secar por baja disponibilidad de agua los estomas se cierran, incluso antes de que comience el marchitamiento.

- Concentración de CO_2 en las hojas: concentraciones bajas de CO_2 hace que los estomas se abran y altas concentraciones hace que se cierren.

- Luz: en la mayoría de las plantas los estomas se abren al amanecer y se cierran en el atardecer, lo que permite la entrada de CO_2 en el día para la fotosíntesis.

- Humedad atmosférica: la humedad relativa es el porcentaje de vapor de agua retenido en el aire. Valores altos de humedad atmosférica causan el cierre de los estomas.

- Temperatura: para temperaturas menores de 30°C, causa una apertura en los estomas, pero temperaturas elevadas (mayores de 30 a 35°C), provocan generalmente el cierre de los estomas.

- Velocidad del viento: brisas ligeras pueden causar un cierre parcial de los estomas, quizás por la llegada de CO_2 a las hojas. Sin embargo también puede incrementar la transpiración ya que se desplaza el aíre húmedo.

Otras adaptación es el caso del *Drimys winteri* (canelo), que presenta obstrucciones de sus poros estomáticos por los tapones de cutícula, los cuales protegen a las hojas de la niebla pero no de la sequía (Feild *et al*, 1998).

3. MATERIAL Y MÉTODO

3.1 Material

3.1.1 Material biológico

El material proviene de cuatro rodales localizados en el sur de Chile:

1. VIII Región del Biobío, Antiquina (Centro Experimental del Instituto Forestal), edad 29 años. Latitud 38°18’ Sur. Longitud 73°21’ Oeste (Figura 6a).

2. IX Región de la Araucanía, ciudad de Villarrica (Forestal Voipir), edad 16 años. Latitud 39°18’ Sur. Longitud 72°10’ Oeste (Figura 6b).

3. X Región de la Araucanía, Lanco (Forestal Natalhue), edad 15 años. Latitud 39°30’ Sur. Longitud 72°45’ Oeste.

4. X Región de los Lagos, ciudad de Frutillar (Centro Experimental de la Universidad de Chile), edad 27 años. Latitud 41° Sur. Longitud 73° Oeste (Figura 6c).

El criterio de selección se basó en la disponibilidad de individuos para la colecta de las muestras y la distribución de las plantaciones según latitud.

Figura 6. Rodal Frutillar (a), Voipir (b) y Antiquina (c).

Las muestras corresponden a hojas frescas colectadas en terreno, parte de ellas se fijan en FAA (solución de formalina, ácido acético glacial, alcohol etílico y agua), la otra porción se guardó en bolsas herméticamente cerradas y se transportó en un contenedor frío hasta el laboratorio de Biología Vegetal del Departamento de Silvicultura, Facultad de Ciencias Forestales, donde se mantuvieron refrigeradas hasta su preparación y análisis.

3.1.2 Materiales y reactivos de laboratorio

Para el proceso de:

- Diafanización: Hipoclorito de sodio, agua destilada, safranina, jalea de glicerina.
- Preparación histológica: alcohol, ácido acético glacial, formalina, xilol, parafina, cloruro férrico, safranina, ácido tánico, fast-green.

Para la elaboración y procesamiento de las muestras: Microscopio, Lupa, Estufa, Micrótomo de rotación, set de tinción y porta muestras.

3.2 Método

Para la colecta de muestras en terreno se seleccionaron 10 individuos de cada localidad, 5 árboles del interior del rodal y 5 que se encontraban en el borde del rodal, es decir con más luz (Figura 7). Se cortaron ramas del tercio inferior del árbol, de más o menos 30 cm de largo, dos muestras por árbol, una de la exposición norte y otra de exposición sur (Figura 8). De cada una de ellas se cortó una ramilla y se extrajeron aproximadamente 10 hojas por muestra, que fueron fijadas en FAA. El resto de las ramas extraídas se guardó en bolsas herméticas dentro de un contenedor frío hasta su procesamiento en el laboratorio.

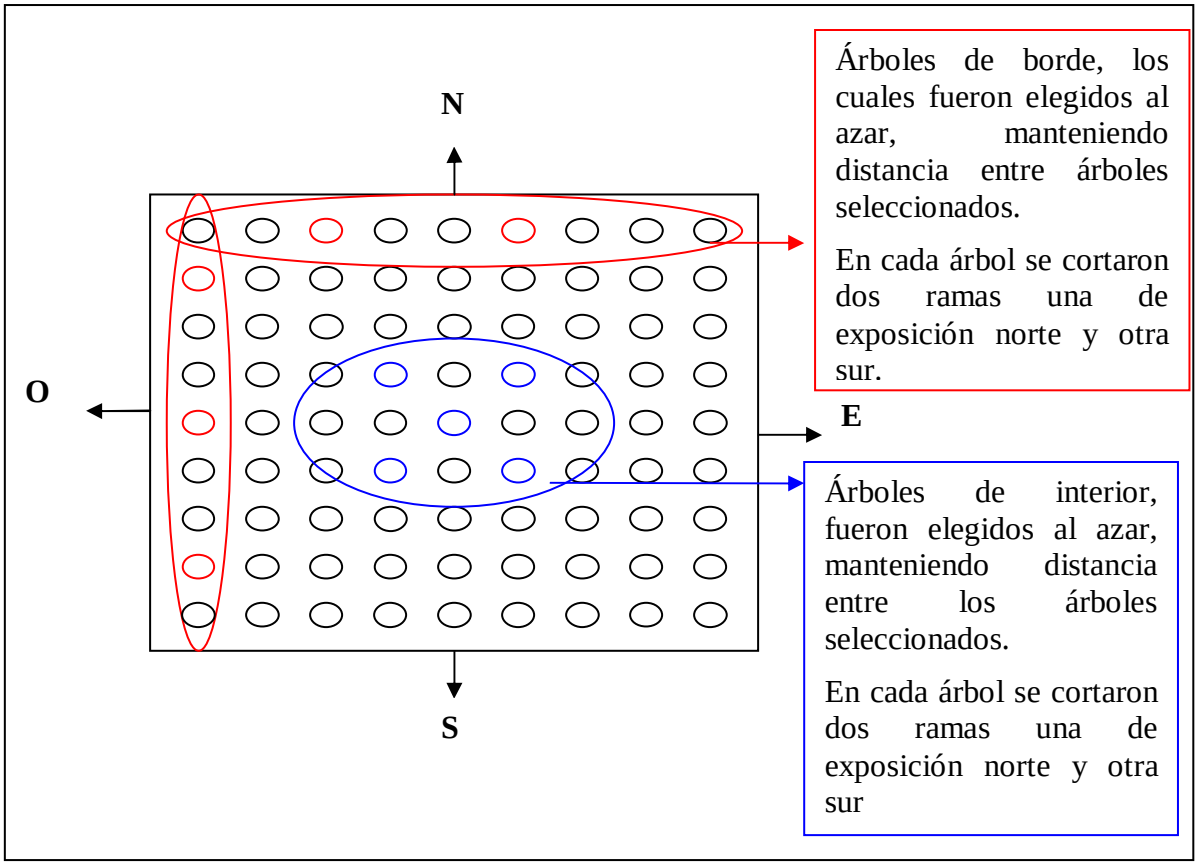


Figura 7. Distribución de las muestras en el rodal.

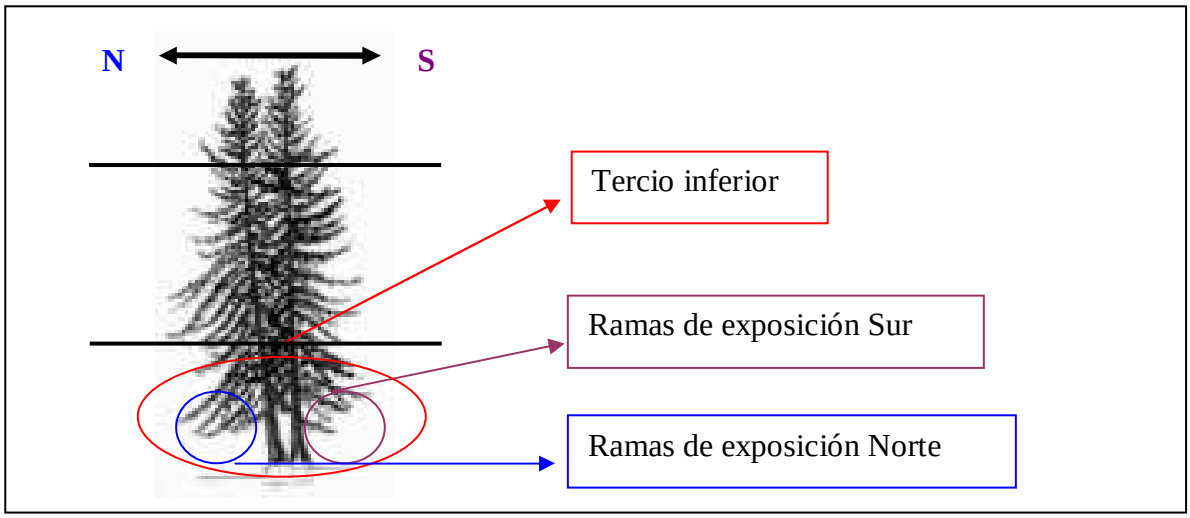


Figura 8. Exposición de las muestras en el árbol.

Obteniéndose un total de 80 muestras para el estudio, 20 muestras por rodal, 10 de borde y 10 de interior.

Definición de factores:

- Primer factor, Localidad: corresponde a las cuatro localidades de donde provienen las muestras, están ubicadas a diferentes latitudes.

- Segundo factor, Rodal: corresponde a la ubicación de los árboles en el rodal, interior y borde. Figura 7.

- Tercer factor, Árbol: corresponde a la exposición de las ramillas dentro del árbol, norte y sur. Figura 8.

Para la validación estadística del método antes mencionado, se realizó un análisis de varianza (Andeva), entre las localidades y ubicación de las muestras, para un diseño completamente al azar con arreglo trifactorial de efectos fijos (4*2*2), con cinco repeticiones, diseño basado en Montgomery (1991), Spiegel (1991) y Canavos (1999), los datos fueron procesados en el programa Excel de Microsoft Office y analizados en el programa estadística 7.0.

El análisis de varianza es utilizado por varios autores para comparar factores y mediante la prueba estadística de distribución F se comprueba la veracidad del Andeva, como es el caso de Dumlap y Stettler (2001), los cuales utilizaron este método para analizar la densidad estomática, entre diferentes localidades para dos clones de *Populus trichocarpa*. Para comprobar el Andeva se realizó una prueba de comparaciones múltiples, llamada test de Fisher, con el cual se determinaron las diferencias significativas entre las medias de los factores.

3.2.1 Determinación del tamaño de los estomas, densidad, tipo y anatomía de la célula acompañante

El protocolo de laboratorio utilizado para este punto es una adaptación de las técnicas propuestas por Johansen (1940), para Secuoya, debido a las diferencias anatómicas que presentan las especies, es necesario, mediante pruebas elegir los tiempos indicados para el procesamiento cada muestra. Éste consiste en diafanizar las muestras colocando las hojas en una concentración de hipoclorito de sodio, hasta que decolora completamente el

mesófilo. Ocurrido ésto, se procede a diseccionar la hoja sobre un portaobjeto, a mano alzada con bisturí y agujas de disección, sin dañar la epidermis. Una vez abiertas se tiñen con solución de safranina. Se montan en el porta objeto, se cubren con jalea glicerinada y sellan con un cubre objeto.

Bajo el microscopio óptico se tomaron las fotografías correspondientes, para ser analizadas en el programa Ip-Lab, con el cual se realizaron las mediciones y caracterizaciones morfoanatómicas.

La determinación del tamaño del estoma, se realizó midiendo el ancho y largo del estoma como se muestra en la figura 9, tal como procedieron Barrera y Meza (1992), se midió tres veces cada dimensión, se consideró el promedio como dato final. El ancho de banda estomática se midió transversalmente a está, también con tres mediciones.

Para la densidad se contó el número de estomas en un área conocida sobre la banda estomática como lo realizó Dunlap y Stettler (2001), luego se estimó el número de estomas por mm^2.

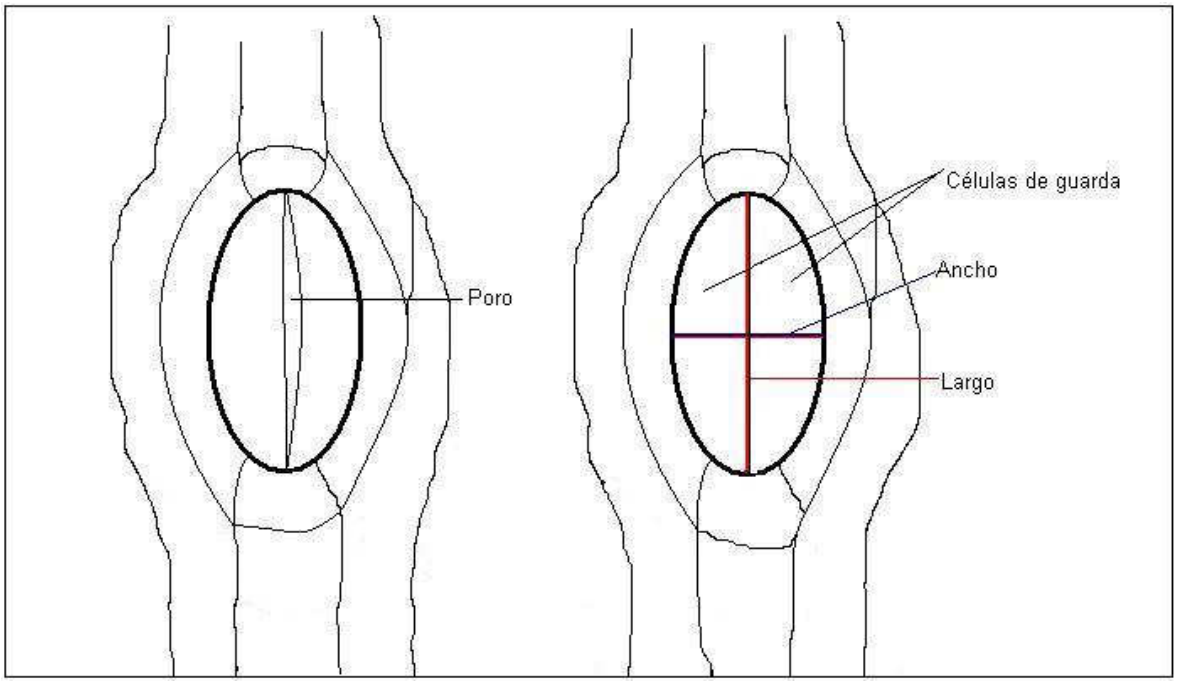


Figura 9. Esquema de medición tamaño estoma.

3.2.2 Determinación del grosor de la cutícula y relación con el tamaño y forma de los estomas

Para cumplir con este objetivo se utilizaron las muestras colectadas y fijadas en terreno.

El protocolo de laboratorio utilizado es el propuesto por Johansen (1940) y se adaptó para la especie.

Los frascos llevados a terreno contienen FAA, solución compuesta de: 50 ml de Alcohol Etílico (95%), 5 ml de Ácido Acético Glacial, 10 ml de Formalina (37 – 40 %) y 35 ml de agua destilada. Las hojas deben pasar un tiempo mínimo de 24 horas en FAA. Transcurrido este tiempo se debe cambiar a Alcohol de 70 %, pudiendo permanecer ahí indefinidamente.

Posteriormente se deshidrataron e incluyeron en parafina, para proceder a realizar cortes histológicos de 10 μ de espesor.

El teñido de las muestras se realizó con ácido tánico, cloruro férrico, safranina y fast – green y se sellaron con Eukit.

Las muestras se fotografiaron para ser analizadas en el programa Ip-lab.

Por la dureza de las hojas, sólo algunas permitieron la medición de los factores propuestos. No se pudo determinar el grosor de la cutícula, debido a que se perdía al paso de la cuchilla del micrótomo y no se obtuvo un mínimo necesario de muestras para el análisis.

Para la medición del tamaño del estoma en el corte transversal se procedió a medir el diámetro de las células de guarda en ambos lados del poro (se hicieron dos mediciones en la zona más angosta y ancha de la célula), lo mismo se hizo con las células acompañantes, claramente diferenciadas de las células epidermales como se muestra en la figura 10.

Se midió el ancho y espesor transversal de la hoja. Sólo en algunas muestras se pudo medir el diámetro de los canales resiníferos ubicados en el mesófilo de la hoja.

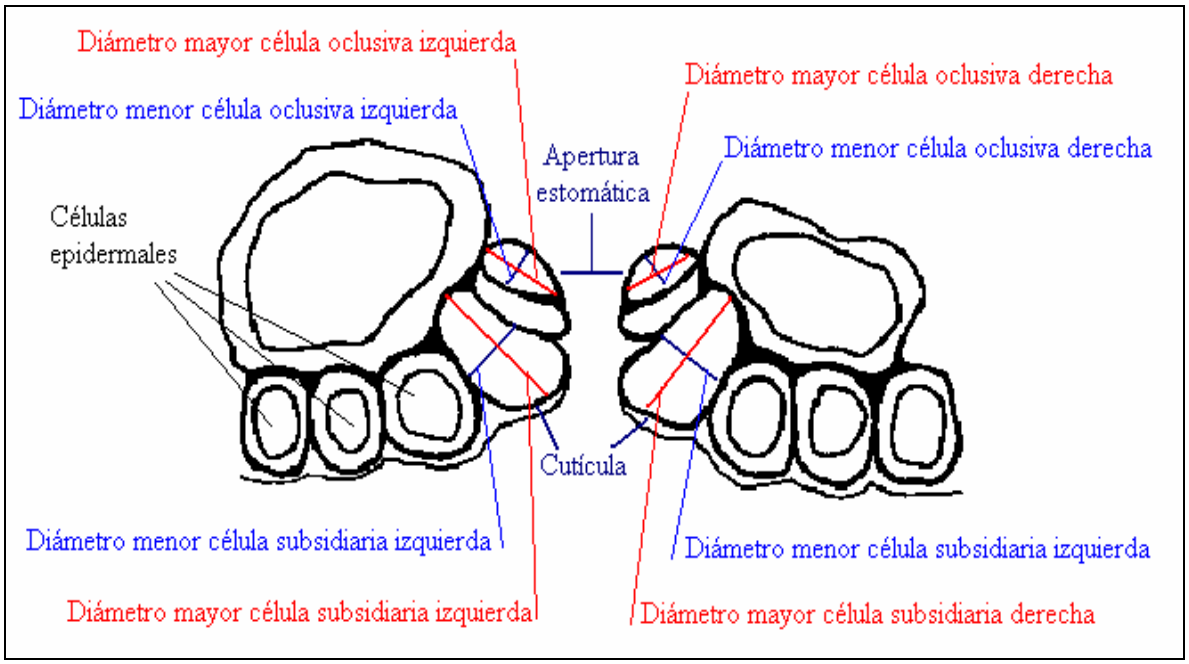


Figura 10. Esquema de medición tamaño transversal del estoma.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sequoia sempervirens presenta hojas pequeñas y aguzadas, en forma lineal oblonga, las cuales son coriáceas o duras, con dos bandas estomáticas en la superficie abaxial claramente diferenciadas de las células epidermales por su color blanquecino, los extremos de las hojas son de forma aguzada y punzante, bastante duros debido al engrosamiento de las paredes celulares de la epidermis. Concuerda con las descripciones antes señaladas por: Libby (1996), Wu y Raven (1999), Fuertes (2001) y Earle (2002).

En el mesófilo las hojas presentan parénquima en empalizada y los estomas se encuentran hundidos. Esta es una estrategia para disminuir la pérdida de agua durante los periodos de sequía como mencionan: Gómez, (2004), Hetherington y Woodward, (2003) y Meidner y Mansfield, (1968).

En el cuadro 3 se observan las variables medidas y sus resultados relevantes, la significación estadística da cuenta del análisis de varianza realizado entre los factores y cuales de estos presentaron variaciones significativas.

Cuadro 3. Resumen de las mediciones realizadas con su valor medio y desviación estándar.

Variable	Factores	Localidad								Significancia estadística
		Antiquina		Voipir		Lanco		Frutillar		
	Posición en el árbol	Posición en el bosque		Posición en el bosque		Posición en el bosque		Posición en el bosque		Fp;°Lx;°Le
		Borde	Interior	Borde	Interior	Borde	Interior	Borde	Interior	P < 0,05
Largo estoma (µ)	Norte	31,89 ± 5,14 a	33,94 ± 1,68 a	33,49 ± 3,16 a	37,64 ± 3,28 a	30,79 ± 3,41 a	34,52 ± 2,17 a	31,35 ± 5,21 ac	33,7 ± 4,77 ac	F0,95;3;64
	Sur	26,88 ± 9,18 a	32,93 ± 9,85 a	32,92 ± 2,91 a	35,4 ± 5,76 a	36,15 ± 6,11 a	34,13 ± 3,24 a	51,27 ± 24,19 c	34,62 ± 4,04 c	0,04009
Ancho Estoma (µ)	Norte	13,16 ± 2,01 a	11,87 ± 2,06 a	13,93 ± 2,23 a	12,12 ± 0,62 a	13,46 ± 2,07 b	16,66 ± 2,94 b	15,31 ± 3,14 b	13,78 ± 2,8 b	F0,95;3;64
	Sur	12,35 ± 3,97 a	13,59 ± 4,04 a	13,07 ± 2,48 a	11,12 ± 1,97 a	15,28 ± 1,41 b	13,98 ± 1,14 b	17,31 ± 4,07 b	13,36 ± 2,13 b	0,004194
Ancho banda estomática (Mm.)	Norte	0,63 ± 0,09 a	0,71 ± 0,23 a	0,73 ± 0,09 a	0,72 ± 0,09 a	0,78 ± 0,17 a	0,68 ± 0,12 a	0,69 ± 0,11 a	0,8 ± 0,09 a	F0,95;-;64
	Sur	0,73 ± 0,07 a	0,78 ± 0,09 a	0,58 ± 0,07 a	0,61 ± 0,06 a	0,86 ± 0,29 a	0,65 ± 0,26 a	0,79 ± 0,1 a	0,73 ± 0,19 a	-
Densidad estomática (en 1 mm2)	Norte	97,6 ± 8,28 a	66,4 ± 9,67 a	89,8 ± 11,23 a	75,4 ± 3,12 a	110 ± 8,63 b	108 ± 9,99 b	92,4 ± 10,94 a	89,2 ± 11,06 a	F0,95;3;64
	Sur	86 ± 5,43 a	75,2 ± 7,78 a	87,6 ± 14,61 a	77,8 ± 8,17 a	101,8 ± 14,59 b	97,4 ± 8,1 b	78,8 ± 5,62 a	85,6 ± 8,47 a	0,003790

Variable	Factores	Localidad								Significancia estadística
		Antiquina		Voipir		Lanco		Frutillar		
	Posición en el árbol	Posición en el bosque		Posición en el bosque		Posición en el bosque		Posición en el bosque		Fp;°Lx;°Le
		Borde	Interior	Borde	Interior	Borde	Interior	Borde	Interior	P < 0,05
Diámetro mayor Célula Oclusiva Izquierda (µ)	Norte	17,77 ± 3,5 a	17,51 ± 3,09 a	21,38 ± 3,31 a	22,1 ± 2,9 a	18,59 ± 1,22 a	18,61 ± 0,91 a	18,15 ± 2,24 a	16,36 ± 2,29 a	F0,95;-;64
	Sur	20,29 ± 7,16 a	15,56 ± 4,21 a	20,08 ± 3,65 a	18,04 ± 2,73 a	20 ± 2,43 a	18,71 ± 3,67 a	19,07 ± 2,46 a	18,78 ± 4,92 a	-
Diámetro menor Célula Oclusiva Izquierda (µ)	Norte	7,11 ± 1,07 a	9,27 ± 2,79 a	8,15 ± 1,22 a	11,23 ± 1,91 a	10,09 ± 1,6 a	9,81 ± 2,45 a	9,36 ± 2,5 a	9,33 ± 0,78 a	F0,95;-;64
	Sur	10,31 ± 1,66 a	8,34 ± 1,56 a	9,29 ± 1,08 a	10,04 ± 1,63 a	9,05 ± 1,19 a	9,64 ± 1,55 a	8,57 ± 2,59 a	8,98 ± 1,0 a	-
Diámetro mayor Célula Oclusiva Derecha (µ)	Norte	16,41 ± 1,42 a	17,09 ± 4,8 a	17,59 ± 2 a	22 ± 4,57 a	17,78 ± 1,99 a	17,55 ± 1,59 a	15,67 ± 1,75 a	16,8 ± 2,74 a	F0,95;-;64
	Sur	17,82 ± 2,6 a	16,84 ± 5,01 a	19,5 ± 1,12 a	15,78 ± 2,09 a	18,6 ± 1,82 a	19,46 ± 5,96 a	19,56 ± 2,02 a	19,58 ± 7,28 a	-
Diámetro menor Célula Oclusiva Derecha (µ)	Norte	9,31 ± 1,55 a	9,91 ± 2,69 a	8,31 ± 1,69 a	9,93 ± 1,57 a	9,59 ± 1,82 a	8,71 ± 1,55 a	9,56 ± 2,59 a	8,55 ± 1,24 a	F0,95;-;64
	Sur	10,13 ± 2,51 a	8,72 ± 1,57 a	9,75 ± 2,11 a	8,21 ± 1,43 a	8,47 ± 1,77 a	9,79 ± 2,91 a	9,22 ± 1,9 a	9,52 ± 1,08 a	-
Diámetro mayor Célula Subsidiaria Izquierda (µ)	Norte	22,8 ± 2,88 a	22,34 ± 3,21 a	21,06 ± 3,62 a	23,13 ± 2,35 a	24,57 ± 2,9 a	26,14 ± 2,48 a	20,84 ± 3,18 a	25,45 ± 2,96 a	F0,95;-;64
	Sur	21,49 ± 2,72 a	20,67 ± 3,31 a	23,13 ± 2,38 a	24,28 ± 3,25 a	23,39 ± 1,53 a	22,97 ± 7,25 a	25,41 ± 6,22 a	24,2 ± 4,68 a	
Diámetro menor Célula Subsidiaria Izquierda (µ)	Norte	10,66 ± 1,75 a	10,9 ± 3,26 a	10,31 ± 1,97 a	11,21 ± 1,26 a	10,7 ± 3,21 a	10,28 ± 2,06 a	9,77 ± 1,74 a	11,23 ± 3,38 a	F0,95;-;64
	Sur	9,2 ± 2,04 a	9,66 ± 2,46 a	10,42 ± 2,52 a	12,9 ± 0,83 a	9,49 ± 1,68 a	10,52 ± 2,83 a	9,18 ± 1,88 a	10,04 ± 0,99 a	-
Diámetro mayor Célula Subsidiaria Derecha (µ)	Norte	21,71 ± 3,28 a	24,69 ± 5,78 a	21,53 ± 4,7 a	24,63 ± 1,74 a	22,76 ± 7,33 a	24,78 ± 0,38 a	19,78 ± 3,67 a	25,64 ± 3,13 a	F0,95;-;64
	Sur	22,91 ± 5,77 a	22,45 ± 7,17 a	24,5 ± 3,22 a	24,96 ± 0,95 a	21,28 ± 3,13 a	23,96 ± 1,57 a	25,27 ± 4,95 a	23,81 ± 4,5 a	-
Diámetro menor Célula Subsidiaria Derecha (µ)	Norte	8,24 ± 1,88 a	12,03 ± 2,8 b	9,14 ± 2,43 a	12,42 ± 2,06 b	12,08 ± 5,19 b	12 ± 4,08 a	8,67 ± 2,92 b	9,92 ± 1,81 a	F0,95;1;64
	Sur	10,28 ± 2,97 a	11,16 ± 4,17 a	10,5 ± 1,12 a	13,42 ± 1,93 a	10,3 ± 3,44 a	11,21 ± 2,83 a	9,92 ± 2,87 a	9,73 ± 2,63 a	0,020112
Ancho hoja transversal (Mm.)	Norte	2,37 ± 0,35 a	2,67 ± 0,15 a	2,24 ± 0,15 ab	2,34 ± 0,51 ab	2,0 ± 0,41 bc	1,95 ± 0,61 bc	1,77 ± 0,55 c	2,16 ± 0,36 c	F0,95;3;63
	Sur	2,41 ± 0,37 a	2,52 ± 0,37 a	1,95 ± 0,52 ab	2,39 ± 0,19 ab	1,97 ± 0,23 bc	1,88 ± 0,4 bc	1,91 ± 0,54 c	1,57 ± 0,63 c	0,000044
Espesor hoja Transversal (Mm.)	Norte	0,39 ± 0,02 a	0,45 ± 0,14 a	0,42 ± 0,05 a	0,4 ± 0,05 a	0,48 ± 0,08 a	0,32 ± 0,18 a	0,43 ± 0,09 ab	0,45 ± 0,13 ab	F0,95;3;61
	Sur	0,42 ± 0,07 a	0,41 ± 0,02 a	0,39 ± 0,07 a	0,36 ± 0,06 a	0,49 ± 0,07 b	0,47 ± 0,08 b	0,42 ± 0,07 a	0,3 ± 0,06 a	0,035389

Variable	Factores	Localidad								Significancia estadística
		Antiquina		Voipir		Lanco		Frutillar		
	Posición en el árbol	Posición en el bosque		Posición en el bosque		Posición en el bosque		Posición en el bosque		Fp;°Lx;°Le
		Borde	Interior	Borde	Interior	Borde	Interior	Borde	Interior	P < 0,05
Diámetro canal izquierdo (µ)	Norte	62,54 ± 20,56 ab	53,8 ± 20,59 a	67,72 ± 25,96 ab	37,76 ± 1,48 b	45,1 ± 7,43 b	51,6 ± 14,37 a	50,3 ± 6,2 b	42,62 ± 9,67 a	F0,95;1;32
	Sur	61,72 ± 16,71 a	48,45 ± 12,14 a	60,26 ± 18,98 a	44,15 ± 13,83 a	55,62 ± 6,78 a	50,32 ± 5,31 a	41,63 ± 11,43 a	47,73 a	-
Diámetro canal central (µ)	Norte	80,34 ± 17,82 a	60,94 ± 14,94 a	55,7 ± 13,92 a	61,21 ± 8,87 a	74,62 ± 10,04 b	71,22 ± 14,88 b	68,59 ± 12,26 a	72,15 ± 31,91 a	F0,95;3;58
	Sur	67,7 ± 18,72 a	63,2 ± 11,84 a	59,35 ± 14,23 a	66,3 ± 4,82 a	82,69 ± 22,59 b	99,57 ± 23,75 b	78,85 ± 21,69 a	61,11 ± 28,56 a	-
Diámetro canal derecho (µ)	Norte	72,71 ± 9,95 a	49,21 ± 12,3 a	60,44 ± 2,4 a	55,96 ± 20,07 a	40,44 ± 4,5 a	57,94 ± 9,36 a	45,46 ± 14,86 a	45,3 ± 23,67 a	F0,95;-;29
	Sur	49,18 ± 18,12 a	33,54 ± 4,48 a	39,24 a	48,45 ± 19,67 a	54,66 ± 12,55 a	60,59 ± 6,6 a	37,88 ± 11,21 a	63,64 a	-
Estomas abaxiales por hoja transversal	Norte	6 ± 2,16 a	3 ± 2,00 a	4 ± 1,71 a	3 ± 1,89 a	5 ± 1,89 a	4 ± 1,67 a	4 ± 1,41 a	4 ± 1,71 a	F0,95;-;54
	Sur	4 ± 3,24 a	7 ± 1,64 a	6 ± 3,30 a	6 ± 2,30 a	5 ± 2,16 a	5 ± 0,82 a	5 ± 1,22 a	4 ± 1,71 a	-

En el cuadro 3 las celdas en color rojo indican las variables que presentaron diferencias significativas con respecto a la probabilidad de la prueba F, con una confiabilidad del 95%, las letras a, b y c dan cuenta de las similitudes y diferencias entre los factores.

En algunas variables medidas como el ancho y espesor de hoja en el corte transversal, diámetro de los canales resiníferos y estomas por hoja en la epidermis abaxial del corte transversal, no se logró el número necesario de mediciones para la correcta interpretación del análisis de varianza del modelo.

A continuación se analizan detalladamente las variables que completaron los requerimientos mínimos parar el análisis de varianza del diseño experimental de trifactorial. A las variables que presentaron diferencias significativas entre sus factores se les realizó un test de comparaciones múltiples, test Fisher, en el apéndice se encuentran los cuadros con los resultados del análisis de varianza y de Fisher por variable.

4.1 Descripción de los estomas

Los estomas presentes en Secuoya son grandes en tamaño como menciona Libby (1996), con células de guarda en forma de riñón y se diferencian claramente por la tinción más oscura que adquieren las células subsidiarias que se encuentran debajo de las células epidermales como se observa en la figura 11, según Torres (2002) las coníferas presentan estomas hundidos como adaptación a la sequía. Estos se encuentran en mayor número en el envés de las hojas.

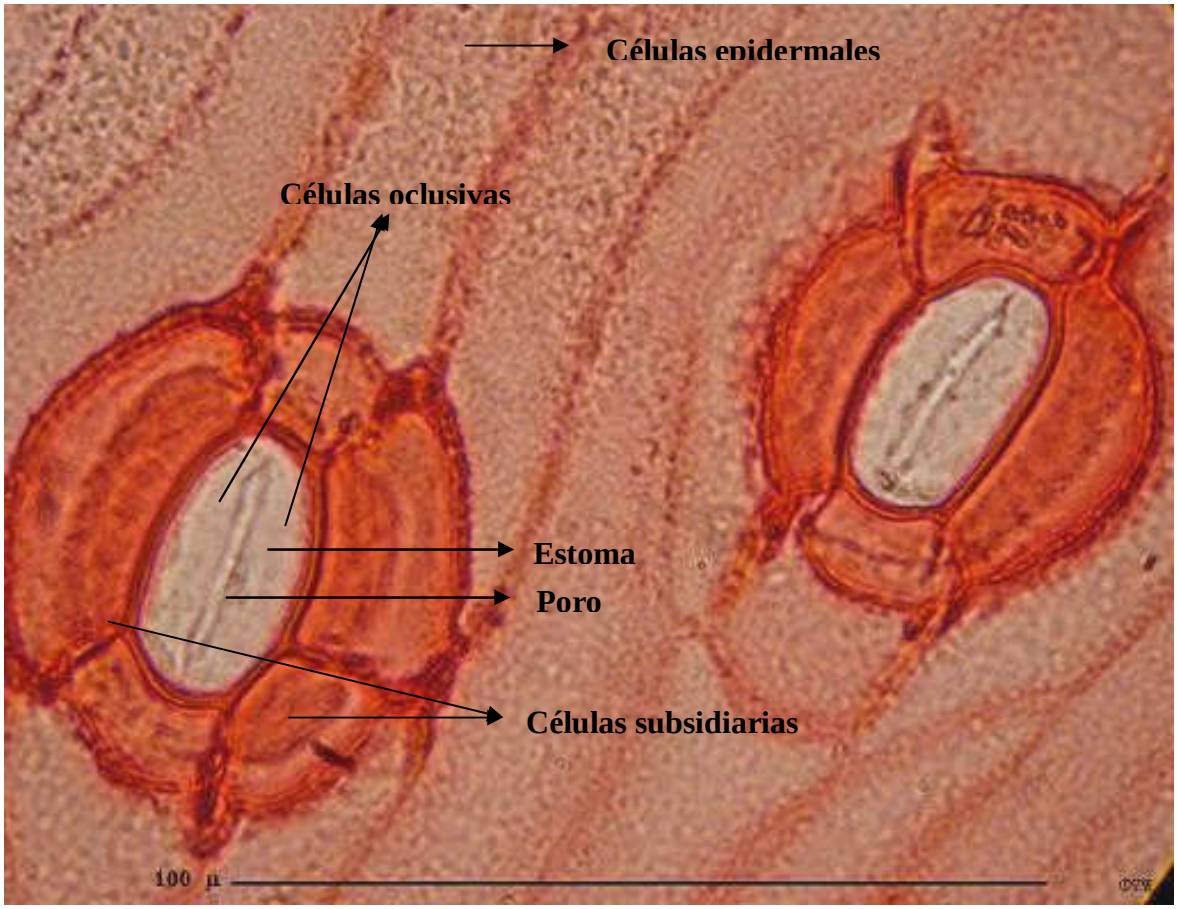


Figura 11. Estoma de *Sequoia sempervirens*.

Al presentar estomas grandes no controla bien la pérdida de agua, razón por la cual Secuoya debe establecerse en lugares con abundante agua y neblina como menciona Libby (1996), estos se demoran más en abrir y cerrar el estoma influyendo en el crecimiento de la especie.

4.1.1 Largo del estoma

El largo promedio de los estomas de Secuoya es de 34,5 micrones. Las mediciones se encuentran en el cuadro 4 del apéndice.

Para la localidad de Antiquina el promedio fue de 31,4 micrones. El máximo valor se produjo al interior del rodal exposición sur con 46,2 micrones, el mínimo en el borde del rodal exposición sur con 12, 5 micrones.

Para Voipir el promedio fue de 34,8 micrones. El máximo se produjo en el interior del rodal exposición norte con 41,8 micrones, el mínimo en el interior del rodal exposición sur con 25,6 micrones.

Para Lanco el promedio fue de 33,8 micrones. El máximo se produjo en el borde del rodal exposición sur con 44, 6 micrones, el mínimo en el borde del rodal exposición norte con 27,5 micrones.

Para Frutillar el promedio fue de 37,7 micrones. El máximo se produjo en el borde del rodal exposición sur con 80 micrones, el mínimo en el borde del rodal exposición norte con 27 micrones.

El largo promedio entre las localidades oscila de 28 a 51 micrones (Figura 12).

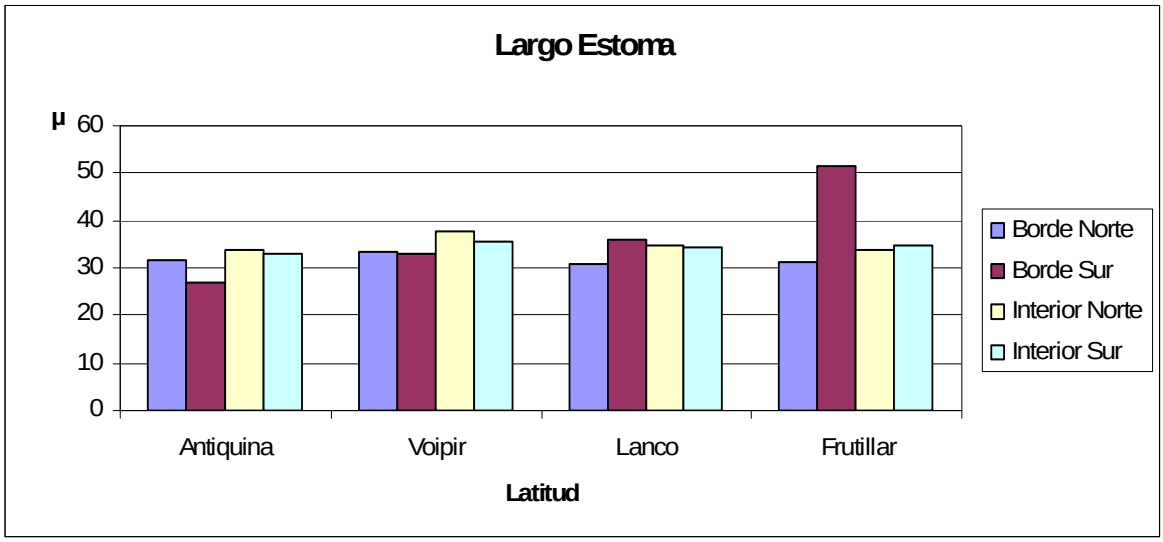


Figura 12. Largo promedio del estoma por factor.

La localidad y exposición de la rama en el árbol afecta el largo del estoma según el análisis de varianza realizado (ver apéndice, cuadro 5). En la exposición norte de las ramas no se observa diferencia, en cambio en la exposición sur localidad de Frutillar se presentan las mayores diferencias, esto se observa en la figura 13, donde las diferencias significativas, con un intervalo de confianza del 95%, no se sobreponen.

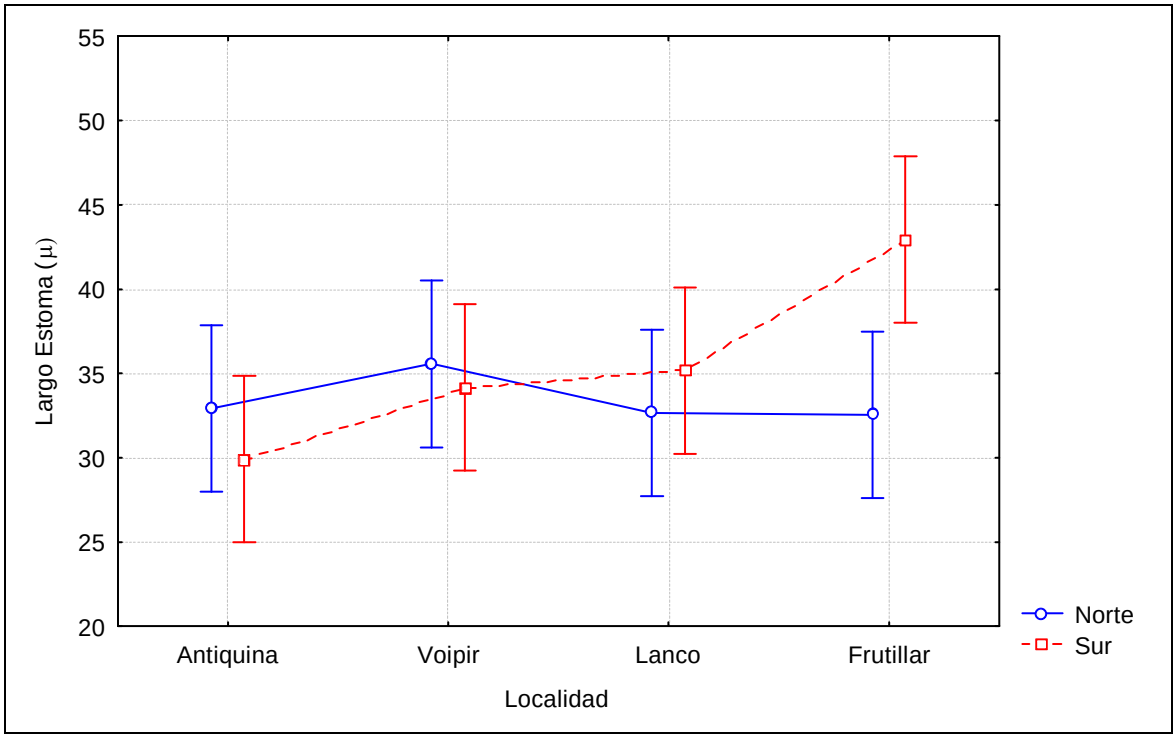


Figura 13. Diferencia estadísticamente comprobada para el largo del estoma, por localidad y exposición en el árbol.

Las mayores diferencias se produjeron entre las localidades de Antiquina y Frutillar, en la exposición sur. Esto indica que la latitud afecta el desarrollo del largo de los estomas para esta especie, debido a que mientras más al sur se establezcan las plantaciones mejores son las condiciones climáticas, encontrando mayores precipitaciones y bajas temperaturas que evitan la pérdida de agua, ya que esta especie no controla bien la apertura y cierre estomático como lo menciona Ahuja (1996). Los datos fueron validados por el test de Fisher (ver apéndice, cuadro 6), donde se realizaron comparaciones múltiples comprobando que la latitud y la exposición si afecta el largo del estoma.

4.1.2 Ancho del estoma

El ancho promedio de los estomas de Secuoya es de 14 micrones. Las mediciones se encuentran en el cuadro 7 del apéndice.

Para la localidad de Antiquina el promedio fue de 12,7 micrones. El máximo valor se produjo al interior del rodal exposición sur con 20,4 micrones, el mínimo en el borde del rodal exposición sur con 6,51 micrones

Para Voipir el promedio fue de 12,5 micrones. El máximo se produjo en el borde del rodal exposición norte con 16,9 micrones, el mínimo en el interior del rodal exposición sur con 8,2 micrones.

Para Lanco el promedio fue de 14,8 micrones. El máximo se produjo en el interior del rodal exposición norte con 21,7 micrones, el mínimo en el borde del rodal exposición norte con 10 micrones.

Para Frutillar el promedio fue de 15 micrones. El máximo se produjo en el borde del rodal exposición sur con 23,4 micrones, el mínimo en el interior del rodal exposición sur con 10,7 micrones.

El ancho promedio entre las localidades oscila de 11 a 17 micrones (Figura 14).

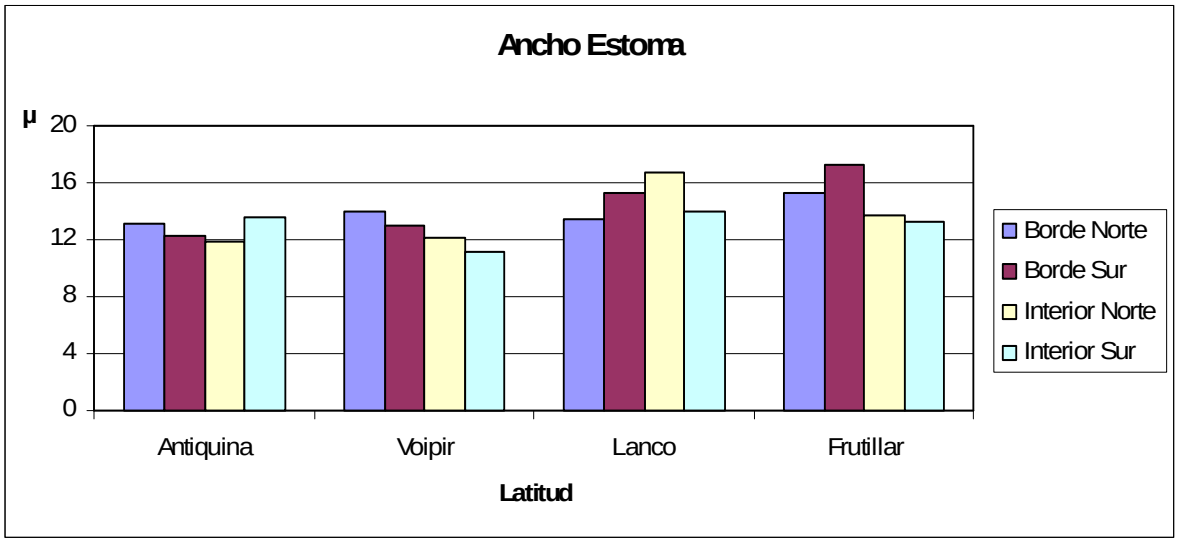


Figura 14. Ancho promedio del estoma por factor.

Para el ancho del estoma sólo un factor se diferencia de los demás, la localidad, afirmando que a medida que cambia la latitud los estomas cambian de tamaño. Esto se ve más claramente en la figura 15 donde el aumento de tamaño ocurre a medida que se avanza en latitud, en donde los intervalos de confianza no se sobreponen en totalidad, demostrando que hay diferencias significativas para este factor en particular.

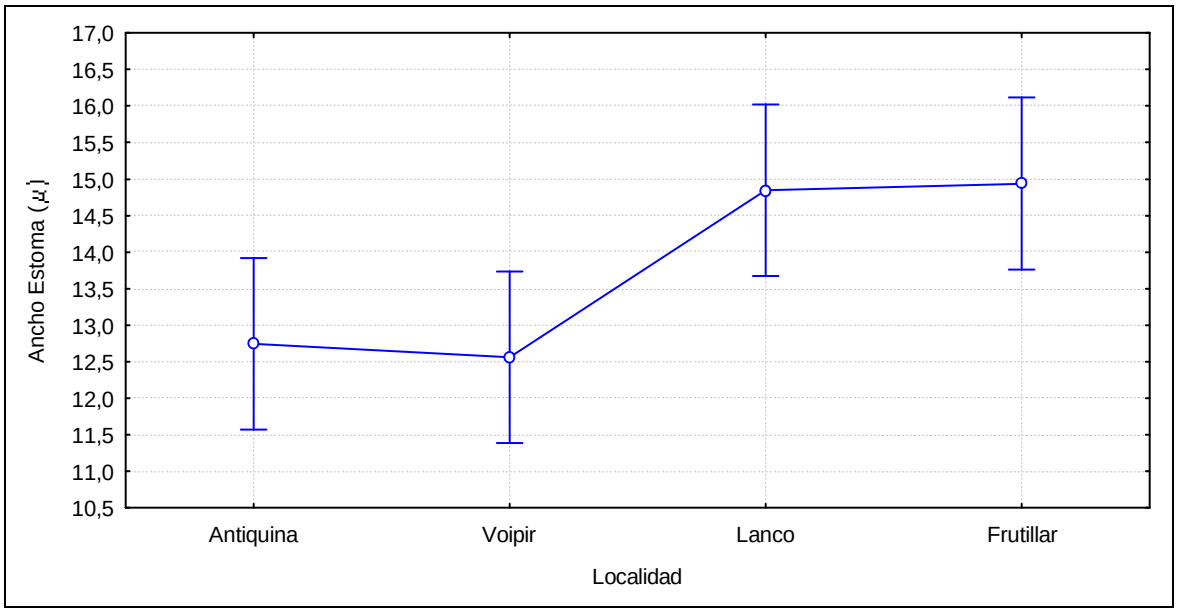


Figura 15. Diferencia estadísticamente comprobada para el ancho del estoma, según localidad.

En este caso tenemos dos localidades que se diferencian claramente de las otras y esto se debe a su ubicación, en latitud. La localidad de Antiquina esta en la costa y no hay diferencia estadística con el predio Voipir que se encuentra ubicado al interior pero cerca del lago Villarrica, algo similar ocurre con los predios Lanco y Frutillar ambos se encuentran al interior del valle central pero Frutillar cerca del lago, en estos no se ven diferencias estadísticas significativas. En los cuadros 8 y 9 del apéndice, se demuestra que las localidades Lanco y Frutillar son las que más difieren de las otras dos en latitud.

Los resultados encontrados indican que Frutillar es el predio que presentó los estomas más grandes, en largo y ancho, siendo esta la localidad ubicada más al sur lo que concuerda con la información presentada en la bibliografía.

Por lo tanto el tamaño promedio del estoma es de 34 µ de largo y 14 µ de ancho.

4.2 Ancho de banda estomática

Los estomas se encuentran en dos bandas estomáticas claramente definidas, en la cara abaxial de la hoja como menciona Earle (2002), en donde los estomas se distribuyen en forma aleatoria tratando de mantener varias corridas de hileras a lo largo de la hoja, se midió el ancho de banda en milímetros, promediándose las distancias de las dos bandas. Las células epidermales son relativamente rectangulares y están ordenadas en sentido longitudinal a lo largo de la hoja y son mas finas en los bordes al igual que en la nervadura central, esto debido a que sus células son más pequeñas y de pared celular más gruesa, lo que le da a la hoja mayor dureza y resistencia, esto se observa en la figura 16.

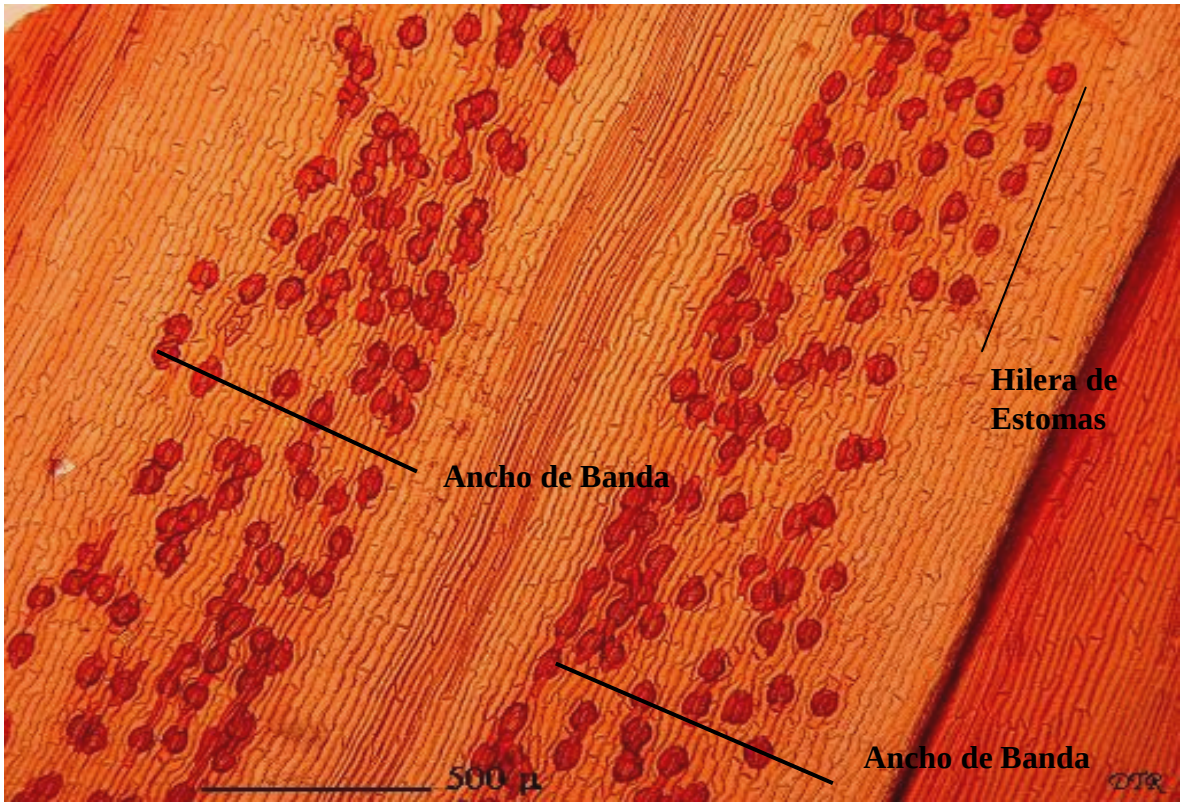


Figura 16. Bandas estomáticas de *Sequoia sempervirens*.

El mayor ancho de banda promedio por localidad se produjo en Frutillar con 0,75 mm, en donde los datos se presentaron de manera homogénea según los factores analizados, en Lanco el promedio fue de 0,74 mm, encontrándose pequeñas diferencias entre el borde del rodal y el interior de éste, como se observa en la figura 17, en el borde el ancho de banda es mayor que en el interior, estos datos no tuvieron diferencias significativas.

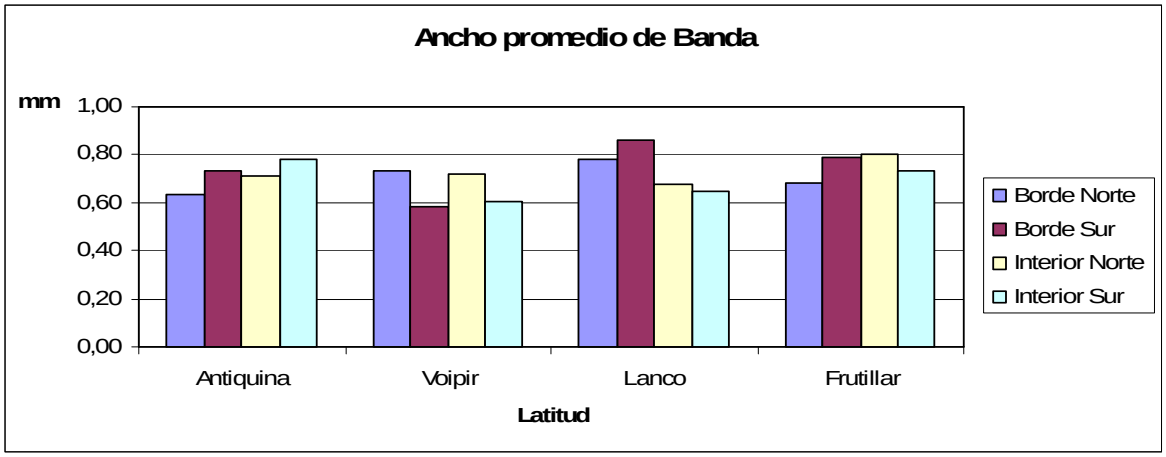


Figura 17. Ancho de banda promedio por factor en mm.

El ancho mayor se midió en Lanco, al borde del rodal y en exposición sur con 1,34 mm. El mínimo se produjo en Lanco, al interior del rodal y en exposición sur con 0,3 mm, (ver apéndice, cuadro 10).

Según la figura 18 no se observa variaciones estadísticas significativas entre los tratamientos, los valores del ancho de banda oscilan entre los 0,6 y 0,8 milímetros, la muestra es homogénea en todos sus factores analizados, por lo tanto el ancho de banda no se ve afectado por el lugar de emplazamiento, posición en el rodal, ni exposición en el individuo.

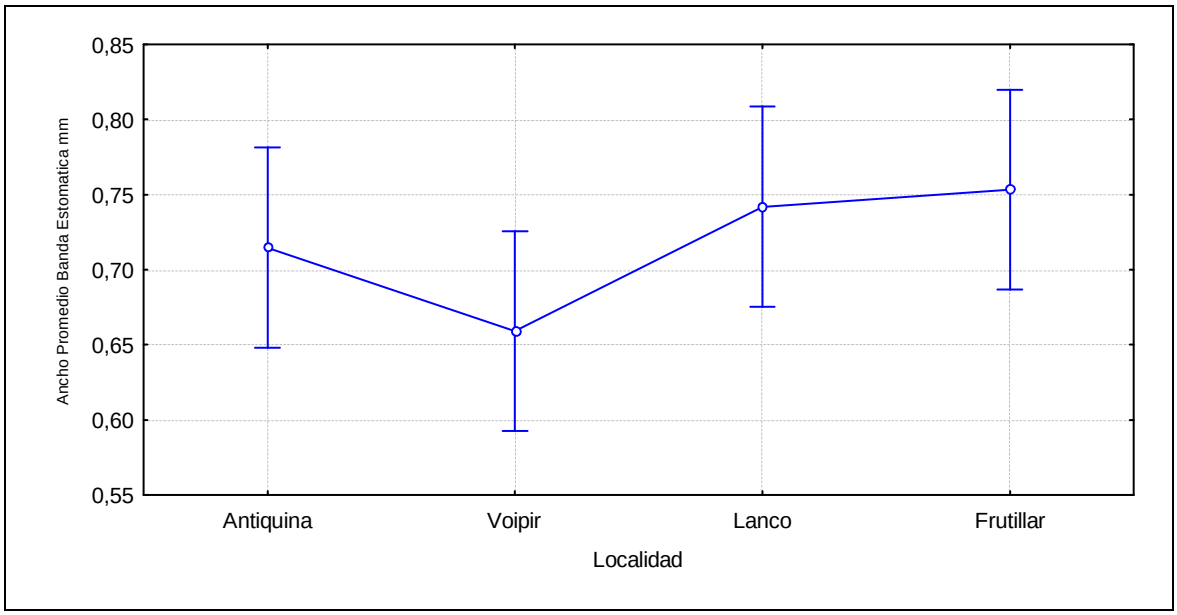


Figura 128. Intervalos de confianza sin diferencia para el ancho de banda, por localidad.

En algunas hojas de las cuatro localidades, se pueden observar una a tres hileras de estomas en la superficie adaxial, las cuales desaparecen a medida que se acercan al centro de la hoja en forma longitudinal (Figura 19).

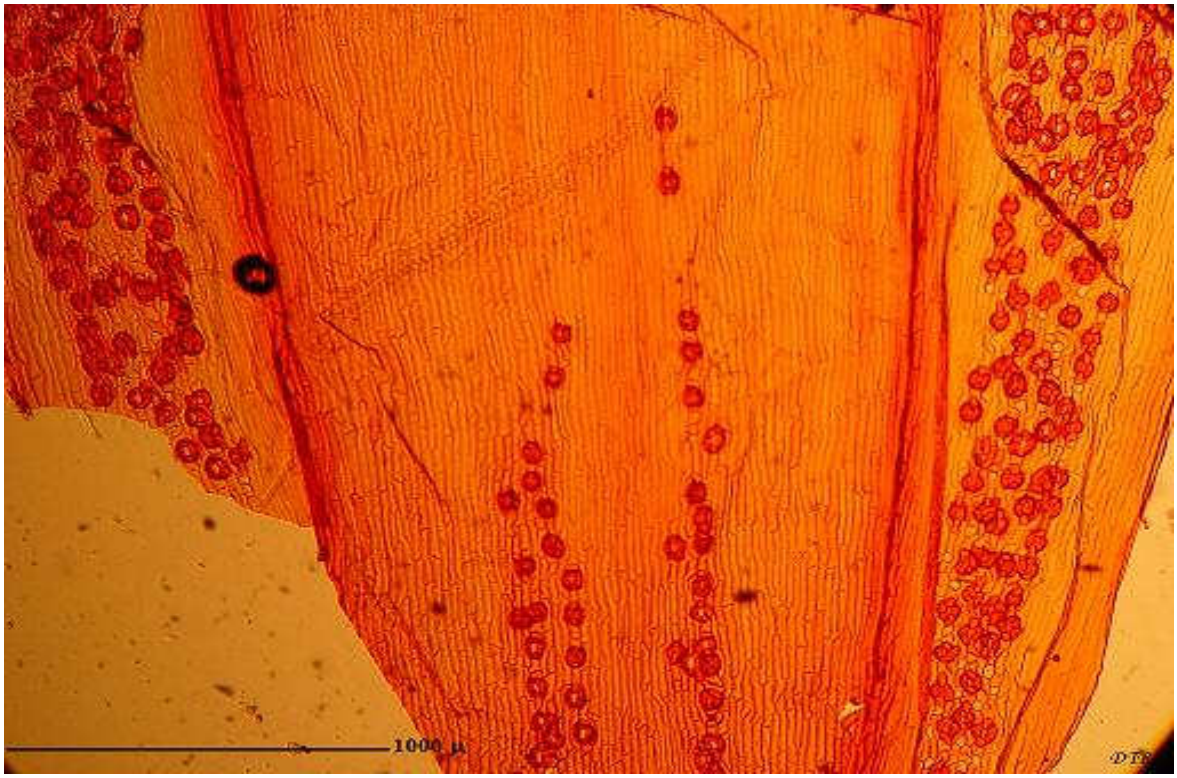


Figura 19. Estomas en la superficie adaxial de la hoja.

4.3 Densidad estomática

A pesar de contar con dos bandas estomáticas claramente definidas, Secuoya en promedio no presenta alta densidad estomática, debido al gran tamaño de sus estomas, los cuales abarcan una amplia superficie en la epidermis, reduciendo la densidad por mm^2, como se observa en la figura 20.

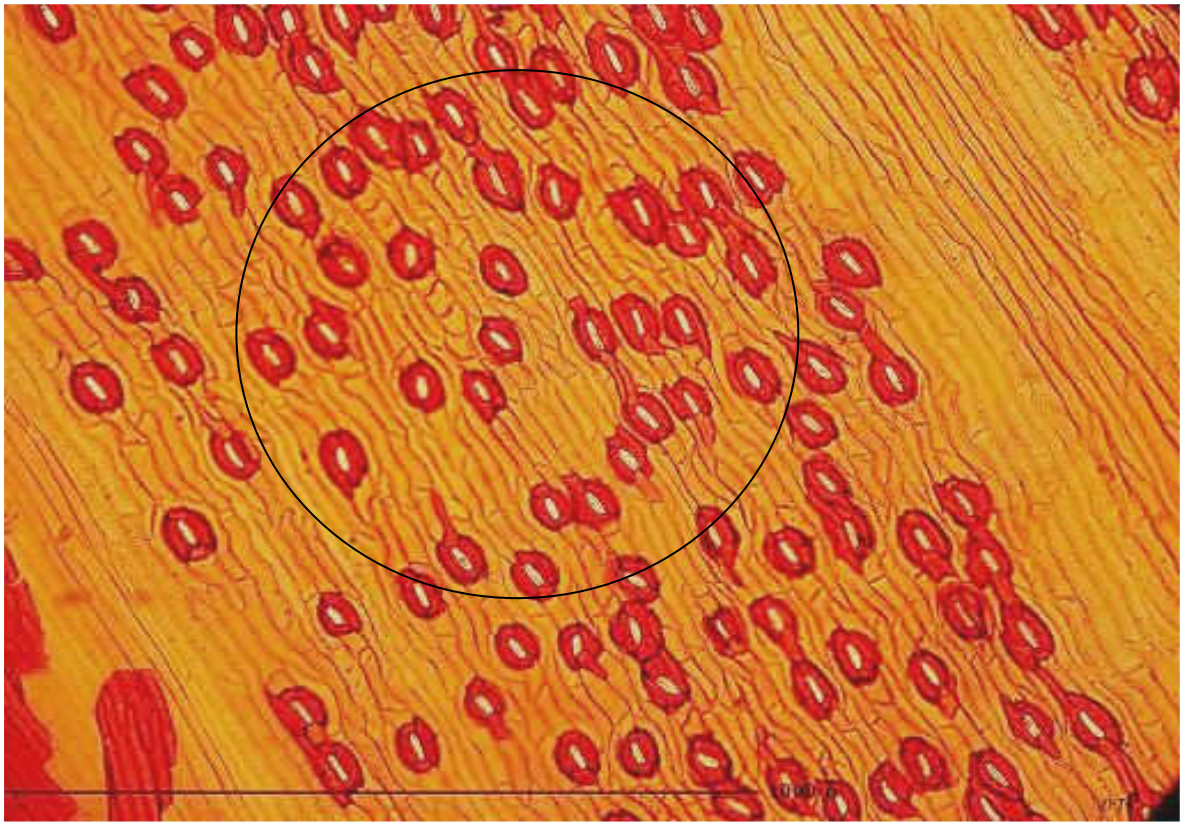


Figura 20. Estomas de *Sequoia sempervirens*.

En promedio la densidad estomática de Secuoya es de 88 estomas por mm^2. Según Meidner y Mansfield (1968), la densidad estomática varía tanto entre diferentes especies como dentro de la misma, para este caso la densidad se mantuvo entre los 70 y 104 estomas por mm^2. Teniendo en cuenta que los estomas de Secuoya son grandes en comparación a otras coníferas, la densidad es menor a la esperada de 120 estomas por mm^2, como es el caso de *Pinus silvestris* que presenta la misma disposición de estomas hundidos.

La mayor densidad se produjo en la localidad de Lanco, en promedio 104 estomas por mm^2 (Figura 21), encontrándose un valor máximo de 147 estomas por mm^2 en el interior del rodal y exposición norte, los factores dentro de la localidad se mantienen casi constantes, situación parecida a Frutillar, siendo estas localidades las más latitudinales. El mínimo fue de 35 estomas por mm^2 en Antiquina, al interior del rodal y en exposición norte.

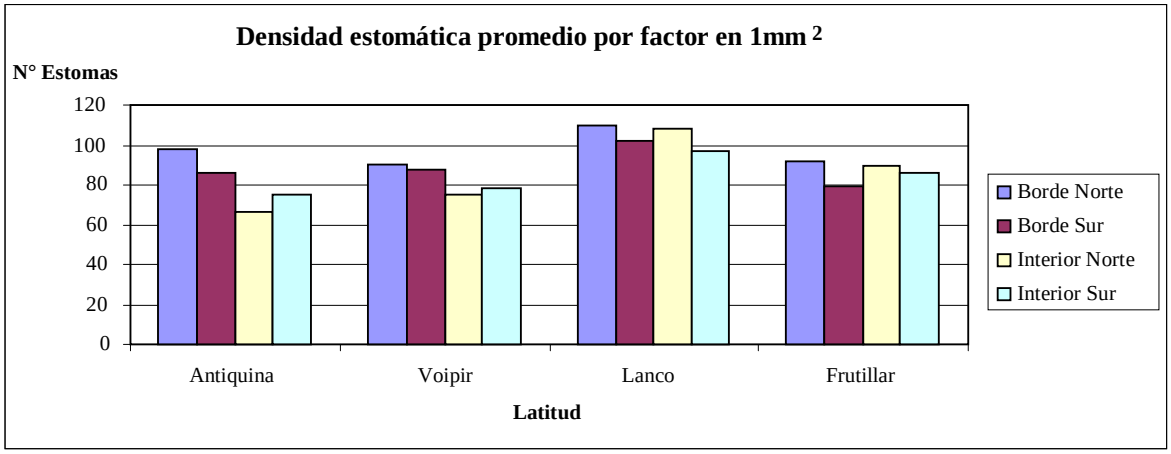


Figura 21. Densidad estomática promedio por factor en 1 mm^2.

Según el análisis estadístico, la densidad se ve afectada por la distribución latitudinal de las plantaciones, (ver apéndice, cuadro 13). En la figura 22 se observa que Lanco presenta diferencia estadística significativa con respecto a las demás localidades, lo que podría indicar que los predios ubicados en el valle central y sin influencia tanto por mar o lagos, necesitan de una mayor concentración de estomas, para sobrellevar mejor la ausencia de humedad ambiental.

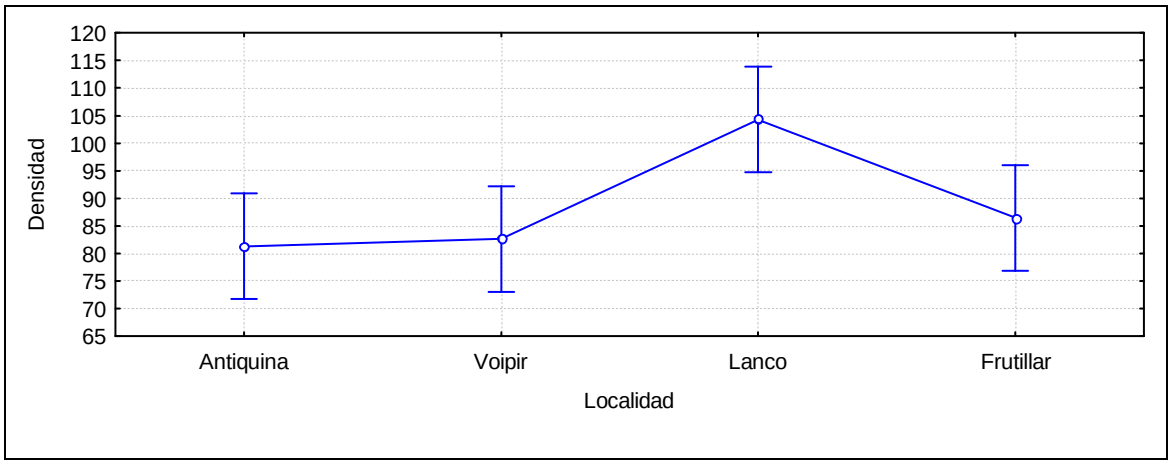


Figura 22. Diferencia estadísticamente comprobada, por localidad.

En la figura 23 se observa el gran tamaño y homogeneidad del estoma en Secuoya, se aprecia claramente que el estoma se encuentra bajo las células epidermales.

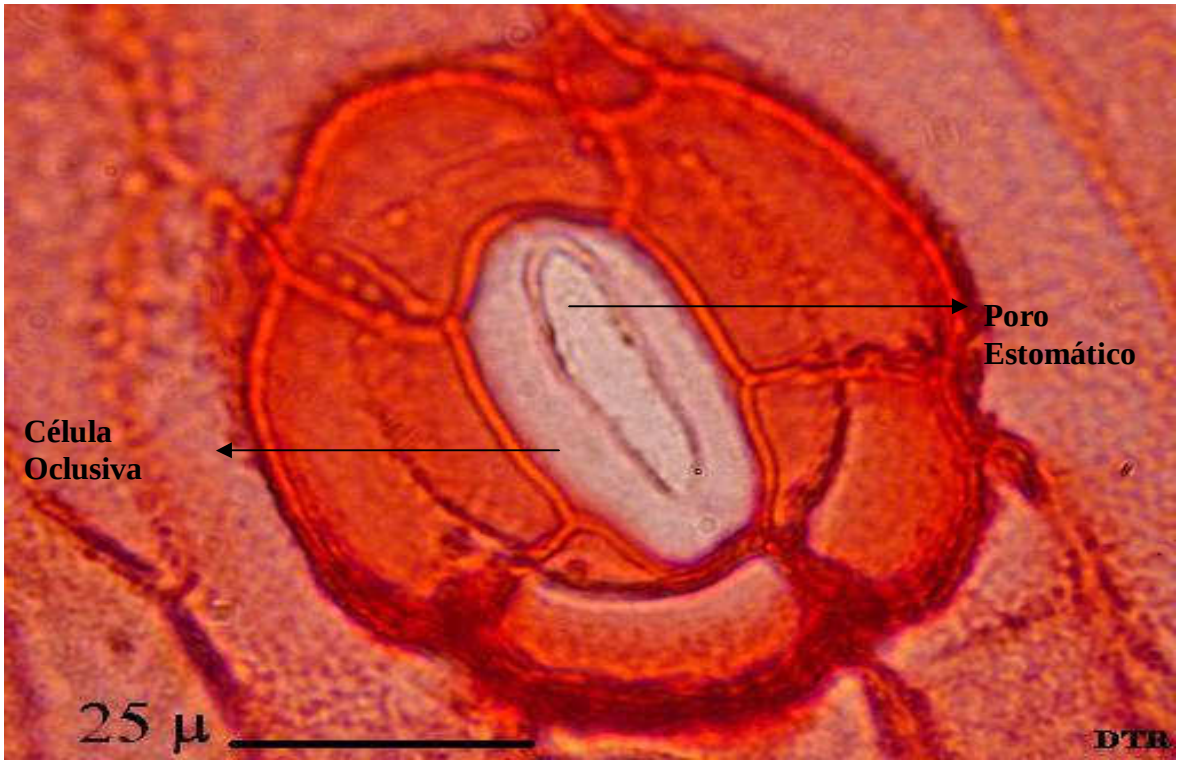


Figura 23. Estoma de *Sequoia sempervirens*, vista desde arriba de la hoja.

4.4 Determinación del tamaño del estoma en un corte transversal

El grosor de la cutícula no se pudo medir debido a que no se obtuvo el número mínimo necesario de muestras para el análisis, dada la dureza de las hojas al realizar los cortes en el micrótomo, la cutícula se perdía al paso de la cuchilla.

En la mayoría de las hojas analizadas se observó que, en el corte transversal, cuando hay más de un estoma por superficie éstos sólo se distancian el uno del otro por tres células epidermales, lo que dificulta el corte con el micrótomo, ya que provoca una menor resistencia, haciendo que las células se dispersen y se pierda la muestra.

En las células oclusivas se midió la célula izquierda y derecha, en cada una el diámetro mayor y menor como se ve en la figura 24, resultando cuatro mediciones.

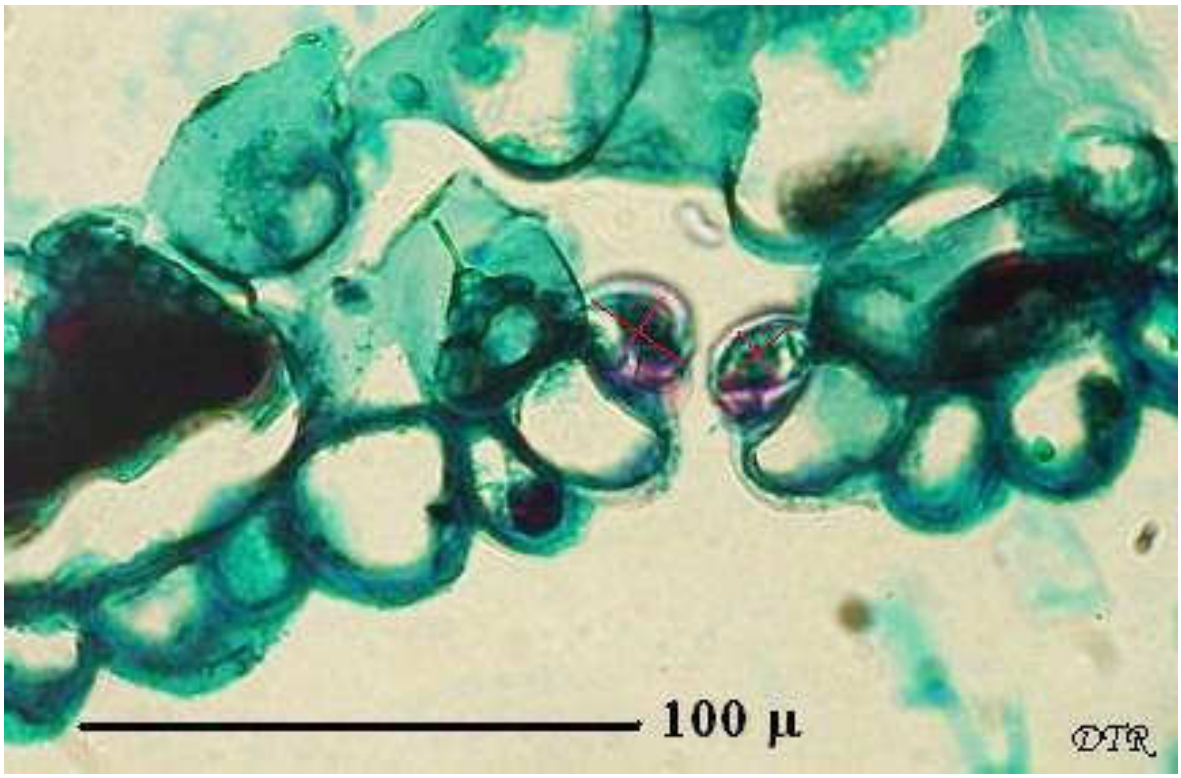


Figura 24. Corte transversal hoja *Sequoia sempervirens*, en la cual se indica las mediciones realizadas a la célula oclusiva.

4.4.1 Determinación del diámetro mayor de la célula oclusiva izquierda

El promedio del diámetro mayor de la célula oclusiva izquierda fue de 18,8 micrones. Voipir es la localidad con el mayor promedio 20,4 micrones (Figura 25), el máximo valor se produjo en Antiquina, al borde del rodal y en exposición sur con 31,6 micrones, el mínimo en Frutillar, al interior del rodal y en exposición sur con 11,8 micrones.

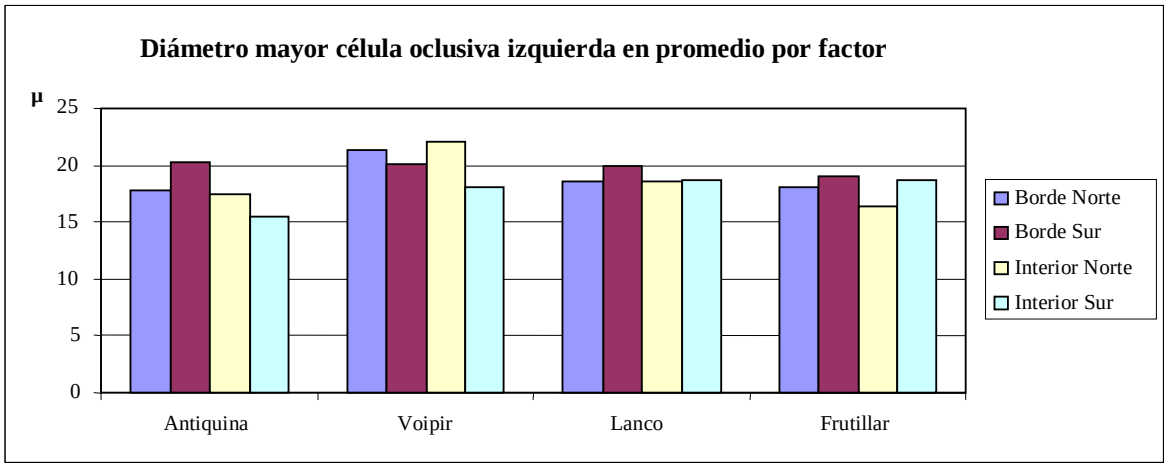


Figura 25. Diámetro mayor de la célula oclusiva izquierda, en promedio por factor.

Según la figura 26, los tratamientos no presentan diferencias estadísticas significativas, lo que indica que el diámetro mayor de la célula oclusiva izquierda no varía según latitud, posición en el rodal, ni en exposición (ver apéndice, cuadro 16)

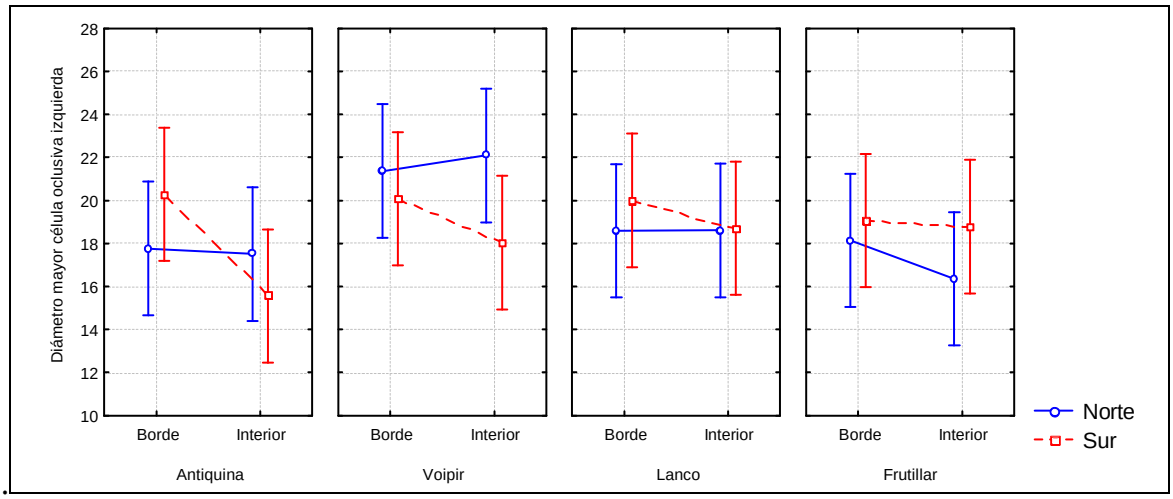


Figura 26. Intervalos de confianza sin diferencia significativa, por factor.

4.4.2 Determinación del diámetro menor de la célula oclusiva izquierda

El promedio del diámetro menor de la célula oclusiva izquierda fue de 9,2 micrones. Voipir es la localidad con el mayor promedio 9,67 micrones (Figura 27). El máximo valor se produjo en Lanco, al interior del rodal y en exposición norte con 13,44 micrones, el mínimo en Antiquina, al borde del rodal y en exposición norte con 6,17 micrones.

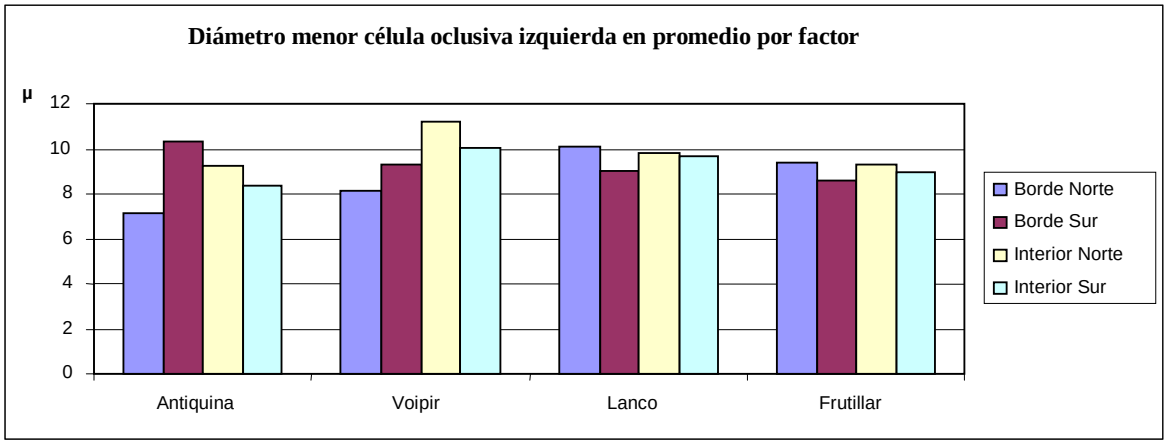


Figura 27. Diámetro menor célula oclusiva izquierda en promedio por factor.

Según la figura 28, los tratamientos no presentan diferencias estadísticas significativas, lo cual indica que el diámetro menor de la célula oclusiva izquierda no varía en latitud, posición y exposición (ver apéndice, cuadro 18).

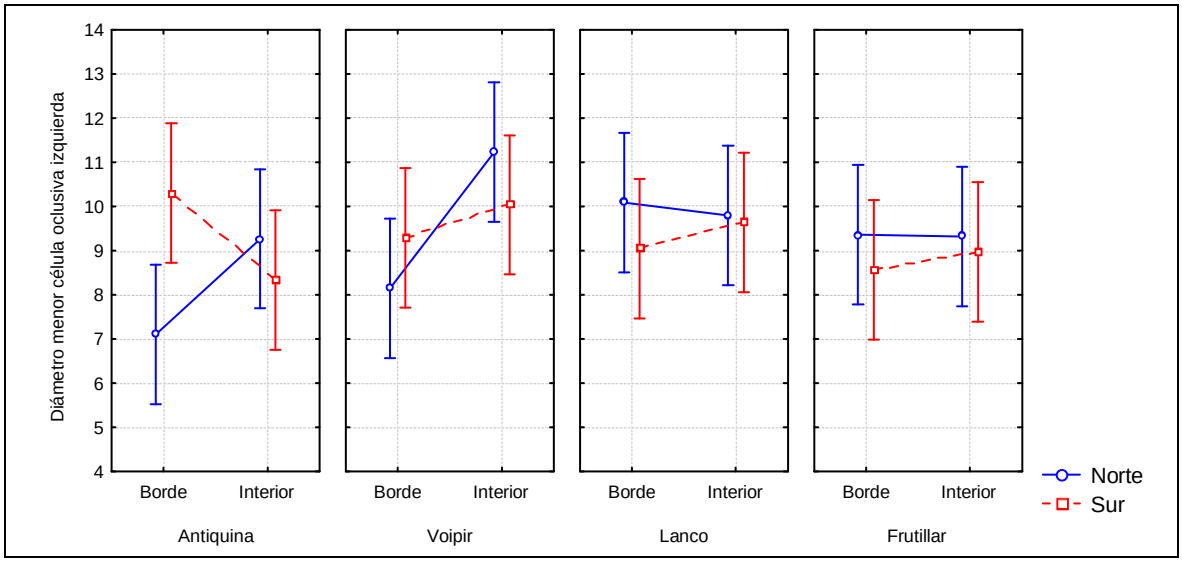


Figura 28. Intervalos de confianza sin diferencias significativas, por factor.

4.4.3 Determinación del diámetro mayor de la célula oclusiva derecha

El promedio del diámetro mayor de la célula oclusiva derecha fue de 18 micrones. Voipir es la localidad que presenta el mayor promedio 18,7 micrones (Figura 29). El máximo valor se produjo en Frutillar, al interior del rodal y en exposición sur con 32,2 micrones, el mínimo en Antiquina, al interior del rodal y en exposición norte con 11 micrones.

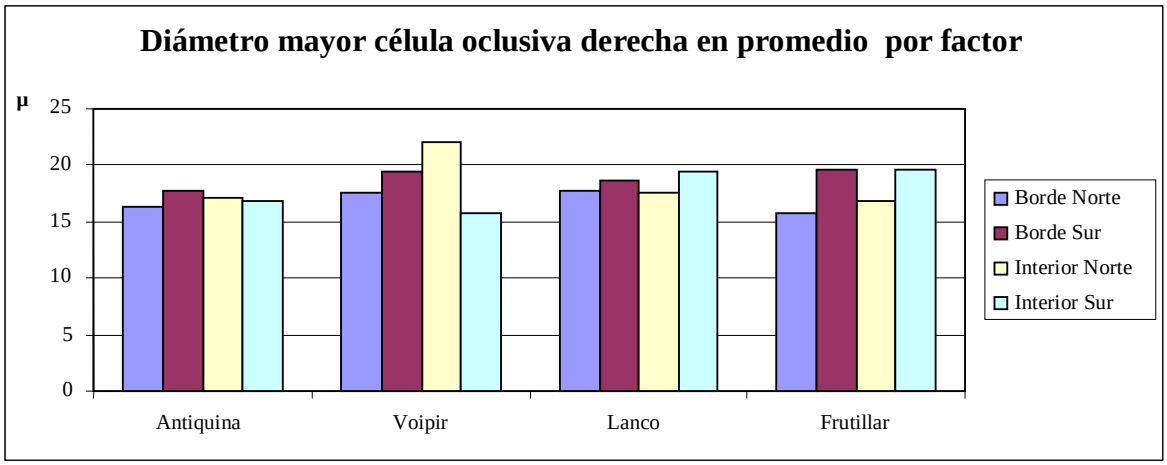


Figura 29. Diámetro mayor célula oclusiva derecha en promedio por factor.

Según la figura 30, los tratamientos no presentan diferencias estadísticas significativas, por lo tanto el diámetro mayor de la célula oclusiva derecha no varía en latitud, posición y explosión (ver apéndice, cuadro 20).

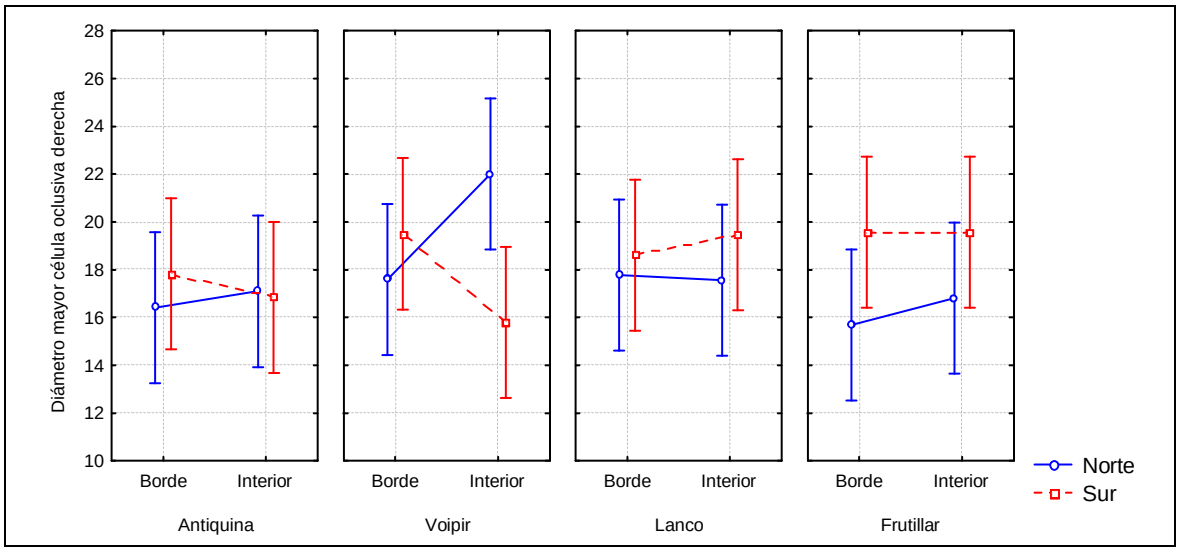


Figura 30. Intervalos de confianza sin diferencias significativas, por factor.

4.4.4 Determinación del diámetro menor de la célula oclusiva derecha

El promedio del diámetro menor de la célula oclusiva derecha fue de 9,23 micrones. Antiquina presento el mayor promedio 9,5 micrones (Figura 31). El máximo valor se produjo en Antiquina, al borde del rodal y en exposición sur con 14,17 micrones, el mínimo en Voipir, al borde del rodal y en exposición norte con 5,6 micrones.

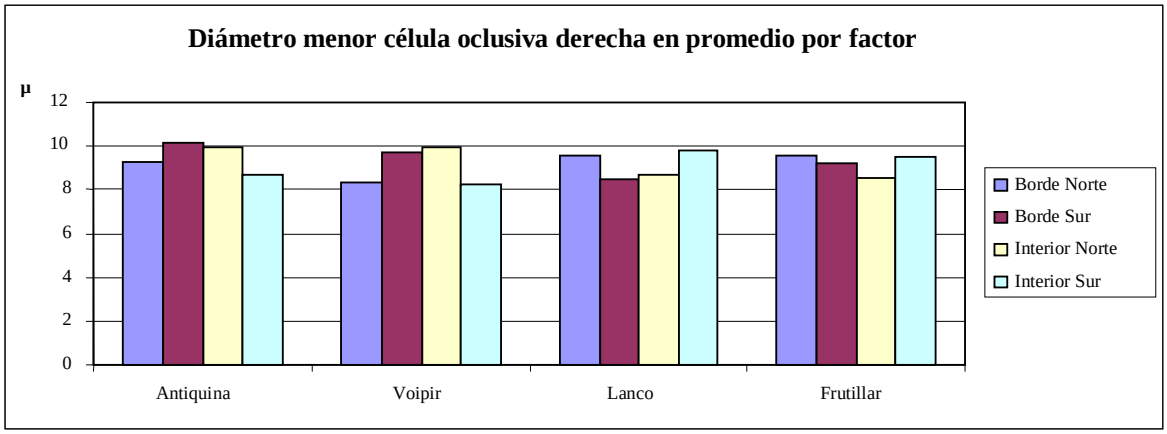


Figura 31. Diámetro menor célula oclusiva derecha en promedio por factor.

Según la figura 32, lo tratamientos no presentaron diferencias estadísticas significativas, por lo tanto el diámetro menor de la célula oclusiva derecha no varia en latitud, posición y explosión (ver apéndice, cuadro 22).

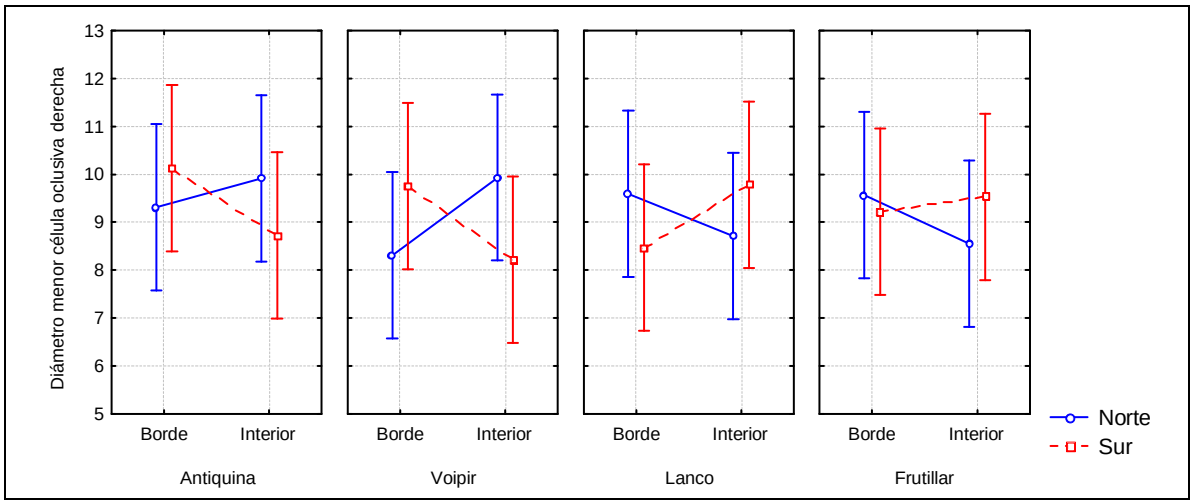


Figura 32. Intervalos de confianza sin diferencias significativas, por factor.

4.5 Determinación del tamaño de la célula subsidiaria o acompañante

Las células subsidiarias se diferencian de las células epidermales porque no tiene una pared celular engrosada y su forma se ajusta a las características de las células oclusivas, que presentan forma arriñonada como menciona Libby, 1996.

En la figura 33, se observa que las células subsidiarias son más grandes que las epidermales y oclusivas, en las figuras 34 y 35 se observa la diferencia en engrosamiento de la pared celular, entre las subsidiarias y las epidermales, en donde las células epidermales tienen la pared más gruesa de color azul profundo y en su interior de color café oscuro, éstas al ser más gruesas permiten una mayor rigidez de la hoja y ofrecen protección al poro (ya que este se encuentra más adentro del nivel de las células epidermales). La cavidad estomática esta rodeada por células del mesófilo, parénquima de células grandes y sin distribución uniforme con grandes espacios intercelulares (Figuras 33 y 34). Lo opuesto ocurre en la cara adaxial en donde se encuentra el parénquima en empalizada (Figura 35).

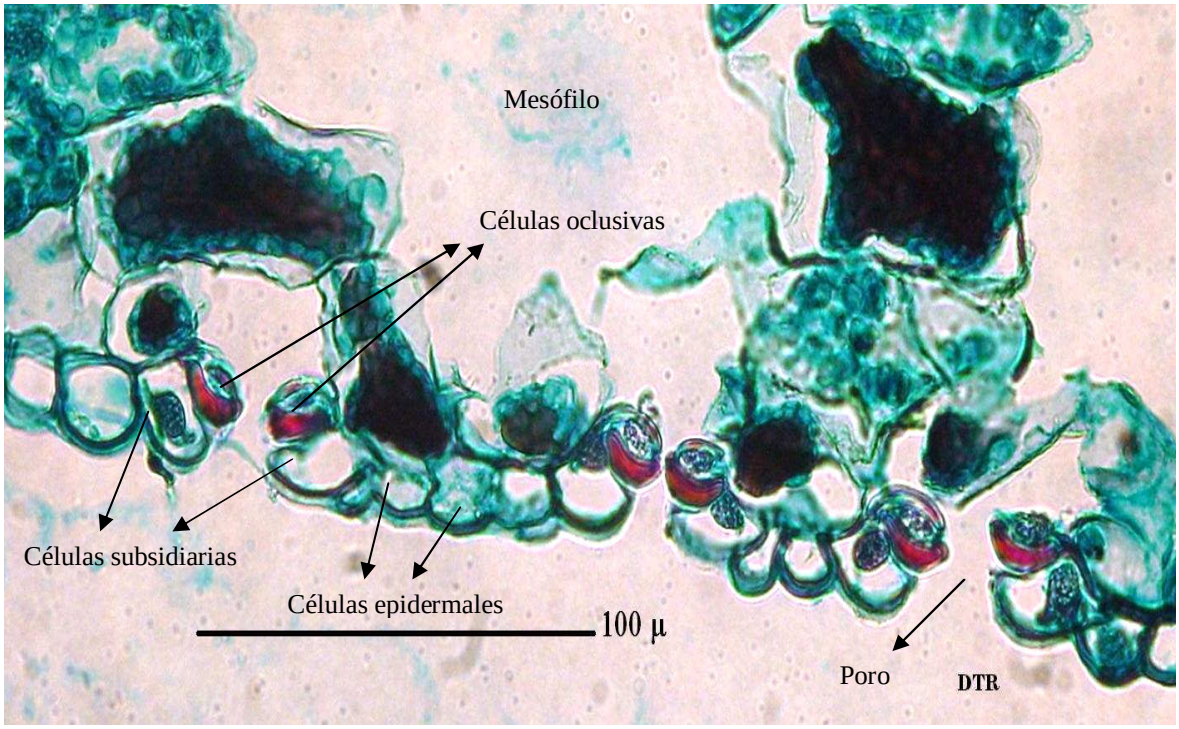


Figura 33. Conjunto de estomas en una hoja.

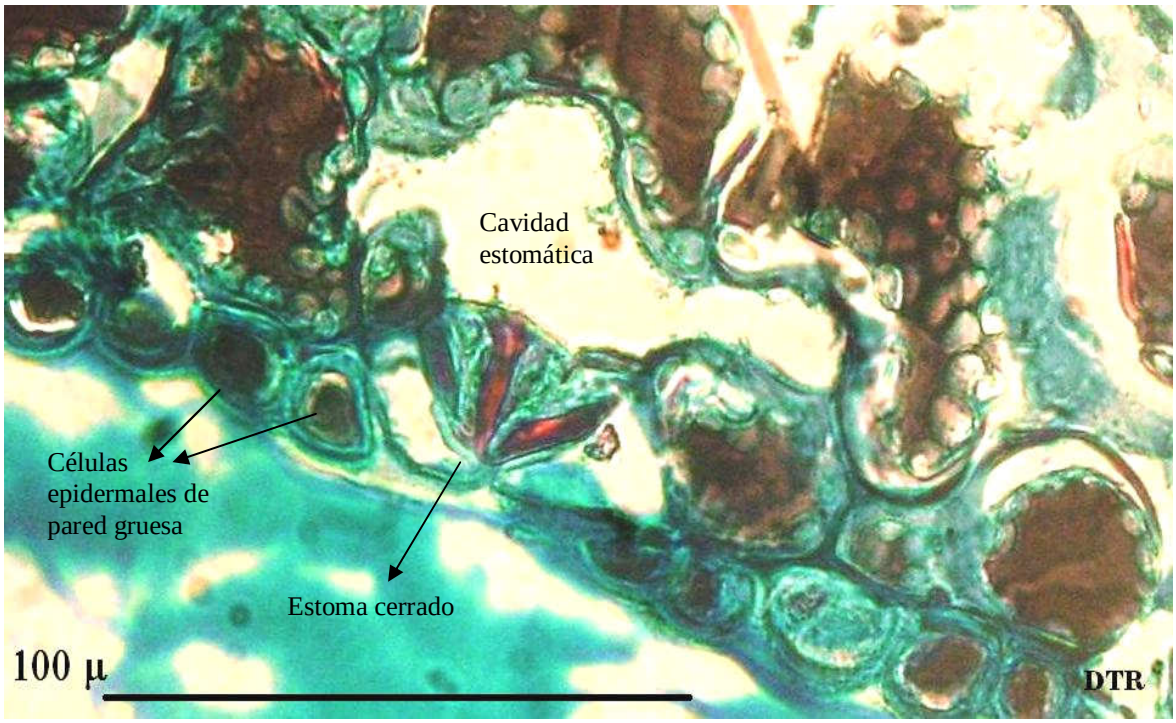


Figura 34. Estoma cerrado abaxial.

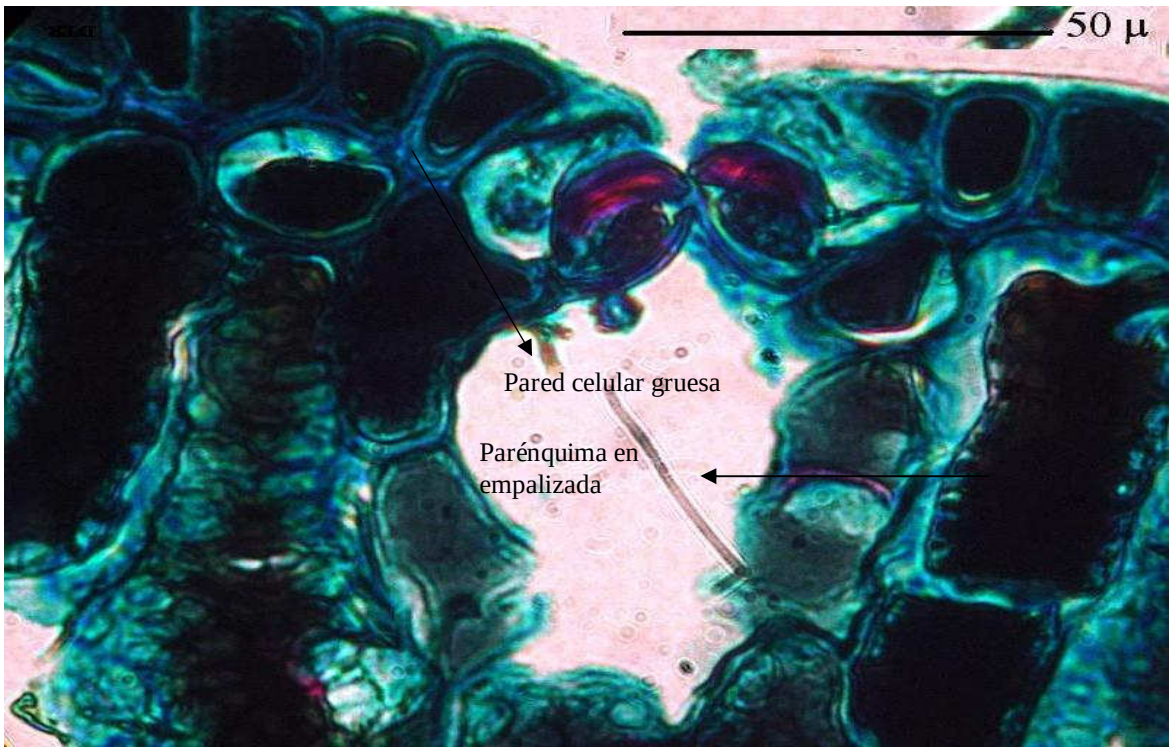


Figura 35. Estoma adaxial.

4.5.1 Determinación del diámetro mayor de la célula subsidiaria izquierda

El promedio del diámetro mayor de la célula subsidiaria izquierda fue de 23,24 micrones. Lanco es la localidad con el mayor promedio 24,3 micrones (Figura 36). El máximo valor se produjo en Lanco, al interior del rodal y en exposición sur con 34,5 micrones, el mínimo también en Lanco, al interior del rodal y en exposición sur con 14,91 micrones.

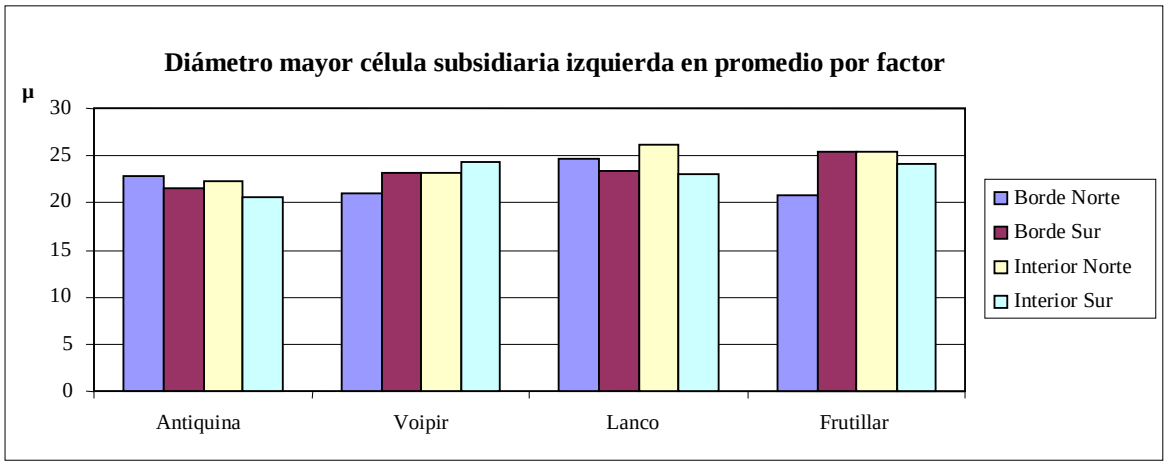


Figura 36. Diámetro mayor célula subsidiaria izquierda en promedio por factor.

Según la figura 37, los tratamientos no presentan diferencias estadísticas significativas, lo cual indica que el diámetro mayor de la célula subsidiaria izquierda no varía según latitud, posición y explosión (ver apéndice, cuadro 24).

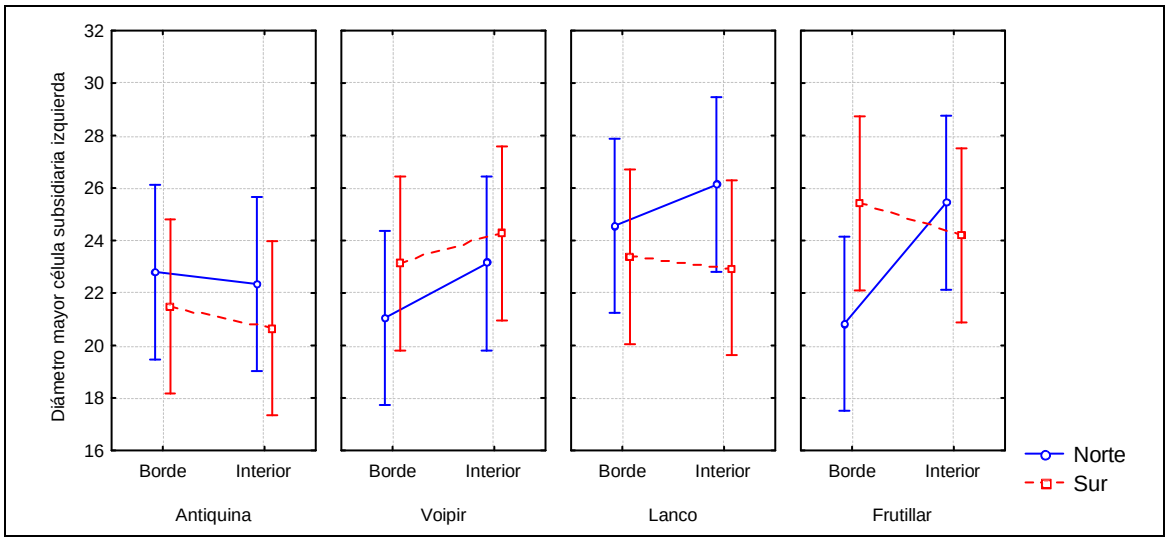


Figura 37. Intervalos de confianza sin diferencias significativas, por factor.

4.5.2 Determinación del diámetro menor de la célula subsidiaria izquierda

El promedio del diámetro menor de la célula subsidiaria izquierda fue de 10,4 micrones. Vopir es la localidad con el mayor promedio 11,2 micrones (Figura 38). El máximo valor se produjo en Frutillar, al interior del rodal y en exposición norte con 15,45 micrones, el mínimo en Lanco, al borde del rodal y en exposición norte con 5,33 micrones.

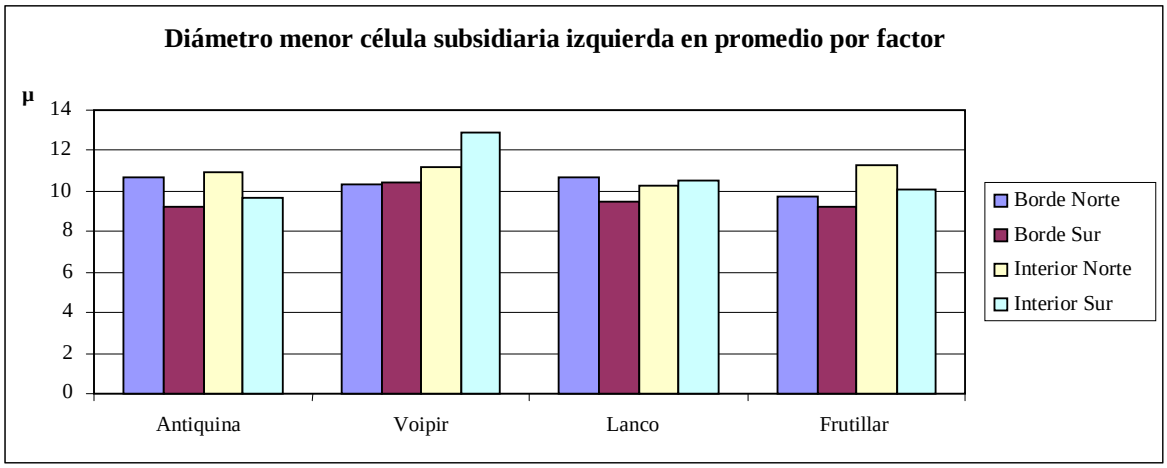


Figura 38. Diámetro menor célula subsidiaria izquierda en promedio por factor

Según la figura 39, los tratamientos no presentan diferencias estadísticas, lo cual indica que el diámetro menor de la célula subsidiaria izquierda no varía en latitud, posición y exposición (ver apéndice, cuadro 26).

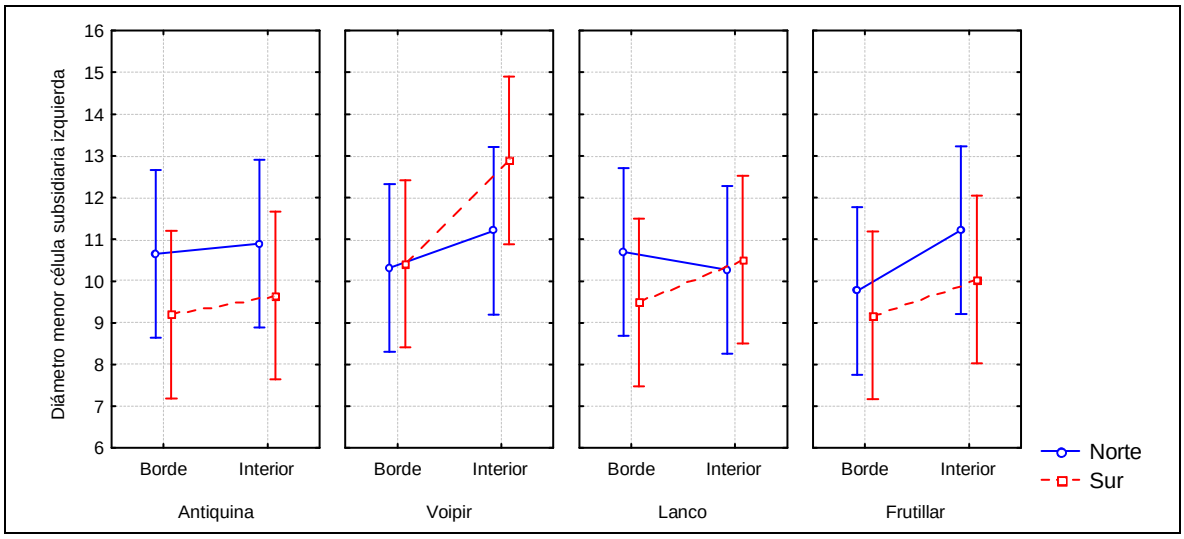


Figura 39. Intervalos de confianza sin diferencias estadísticas significativas, por factor.

4.5.3 Determinación del diámetro mayor de la célula subsidiaria derecha

El promedio del diámetro mayor de la célula subsidiaria derecha fue de 23,4 micrones. Voipir es la localidad con el mayor promedio 23,9 micrones (Figura 40). El máximo valor se produjo en Antiquina, al interior del rodal y en exposición sur con 34,85 micrones, el mínimo en Frutillar, al borde del rodal y en exposición norte con 13,27 micrones.

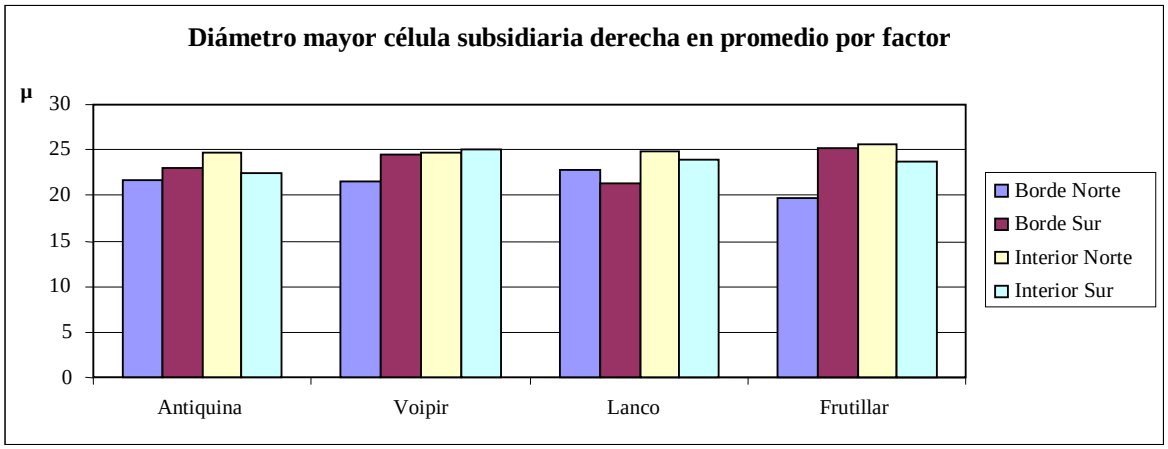


Figura 40. Diámetro mayor célula subsidiaria derecha en promedio por factor.

Según la figura 41, los tratamientos no presentaron diferencias estadísticas significativas, lo que indica que el diámetro mayor de la célula subsidiaria derecha no varía en latitud, posición y explosión (ver apéndice, cuadro 28).

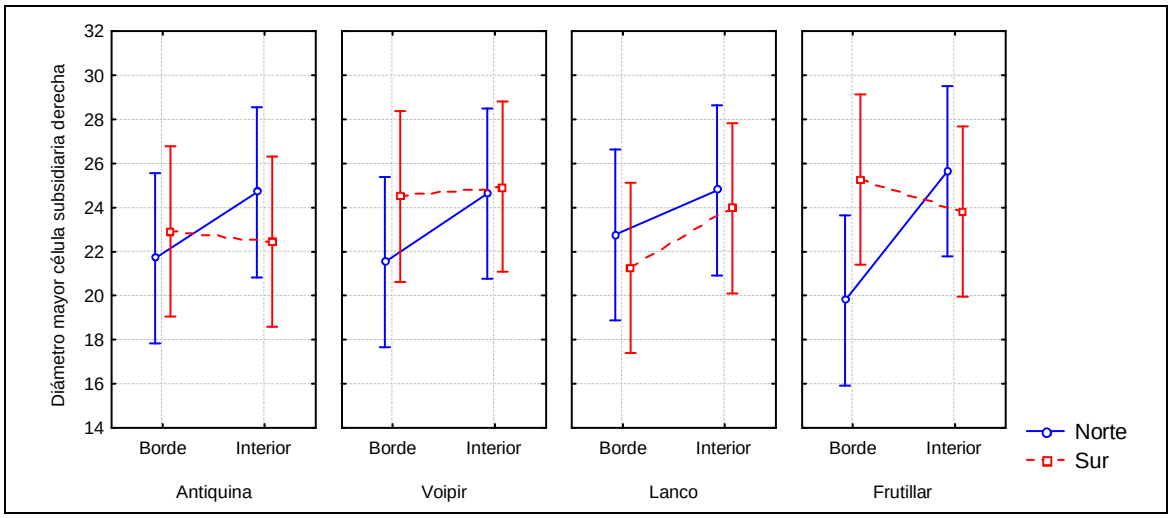


Figura 41. Intervalos de confianza sin diferencias significativas, por factor.

4.5.4 Determinación del diámetro menor de la célula subsidiaria derecha

El promedio del diámetro menor de la célula subsidiaria derecha fue de 10,7 micrones. Lanco es la localidad con el mayor promedio 11,4 micrones (Figura 42). El máximo valor se produjo en Lanco, al interior del rodal y en exposición norte con 18,67 micrones, el mínimo en Lanco, al borde del rodal y en exposición sur con 5,17 micrones.

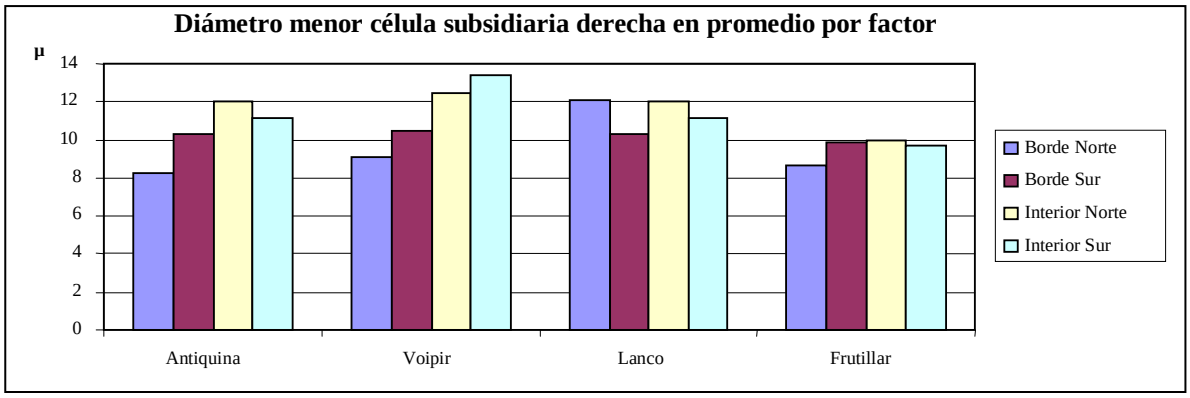


Figura 42. Diámetro menor célula subsidiaria derecha en promedio por factor.

Según el análisis de varianza (ver apéndice, cuadro 30) el diámetro menor de la célula subsidiaria derecha si varia significativamente en el factor rodal, en el test de Fisher realizado (ver apéndice, cuadro 31), el tratamiento presentó diferencia estadística como se observa en la figura 43, lo cual indica que hay variaciones entre el borde e interior del rodal. Siendo las muestras tomadas en el interior más grandes que las del borde.

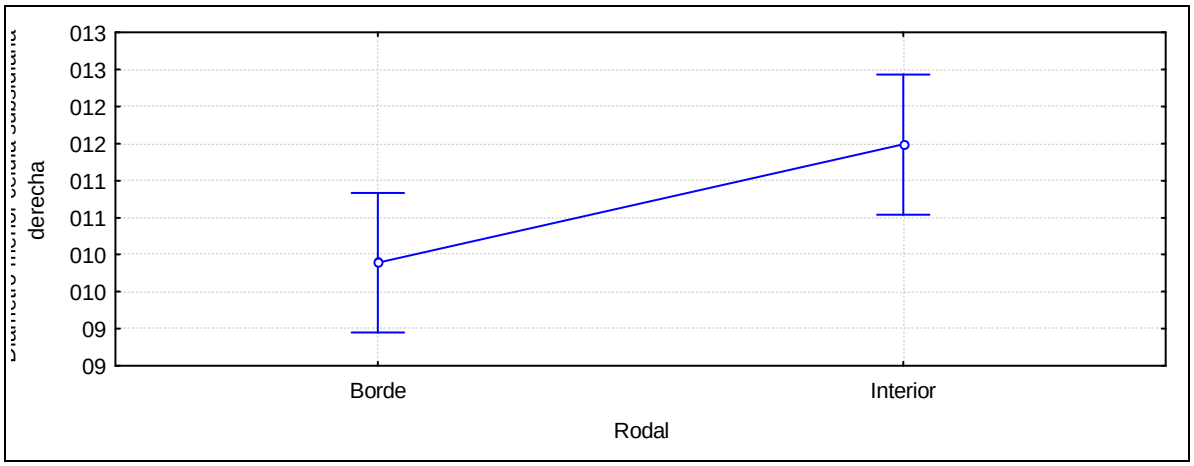


Figura 43. Intervalos de confianza con diferencias estadísticas significativas, según posición en rodal.

4.6 Descripción anatómica de la epidermis y mesófilo de la hoja de Secuoya

La epidermis foliar de Secuoya presenta células epidermales de pared gruesa, con hipodermis de fibras, la mayor concentración de estomas se produce en la cara abaxial encontrándose hasta 9 estomas en línea, en un corte transversal.

Figura 44. Hoja entera de *Sequoia sempervirens,* en corte transversal.

La hoja de Secuoya posee tres canales resiníferos, como se ve en la figura 44, el central es el de mayor tamaño con un diámetro promedio de 70 µ. Los canales resiníferos tanto izquierdo como derecho tienen el mismo diámetro promedio de 50 µ. Al no contar con la cantidad mínima requerida de mediciones en el análisis, no se pudo determinar si existían diferencias significativas entre los factores.

En los bordes de la hoja, figura 45, se ve claramente que las células epidermales son de pared más gruesa, lo que permite a la hoja ser más rígida y firme. En la superficie adaxial, en la mayoría de las muestras analizadas, las células están esclerificadas, la capa subyacente corresponde a una hipodermis de fibras (Figura 45), la que esta ausente en la superficie abaxial donde se observó una sola corrida de células las cuales presentaban pequeñas aberturas, los estomas, estos podían estar solitarios o en grupos.

El ancho promedio de la hoja fue de 2,1 mm y el espesor promedio de 0,4 mm, para las muestras en corte transversal. Las hojas más anchas se encuentran en Antiquina y Voipir. Esto indica que las hojas más latitudinales son delgadas, ver apéndice cuadros 32 y 33. El mayor espesor de la hoja se produjo en Lanco, en la exposición sur.

Como se observa en las figuras 44 y 45, la composición del mesófilo es parénquima en empalizada cercano a la superficie adaxial de la hoja, y aerénquima en la superficie abaxial.

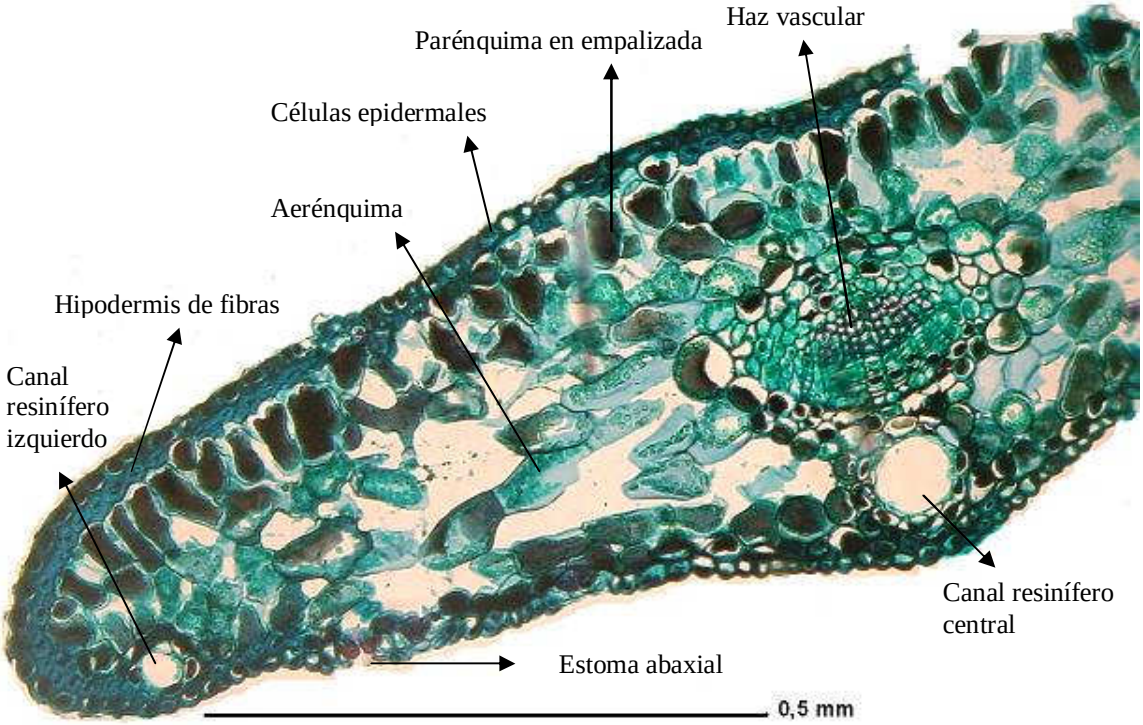


Figura 45. Corte transversal de la hoja de *Sequoia sempervirens*.

En la figura 45 se observa la estructura de mesófilo de la hoja de Secuoya, en donde se aprecian las células epidermales adaxiales más gruesas, en especial en el centro y borde de la hoja, bajo éstas se encuentra el parénquima en empalizada, luego el parénquima esponjoso y por último las células epidermales abaxiales con los estomas. En el centro de la hoja se encuentra el haz vascular y un canal resinífero de mayor tamaño que el de los extremos.

5. CONCLUSIÓN

La epidermis foliar de Secuoya concuerda con las descripciones bibliográficas de la especie.

- Superficie adaxial: células epidermales esclerotizadas, hipodermis de fibras, estomas en los extremos apical y basal de la hoja y parénquima en empalizada.
- Superficie abaxial: células epidermales normales, 2 bandas estomáticas, parénquima esponjoso y gran concentración de estomas hundidos.
- Borde de la hoja: células epidermales de pared gruesa (esclerotizadas), 2 a 3 corridas de células fibrosas (hipodermis de fibras), parénquima esponjoso y un canal resiníferos pequeño.
- Centro de la hoja: interior con haz vascular y canal resinífero de mayor tamaño.

La hipodermis de fibra le da a la hoja una mayor resistencia y las células esclerificadas aumentan la dureza de ésta.

La frecuencia de estomas presenta variaciones según localidad, a medida que se avanza en latitud aumenta la densidad estomática.

El largo del estoma varía según localidad y posición de la rama en el árbol, aumenta a medida que se avanza en latitud y es más largo en las ramas de exposición sur.

Los estomas aumentan de tamaño, tanto en largo como ancho, a medida que aumenta la latitud Sur de las plantaciones.

La célula subsidiaria izquierda y derecha no varía su diámetro según latitud, posición y exposición. Sólo el diámetro menor de la célula subsidiaria derecha varía, siendo más grande en las muestras ubicadas en el interior del rodal.

Secuoya presenta estomas hundidos.

6. BIBLIOGRAFÍA

AHUJA, M. 1996. Micropropagation and field testing of frost-tolerant *Sequoia sempervirens* genotypes. [En línea] <http://www.cnr.berkeley.edu/~jleblanc/WWW/ Redwood/rdwd-Micropro.html> [Consulta: 11 de julio de 2003].

ARROYAVE, M. 2003. Documentos de biología I. Transpiración y hormonas. Escuela de Ingeniería de Antioquia. Colombia. [En línea] < http://biologia.eia.edu.co/biologia1/ documentos/ transpiracionyhormonas.htm > [Consulta: 18 de octubre de 2003].

AZCÓN-BIETO, J. Y TALON, M. 2000. Fundamentos de fisiología vegetal. España. McGraw-Hill. 522p.

BARRERA, E. Y MEZA, I. 1992. Características de la epidermis foliar de árboles chilenos. I. Subclase Magnoliidae. Chile. Boletín del Museo Nacional de Historia Natural. 43:29 – 39p

BRINEGAR, C. 2001. Sempervirens found. Amazing Redwood trees. [En línea] <http://www.sempervirens.org/sequoiasemp.htm> [Consulta: 11 de julio de 2003]

CANAVOS, G. 1999. Probabilidad y estadística. Aplicaciones y método. México. McGraw-Hill. 651p.

CORTÉS, F. 1980. Histología vegetal básica. Madrid. Blume. 80p.

CRONQUIST, A. 1969. Introducción a la botánica. México, Continental. 733p.

CRONQUIST, A. 1988. The evolution and classification of flowering. Second edition. New Cork, USA. The New York Botanical. 555p.

DOUHOVNIKOFF, V. CHENG, A. Y DODD, R. 2004. Incidence, size and spatial structure of clones in second – growth stands of coast redwood, *Sequoia sempervirens* (Cupressaceae). California. Estados Unidos. American Journal of Botany. 91 (7): 1140 – 1146 p.

DUNLAP, J. Y STETTLER, R. 2001. Variation in leaf epidermal and stomatal traits of *Populus trichocarpa* from two transects across the Washington Cascades. Canadá. Canadian Journal of Botany. 79 (5): 528 – 535 p.

EARLE, C. 2002. *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endlicher 1847. Botaniche gärten Bonn. Universidad de Bonn. Bonn, Alemania. [En línea] < http://www.botanik.uni-bonn.de/conifers/cu/se/> [Consulta: 11 de julio de 2003].

ESAU, K. 1985. Anatomía vegetal. Tercera edición. Barcelona, Omega. 779p.

EDWIN, H. Y NIMMO, M. 1987. Enciclopedia BLUME de los árboles, madera y bosques del mundo. Barcelona, Blume. 256p.

ESPINOZA, J. 2002. Gimnospermas. [En línea] <http://www.geocities.com/Cape Canaveral/Orbit/2413/gimnospermas.html> [Consulta: 11 de julio 2003]

FEILD, T; ZWIENIECKI, M; DONOGHUE, M; HOLBROOK, M. 1998. Stomatal plugs of *Drimys winteri* (Winteraceae) protect leaves from mist but not drought. The National Academy of Sciences. 95: 14256 – 14259.

FOX, L. 1996. Current status and distribution of coast Redwood. Coast redwood forest ecology and management. [En línea] <http://www.cnr.berkeley.edu/~jleblanc /WWW/Redwood /rdwd-Current.html> [Consulta: 11 de julio de 2003]

FUERTES, L. 2001. Estudio sobre la influencia de la profundidad de plantaciones en la superficie y crecimiento de plantas de Pino Carrasco (*Pinus halepensis Mill*). Escuela universitaria de Ingeniería Técnica Forestal. Universidad Politécnica de Madrid. [En línea] <http://www.mma.es/conserv_nat/acciones/mejora_genet/pdfs/serranillo/proyeclou01.pdf> [Consulta: 23 de Octubre de 2004]

GÓMEZ, M. 2004. Estomas. Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología. Universidad de Jaén. España. [En línea] < http://www.ujaen.es/dep/bioani/estomas.pdf > [Consulta: 23 de Octubre de 2004].

GONZÁLEZ, A y ARBO, M. 2007. Botánica morfológica. Morfología de plantas vasculares. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional Del Nordeste. Argentina. [En línea] <http://www.biologia.edu.ar/botanica/tema21/21-7HGimno.htm> [Consulta: 17 de junio de 2008]

GRIFFITH, S.1992. Index of species information. Species: *Sequoia sempervirens*. United States departament of Agriculture Forest Service. [En línea] <http://www.fs.fed.us/database/feis/plants/tree/seqsem/> [Consulta: 11 de julio de 2003]

HERNÁNDEZ, R. 2001. Transpiración. Libro de Botánica on line. Universidad de Los Andes – Mérida – Venezuela. [En línea] < http://www.forest.ula.ve/~rubenhg/transpiracion/ > [Consulta: 23 de Octubre de 2004].

HERNÁNDEZ, R. 2002. Fotosíntesis. Libro de Botánica on line. Universidad de Los Andes – Mérida – Venezuela. [En línea] < http://www.forest.ula.ve/~rubenhg/transpiracion/ > [Consulta: 23 de Octubre de 2004].

HETHERINGTON, A. y WOODWARD, I. 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. Nature 424: 901 – 908.

INSTITUTO DE DESARROLLO AGROPECUARIO. 1968. Boletín técnico. 1(5): 36p.

INSTITUTO FORESTAL. 1998. Caracterización de la *Sequoia sempervirens*. Unidad de Tecnologías e Industrias de la Madera. Concepción, Chile. 24 p.

IZCO, J. y BARRENO, E. 1997. Taxonomía vegetal. En: Botánica, 1997. Por Jesús Izco "et al" Madrid, McGraw-Hill. 744p.

JENSEN, W. y SALISBURY, F. 1997. Botánica. Segunda edición (Primera en español). Mexico, McGraw-Hill. 762 p.

JOHANSEN, R. 1940. Plant microtechnique. New York. McGraw-Hill. 523 p.

KINASE, M. 2004. Stomatal development and pattern controlled by a Mapkk Kinase. Estados Unidos. Science. 304: 1494 – 1497 p.

KANNEGIESSER, U. 1990. Apuntes sobre *Sequoia sempervirens*. En Ciencia e investigación. INFOR. Chile. 4 (1): 124-132p.

LIBBY, W. 1996. Ecology and management of Coast Redwood. [En línea] <http://www.cnr.berkeley.edu/~jleblanc/WWW/Redwood/rdwd-Ecology.html> [Consulta: 11 de julio de 2003].

MEIDNER, H. Y MANSFIELD, T. 1968. Physiology of stomata. London. England. McGraw-Hill. 178p.

METCALFE, C; CHALK, L. 1979. Anatomy of the dicotyledons. Second edition. New York. Unites States. Claredon press – Oxford. 276p.

MONTGOMERY, D. 1991. Diseño y análisis de experimentos. México. Grupo editorial iberoamericana. 589p.

NADEAU, J. Y SACK, F. 2003. Stomatal development cross talk puts mouths in place. Estados Unidos. Trends in Plant Science. 8 (6): 293 – 299 p.

PRADA, C. y ROLLERI, C. 2003. Caracteres diagnósticos foliares en taxones ibéricos de *Isoetes l*. (Isoetaceae, Pteridophyta). España. Anales Jardín Botánico Madrid. 60 (2): 371 – 386 p.

SILVA, H. MARTINEZ, J. BAGINSKY, C. Y PINTO, M. 1999. Efecto del déficit hídrico en la anatomía foliar de seis cultivares de poroto *Phaseolus vulgaris*. Chile. Revista Chilena de historia Natural. 72: 219 – 235 p.

SPIEGEL, M. 1991. Estadística. Segunda edición. México, McGraw-Hill. 556p.

STRASBURGER 1994.Tratado de Botánica. Por Eduard Strasburger “et al”. 8ª ed. Castellana. Barcelona, Omega. 1070p.

TORAL, M. GONZÁLEZ, L. GARFIAS, R. 2005. Secuoya, nueva opción, productos y mercados para el sur de Chile. FONDEF DOI I008. 1° ed. Ecitec Ltda. Impresora Icaro Ltda. Santiago. Chile. 207p.

TORMO, R. 2003. Lecciones de hipertextuales de botánica. [En línea] <http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/ibc99/botanica/botanica/conifero.htm> [Consulta: 11 de julio 2003]

TORRES, J. 2002. Histología vegetal. Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Agrícola. España. [En línea] <http://www.inea.uva.es/servicios/histologia/estomas.htm > [Consulta: 17 de junio de 2008]

VILLEE, C. 1996. Biología. 8ª ed. México, McGraw-Hill. 944p.

WU, Z y RAVEN, P. 1999. Flora of China. [En línea] <http://flora.huh.harvard.edu/ china/mss/volume04/TAXODIACEAE.published.pdf> [consulta: 9 de marzo de 2004]

7. APÉNDICE

Cuadros con las mediciones realizadas por variable con sus respectivos análisis de varianza y test de fisher.

Cuadro 4. Mediciones del largo de estoma.

Largo estoma en µ	Posición en el bosque BORDE (1)		Posición en el bosque INTERIOR (2)	
	Posición en el árbol		Posición en el árbol	
Localidad	Norte (1)	Sur (2)	Norte (1)	Sur (2)
Antiquina (1)	27,096	23,898	32,125	29,097
	32,054	12,474	36,082	34,133
	39,518	34,959	35,181	46,276
	27,243	29,060	32,609	35,842
	33,553	33,996	33,687	19,318
Voipir (2)	34,751	28,744	33,781	38,451
	37,464	34,269	35,556	25,591
	29,102	34,866	40,072	34,857
	31,831	35,650	36,954	39,280
	34,306	31,056	41,814	38,845
Lanco (3)	31,120	31,310	31,425	37,343
	27,533	44,640	33,941	35,621
	29,054	35,026	36,655	30,360
	36,428	29,936	34,011	30,955
	29,808	39,861	36,547	36,391
Frutillar (4)	27,189	34,123	40,720	33,802
	28,940	30,070	27,881	34,096
	29,405	80,756	31,211	41,502
	37,549	74,238	33,658	32,756
	33,687	37,140	35,044	30,937

Cuadro 5. ANDEVA largo de estoma.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F	P
Localidad	410,11	3	136,70	2,234	0,092707
Rodal	1,43	1	1,43	0,023	0,878914
Árbol	90,19	1	90,19	1,474	0,229144
Localidad – Rodal (LR)	394,75	3	131,58	2,151	0,102516
Localidad – Árbol (LA)	538,22	3	179,41	2,932	0,040090
Rodal – Árbol (RA)	156,64	1	156,64	2,560	0,114500
Localidad – Rodal – Árbol (LRA)	359,25	3	119,75	1,957	0,129304
Error	3915,54	64	61,18		

Cuadro 6. Test de Ficher aplicado al largo de estomas centrado sólo en las muestras que presentan diferencias.

Cell. No.	Localidad	Árbol	1 32,915	2 29,905	3 35,563	4 34,161	5 32,652	6 35,144	7 32,526	8 42,942
1	1	1		0,393	0,452	0,723	0,940	0,526	0,912	0,006
2	1	2	0,393		0,111	0,228	0,435	0,139	0,456	0,000
3	2	1	0,452	0,111		0,690	0,408	0,905	0,389	0,039
4	2	2	0,723	0,228	0,690		0,668	0,780	0,642	0,015
5	3	1	0,940	0,435	0,408	0,668		0,479	0,972	0,005
6	3	2	0,526	0,139	0,905	0,780	0,479		0,457	0,029
7	4	1	0,912	0,456	0,389	0,642	0,972	0,457		0,004
8	4	2	0,006	0,000	0,039	0,015	0,005	0,029	0,004	

Cuadro 7. Mediciones ancho de estoma.

Ancho estoma en µ	Posición en el bosque BORDE (1)		Posición en el bosque INTERIOR (2)	
	Posición en el árbol		Posición en el árbol	
Localidad	Norte (1)	Sur (2)	Norte (1)	Sur (2)
Antiquina (1)	12,20	12,41	9,97	11,47
	13,62	6,51	14,64	11,95
	13,12	12,72	10,07	13,98
	10,72	12,38	13,36	10,17
	16,16	17,72	11,33	20,40
Voipir (2)	16,97	14,45	12,27	10,44
	15,67	15,75	11,11	11,04
	12,50	10,97	12,31	12,77
	12,43	14,23	12,81	8,24
	12,08	9,95	12,08	13,13
Lanco (3)	14,95	17,19	14,73	14,30
	10,06	13,78	21,78	14,55
	14,04	14,18	15,90	12,25
	13,08	16,14	14,71	15,23
	15,18	15,11	16,20	13,57
Frutillar (4)	17,45	15,77	17,06	11,59
	14,80	12,26	11,10	15,71
	11,07	16,89	12,93	14,07
	19,17	23,42	11,38	14,73
	14,03	18,22	16,42	10,69

Cuadro 8. ANDEVA ancho de estoma.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo	P
Localidad	100,82	3	33,61	4,852	0,0042
Rodal	17,04	1	17,04	2,460	0,1217
Árbol	0,02	1	0,02	0,002	0,9616
Localidad – Rodal (LR)	42,73	3	14,24	2,056	0,1149
Localidad – Árbol (LA)	9,36	3	3,12	0,450	0,7180
Rodal – Árbol (RA)	6,42	1	6,42	0,927	0,3393
Localidad – Rodal – Árbol (LRA)	34,34	3	11,45	1,653	0,1861
Error	443,31	64	6,93		

Cuadro 9. Test de Ficher aplicado al ancho de estomas centrado sólo en las variables que presentan diferencia.

Cell No.	Localidad	1 12,745	2 12,560	3 14,847	4 14,939
1	1		0,825185	0,014013	0,010512
2	2	0,825185		0,007780	0,005749
3	3	0,014013	0,007780		0,912897
4	4	0,010512	0,005749	0,912897	

Cuadro 10. Mediciones ancho de banda estomática en mm.

Ancho banda mm	Posición en el bosque BORDE (1)		Posición en el bosque INTERIOR (2)	
	Posición en el árbol		Posición en el árbol	
Localidad	Norte (1)	Sur (2)	Norte (1)	Sur (2)
Antiquina (1)	0,57	0,77	0,82	0,80
	0,77	0,80	0,63	0,88
	0,56	0,63	0,38	0,63
	0,58	0,71	0,76	0,78
	0,69	0,75	0,98	0,81
Voipir (2)	0,60	0,63	0,75	0,62
	0,84	0,59	0,82	0,61
	0,78	0,64	0,74	0,70
	0,75	0,60	0,59	0,54
	0,68	0,46	0,69	0,56
Lanco (3)	0,84	1,34	0,81	0,86
	0,72	0,70	0,77	0,93
	0,94	0,60	0,58	0,52
	0,52	0,72	0,68	0,64
	0,87	0,93	0,54	0,30
Frutillar (4)	0,53	0,70	0,90	0,97
	0,62	0,86	0,80	0,61
	0,81	0,68	0,87	0,58
	0,75	0,90	0,78	0,90
	0,72	0,82	0,66	0,61

Cuadro 11. ANDEVA ancho banda.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo	P
Localidad	0,10603	3	0,03534	1,592	0,199976
Rodal	0,00455	1	0,00455	0,205	0,652208
Árbol	0,00000	1	0,00000	0,000	0,997447
Localidad – Rodal (LR)	0,13917	3	0,04639	2,090	0,110320
Localidad – Árbol (LA)	0,12135	3	0,04045	1,822	0,152027
Rodal – Árbol (RA)	0,02530	1	0,02530	1,140	0,289712
Localidad – Rodal – Árbol (LRA)	0,03154	3	0,01051	0,474	0,701807
Error	1,42075	64	0,02220		

Cuadro 12. Mediciones densidad estomática.

Densidad	Posición en el bosque BORDE (1)		Posición en el bosque INTERIOR (2)	
	Posición en el árbol		Posición en el árbol	
Localidad	Norte (1)	Sur (2)	Norte (1)	Sur (2)
Antiquina (1)	81	80	80	104
	101	83	91	74
	81	107	69	57
	99	76	35	69
	126	84	57	72
Voipir (2)	95	78	63	95
	104	78	78	95
	69	95	78	78
	121	138	80	52
	60	49	78	69
Lanco (3)	104	130	103	126
	95	69	103	103
	138	103	95	80
	121	138	147	86
	92	69	92	92
Frutillar (4)	104	73	105	115
	86	78	47	69
	126	62	104	69
	60	95	87	85
	86	86	103	90

Cuadro 13. ANDEVA densidad estomática.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo	P
Localidad	6791,2	3	2263,7	4,940	0,003790
Rodal	1487,8	1	1487,8	3,247	0,076272
Árbol	465,6	1	465,6	1,016	0,317243
Localidad – Rodal (LR)	1516,6	3	505,5	1,103	0,354390
Localidad – Árbol (LA)	355,8	3	118,6	0,259	0,854758
Rodal – Árbol (RA)	332,1	1	332,1	0,725	0,397761
Localidad – Rodal – Árbol (LRA)	346,7	3	115,6	0,252	0,859467
Error	29327,2	64	458,2		

Cuadro 14. Test de Ficher aplicado a la densidad estomática centrado sólo en las variables que presentan diferencia.

Cell No.	Localidad	{1} 81,300	{2} 82,650	{3} 104,30	{4} 86,500
1	1		0,842559	0,001173	0,445211
2	2	0,842559		0,002151	0,571522
3	3	0,001173	0,002151		0,010696
4	4	0,445211	0,571522	0,010696	

Cuadro 15. Mediciones diámetro mayor célula oclusiva izquierda.

Diámetro mayor Célula Oclusiva Izquierda	Posición en el bosque BORDE (1)		Posición en el bosque INTERIOR (2)	
	Posición en el árbol		Posición en el árbol	
Localidad	Norte (1)	Sur (2)	Norte (1)	Sur (2)
Antiquina (1)	20,19	12,31	20,38	15,58
	12,17	21,00	15,50	13,00
	20,17	31,68	17,18	12,17
	19,83	17,11	13,67	14,33
	16,50	19,33	20,83	22,73
Voipir (2)	19,67	18,00	26,50	18,04
	24,17	20,00	22,17	20,67
	16,67	26,00	19,17	20,00
	21,71	20,08	19,83	17,83
	24,67	16,33	22,83	13,67
Lanco (3)	20,67	16,69	18,64	20,00
	18,17	18,96	19,83	19,50
	18,50	23,19	19,08	22,00
	17,46	20,00	18,00	12,39
	18,17	21,17	17,50	19,67
Frutillar (4)	19,91	19,48	17,13	25,74
	15,04	18,66	15,45	19,09
	20,14	15,09	13,26	11,84
	16,56	21,33	16,46	18,66
	19,08	20,80	19,51	18,58

Cuadro 16. ANDEVA diámetro mayor célula oclusiva izquierda.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo	P
Localidad	82,58	3	27,53	2,279	0,087832
Rodal	29,08	1	29,08	2,408	0,125628
Árbol	0,00	1	0,00	0,000	0,991597
Localidad – Rodal (LR)	11,54	3	3,85	0,318	0,811980
Localidad – Árbol (LA)	53,00	3	17,67	1,463	0,232964
Rodal – Árbol (RA)	15,49	1	15,49	1,283	0,261556
Localidad – Rodal – Árbol (LRA)	23,92	3	7,97	0,660	0,579500
Error	772,87	64	12,08		

Cuadro 17. Mediciones diámetro menor célula oclusiva izquierda.

Diámetro menor Célula Oclusiva Izquierda	Posición en el bosque BORDE (1)		Posición en el bosque INTERIOR (2)	
	Posición en el árbol		Posición en el árbol	
Localidad	Norte (1)	Sur (2)	Norte (1)	Sur (2)
Antiquina (1)	6,54	7,88	13,46	6,92
	6,33	9,67	7,00	6,83
	8,00	10,31	10,06	8,83
	6,17	11,84	6,50	8,50
	8,50	11,83	9,33	10,61
Voipir (2)	9,83	11,17	10,17	10,04
	9,00	8,67	13,33	12,67
	7,00	8,67	11,83	10,00
	7,24	9,29	12,33	9,17
	7,67	8,67	8,50	8,33
Lanco (3)	7,33	7,73	9,09	9,33
	10,50	8,51	10,83	11,50
	11,00	10,96	13,44	7,67
	10,30	9,05	8,67	10,86
	11,33	9,00	7,00	8,83
Frutillar (4)	8,41	12,73	10,06	8,09
	5,75	9,40	10,13	9,09
	10,35	7,41	8,54	7,85
	9,82	6,33	9,38	9,70
	12,50	6,99	8,52	10,16

Cuadro 18. ANDEVA diámetro menor célula oclusiva izquierda.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo	P
Localidad	12,310	3	4,103	1,316	0,277036
Rodal	6,905	1	6,905	2,214	0,141686
Árbol	0,005	1	0,005	0,002	0,967438
Localidad – Rodal (LR)	11,819	3	3,940	1,263	0,294537
Localidad – Árbol (LA)	9,873	3	3,291	1,055	0,374417
Rodal – Árbol (RA)	8,272	1	8,272	2,652	0,108304
Localidad – Rodal – Árbol (LRA)	21,090	3	7,030	2,254	0,090546
Error	199,604	64	3,119		

Cuadro 19. Mediciones diámetro mayor célula oclusiva derecha.

Diámetro mayor Célula Oclusiva Derecha	Posición en el bosque BORDE (1)		Posición en el bosque INTERIOR (2)	
	Posición en el árbol		Posición en el árbol	
Localidad	Norte (1)	Sur (2)	Norte (1)	Sur (2)
Antiquina (1)	15,38	15,00	20,77	17,88
	16,50	19,00	15,83	15,33
	15,50	17,82	14,85	12,33
	18,83	15,79	11,00	13,67
	15,83	21,50	23,00	25,00
Voipir (2)	16,00	19,50	28,33	15,78
	21,00	17,83	24,33	17,00
	16,83	21,00	16,83	17,12
	16,45	19,50	18,67	16,83
	17,67	19,67	21,83	12,17
Lanco (3)	18,50	17,91	17,27	22,50
	17,83	16,72	19,17	18,50
	17,00	21,60	14,97	17,67
	15,07	18,60	18,33	11,29
	20,50	18,17	18,00	27,33
Frutillar (4)	17,26	19,74	16,96	32,23
	13,27	20,45	21,17	19,22
	16,18	16,14	13,93	15,09
	17,18	20,00	16,81	16,42
	14,47	21,47	15,14	14,92

Cuadro 20. ANDEVA diámetro mayor célula oclusiva derecha.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo	P
Localidad	31,25	3	10,42	0,832	0,481364
Rodal	1,46	1	1,46	0,117	0,733793
Árbol	12,18	1	12,18	0,972	0,327819
Localidad – Rodal (LR)	1,38	3	0,46	0,037	0,990541
Localidad – Árbol (LA)	77,52	3	25,84	2,063	0,113929
Rodal – Árbol (RA)	30,07	1	30,07	2,400	0,126231
Localidad – Rodal – Árbol (LRA)	59,06	3	19,69	1,572	0,204906
Error	801,67	64	12,53		

Cuadro 21. Mediciones diámetro menor célula oclusiva derecha.

Diámetro menor Célula Oclusiva Derecha	Posición en el bosque BORDE (1)		Posición en el bosque INTERIOR (2)	
	Posición en el árbol		Posición en el árbol	
Localidad	Norte (1)	Sur (2)	Norte (1)	Sur (2)
Antiquina (1)	11,54	7,31	13,27	8,65
	9,83	9,83	7,00	6,67
	7,83	10,13	10,61	7,83
	7,83	9,21	7,33	9,83
	9,50	14,17	11,33	10,61
Voipir (2)	8,50	10,17	10,17	8,21
	5,67	8,33	11,00	10,33
	9,50	13,00	9,83	6,35
	7,89	9,75	11,33	8,33
	10,00	7,50	7,33	7,83
Lanco (3)	9,00	10,37	8,18	12,67
	11,17	8,36	11,33	13,17
	9,59	9,47	8,72	7,83
	6,87	8,47	7,33	6,93
	11,33	5,67	8,00	8,33
Frutillar (4)	12,39	12,34	8,71	11,28
	6,64	7,76	9,35	9,35
	9,65	7,64	7,87	9,08
	7,30	9,33	10,00	9,55
	11,84	9,02	6,83	8,36

Cuadro 22. ANDEVA diámetro menor célula oclusiva derecha.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo	P
Localidad	2,446	3	0,815	0,216	0,885284
Rodal	0,306	1	0,306	0,081	0,777171
Árbol	0,002	1	0,002	0,001	0,981410
Localidad – Rodal (LR)	1,389	3	0,463	0,122	0,946599
Localidad – Árbol (LA)	0,761	3	0,254	0,067	0,977197
Rodal – Árbol (RA)	0,855	1	0,855	0,226	0,636100
Localidad – Rodal – Árbol (LRA)	24,910	3	8,303	2,195	0,097233
Error	242,128	64	3,783		

Cuadro 23. Mediciones diámetro mayor célula subsidiaria izquierda.

Diámetro mayor Célula Subsidiaria Izquierda	Posición en el bosque BORDE (1)		Posición en el bosque INTERIOR (2)	
	Posición en el árbol		Posición en el árbol	
Localidad	Norte (1)	Sur (2)	Norte (1)	Sur (2)
Antiquina (1)	26,35	25,19	27,12	20,19
	20,00	20,50	20,00	23,50
	25,00	21,49	18,90	22,33
	22,67	17,76	23,33	22,17
	20,00	22,50	22,34	15,15
Voipir (2)	21,06	27,00	26,17	24,28
	25,33	20,50	24,50	25,33
	15,83	22,50	21,67	23,46
	19,74	23,13	20,17	28,67
	23,33	22,50	23,13	19,67
Lanco (3)	27,83	23,19	26,14	19,50
	27,50	23,39	24,17	22,97
	21,50	25,64	29,90	34,50
	22,69	23,39	23,67	14,91
	23,33	21,33	26,83	22,97
Frutillar (4)	20,80	27,53	27,72	29,89
	15,49	33,58	25,58	16,88
	22,64	18,09	22,70	24,54
	21,60	27,50	22,29	24,20
	23,68	20,37	28,96	25,46

Cuadro 24. ANDEVA diámetro mayor célula subsidiaria izquierda.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo	P
Localidad	74,35	3	24,78	1,797	0,156654
Rodal	13,12	1	13,12	0,951	0,333031
Árbol	0,20	1	0,20	0,014	0,905199
Localidad – Rodal (LR)	17,97	3	5,99	0,434	0,729226
Localidad – Árbol (LA)	61,37	3	20,46	1,483	0,227444
Rodal – Árbol (RA)	25,77	1	25,77	1,868	0,176433
Localidad – Rodal – Árbol (LRA)	22,85	3	7,62	0,552	0,648495
Error	882,62	64	13,79		

Cuadro 25. Mediciones diámetro menor célula subsidiaria izquierda.

Diámetro menor Célula Subsidiaria Izquierda	Posición en el bosque BORDE (1)		Posición en el bosque INTERIOR (2)	
	Posición en el árbol		Posición en el árbol	
Localidad	Norte (1)	Sur (2)	Norte (1)	Sur (2)
Antiquina (1)	13,46	11,54	15,00	11,35
	9,67	9,50	13,17	11,67
	10,50	9,20	8,10	9,00
	8,83	5,92	7,33	5,67
	10,83	9,83	10,90	10,61
Voipir (2)	10,31	14,50	10,83	12,90
	11,00	8,33	11,17	13,00
	10,33	8,33	9,67	11,92
	7,24	10,42	13,17	12,50
	12,67	10,50	11,21	14,17
Lanco (3)	13,83	6,81	10,28	12,83
	12,00	9,49	10,17	10,52
	5,33	10,32	13,44	12,83
	11,64	9,49	7,67	5,89
	10,67	11,33	9,83	10,52
Frutillar (4)	7,96	8,18	13,86	10,43
	9,73	7,61	15,45	10,78
	8,33	11,27	9,21	8,34
	12,27	11,17	7,22	10,04
	10,53	7,67	10,38	10,60

Cuadro 26. ANDEVA diámetro menor célula subsidiaria izquierda.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo	P
Localidad	17,714	3	5,905	1,171	0,327969
Rodal	15,352	1	15,352	3,043	0,085869
Árbol	4,153	1	4,153	0,823	0,367608
Localidad – Rodal (LR)	6,722	3	2,241	0,444	0,722232
Localidad – Árbol (LA)	14,114	3	4,705	0,933	0,430174
Rodal – Árbol (RA)	2,189	1	2,189	0,434	0,512383
Localidad – Rodal – Árbol (LRA)	4,083	3	1,361	0,270	0,846914
Error	322,843	64	5,044		

Cuadro 27. Mediciones diámetro mayor célula subsidiaria derecha.

Diámetro mayor Célula Subsidiaria Derecha	Posición en el bosque BORDE (1)		Posición en el bosque INTERIOR (2)	
	Posición en el árbol		Posición en el árbol	
Localidad	Norte (1)	Sur (2)	Norte (1)	Sur (2)
Antiquina (1)	23,65	30,77	29,62	21,92
	16,50	23,50	20,00	19,83
	21,50	22,91	17,18	18,83
	21,71	14,47	26,83	16,83
	25,17	22,91	29,83	34,85
Voipir (2)	26,00	22,50	26,50	24,96
	26,33	29,33	22,17	24,83
	18,00	20,83	26,00	25,00
	15,79	24,50	23,83	26,33
	21,53	25,33	24,63	23,67
Lanco (3)	34,67	23,62	24,78	21,67
	23,00	21,28	25,00	24,50
	15,00	24,04	24,78	26,00
	21,79	21,28	25,17	23,96
	19,33	16,17	24,17	23,67
Frutillar (4)	22,12	25,45	21,99	31,17
	13,27	28,06	29,35	22,60
	21,60	25,77	27,87	18,96
	20,86	30,00	22,99	23,81
	21,05	17,06	26,01	22,51

Cuadro 28. ANDEVA diámetro mayor célula subsidiaria derecha.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo	P
Localidad	11,13	3	3,71	0,198	0,897194
Rodal	72,02	1	72,02	3,850	0,054106
Árbol	4,12	1	4,12	0,220	0,640631
Localidad – Rodal (LR)	3,57	3	1,19	0,064	0,978879
Localidad – Árbol (LA)	34,17	3	11,39	0,609	0,611680
Rodal – Árbol (RA)	50,71	1	50,71	2,710	0,104602
Localidad – Rodal – Árbol (LRA)	40,32	3	13,44	0,718	0,544687
Error	1197,32	64	18,71		

Cuadro 29. Mediciones diámetro menor de célula subsidiaria derecha.

Diámetro menor Célula Subsidiaria Derecha	Posición en el bosque BORDE (1)		Posición en el bosque INTERIOR (2)	
	Posición en el árbol		Posición en el árbol	
Localidad	Norte (1)	Sur (2)	Norte (1)	Sur (2)
Antiquina (1)	7,31	9,42	15,96	9,23
	7,00	14,83	11,50	6,17
	7,17	10,28	8,71	10,67
	8,24	6,58	10,50	12,33
	11,50	10,28	13,50	17,42
Voipir (2)	7,67	8,67	12,83	13,42
	9,33	12,00	14,50	15,00
	13,00	10,83	9,00	11,35
	6,58	10,50	13,33	15,67
	9,14	10,50	12,42	11,67
Lanco (3)	17,50	15,83	12,00	6,67
	16,67	10,30	18,67	12,50
	5,17	8,40	12,00	14,33
	12,08	10,30	8,67	11,21
	9,00	6,67	8,67	11,33
Frutillar (4)	9,73	5,19	10,70	14,04
	7,08	10,60	12,47	8,31
	4,44	13,05	8,76	9,45
	10,25	10,50	9,93	9,73
	11,84	10,25	7,76	7,10

Cuadro 30. ANDEVA diámetro menor ancho célula subsidiaria derecha.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo	P
Localidad	46,200	3	15,400	1,720	0,171725
Rodal	50,876	1	50,876	5,683	0,020112
Árbol	1,246	1	1,246	0,139	0,710334
Localidad – Rodal (LR)	26,659	3	8,886	0,993	0,402072
Localidad – Árbol (LA)	17,068	3	5,689	0,635	0,594889
Rodal – Árbol (RA)	4,303	1	4,303	0,481	0,490645
Localidad – Rodal – Árbol (LRA)	10,244	3	3,415	0,381	0,766745
Error	572,997	64	8,953		

Cuadro 31. Test de Ficher aplicado al ancho célula subsidiaria derecha centrado sólo en las variables que presentan diferencia.

Cell No.	Rodal	{1} 9,8919	{2} 11,487
1	1		0,020112
2	2	0,020112	

Cuadro 32. Mediciones del ancho de la hoja en mm para el corte transversal.

Ancho hoja en mm	Posición en el bosque BORDE (1)		Posición en el bosque INTERIOR (2)	
	Posición en el árbol		Posición en el árbol	
Localidad	Norte (1)	Sur (2)	Norte (1)	Sur (2)
Antiquina (1)	2,53	2,97	2,91	2,99
	2,71	2,30	2,61	2,12
	2,03		2,73	2,38
	2,60	2,24	2,54	2,29
	1,96	2,15	2,58	2,84
Voipir (2)	2,15	2,07	1,97	2,66
	2,17	2,63	2,92	2,38
	2,28	1,24	1,78	2,39
	2,48	2,09	2,20	2,12
	2,14	1,72	2,82	2,43
Lanco (3)	2,53	1,69	2,32	2,27
	1,57	2,33	2,35	2,18
	2,34	1,90	1,60	1,83
	1,77	1,95	2,44	1,84
	1,77	2,00	1,04	1,26
Frutillar (4)	1,86	1,88	2,55	1,44
	0,79	1,20	1,72	2,09
	2,08	1,84	2,43	1,19
	2,08	2,72	1,85	0,80
	2,02	1,90	2,27	2,31

Cuadro 33. Mediciones del espesor de la hoja en mm para el corte transversal.

Espesor hoja en mm	Posición en el bosque BORDE (1)		Posición en el bosque INTERIOR (2)	
	Posición en el árbol		Posición en el árbol	
Localidad	Norte (1)	Sur (2)	Norte (1)	Sur (2)
Antiquina (1)	0,39	0,50	0,44	0,44
	0,38	0,34	0,31	0,39
	0,36		0,67	
		0,43	0,42	0,41
	0,41	0,39	0,39	0,40
Voipir (2)	0,45	0,44	0,46	0,32
	0,43	0,41	0,41	0,44
	0,34	0,40	0,44	0,39
	0,46	0,43	0,36	0,34
	0,41	0,28	0,34	0,29
Lanco (3)	0,40	0,44	0,38	0,49
	0,39	0,40	0,44	0,38
	0,48	0,51	0,00	0,41
	0,55	0,53	0,39	0,56
	0,55	0,56	0,41	0,52
Frutillar (4)	0,47	0,41	0,50	0,37
	0,29	0,37	0,44	0,29
	0,51	0,41	0,35	0,27
	0,49	0,54	0,65	0,22
	0,41	0,38	0,34	0,35