



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS Y FORESTALES



Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas

TESIS

Variación genética entre procedencias de *Pinus hartwegii* a los 5 años de edad

QUE PRESENTA

ESPERANZA LOYA REBOLLAR

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIRECTOR DE TESIS: DR. CUAUHTÉMOC SÁENZ ROMERO

Morelia, Michoacán, Marzo 2012.

AGRADECIMIENTOS

Gracias al Dr. Cuauhtémoc Sáenz Romero por haberme permitido la participación en este proyecto, pero sobre todo por su apoyo, consejos que hicieron posible la realización de esta tesis, muchas gracias.

Asimismo, gracias a la mesa de sinodales Nahúm M. Sánchez Vargas, Roberto Linding Cisneros, Philippe Lobit, Javier Villegas Moreno por lo acertado de sus observaciones y correcciones, así como por sus aportaciones al revisar esta tesis.

Gracias a las personas que me ayudaron en las mediciones y mantenimiento del ensayo amigos y compañeros de laboratorio.

Finalmente, se agradece el financiamiento del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), a través del Fondo Mixto CONACYT-Michoacán (Proyecto FOMIX 2009-127128), y del Fondo Sectorial CONACYT-CONAFOR (Proyecto 2005-CO2-14783).

CONTENIDO

RESUMEN GENERAL.....	5
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	8
Objetivos Generales.....	10
Hipótesis de Investigación.....	10
Literatura Citada.....	11
CAPÍTULO I. VARIACION GENETICA ALTITUDINAL ENTRE POBLACIONES DE <i>Pinus hartwegii</i> EN PLANTAS DE CINCO AÑOS DE EDAD.....	13
Resumen.....	13
Introducción.....	16
Materiales y Métodos.....	18
Establecimiento del ensayo.....	18
Análisis estadístico.....	19
Modelación climática.....	21
Resultados y Discusión.....	22
Zonificación altitudinal.....	30
Usos de la zonificación altitudinal.....	31
Modelación climática.....	32
Conclusiones.....	34
Literatura Citada.....	35
CAPÍTULO II. EVALUACIÓN PRELIMINAR DE LA VARICIÓN GENETICA ALTITUDINAL EN LA RESISTENCIA A LA CAVITACIÓN EN POBLACIONES DE <i>Pinus hartwegii</i> EN PLANTULAS DE CINCO AÑOS DE EDAD.....	38

Resumen.....	38
Introducción.....	40
Materiales y Métodos.....	42
Resistencia a la cavitación.....	44
Análisis estadístico.....	45
Resultados y Discusión.....	46
Conclusiones.....	50
Literatura Citada.....	50
CAPÍTULO III. CONCENTRACIÓN DE CLOROFILAS EN 13 PROCEDENCIAS DE <i>Pinus hartwegii</i>.....	54
Resumen.....	54
Introducción.....	56
Materiales y Métodos.....	57
Concentración de clorofila <i>a</i>, <i>b</i> y total.....	57
Análisis estadístico.....	58
Resultados y Discusión.....	59
Conclusiones.....	63
Literatura Citada.....	63
CONCLUSION GENERAL.....	65

RESUMEN GENERAL

Con el propósito de determinar un posible patrón de variación genética altitudinal entre poblaciones de *Pinus hartwegii*, en plantas que crecen en un ensayo de procedencias establecido en 1850 m de altitud. Fueron colectadas semillas de polinización abierta de 13 poblaciones naturales a lo largo de un gradiente altitudinal (3150 a 3700 m de altitud, una población cada 50 m de diferencia de altitud), en el Parque Nacional Pico de Tancítaro, Michoacán, México. Las plantas fueron cultivadas en un vivero y luego se estableció en un diseño de bloques completos al azar en una prueba de jardín común y donde se evaluaron cuando tenían cinco años de edad. Las variables evaluadas fueron altura, elongación de la yema apical, diámetro basal, peso seco, resistencia a la cavitación, contenido de clorofila *a* y *b*. Se encontraron diferencias significativas entre procedencias en: elongación total ($P=0.0008$), tasa de crecimiento ($P=0.0014$), altura final ($P=0.015$) y diámetro basal ($P=<.0001$). De la misma manera el análisis de varianza mostró diferencias significativas para las variables: peso seco de acículas ($P=<.0001$), peso seco de ramas ($P=0.0045$), peso seco del tallo ($P=0.0027$) y peso seco total ($P=0.0003$). Además de se encontró una asociación significativa entre los parámetros de crecimiento y la altitud de origen de las poblaciones en elongación total ($r^2=0.0004$, $P=0.6958$), tasa de crecimiento ($r^2=0.6899$, $P=0.0004$), altura final ($r^2=0.8336$, $P=<.0001$) y diámetro basal ($r^2=0.6715$, $P=0.0003$). También se encontró asociación significativa entre el peso seco y la altitud de origen de las poblaciones en peso seco de acículas ($r^2=0.7138$, $P=0.0003$), peso seco de ramas ($r^2=0.7356$, $P=0.0002$), peso seco de tallo ($r^2=0.7599$, $P=<.0001$) y pesos seco total ($r^2=0.7522$, $P=0.0001$). Esto indica que las poblaciones están asociadas a un gradiente altitudinal; es decir, hay un patrón muy marcado de diferenciación genética altitudinal. Sin embargo en caracteres fisiológicos no se encontraron diferencias significativas en las variables clorofila *a* ($P=0.1172$), clorofila *b* ($P=0.1145$), clorofila total ($P=0.1125$) y relación clorofila *a/b* ($P=0.6341$). Tampoco se encontraron diferencias significativas en la resistencia a la cavitación (P_{50} , pérdida del 50% de conductividad hidráulica) ($P=0.3038$), de la misma manera la pendiente de la curva de vulnerabilidad ($P=0.2445$). Hubo diferencias significativas en la conductividad hidráulica específica (K_s) ($P=0.0039$). Además de una asociación significativa entre la altitud de origen de la población y los promedios de la

conductividad hidráulica máxima y de la pendiente ($r^2=0.590$; $P=0.0436$; $r^2=0.816$; $P=0.0053$, respectivamente). La falta de diferenciación genética entre poblaciones de *P. hartwegii* en caracteres fisiológicos, representan una limitación para adaptarse a un clima más seco que se producirá debido al cambio climático. Se propuso una zonificación para el manejo de semilla y planta para reforestación, en la que se delimitaron tres zonas altitudinales: Zona 1 de 3150 a 3350 msnm, Zona 2 de 3350 a 3550 msnm, y Zona 3 de 3550 a 3750 msnm. Se sugiere mover las poblaciones altitudinalmente hacia arriba en base a modelos climáticos para el 2030, entre 250 y 300 m de altitud, mediante un programa de migración asistida, para que estén acopladas al clima que ocurrirá en el 2030.

Palabras clave: Procedencias, Variación genética altitudinal, Peso seco *Pinus hartwegii*, Clorofila total, clorofila *a*, clorofila *b*, relación clorofila *a/b*, Resistencia a la cavitación, Conductividad hidráulica específica, Pendiente de la curva de vulnerabilidad.

OVERVIEW

In order to determine possible altitudinal pattern of genetic variation among populations of *Pinus hartwegii* in plants growing in a provenance test established in 1850 m. They were open-pollinated seeds collected from 13 natural populations along an altitudinal gradient (3150 to 3700 m above sea level, a population every 50 m difference in altitude), in the Peak National Park Tancítaro, Michoacán, Mexico. Plants were grown in a nursery and then settled on a design of a randomized complete block in a common garden test which evaluated when they were five years old. The variables studied were height, elongation of the bud, basal diameter, dry weight, resistance to cavitation, chlorophyll a and b. Significant differences among provenances in: total elongation ($P=0.0008$), growth rate ($P=0.0014$), final height ($P=0.015$) and basal diameter ($P<.0001$). Similarly the analysis of variance showed significant differences for the variables: dry weight of needles ($P<.0001$), dry weight of branches ($P=0.0045$), stem dry weight ($P=0.0027$) and total dry weight ($P=0.0003$). In addition we found a significant association between growth parameters and altitude of origin of populations in total elongation ($r^2=0.0004$, $P=0.6958$), growth rate ($r^2=0.6899$, $P=0.0004$), final height ($r^2=0.8336$, $P<.0001$) and basal diameter

($r^2=0.6715$, $P=0.0003$). We also found significant association between dry weight and altitude of origin of populations in dry weight of needles ($r^2=0.7138$, $P=0.0003$), dry weight of branches ($r^2=0.7356$, $P=0.0002$), stem dry weight ($r^2=0.7599$, $P=<.0001$) and total dry weight ($r^2=0.7522$, $P=0.0001$). This indicates that populations are associated with an altitudinal gradient, ie, there is a very marked pattern of altitudinal genetic differentiation. However, in physiological traits found no significant differences in the variables chlorophyll *a* ($P=0.1172$), chlorophyll *b* ($P=0.1145$), total chlorophyll ($P=0.1125$) and relative chlorophyll *a/b* ($P=0.6341$). Nor were there significant differences in the cavitation resistance (P50, 50% loss of hydraulic conductivity) ($P=0.3038$), in the same way the slope of the curve of vulnerability ($P=0.2445$). There were significant differences in specific hydraulic conductivity (K_s) ($P=0.0039$). Besides a significant association between altitude of origin of the population and the average maximum hydraulic conductivity and slope ($r^2=0.590$, $P=0.0436$, $r^2=0.816$, $P=0.0053$, respectively). The lack of genetic differentiation among populations of *P. hartwegii* in physiological traits, represent a limitation to adapt to a drier climate that will occur due to climate change. It was proposed zoning for the management of seed and plants for reforestation, which were delineated three altitudinal zones: Zone 1 from 3150 to 3350 meters, Zone 2 from 3350 to 3550 meters, and Zone 3 from 3550 to 3750 m. It is suggested to move upward altitudinal populations based on climate models for 2030, between 250 and 300 m above sea level, through a program of assisted migration, that are coupled to the climate that will occur in 2030.

Keywords: Sources, Genetic variation altitudinal *Pinus hartwegii* dry weight, total chlorophyll, chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, chlorophyll ratio *a/b*, resistance to cavitation, hydraulic conductivity specified, vulnerability curve.

INTRODUCCION GENERAL

Se ha demostrado que las poblaciones de especies de coníferas se diferencian genéticamente a lo largo de gradientes altitudinales, como respuesta a la presión de selección de variables ambientales que promueven una diferenciación entre ellas. Esta diferenciación ocurre en variables tales como tasa de crecimiento, patrón de elongación de la yema apical y resistencia a heladas (Viveros-Viveros *et al.*, 2009). La variación genética que existe entre procedencias a lo largo de un gradiente ambiental, puede significar que cada población está adaptada a una porción del gradiente ocupado por la especie, y que por lo tanto la especie tiene la capacidad de adaptarse a ambientes heterogéneos (Vitasse *et al.*, 2009).

Una herramienta útil para estimar el grado de variación genética que existe dentro de una especie son los ensayos de procedencias, donde se prueban varias fuentes de semilla. Para este tipo de ensayos, generalmente se identifican especies y procedencias con características deseables para incluirlas en programas de mejoramiento genético, restauración ecológica y adaptación al cambio climático (Isik *et al.*, 2000).

El conocimiento de los patrones de variación entre poblaciones, permite establecer zonas de colecta y áreas de conservación genética, para hacer un movimiento adecuado de semillas que permitan el mejor desarrollo de las plantas cuando éstas son establecidas en sitios diferentes a su lugar de origen (Sáenz-Romero *et al.*, 2006). Esto pone en relieve la importancia del establecimiento de ensayos de procedencias como requisito indispensable para el desarrollo de programas de reforestación, plantaciones forestales o restauración ecológica con base en la productividad de dichos ensayos de procedencias.

Los ensayos de procedencias se han utilizado en diferentes especies del género *Pinus* a lo largo de gradientes altitudinales como *Pinus oocarpa* (Sáenz-Romero *et al.*, 2006), *Pinus devoniana* (Sáenz-Romero y Tapia-Olivares, 2008), *Pinus pseudostrobus* (Viveros-Viveros *et al.*, 2005), *Pinus hartwegii* (Viveros-Viveros *et al.*, 2009), *Pinus patula* en el estado de Oaxaca (Sáenz-Romero *et al.*, 2011). En general las poblaciones que crecen en altitudes elevadas dentro del rango de distribución altitudinal de la especie, muestran menor potencial de crecimiento, con una estación de crecimiento más corta que evita los daños por

heladas. En cambio, las poblaciones que crecen a menor altitud, en condiciones de mayor temperatura promedio, desarrollan un periodo más largo de crecimiento y por tanto, un mayor potencial de crecimiento (Sáenz-Romero *et al.*, 2006, Viveros-Viveros *et al.*, 2009).

La conífera *P. hartwegii*, también conocida como pino de las alturas, es la única en México que se encuentra en el límite superior de la vegetación arbórea, a una altura de alrededor de los 2800 a 4200 msnm (Campos, 1993). Algunas de las poblaciones naturales de esta especie se encuentran seriamente amenazadas por factores naturales y antropogénicos, constituyendo en la actualidad poblaciones reducidas, fragmentadas y aisladas entre sí (Perry, 1991, López, 1993). Además de que su distribución altitudinal única y extrema hace a *P. hartwegii* una especie altamente vulnerable ante el cambio climático global, al reducir su hábitat exclusivo y hacerlo más susceptible al ataque de plagas y enfermedades, con el riesgo, inclusive de desaparecer. Por ejemplo, un aumento en la temperatura de entre 1.7 y 3 °C en las décadas futuras y una disminución en la precipitación de 10 a 365 mm en México, ocasionaría una reducción del 41.5% en relación con la superficie que ocupa actualmente (Arriaga y Gómez, 2004).

Con base en lo anterior, es necesario contar con información de la variación genética en caracteres cuantitativos y adaptivos entre poblaciones para establecer estrategias de conservación para *P. hartwegii*. Sin embargo, existe muy poca información al respecto; sólo se conocen dos estudios previos que señalan que *P. hartwegii* presenta diferenciación en características morfológicas y adaptativas a lo largo de un gradiente altitudinal (Niniz, 2005, Viveros-Viveros *et al.*, 2009), y otros tres en los que se realiza un análisis de isoenzimas (Solís e Iglesias, 2001; Iglesias y Luna, 2008, Viveros-Viveros *et al.*, 2010). Lo anterior pone en evidencia la falta de información necesaria para poder definir la mejor estrategia de manejo y conservación de la especie, lo cual es particularmente urgente ante el escenario del cambio climático global.

La tesis está dividida en tres capítulos principales: En el primero se aborda la variación genética altitudinal de la especie en caracteres cuantitativos de valor adaptativo, tales como la altura total de la planta, diámetro basal y peso seco. El segundo capítulo consiste en un análisis de resistencia a la cavitación de siete poblaciones de la especie,

ubicadas a lo largo de un gradiente altitudinal, y en el tercer capítulo se realiza un análisis de la variación entre poblaciones de contenido de clorofilas *a* y *b*.

OBJETIVOS

- Determinar la variación genética en caracteres cuantitativos y adaptativos entre poblaciones de *Pinus hartwegii* distribuidas a lo largo de un gradiente altitudinal en el estado de Michoacán.
- Revisar la zonificación altitudinal, para tener lineamientos que ayuden a decidir el movimiento altitudinal de semillas y plantas de *P. hartwegii* con fines de manejo, conservación y mejoramiento genético.

HIPOTESIS DE INVESTIGACION

La altitud es un factor de selección relevante que promueve la diferenciación genética entre poblaciones de coníferas en México, ya que en nuestro país las coníferas se distribuyen en las principales cadenas montañosas por lo tanto se espera encontrar un patrón de variación genética entre poblaciones de *P. hartwegii* asociado a un gradiente altitudinal para caracteres cuantitativos y adaptativos.

LITERATURA CITADA

- Arriaga, L. y Gómez, L. (2004). Posibles efectos del cambio climático en algunos componentes de la biodiversidad de México. *In: Cambio climático una visión desde México*. Martínez J. y Fernandez-Bremauntz. Instituto Nacional de Ecología. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México, D.F. pp: 255-265.
- Campos J.L. (1993). Claves para la determinación de pinos Mexicanos. Universidad Autónoma de Chapingo, México 22:70 p.
- Iglesias-Andreu, L. G., y Luna-Rodríguez M., (2008). Polimorfismo isoenzimático en la población de *Pinus hartwegii* Lindl. de Cofre de Perote, Ver., México. *Ecosistemas* 17: 115-122.
- Isik F., Keskin S., McKeand S.E., (2000). Provenance variation and provenance-site interaction in *Pinus brutia* Ten.: Consequences of defining breeding zones. *Silvae Genetica* 49 (4-5): 213-223.
- Niniz R., R. (2005). Variación morfológica de conos y semillas de *Pinus hartwegii* Lindley, a lo largo de un transecto altitudinal en Pico de Tancítaro, Michoacán, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán. México. 45 p.
- Perry J.P. (1991). *The Pines of Mexico and Central America*. Timber Press. Portland, Oregon, USA. 231 pp.
- Sáenz-Romero, C., Guzmán-Reyna R., and Rehfeldt G. E. (2006). Altitudinal genetic variation among *Pinus oocarpa* populations in Michoacán, México; implications for seed zoning, conservation of forest genetic resources, tree breeding and global warming. *Forest Ecology and Management* 229:340-350.
- Sáenz-Romero, C. y Tapia-Olivares B. L. (2008). Genetic variation in frost damage and seed zone delineation within an altitudinal transect of *Pinus devoniana* (*Pinus michoacana*) in Mexico. *Silvae Genetica* 57(3) 165-170.

- Sáenz-Romero, C., Ruiz-Talonia, L.F., Beaulieu, J., Sanchez-Vargas, N.M., Rehfeldt, G.E., (2011). Variation among *Pinus patula* populations along an altitudinal gradient. Two environment nursery tests. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 34:19-25.
- Solís-Ramos., L. Y., y L. G. Iglesias-Andreu. (2001). Variación en la composición isoenzimática en la población de *Pinus hartwegii* Lindl. de Pico de Orizaba, Veracruz. *Cuadernos de Biodiversidad* 3: 4-7.
- Vitasse, Y., Delzon S., Bresson C. C., Michalet R. and Kremer A. (2009). Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. *Canadian Journal of Forest Research* 39:1259-1269.
- Viveros-Viveros, H., Saenz-Romero C., López Upton J. y Vargas Hernández J. (2005). Variación genética altitudinal en el crecimiento de plantas de *Pinus pseudostrobus* Lindl. en campo. *Agrociencia* 39: 575-587.
- Viveros-Viveros, H., Sáenz-Romero C., Vargas-Hernández J. J., López-Upton J., Ramírez-Valverde G. y Santacruz-Varela A. (2009). Altitudinal genetic variation in *Pinus hartwegii* Lindl. I: Height growth, shoot phenology, and frost damage in seedlings. *Forest Ecology and Management* 257(3): 836-842.
- Viveros-Viveros, H. Tapia-Olivares B. L., Sáenz-Romero C., Vargas-Hernández J. J. López-Upton J. Santacruz-Varela A., Ramírez-Valverde G., (2010). Variación isoenzimática de *Pinus hartwegii* Lindl. en un gradiente altitudinal en Michoacán, México. *Agrociencia*. 44: 723-733.

CAPITULO I.- VARIACION GENETICA ALTITUDINAL ENTRE POBLACIONES DE *Pinus hartwegii* EN PLANTAS DE CINCO AÑOS DE EDAD

Esperanza Loya-Rebollar¹, Cuauhtémoc Sáenz-Romero¹, Nahúm M. Sánchez-Vargas¹, Roberto Linding-Cisneros², Philippe Lobit¹, Javier Villegas-Moreno³

¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (IIAF-UMSNH). Km 9.5 carretera Morelia–Zinapécuaro, C.P. 58880, Tarímbaro Michoacán, México. e-mail: camarg4@hotmail.com, csaenzromero@gmail.com, nsanchezv@yahoo.com, plobit@gmail.com.

²Centro de Investigaciones en Ecosistemas, Universidad Nacional Autónoma de México (CIEco-UNAM, Campus Morelia). Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701, Col. Ex-Hacienda de San José de La Huerta, C.P. 58190, Morelia, Michoacán, México. e-mail: rlindig@oikos.unam.mx.

³Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (IIQB-UMSNH). Edificio B-3, Ciudad Universitaria, Av. Francisco J. Mujica s/n Col. Felicitas del Río C.P. 58030, Morelia, Michoacán, México. e-mail: jvilmor@gmail.com

RESUMEN

Con el propósito de determinar la variación genética entre poblaciones de *Pinus hartwegii*, se estableció un ensayo de 13 procedencias colectadas en Pico de Tancítaro, Michoacán, a lo largo de un gradiente altitudinal, entre los 3150 msnm y 3750 msnm colectando un sitio cada 50 m. El ensayo se evaluó entre las edades de 4.5 años y de 5.5 años. Se encontraron diferencias significativas entre procedencias en: elongación total ($P=0.0008$), tasa de crecimiento ($P=0.0014$), altura final ($P=0.015$) y diámetro basal ($P=<.0001$). De la misma manera el análisis de varianza mostró diferencias significativas para las variables: peso seco de acículas ($P=<.0001$), peso seco de ramas ($P=0.0045$), peso seco del tallo ($P=0.0027$) y peso seco total ($P=0.0003$). Se encontró una asociación significativa entre los parámetros de crecimiento y la altitud de origen de las poblaciones en elongación total ($r^2=0.6958$, $P=0.0004$), tasa de crecimiento ($r^2=0.6899$, $P=0.0004$), altura final ($r^2=0.8336$, $P=<.0001$) y diámetro ($r^2=0.6715$, $P=0.0003$). También se encontró asociación significativa entre el peso seco y la altitud de origen de las poblaciones en peso seco de acículas ($r^2=0.7138$, $P=0.0003$), peso seco de ramas ($r^2=0.7356$, $P=0.0002$), peso

seco del tallo ($r^2=0.7599$, $P<.0001$) y pesos seco total ($r^2=0.7522$, $P=0.0001$). Esto indica que las poblaciones están asociadas a un gradiente altitudinal. Se propuso una zonificación para el manejo de semilla y planta para reforestación, en la que se delimitaron tres zonas altitudinales: Zona 1 de 3150 a 3350 msnm, Zona 2 de 3350 a 3550 msnm, y Zona 3 de 3550 a 3750 msnm. Se sugiere mover las poblaciones altitudinalmente hacia arriba en base a modelos climáticos para el 2030, entre 250 y 300 m de altitud, mediante un programa de migración asistida, para que estén acopladas al clima que ocurrirá en el 2030.

Palabras clave: Procedencias, Variación genética altitudinal, Peso seco, *Pinus hartwegii*.

GENETIC VARIATION AMONG POPULATIONS ALTITUDINAL *Pinus hartwegii* PLANTS IN FIVE YEARS

Esperanza Loya-Rebollar¹, Cuauhtémoc Sáenz-Romero¹, Nahúm M. Sánchez-Vargas¹,
Roberto Linding-Cisneros², Philippe Lobit¹, Javier Villegas-Moreno³

¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (IIAF-UMSNH). Km 9.5 carretera Morelia–Zinapécuaro, C.P. 58880, Tarímbaro Michoacán, México. e-mail: camarg4@hotmail.com, csaenzromero@gmail.com, nsanchezv@yahoo.com, plobit@gmail.com.

²Centro de Investigaciones en Ecosistemas, Universidad Nacional Autónoma de México (CIEco-UNAM, Campus Morelia). Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701, Col. Ex-Hacienda de San José de La Huerta, C.P. 58190, Morelia, Michoacán, México. e-mail: rlindig@oikos.unam.mx.

³Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (IIQB-UMSNH). Edificio B-3, Ciudad Universitaria, Av. Francisco J. Mujica s/n Col. Felicitas del Río C.P. 58030, Morelia, Michoacán, México. e-mail: jvilmor@gmail.com

SUMMARY

In order to determine the genetic variation among provenances of *Pinus hartwegii*, established a test of 13 provenances collected in Pico de Tancitaro, Michoacan, in an altitudinal gradient was collected in a site every 50 m, at altitudes ranging from 3150 m to 3750 m. The assay was evaluated at age 4.5 years and ended at 5.5 years. Significant

differences among provenances in: total elongation ($P=0.0008$), growth rate ($P=0.0014$), final height ($P=0.015$) and basal diameter ($P=<.0001$). Similarly the analysis of variance showed significant differences for the variables: dry weight of needles ($P=<.0001$), dry weight of branches ($P=0.0045$), stem dry weight ($P=0.0027$) and total dry weight ($P = 0.0003$). We found a significant association between growth parameters and altitude of origin of populations in total elongation ($r^2=0.6958$, $P=0.0004$), growth rate ($r^2=0.6899$, $P = 0.0004$), final height ($r^2=0.8336$, $P=<.0001$) and diameter ($r^2=0.6715$, $P=0.0003$). We also found significant association between dry weight and altitude of origin of populations in dry weight of needles ($r^2=0.7138$, $P=0.0003$), dry weight of branches ($r^2= 0.7356$, $P = 0.0002$), stem dry weight ($r^2=0.7599$, $P=<.0001$) and total dry weight ($r^2=0.7522$, $P = 0.0001$). This indicates that populations are associated with an altitudinal gradient. It was proposed zoning for the management of seed and plants for reforestation, which were delineated three altitudinal zones: Zone 1 from 3150 to 3350 m, Zone 2 from 3350 to 3550 m, and Zone 3 from 3550 to 3750 m. It is suggested to move upward altitudinal populations based on climate models for 2030, between 250 and 300 m above sea level, through a program of assisted migration, that are coupled to the climate that will occur in 2030.

Keywords: Sources, Genetic variation in altitude, biomass, dry weight, *Pinus hartwegii*.

INTRODUCCIÓN

Las evaluaciones de reforestaciones realizadas en Michoacán, estiman que la sobrevivencia de las plántulas al año siguiente de haber sido plantadas, es en promedio 37.8%. Las principales causas de mortalidad, como porcentaje, son las siguientes: selección inadecuada de la especie y procedencia (17%), sequía (15%) y heladas (14%) (SEMARNAP, 2000). Los daños por sequía y heladas muy probablemente se podrían disminuir haciendo una correcta selección de especies y procedencias adaptadas a la ocurrencia a heladas y sequías de sitios reforestados, por lo que esas dos categorías de causa de muerte podrían sumarse a la selección inadecuada de especies y procedencias, que sería entonces responsable del 46% de la mortalidad

Por esta razón es importante identificar las procedencias cuyas semillas puedan originar individuos productivos, bien adaptados a los sitios de plantación (Sáenz-Romero y Lindig-Cisneros, 2004, Sáenz-Romero *et al.*, 2010). La adaptación al cambio climático muy probablemente implicará un cambio en la distribución de las especies que habitan en los ecosistemas. Se sabe que una modificación en el área de cobertura de los tipos de vegetación, ya sea una contracción o una expansión, necesariamente traerá como consecuencia una nueva distribución espacial de las especies, así como cambios en la abundancia de aquellas más susceptibles (Peterson *et al.*, 2002).

La variación genética entre procedencias de una misma especie forestal han sido reconocidas desde hace mucho tiempo. Esas diferencias resultan de la adaptación de las especies a las distintas condiciones climáticas y edáficas de determinados hábitats. Es de esperarse que las poblaciones de una misma especie en condiciones ecológicas diferentes, puedan desarrollar diversos hábitos de adaptación a los mismos. Aun cuando la procedencia se clasifica como perteneciente a una misma especie, ésta presenta variaciones genéticas relacionadas con su adaptación a factores climáticos diferentes (Rehfeldt, 1994).

Conocer la variación genética en caracteres de importancia adaptativa es útil para establecer medidas que incrementen la productividad de las plantaciones, al mejorar el acoplamiento entre las condiciones ecológicas del sitio de plantación y las características genéticas de las plántulas. Esto facilita la toma de decisiones para acciones de conservación de especies forestales y restauración de los ecosistemas (Sáenz-Romero y Lindig-Cisneros,

2004). Si existe un patrón definido de diferenciación genética altitudinal entre poblaciones, sería recomendable desarrollar lineamientos para decidir el movimiento de semilla y plantas a través de una zonificación altitudinal definida, a fin de garantizar la adaptación de las plantas a los sitios de reforestación.

Con frecuencia, poblaciones de coníferas ubicadas a menor altitud, tienen un mayor potencial de crecimiento, por estar genéticamente condicionadas a aprovechar las condiciones favorables asociadas a las temperaturas que ocurren a bajas altitudes. En contraste, poblaciones de mayor altitud están genéticamente condicionadas a tener un menor crecimiento y de esa manera, escapar al posible daño asociado a las bajas temperaturas que ocurren en invierno, que son más comunes a mayor altura. Esto es, poblaciones de menor altitud crecen más pero son más susceptibles a heladas (Rehfeldt, 1994, Viveros-Viveros *et al.*, 2009). Este patrón de adaptación también se da entre especies, no sólo entre poblaciones (Viveros-Viveros *et al.*, 2009).

Se estima un aumento en la temperatura de entre 1.7 y 3 °C en las décadas futuras y una disminución en la precipitación de 10 a 365 mm en México, ocasionaría una reducción del 41.5% en relación con la superficie que ocupa actualmente por *Pinus hartwegii* (Arriaga y Gómez, 2004). Una alternativa sería realizar una migración asistida de *P. hartwegii*, usando semillas de poblaciones originadas a menor altitud, con un mejor potencial de adaptación para las temperaturas que ocurrirán debido al calentamiento global en un sitio dado a mayor altitud. Esto sería posible si existiera variación genética significativa entre poblaciones. Por lo tanto es imprescindible saber el patrón de variación genética entre poblaciones de *P. hartwegii*.

El objetivo del presente trabajo fue determinar si existen diferencias en el patrón de crecimiento y en la acumulación de biomasa entre procedencias de *Pinus hartwegii* provenientes de diferentes altitudes de Pico de Tancítaro, Michoacán, México, establecidas en un ensayo de jardín común (una cama elevada de crecimiento). Esto permitirá revalorar la zonificación altitudinal hecha por Viveros-Viveros (2009), con plántulas de 18 meses de edad y reacoplar las poblaciones en un escenario de cambio climático en base a la predicción de modelos climáticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Establecimiento del ensayo

En enero del 2005 se colectaron semillas de polinización libre de 13 poblaciones de *Pinus hartwegii* en el Pico de Tancítaro, Michoacán. La colecta se realizó siguiendo un gradiente altitudinal, desde los 3150 m de altitud hasta los 3750 m, con una diferencia altitudinal de 50 m entre cada sitio (Cuadro 1). Llamaremos población al conjunto de individuos pertenecientes a una procedencia y procedencia a los sitios de origen donde se colectó la semilla (Sáenz-Romero *et al.*, 2006).

Cuadro 1. Ubicación de las poblaciones de P. hartwegii colectadas a lo largo de un gradiente altitudinal en Pico de Tancítaro, Michoacán. Las altitudes han sido verificadas y corregidas (+150 m), respecto a lo publicado en Viveros-Viveros et al. (2009).

Población	Latitud (N)	Longitud (O)	Altitud (msnm)
1	19° 25.120'	102° 18.750'	3750
2	19° 25.111'	102° 18.599'	3700
3	19° 25.179'	102° 18.589'	3650
4	19° 25.046'	102° 18.331'	3600
5	19° 25.128'	102° 18.399'	3550
6	19° 25.327'	102° 18.325'	3500
7	19° 25.416'	102° 18.187'	3450
8	19° 25.722'	102° 18.123'	3400
9	19° 26.036'	102° 17.998'	3350
10	19° 26.094'	102° 17.786'	3300
11	19° 26.221'	102° 17.454'	3250
12	19° 26.292'	102° 17.252'	3200
13	19° 25.967'	102° 16.972'	3150

Las semillas germinaron en condiciones de laboratorio y posteriormente se trasplantaron a contenedores rígidos de 380 cm³ de capacidad (Broadway Plastics de México®) usando Creciroot® como sustrato. En esta etapa se evaluó la altura de la plántula a la edad de 18 meses y 22 meses de edad. A los 18 meses, también se evaluó los daños ocasionados por heladas y el porcentaje de la capacidad de las plántulas para romper el estado cespitoso (Viveros-Viveros, 2005).

Después, las plántulas fueron establecidas en un ensayo de jardín común, en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF). El ensayo consistió en dos cajones de madera de forma rectangular de 15.0 m de largo x 1.2 m de ancho x 0.6 m de alto. El sustrato estuvo compuesto de 20 cm de tezontle y encima una mezcla de 40 cm de tierra de encinar y sustrato comercial creciroot en proporción de 4:1 en volumen. Se realizaron tres riegos por semana, según lo necesario, suspendiendo los riegos en temporada de lluvias (Junio-Octubre). El diseño experimental fue de bloques completos al azar, con 13 procedencias y 6 bloques. En los extremos del cajón se plantó una hilera de planta de la misma especie, como faja de protección, para eliminar el efecto de orilla. Se usó un espaciamiento de plantación de 30 cm × 30 cm, con la finalidad de que permitiera el libre desarrollo de las plantas.

A la edad de 4 años y 7 meses, (febrero del 2010) justo antes del inicio de elongación de yemas apicales, se evaluó la altura total de la planta (mm) cada 15 días y después cada tres semanas, hasta cuando terminó la elongación (agosto del 2010). Se evaluó la altura al milímetro con una regla de madera de 100 cm, usando una base de aluminio para estandarizar las mediciones. También se evaluó diámetro a la base (mm) al término de la elongación en agosto del 2010, para lo cual se utilizó un vernier digital.

En diciembre del 2010, cuando las plantas tenían una edad de 5 años 5 meses, se realizó la cosecha de la planta para determinar peso seco. Se separó en bolsas de papel, acículas, tallo y ramas, para posteriormente secarlas en un horno de secado (Feliza®, México) durante 72 horas a una temperatura de 60°C. Los tallos de gran tamaño se fragmentaron para facilitar su secado. Posteriormente en laboratorio se evaluó el peso seco, utilizando una balanza analítica (Ohaus® con 0.00 g de precisión, Canadá).

Análisis de datos

Para los parámetros de crecimiento se ajustó una función logística para el crecimiento (altura total) para cada planta individual, con el procedimiento NLIN de SAS, (SAS, Institute, 2004; Sáenz-Romero *et al.*, 2012). Utilizando el siguiente modelo:

$$P_i = (1 / (1 + e^{(\beta_0 + \beta_1 X + \beta_2 (1 / X))})) Z$$

Donde: P_i = observación en la planta (altura total); β_0 , β_1 y β_2 = parámetros de regresión y X = fecha de medición (día juliano) y Z = elongación total (mm).

En base a los valores predichos por el modelo logístico, para cada planta, se estimó: día en el que 2 mm de crecimiento se ha producido (inicio del crecimiento), día en que todo menos 2 mm de crecimiento se ha producido (fin del crecimiento), elongación en milímetros por día en el que se ha producido entre el 20% y el 80% de elongación total (tasa máxima de crecimiento), lapso de tiempo entre el comienzo del crecimiento y el final del crecimiento (duración del crecimiento). Con base en los valores observados, se estimó la diferencia entre la altura final y la altura inicial (elongación total) y altura final de la planta a los 5.5 años de edad.

Para determinar si hubo diferencias significativas entre procedencias, se realizó un análisis de varianza para cada una de las variables evaluadas, con el procedimiento PROC GLM de SAS (SAS Institute, 2004). Se utilizó el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + \beta_i + \tau_j + \beta_i * \tau_j + \varepsilon_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} = valor promedio de la ijk -ésima unidad experimental, μ = media general, β_i = efecto del i -ésimo bloque, τ_j = efecto de la j -ésima población, $\beta_i * \tau_j$ = interacción del i -ésimo bloque con la j -ésima población y ε_{ijk} = error experimental. Poblacion y bloque se consideran efectos aleatorios.

La contribución a la varianza total de cada componente se estimó utilizando PROC VARCOMP, con el método REML (SAS Institute, 2004).

Se realizó un análisis de regresión con el procedimiento REG de SAS (SAS Institute, 2004) para determinar si existió una relación entre el promedio por procedencia y la altitud de donde proceden, con la finalidad de determinar si existe un patrón de diferenciación altitudinal. Se utilizó el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 X_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde Y_{ij} = media de la población, β_0 = interceptada, β_1 = pendiente, X_i = altitud (m) de la i -ésima procedencia, y ε_{ij} = error.

Una vez que se demostró que existió diferenciación genética altitudinal entre procedencias, y que ésta diferenciación siguió un patrón altitudinal, se procedió a construir una zonificación altitudinal para decidir el movimiento de semillas de *P. hartwegii*. Lo anterior se realizó estimando la diferencia altitudinal necesaria para considerar dos poblaciones genéticamente diferentes.

Esto se realizó estimando las diferencias mínimas significativas entre las medias por procedencia, mediante la diferencia múltiple de medias (DMS, $\alpha = 0.20$), con la siguiente ecuación:

$$DMS = t_{\alpha/2, g.l.=N-k} \sqrt{(CME)/n}$$

En donde $t = t$ de Student; $\alpha =$ error alfa (0.2); g. l. = grados de libertad, $N =$ tamaño total de muestras; $k =$ número de poblaciones comparadas; $CME =$ cuadrado medio del error, $n =$ tamaño de muestra promedio por población.

La delimitación altitudinal se realizó usando un modelo de regresión lineal, en donde a partir de la diferencia mínima significativa entre dos poblaciones para un carácter cuantitativo (en este caso), se intercepta la línea de regresión lineal predicha entre el promedio por población del carácter y la altitud de origen de la procedencia. Esto se hizo trazando una línea empezando de la población de menor altitud en el eje de la variable peso seco total y paralelo al eje de las X. A partir de esta línea se trazó la siguiente línea paralela a una distancia de 80g sobre el eje Y, que equivale a la Diferencia Mínima Significativa (DMS, $\alpha=0.2$). Posteriormente, los límites de cada zona altitudinal se establecieron de manera gráfica; en el punto en que las líneas horizontales tocan los valores predichos por el modelo de regresión, se trazaron líneas perpendiculares para encontrar su valor correspondiente en el eje de las X (altitud en m de las procedencias).

Modelación climática

Para obtener las estimaciones del clima contemporáneo y las predicciones de clima para el año 2030, se ingresaron los datos para cada sitio en donde se colectó *P. hartwegii*, de

longitud, latitud y altitud en el siguiente vínculo de internet <http://forest.moscowfsl.wsu.edu/climate/index.html> (Crookston, 2011). Los Modelos de Circulación Global fueron: Canadiense, Hadley y Física de Fluidos (GFDL), en dos tipos de escenarios de emisiones: A, elevadas emisiones o escenario “pesimista”; B, bajas emisiones o escenario “optimista” (Saenz-Romero *et al.*, 2010; Crookston, 2011). La estimación climática se hizo para el clima contemporáneo (1961-1990) y para un escenario de clima futuro (2030). Para cada procedencia se tomó el promedio de los tres modelos con sus dos escenarios para el año 2030 y se estimó la temperatura media anual (TMA), precipitación media anual (PMA), índice anual de aridez (IAA). Utilizando la siguiente fórmula:

$$IAA = \frac{\sqrt{DD5}}{PMA}$$

Donde IAA= índice de aridez anual, DD5 = grados día >5°C (son sumas de temperatura diarias mayores a 5° C a lo largo del año), y PMA = precipitación media anual en mm.

Posteriormente se realizó un análisis de regresión (Proc Reg de SAS) entre el IAA calculado para el clima contemporáneo y para el año 2030 contra la altitud de origen de las procedencias; para determinar la altitud a la cuál ocurrirá un valor similar de IAA en el año 2030 para cada sitio en donde actualmente ocurre una población y decidir un posible desplazamiento altitudinal de las poblaciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza de las variables relacionadas al crecimiento mostró diferencias significativas entre poblaciones para las variables elongación total (P=0.0008), tasa de crecimiento (P=0.0014), altura final (P=0.015) y diámetro (P<.0001) (Cuadro2). No se encontraron diferencias significativas entre bloques, ni diferencias significativas para la interacción bloque por procedencia (Cuadro 2). Este patrón de diferenciación genética

también se encontró en plántulas de *P. pseudostrobus* a los 2 años de edad establecidas en un ensayo de jardín común en Moscow, Idaho, USA en altura final (P=0.0760) (Sáenz-Romero *et al.*, 2012).

De la misma manera el análisis de varianza mostró diferencias significativas entre poblaciones en peso seco de acículas (P=<.0001), peso seco de ramas (P=0.0045), peso seco de tallo (P=0.0027) y peso seco total (P=0.0003) a los 5.5 años de edad (Cuadro 2). De la misma manera, en un estudio en plántulas de 2 años de edad de *P. pseudostrobus* establecidas en un ensayo de jardín común también se encontraron diferencias significativas en acumulación de biomasa entre procedencias en peso seco en acículas, tallo y total (Sáenz-Romero *et al.*, 2012).

Cuadro 2. Porcentaje de contribución a la varianza total (%) y significancia (P) a la edad de 5.5 años de 13 procedencias de Pinus hartwegii.

Variable	Población		Bloque		Bloque*Proc.		Error %
	%	P	%	P	%	P	
Elongación total	20.87	0.0008	1.59	0.1941	12.31	0.1194	65.22
Inicio crecimiento	0.00	0.5132	3.90	0.2879	17.06	0.0568	78.99
Fin del crecimiento	0.00	0.7458	6.96	0.1535	0.04	0.2549	92.99
Duración crecimi.	0.00	0.6408	6.56	0.3824	14.82	0.0437	78.62
Tasa crecimiento	14.18	0.0014	3.33	0.0842	0.00	0.775	82.47
Altura final	63.06	0.0150	2.58	0.1348	15.94	0.1297	18.40
Diámetro basal	23.31	<.0001	1.73	0.1737	0.00	0.8649	74.95
Peso seco acículas	17.20	<.0001	3.87	0.0931	0.00	0.9898	78.90
Peso seco ramas	12.29	0.0045	2.60	0.261	0.00	0.963	85.10
Peso seco tallos	13.60	0.0027	0.00	0.5125	0.00	0.9754	86.40
Peso seco total	16.30	0.0003	0.99	0.3772	0.00	0.9857	82.70

Valores significativos en negritas.

En el análisis de regresión se encontró una asociación significativa entre la elongación total ($r^2=0.0004$, P=0.6958), tasa de crecimiento ($r^2=0.6899$, P=0.0004), altura final ($r^2=0.8336$, P=<.0001) y diámetro ($r^2=0.6715$, P=0.0003) con la altitud de origen de la procedencia, en donde poblaciones de menor altitud presenta mayor elongación, mayor tasa

de crecimiento, mayor altura y cesan su crecimiento más tarde que las poblaciones de mayor altitud (Fig. 1, 2, 3 y 4). Esto concuerda con estudios anteriores a edades tempranas (7 y 18 meses de edad), donde se encontraron regresiones significativas pero menos pronunciadas entre altura de planta a los 7 y 18 meses de edad y la altitud de origen ($r=0.71$ y $r=0.53$, respectivamente) (Viveros-Viveros *et al.*, 2009).

De la misma manera, que para los parámetros de crecimiento, se encontró una asociación significativa entre el peso seco de acículas ($r^2=0.7138$, $P=0.0003$), peso seco de ramas ($r^2=0.7356$, $P=0.0002$), peso seco de tallo ($r^2=0.7599$, $P=0.0001$) y peso seco total ($r^2=0.7522$, $P=0.0001$) y la altitud de origen de la procedencia, en donde las poblaciones de menor altitud tiene mayor acumulación de biomasa que las poblaciones de mayor altitud. (Fig. 5, 6, 7 y 8). Esto indica que las poblaciones están genéticamente diferenciadas entre sí. Esta diferenciación genética en un gradiente altitudinal aparentemente se debe a la respuesta a la presión de selección de variables ambientales que promueven una diferenciación entre poblaciones.

Esto coincide con resultados previos, en los que se ha demostrado que poblaciones que crecen en altitudes elevadas dentro del rango de distribución altitudinal de la especie, tienen un patrón de crecimiento más conservador, con una estación de crecimiento más corta que evita los daños por heladas. En cambio, las poblaciones que crecen a menor altitud, en condiciones de mayor temperatura promedio, desarrollan un periodo más largo de crecimiento y por tanto, un mayor potencial de crecimiento (Sáenz-Romero *et al.*, 2006; Viveros-Viveros *et al.*, 2009).

Sin embargo, las variables evaluadas muestran una separación de las poblaciones en dos grupos a partir de los 3300 m de altitud, en donde existe similitud entre poblaciones originadas entre 3150 y 3300 m de altitud y aparentemente existe otra agrupación entre los 3350 y 3750 m de altitud. Esto es particularmente evidente para las variables elongación total (Figura 1), diámetro basal (Figura 4) y variables de peso seco (Figuras 5 a 8). Este patrón posiblemente se deba a que las poblaciones de baja altitud (3150 a 3300 msnm) pudieran estar hibridizando con poblaciones de *P. montezumae*. Se ha demostrado que *P. hartwegii* está estrechamente relacionado con *P. montezumae* y en ocasiones hibridizan en la parte baja de la distribución de *P. hartwegii* (Matos y Schaal, 2000).

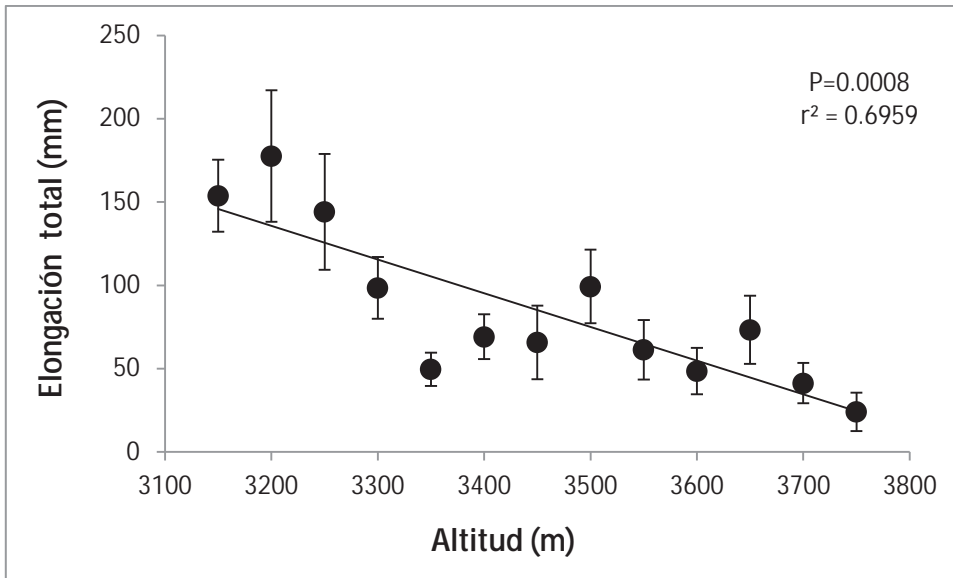


Figura 1. Relación entre el promedio por población de la elongación total con la altitud de origen de las procedencias. Las líneas verticales indican error estándar.

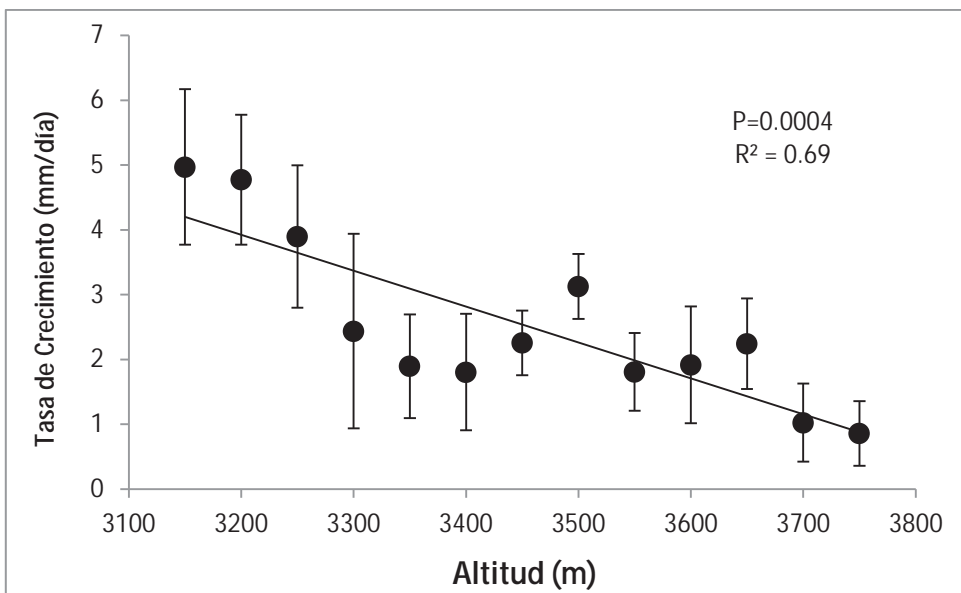


Figura 2. Relación entre el promedio por población de la tasa de crecimiento entre el 20% y 80% total de crecimiento con la altitud de origen de las procedencias. Las líneas verticales indican error estándar.

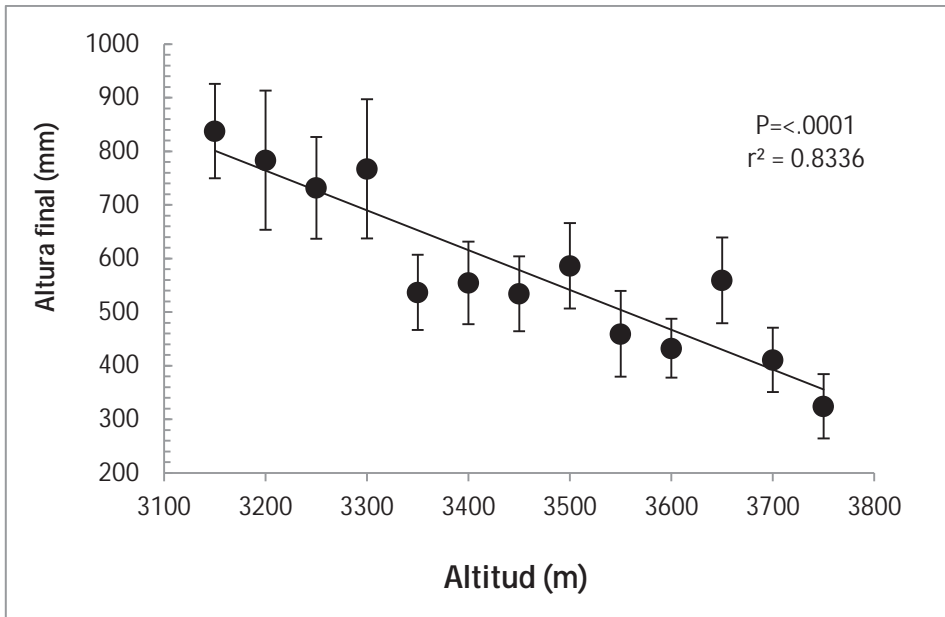


Figura 3. Relación entre el promedio por población del crecimiento final con la altitud de origen de las procedencias. Las líneas verticales indican error estándar.

Las variables inicio y fin de crecimiento no mostraron diferencias significativas entre procedencias ($P=0.5132$; $P=0.07458$, respectivamente), sin embargo la regresión con la altitud es significativa ($r^2=0.4435$, $P=0.0130$; $r^2=0.5705$, $P=0.0028$, respectivamente) (Figura 4 y 5).

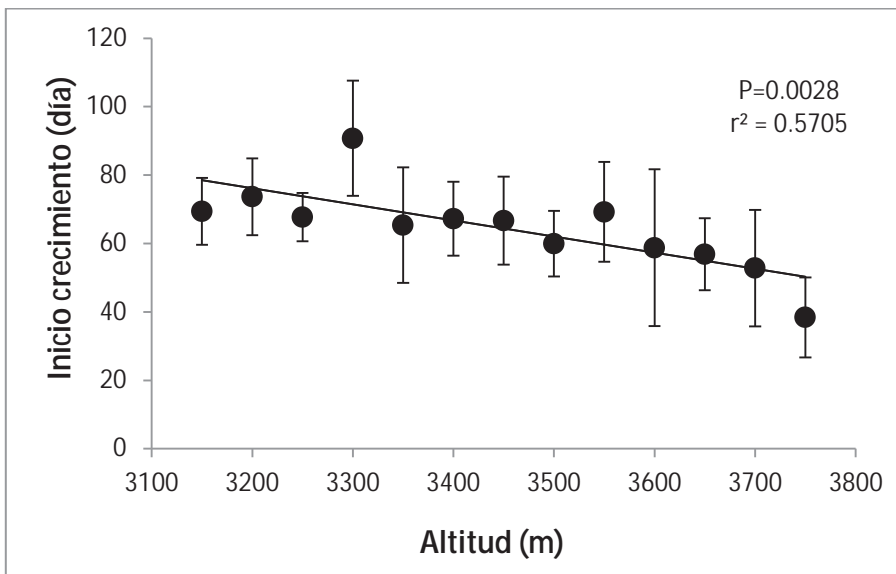


Figura 4. Relación entre el promedio por población del inicio de crecimiento con la altitud de origen de las procedencias. Las líneas verticales indican error estándar.

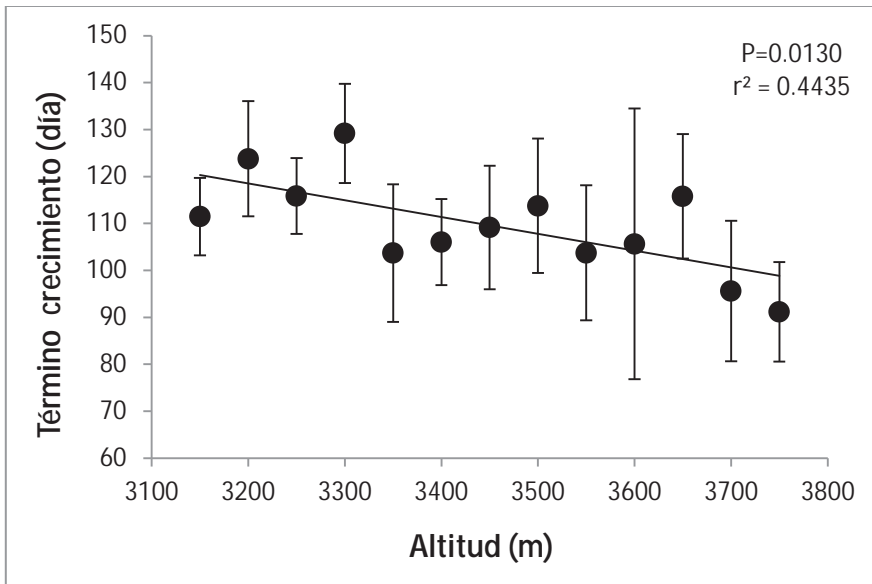


Figura 5. Relación entre el promedio por población del término de crecimiento con la altitud de origen de las procedencias. Las líneas verticales indican error estándar.

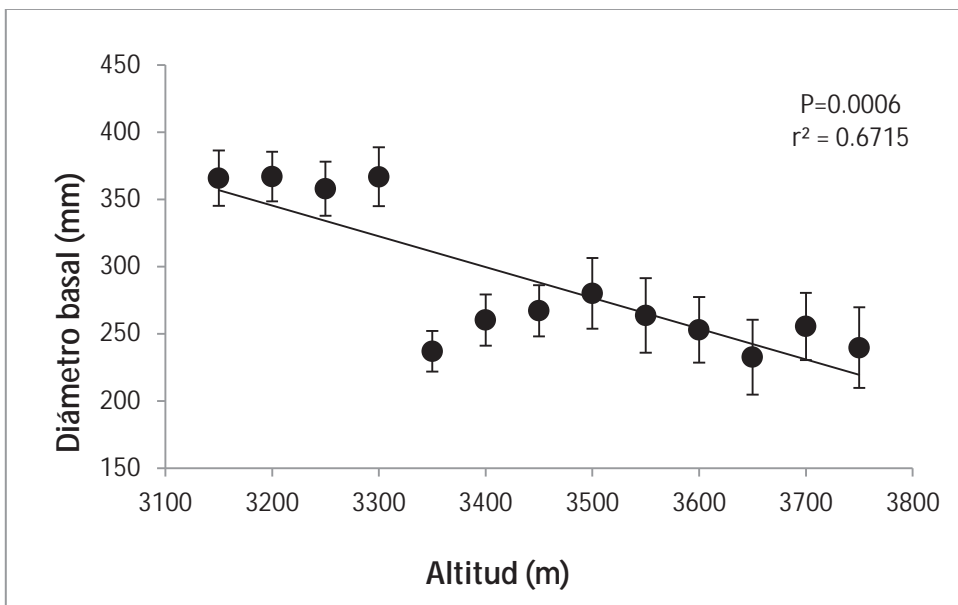


Figura 4. Relación entre el promedio por población del diámetro basal con la altitud de origen de las procedencias. Las líneas verticales indican error estándar.

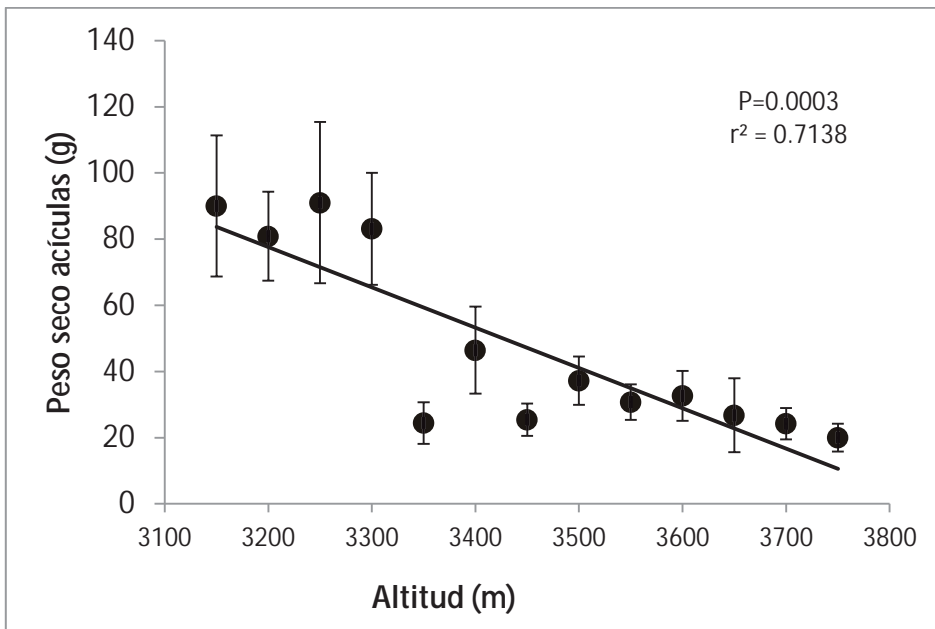


Figura 5. Relación entre el promedio por población del peso seco de las acículas con la altitud de origen de las procedencias. Las líneas verticales indican el error estándar.

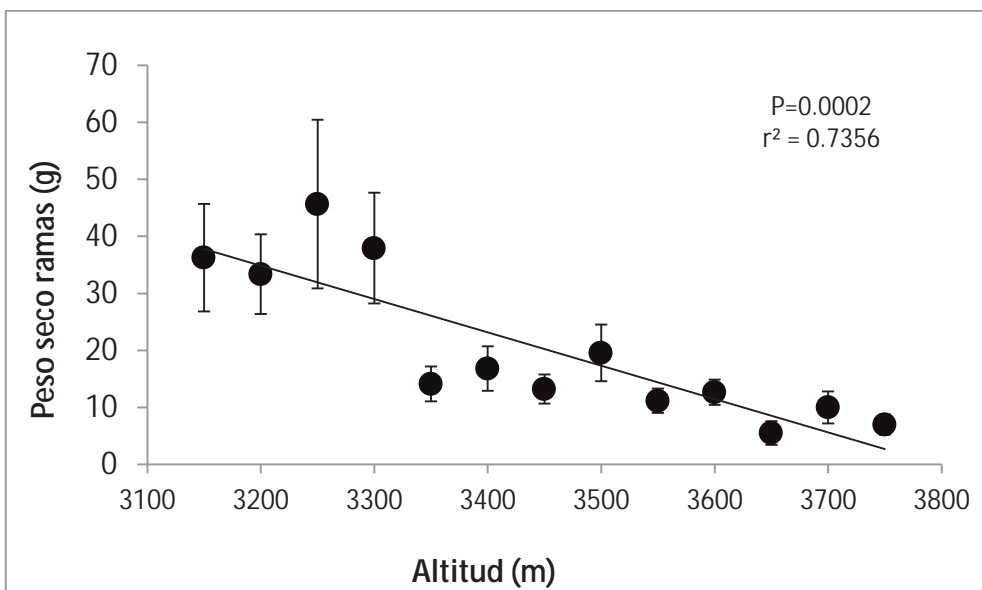


Figura 6. Relación entre el promedio por población del peso seco de las ramas con la altitud de origen de las procedencias. Las líneas verticales indican el error estándar.

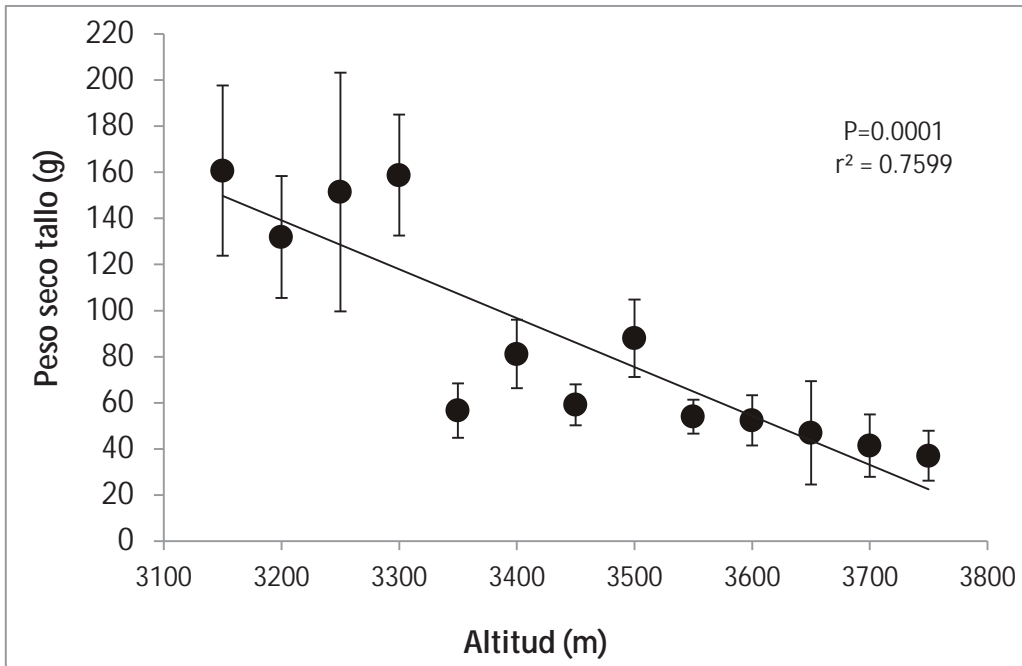


Figura 7. Relación entre el promedio por población del peso seco del tallo con la altitud de origen de las procedencias. Las líneas verticales indican error estándar.

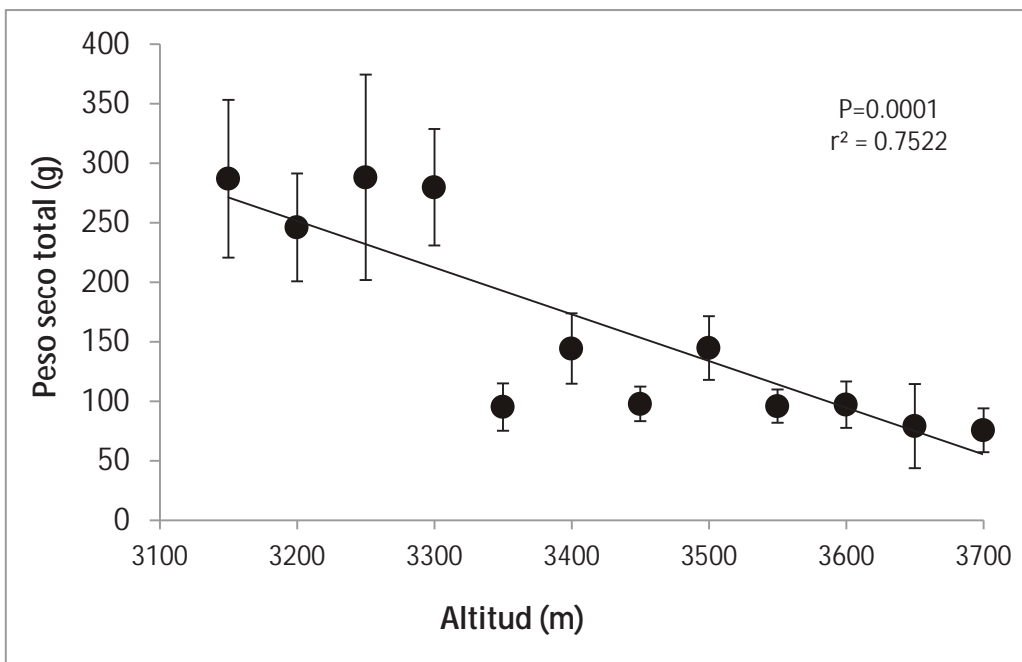


Figura 8. Relación entre el promedio por población del peso seco total con la altitud de origen de las procedencias. Las líneas verticales indican error estándar.

Zonificación altitudinal

Para el manejo adecuado de semillas de *P. hartwegii* se propone una zonificación altitudinal. Para esta propuesta se utilizaron los datos de peso seco total, ya que éste presentó diferencias altitudinales significativas entre procedencias, además de un patrón altitudinal bien definido y estadísticamente significativo. El valor de la diferencia mínima significativa (DMS, $\alpha = 0.2$) entre procedencias para altura de planta fue de 80.2 g. Esto equivale a que una diferencia altitudinal de 204.3 m, hace que dos poblaciones sean genéticamente significativas.

Para considerar la amplitud total de la distribución de la especie en la zona y facilitar el uso de la zonificación, se redondearon los límites altitudinales a 200 m de amplitud. Se delimitaron tres zonas, cada una de 200 m altitudinales de amplitud, que quedaron como sigue: zona 1 de 3150 a 3350 msnm, Zona 2 de 3350 a 3550 msnm, y zona 3 de 3550 a 3750 msnm (Cuadro 3). Esta nueva zonificación tiene bandas altitudinales mas estrechas en intervalo de altitud que la zonificación de *P. hartwegii* hecha con plántulas de 18 meses de edad, donde se delimitaron dos zonas, Zona 1 de 3000 a 3350 msnm, Zona 2 de 3350 a 3700 msnm, con intervalos altitudinales de 350 m (Viveros-Viveros *et al.*, 2009).

Cuadro 3. Límites altitudinales de las tres zonas semilleras de *P. hartwegii*

Zona	Limite altitudinal (m)		Rango (m)
	Inferior	Superior	
1	3150	3350	200
2	3350	3550	200
3	3550	3750	200

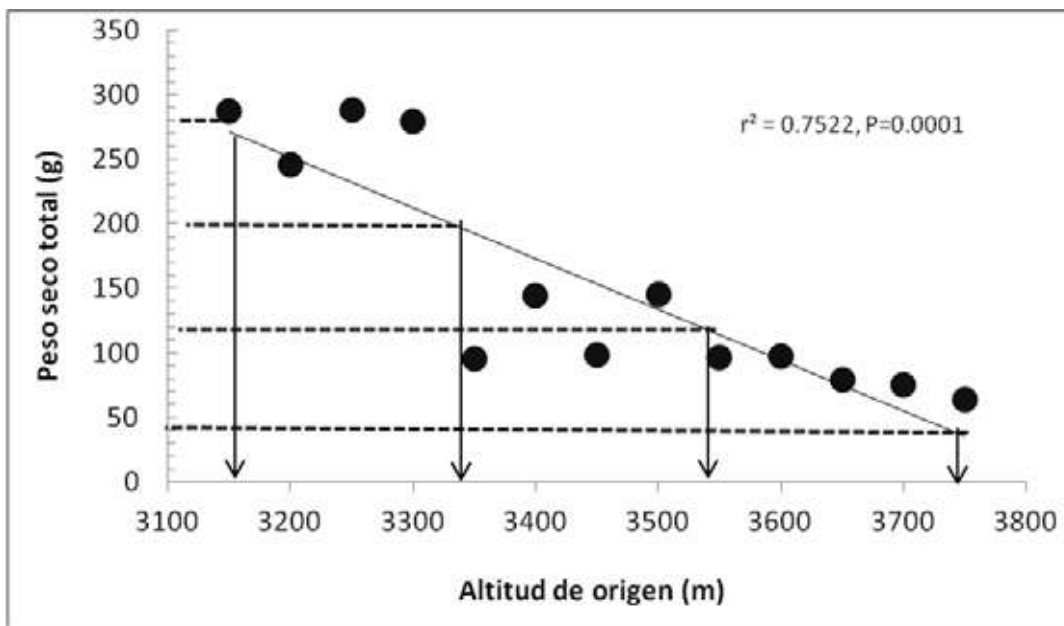


Figura 9. Límites y rangos altitudinales para tres zonas semilleras de *P. hartwegii* en Pico del Tancítaro Michoacán. La flecha y las líneas horizontales revelan la distancia de Diferencia Mínima Significativa (DMS) = 80 g, a partir de 280 g, en el eje Y. Las líneas verticales indican los límites de cada zona de acuerdo a la DMS.

Usos de la zonificación altitudinal

Para fines de restauración ecológica, la semilla colectada en una zona semillera se debe utilizar dentro de la zona en que se colectó, y/o en un intervalo altitudinal a partir del sitio en donde se colectó de ± 100 m, que corresponde a la mitad de la anchura del intervalo altitudinal de cada zona semillera. Sin embargo, esta recomendación se hace ignorando los efectos del cambio climático. Con el calentamiento global se espera que las temperaturas cambien y tiendan a subir 1.5 °C para el año 2030 (Sáenz-Romero *et al.*, 2010).

Con el fin de prevenir los efectos negativos de una baja adaptación de las poblaciones a un futuro escenario de calentamiento global, más cálido y más seco, se recomienda desplazar la semilla altitudinalmente hacia arriba solamente. Lo que sugieren varios estudios es el desplazamiento latitudinal y altitudinal de los rangos de distribución de las poblaciones, particularmente de aquellas especies que se distribuyen en hábitats montañosos, y propone una hipótesis según la cual la distribución las plantas se está desplazando o restringiendo a las partes más altas (Rehfeldt, 2006). Aparentemente, esto ha

facilitado la migración altitudinalmente hacia arriba de poblaciones de plantas, aunque el desplazamiento ha sido menor que el necesario para que las poblaciones se mantengan acopladas al clima (Lenoir *et al.*, 2008).

Modelación climática

El análisis de regresión entre la altitud de las procedencias y el IAA contemporáneo ($r^2 = 0.9997$, $P \leq 0.0000$) y IAA futuro (2030) ($r^2 = 0.9997$, $P=0.0000$) fue altamente significativo, con un patrón altitudinal donde, a mayor altitud, menor es el índice de aridez (clima más frío y húmedo), mientras que a menor altitud mayores el índice de aridez (climas más cálidos y secos), siendo el IAA una variable climática que determina de manera importante el patrón altitudinal del comportamiento de las procedencias (Figura 10 y 11) un patrón similar presenta la temperatura media anual con la altitud de las procedencias (Figura 11) (Sáenz-Romero *et al.*, 2010).

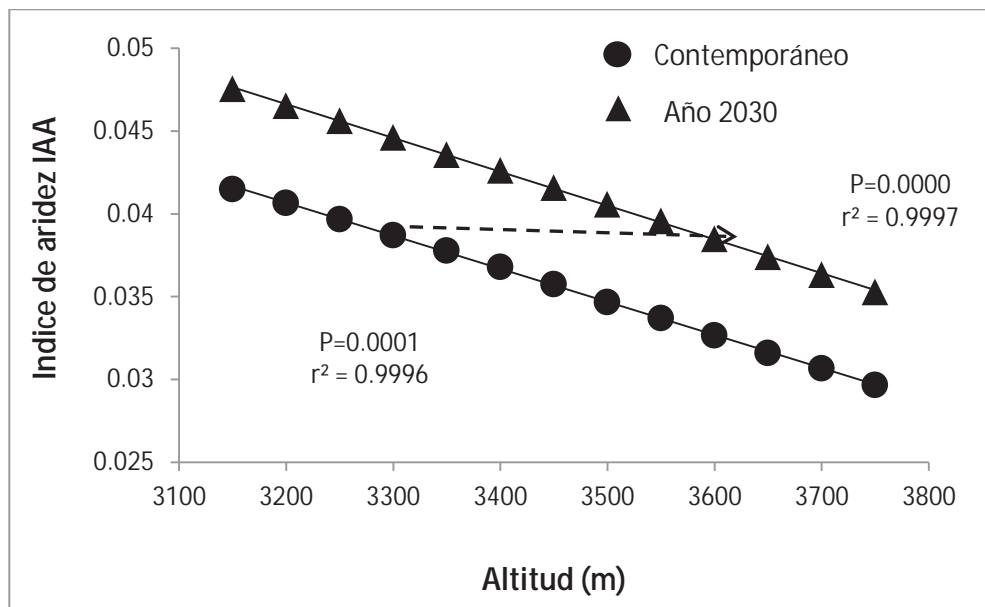


Figura 10. Relación entre índice de aridez contemporáneo y futuro (2030) contra la altitud de los sitios de origen de las procedencias de *P. hartwegii*. La flecha horizontal indica el desplazamiento altitudinal necesario para mantener acopladas las poblaciones al clima para el cual están adaptadas.

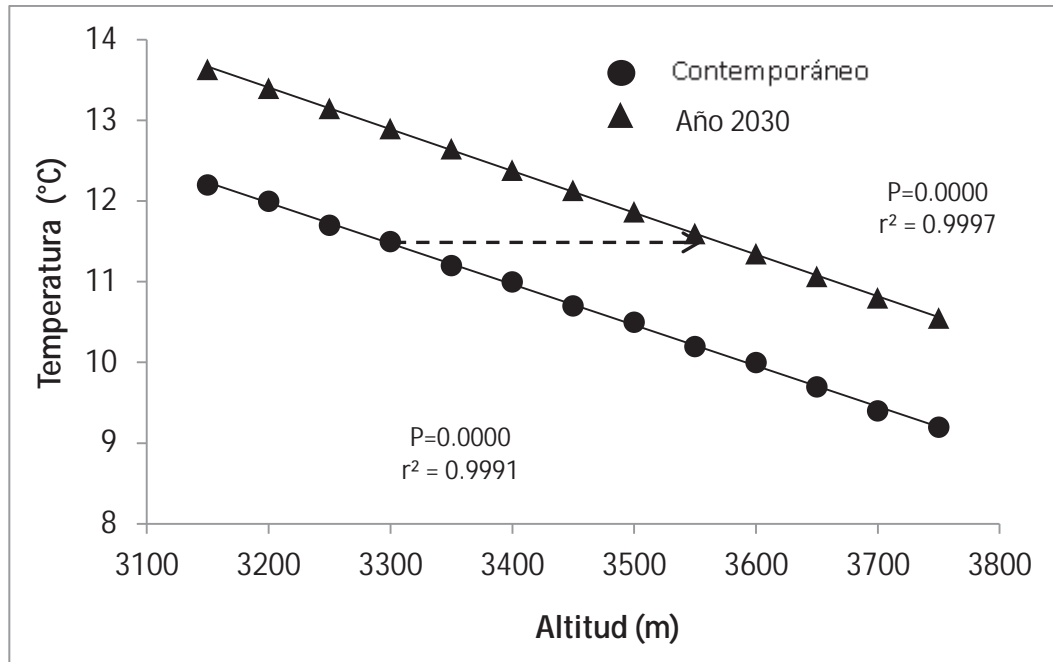


Figura 11. Relación entre temperatura contemporánea y futuro (2030) contra la altitud de los sitios de origen de las procedencias *P. hartwegii*.

Según las estimaciones con los modelos climáticos, para el año 2030 las poblaciones de *P. hartwegii* deberá moverse altitudinalmente hacia arriba entre 250 y 300 metros, para establecerse en sitios con condiciones climáticas similares a las que se encuentran ubicadas actualmente, considerando el valor de IAA y temperatura como un indicador del clima (Fig. 10 y 11). Sin embargo, los procesos evolutivos para llevar a cabo dichos ajustes, tales como la migración natural, requieren de periodos de tiempo mayores que los que son posibles esperar, dada la velocidad a la que ocurre el cambio climático.

Por ello es necesario la transferencia de semilla de los lugares en donde se localizan actualmente a sitios en donde ocurrirá su clima óptimo futuro (Tchebankova et al., 2005). Sin embargo, un desplazamiento altitudinal hacia arriba excesivo, podría implicar un riesgo de daño por heladas (Sáenz-Romero y Tapia- Olivares, 2008). Por lo anterior, se sugiere desplazar altitudinalmente hacia arriba 300 m a partir del sitio de colecta para compensar el incremento de de temperatura de 1.5 °C esperado para el año 2030, mediante un programa

de migración asistida, para que las poblaciones estén acopladas al clima para el cual están adaptadas y así evitar el estrés y eventualmente la desaparición de las mismas.

Sin embargo para el caso de *P. hartwegii* que habita en el límite superior de la vegetación arbórea en las montañas de gran altitud en México, se limitan sus opciones para realizar una migración asistida a altitudes más elevadas, porque ya se encuentra en la cima de las montañas, como es el caso en Pico de Tancítaro, estado de Michoacán, donde su límite es de 3800 msnm de altitud (Viveros-Viveros *et al.*, 2009), y en estos casos la migración tendría que hacerse a montañas con una elevación más alta como los volcanes Popocatepetl e Iztaccíhuatl.

CONCLUSIONES

Existe diferenciación genética entre poblaciones, para las variables de crecimiento en elongación total, tasa de crecimiento, altura final y diámetro basal de la planta a los 5 años de edad. No se encontró diferenciación significativa entre poblaciones para inicio y fin de crecimiento, así como tampoco duración del crecimiento.

Existe diferenciación genética entre poblaciones, para las variables de biomasa medido como peso seco de acícula, peso seco de ramas, peso seco de tallo y peso seco total.

La diferenciación entre poblaciones siguió un patrón altitudinal definido y estadísticamente significativo para las variables de crecimiento, diámetro basal y biomasa, según el cual las procedencias originadas a elevaciones más bajas muestran una elongación mayor, tasa de crecimiento mayores, mayor altura final y diámetro basal, así como mayor acumulación de biomasa, que en las plantas originadas de elevaciones altas.

Se delimitaron tres zonas altitudinales, cada una de 200 m altitudinales de amplitud, con los límites siguientes: zona 1 de 3150 a 3350 msnm, Zona 2 de 3350 a 3550 msnm, y zona 3 de 3550 a 3750 msnm, para fines de manejo y conservación.

Para el 2030, los modelos climáticos predicen un aumento y desplazamiento altitudinal de la temperatura (250 m hacia arriba) y del índice de aridez (300 m hacia arriba) lo que sugiere que las poblaciones sufrirán un desacoplamiento al clima para el cual están

adaptadas. Se recomienda mover las poblaciones hacia arriba entre 250 y 300 m de altitud, mediante un programa de migración asistida, para que estén acopladas a su temperatura así evitar el estrés y desaparición de las mismas.

LITERATURA CITADA

- Arriaga, L. y Gómez, L. (2004). Posibles efectos del cambio climático en algunos componentes de la biodiversidad de México. *In: Cambio climático una visión desde México*. Martínez J. y Fernandez-Bremauntz. Instituto Nacional de Ecología. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México, D.F. pp: 255-265.
- Lenoir, J., Gégout J. C., Marquet P. A., Ruffray P., Brisse H. (2008). A significant upward shift in plant species optimum elevation during the 20th century. *Science* 320: 1768-1771.
- López-Upton, J. (1993). Variación de características morfológicas en conos y semillas de *Pinus greggii*. *Agrociencia. Serie Recursos Naturales Renovables*. Montecillo, México 1(3):81-95.
- Matos, J. A. and Schaal, B. A. (2000). Chloroplast evolution in the *Pinus montezumae* complex: a coalescent approach to hybridization. *Evolution* 54(4): 1218-1233.
- Peterson, A. T., Ortega-Huerta, M. A., Bartley, J., Sanchez-Cordero, V., Soberón, J., Buddemeier R. H., Stockwell, R. B., (2002). Future projections for Mexican faunas under global climate change scenarios. *Nature* 416: 626-629.
- Rehfeldt, G. E. (1994). Evolutionary genetics, the biological species, and the ecology of the interior Cedar-Hemlock Forests. *In: Ecology and Management*. Department of Natural Resource Sciences, Washington State University, Pullman, Washington USA. Spokane, 2-4 marzo 1993.
- Rehfeldt, G. E., Tchebakova N. M., Parfenova Y. I., Wykoff W. R., Kusmina N.A. and Milyutin L. I. (2002). Intraespecific responses to climate in *Pinus sylvestris*. *Global Change Biology* 8: 912-929.

- Rehfeldt, G. E. (2006). A spline model of climate for the Western United States. Gen. Tech. Rep. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station. 21p.
- Sáenz-Romero, C. y Lindig-Cisneros, R. (2004). Evaluación y propuestas para el programa de reforestación en Michoacán, México. *Ciencia Nicolaíta* 37:107-122.
- Sáenz-Romero, C., Guzmán-Reyna R., and Rehfeldt G. E. (2006). Altitudinal genetic variation among *Pinus oocarpa* populations in Michoacán, México; implications for seed zoning, conservation of forest genetic resources, tree breeding and global warming. *Forest Ecology and Management* 229:340-350.
- Sáenz-Romero, C. y Tapia-Olivares B. L. (2008). Genetic variation in frost damage and seed zone delineation within an altitudinal transect of *Pinus devoniana* (*Pinus michoacana*) in Mexico. *Silvae Genetica* 57(3) 165-170.
- Sáenz-Romero, C., Rehfeldt G. E., Crookston N. L., Duval P., St-Amant R., Beaulieu J. and Richardson B. A. (2010). Spline models of contemporary, 2030, 2060 and 2090 climates for Mexico and their use in understanding climate-change impacts on the vegetation. *Climatic change*.
- Sáenz-Romero, C., G. E. Rehfeldt, J. C Soto-Correa., S. Aguilar-Aguilar, V. Zamarripa-Morales y López-Upton. J. (2012). Altitudinal genetic variation among *Pinus pseudostrobus* populations from Michoacán, Mexico. Two location shadehouse test results. Artículo sometido.
- SAS Institute Inc (2004) SAS/STAT Computer Software. Release 9.1. SAS Institute Inc, Cary, North Carolina, 3rd Edition.
- Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, Subsecretaría de Recursos Naturales, Programa Nacional de Reforestación (SEMARNAP). (2000). Evaluación de las reforestaciones de 1999 en el Estado de Michoacán. Reporte interno. México D.F., SEMARNAP, 18 p.

- Villers, L., y Trejo I. (2004). Evaluación de la vulnerabilidad en los ecosistemas forestales. En: Cambio Climático: una Visión desde México. J. Martínez y A. Fernández-Bremauntz (comps). Instituto Nacional de Ecología. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. México, D.F. pp: 255-265.
- Vitasse, Y., Delzon S., Bresson C. C., Michalet R. and Kremer A. (2009). Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. *Canadian Journal of Forest Research* 39:1259-1269.
- Viveros-Viveros, H., Sáenz-Romero, C., López Upton, J. y Vargas Hernández, J. (2005). Variación genética altitudinal en el crecimiento de plantas de *Pinus pseudostrobus* Lindl. en campo. *Agrociencia* 39: 575-587.
- Viveros-Viveros, H., Sáenz-Romero, C., Vargas-Hernández, J.J., y López-Upton, J., (2006). Variación entre procedencias de *Pinus pseudostrobus* establecidas en dos sitios en Michoacán, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29(2):121-126.
- Viveros-Viveros, H., Sáenz-Romero C., Vargas-Hernández J. J., López-Upton J., Ramírez-Valverde G. y Santacruz-Varela A. (2009). Altitudinal genetic variation in *Pinus hartwegii* Lindl. I: Height growth, shoot phenology, and frost damage in seedlings. *Forest Ecology and Management* 257(3): 836-842.

CAPITULO 11.- EVALUACIÓN PREELIMINAR DE LA VARIACIÓN GENÉTICA ALTITUDINAL EN LA RESISTENCIA A LA CAVITACION ENTRE PROCEDENCIAS DE *Pinus hartwegii* EN PLATAS DE CINCO AÑOS DE EDAD

Esperanza Loya-Rebollar^{1*}, Sylvain Delzon², Andrés Plaza-Aguilar², Régis Burlett², Lamy Jean-Baptiste², Philippe Lobit¹, Cuauhtémoc Sáenz-Romero¹

¹Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (UMSNH-IIAF). Km 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro. 58880, Tarímbaro, Michoacán, México. Tel: (443) 334-0475 ext. 118, Fax ext. 200.

²INRA - Université de Bordeaux, UMR 1202 BIOGECO, F-33610 Cestas, France.

RESUMEN

La resistencia a la cavitación es una característica hidráulica que desempeña un papel importante en la supervivencia de poblaciones durante la sequía. Con la finalidad de determinar de manera preliminar la resistencia a la cavitación en un gradiente altitudinal de poblaciones de *Pinus hartwegii*, se evaluaron 7 procedencias colectadas entre los 3150 y 3700 m de altitud, a partir de muestras de ramas de un ensayo de procedencias de *Pinus hartwegii* a la edad de cinco años. La resistencia a la cavitación (P_{50} , pérdida del 50% de conductividad hidráulica), no mostró diferencias significativas entre poblaciones, ni la pendiente de la curva de vulnerabilidad ($P=0.3038$; $P=0.2445$, respectivamente). Hubo diferencias significativas entre poblaciones en la conductividad hidráulica específica (K_s) ($P=0.0039$). Además de una asociación significativa entre la altitud de origen de la población y los promedios de la conductividad hidráulica máxima y de la pendiente ($r^2=0.590$; $P=0.0436$; $r^2=0.816$; $P=0.0053$, respectivamente), en donde las poblaciones de menor altitud presentan mayor K_s , y pendiente que poblaciones de mayor altitud. La falta de diferenciación genética entre poblaciones de *P. hartwegii* en la resistencia a la cavitación, representan una limitación para adaptarse a un clima más seco que se espera debido al cambio climático.

Palabras clave: Procedencias, Variación altitudinal, Resistencia a la cavitación, Conductividad hidráulica específica.

ALTITUDINAL GENETIC VARIATION FOR RESISTANCE TO CAVITATION AMONG *Pinus hartwegii* PROVENANCES ON 5-YEAR-OLD-SEEDLINGS

Loya-Rebollar Esperanza^{1*}, Delzon Sylvain², Plaza-Aguilar Andrés², Burlett Régis², Lamy Jean-Baptiste², Lobit Philippe¹, Sáenz-Romero Cuauhtémoc¹

¹Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (UMSNH-IIAF). Km 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro. 58880, Tarímbaro, Michoacán, México. Tel: (443) 334-0475 ext. 118, Fax ext. 200.

²INRA - Université de Bordeaux, UMR 1202 BIOGECO, F-33610 Cestas, France.

*camarg4@hotmail.com, csaenzromero@gmail.com

ABSTRACT

The resistance to cavitation is a feature hydraulic plays an important role in the survival of populations during drought. In order to determine cavitation resistance in a altitudinal gradient of *Pinus hartwegii* populations. Were evaluated, 7 provenance collected along an altitudinal transect (3150 to 3700 m), from Pico de Tancítaro, Michoacán, from samples of branches of a *Pinus hartwegii* provenance test at five years age. Cavitation resistance (P_{50} , xylem pressure inducing 50% loss of hydraulic conductance) did significant differences among provenances ($P = 0.3038$) and not show significant differences among provenances for slope ($P=0.2445$). There was significant differences among specific hydraulic conductance (k_s) ($P = 0.0039$). However, there were a significant association between k_s values and the elevation of the provenance and slope ($r^2=0.590$; $P=0.0436$; $r^2=0.816$; $P=0.0053$, respectively), where low altitude populations show larger k_s values. The lack of genetic differentiation among *P. hartwegii* populations for P_{50} , represent a limitation for adapting to a climate drier that will occur due to the ongoing climatic change.

Key words: *Pinus hartwegii*, provenances, altitudinal variation, cavitation resistance, specific hydraulic conductance, slope, maximal conductance.

INTRODUCCIÓN

El estado de Michoacán posee importantes recursos forestales por su cantidad, diversidad e importancia económica. Ocupa el tercer lugar nacional en producción de madera y el primer lugar nacional en la producción de resina (COFOM, 2002). Sin embargo, modelos de cambio climáticos indican que esto se verá seriamente afectado por un aumento de temperatura del 1.4°C y una disminución de precipitación del 8.8%, para el año 2030, lo cual traerá como consecuencia un incremento de la aridez (Sáenz-Romero *et al.*, 2009). El hecho de que Michoacán será un estado más árido de lo que es actualmente, necesariamente tendrá impactos muy negativos en la producción forestal del estado. Además de que con eventos climáticos extremos, más frecuentes y severos, las especies forestales estarán cada vez más estresadas (Aitken *et al.*, 2008, Rehfeldt *et al.*, 2012).

En situaciones de estrés hídrico o estrés por elevadas temperaturas, la conductividad hídrica, se ve afectada a causa de las limitaciones físicas en el transporte xilemático. Según la teoría de cohesión-tensión, el agua es extraída del suelo hacia las hojas para reponer la que se evapora a través de los estomas. El transporte de agua en el xilema es impulsado por gradientes de presión. Cuando la transpiración es alta, las presiones negativas en el agua pueden causar cavitación (embolias) en el xilema. Tales embolias pueden bloquear el transporte de agua y dan lugar a graves déficits de agua en la hoja. El déficit de agua es muy común en las plantas, lo que exige una serie de respuestas de adaptación que modifican la fisiología y el desarrollo de las plantas (Taiz y Zeiger, 2003)

El estrés hídrico inducido por el clima es causa indirecta de mortalidad de árboles, debido a efectos agudos y de breve duración, tales como la interrupción irreversible de la columna de agua presente en el interior del tronco y las hojas, inducido por cavitación. La resistencia y vulnerabilidad de las especies de árboles a la cavitación es un factor clave para la supervivencia y resistencia durante la sequía.

Se ha constatado que especies con diferentes susceptibilidades a la cavitación, y por tanto capaces de operar en condiciones de sequía con márgenes de seguridad hidráulica muy diferentes, coexisten en ambientes secos (Vilagrosa *et al.*, 2003). Sin embargo, aunque la pérdida de conductividad hidráulica con la sequía es un buen indicador de los límites de

tolerancia de una especie, una mayor resistencia a la cavitación no siempre está acompañada de una mayor supervivencia ante la sequía en condiciones de campo (Vilagrosa *et al.*, 2003). Esto indica que la supervivencia en condiciones de déficit hídrico es el resultado de toda una serie de características morfo-funcionales, dentro de las cuales la arquitectura hidráulica es un factor muy importante. Además, hay períodos o etapas del desarrollo, como el estadio de plántula, donde las especies pueden ser particularmente más sensibles a un estrés determinado. El conocimiento de los mecanismos de resistencia al estrés, contribuye a comprender los procesos evolutivos implicados en la adaptación de las plantas a un ambiente adverso y eventualmente, ayuda a la respuesta de las plantas al incremento de la adversidad asociada al cambio climático global.

Pinus hartwegii se distribuye en climas templados, subhúmedos, mesotermos, con lluvias deficientes en invierno, del tipo Cwc (semifríos húmedos con veranos cortos) (García *et al.* 2002). La temperatura media anual de los sitios donde se encuentra esta conífera varía entre 7.5 y 10 °C, con una precipitación media anual cercana a los 1000 mm (Lauer, 1978). *Pinus hartwegii* Lindl. se encuentra en los picos de las montañas más altas de México y parte de Centro América, siendo más frecuente en la Sierra Nevada. Se ubica entre los 16° 20' y los 25° 03' de latitud norte, y entre los 92° 20' y los 103° 55' de longitud oeste. Su distribución altitudinal abarca de los 3000 a los 4000 msnm (Perry, 1991).

El crecimiento de esta especie está limitado principalmente por las condiciones ambientales predominantes en dichas zonas (bajas temperaturas) (García *et al.* 2002; Viveros-Viveros *et al.*, 2009). Su distribución altitudinal única y extrema hace a *P. hartwegii* una especie altamente vulnerable a futuros escenarios de estrés hídricos. Los cambios en los patrones de lluvia propuestos por los modelos de cambio climático seguramente afectarán a corto plazo a la supervivencia de poblaciones de árboles. Por esta razón son necesarios trabajos de investigación para conocer la respuesta de estas poblaciones al cambio de los patrones de precipitación previsto (Saenz-Romero *et al.*, 2010; Rehfeldt *et al.*, 2012).

Para mitigar los potenciales efectos negativos del calentamiento global en *P. hartwegii* es necesario establecer estrategias de conservación de los recursos genéticos de la

especie. Para esto es necesario conocer las causas y la magnitud de adaptación local, la distribución de la variabilidad genética entre y dentro de poblaciones, así como las fuerzas evolutivas que operan en las poblaciones de la especie y las consecuencias relativas de estas fuerzas sobre la divergencia entre y dentro de poblaciones (Lynch *et al.*, 1998). Sin embargo, hasta donde sabemos no existe ningún trabajo para *P. hartwegii* sobre resistencia a la cavitación, aun cuando es un proceso implicado en los muerte regresiva causada por acontecimientos extremos como sequía o heladas (Brodrribb y Cochard, 2009). Esta es información necesaria para que este carácter sea incorporado en programas de manejo y conservación de poblaciones, para tener una comprensión más profunda de los mecanismos evolutivos implicados en la tolerancia a la sequía y cómo aprovechar eventualmente su variación genética en programas de mejoramiento.

El objetivo del presente trabajo es determinar de manera preliminar si existe un patrón altitudinal en *Pinus hartwegii* en la resistencia a la cavitación. Además de identificar las procedencias que resisten mejor la cavitación a fin de seleccionar poblaciones para las condiciones ambientales futuras cada vez más cálidas y secas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estableció un ensayo de procedencias de corta duración, en las instalaciones del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF-UMSNH), Morelia Michoacán México, con 13 procedencias de *Pinus hartwegii*, provenientes del Pico de Tancítaro, Michoacán, México. Las poblaciones se colectaron siguiendo un gradiente altitudinal, desde los 3150 msnm de altitud hasta los 3750 msnm, con una diferencia altitudinal de 50 m entre cada sitio (Cuadro 1).

El ensayo consistió en dos cajones de madera de forma rectangular de 15.0 m de largo x 1.2 m de ancho x 0.6 m de alto; 20 cm de tezontle, 20 cm de tierra de encinar y 20 cm de turba de musgo (peat moss), perlita expandida y vermiculita en proporción de 2:1:1 en volumen. Realizando riegos diarios, según lo necesario suspendiendo los riegos en temporada de lluvias (Junio-October). El diseño experimental fue de bloques completos al azar, con 13 procedencias y 6 bloques. En los extremos del cajón se plantó una hilera de planta de la misma especie, como faja de protección, para eliminar el efecto de orilla. Se

usó un espaciamento de plantación de 30 cm × 30 cm, con la finalidad de que permitiera el libre desarrollo de las plantas.

Cuadro 1. Ubicación de las poblaciones de P. hartwegii colectadas a lo largo de un gradiente altitudinal en el Pico del Tancitaro, Michoacán. Las altitudes han sido verificadas y corregidas (+ 150 m), respecto a lo publicado en Viveros-Viveros et al. (2009).

Población	Latitud (N)	Longitud (O)	Altitud (msnm)	Número de individuos	Número de muestras
3	19° 25.179'	102° 18.589'	3650	2	2
7	19° 25.416'	102° 18.187'	3450	1	1
9	19° 26.036'	102° 17.998'	3350	1	1
10	19° 26.094'	102° 17.786'	3300	4	4
11	19° 26.221'	102° 17.454'	3250	6	7
12	19° 26.292'	102° 17.252'	3200	7	8
13	19° 25.967'	102° 16.972'	3150	6	7

Se utilizó para el caso de este estudio únicamente 7 poblaciones, porque no había plántulas con las dimensiones requeridas (con ramas de longitud mayor a 28 cm y no menores a 0.9 cm en diámetro). Por lo cual el tamaño promedio de muestra fue de 4.6 por individuos por población y 1.2 ramas por individuo.

Las muestras usadas para determinar vulnerabilidad a la cavitación y conductancia hidráulica fueron colectadas por la mañana en Diciembre 2010, a los 5 años de edad de las plantas. Se utilizaron ramas laterales de la planta totalmente expuestas al sol, colectados de 7 procedencias de *Pinus hartwegii* (Cuadro 1).

Las acículas fueron removidas de las ramas. Las ramas ya sin acículas se etiquetaron, se envolvieron con toallas de papel húmedo, y se guardaron en refrigeración en bolsas “ziploc” e inmediatamente después se enviaron a Francia, donde se determinó la vulnerabilidad a la cavitación en la plataforma de nuevos fenotipos de alto rendimiento para las características hidráulicas (CavitPlace de la Universidad de Bordeaux, Talence, Francia; <http://sylvain-delzon.com/caviplace>). Las muestras se mantuvieron en condiciones húmedas y frías (3 °C), hasta que se midió la resistencia a la cavitación tres semanas

después de la recolección. Antes de la evaluación, todas las ramas fueron cortadas bajo el agua a una longitud estándar de 27 cm, y la corteza se retiró con una navaja de afeitar.

Resistencia a la cavitación

La cavitación del xilema se evaluó con el Cavatron, una técnica de centrifugación siguiendo el procedimiento descrito por Cochard (Cochard, 2002; Cochard *et al.*, 2005). La fuerza centrífuga se utilizó para establecer la presión negativa en el xilema y el agua para provocar el estrés inducido por la cavitación, utilizando un rotor en forma de panal hecho a su medida (Precis 2000, Bordeaux, Francia) montado en una centrifuga de alta velocidad (RC5 Sorvall, EE.UU.). Esta técnica permite la medición de la conductividad hidráulica de una rama a presión negativa. La presión del xilema (P_i) se estableció primero a una presión de referencia (-0.5 MPa) y la conductancia hidráulica (K_i) se determinó midiendo el flujo de una solución iónica de referencia (10 mmol dm^{-3} , KCl mmol dm^{-3} y CaCl_2 en agua desionizada) a través de la muestra. La velocidad de centrifugado se fijó a un valor más alto durante 3 minutos, para exponer la muestra a una presión más negativa. La conductividad se midió cuatro veces en cada paso, y el promedio se utilizó para calcular el porcentaje de pérdida de la conductividad del xilema (PLC en %). El PLC se determinó en cada aumento de presión según la ecuación:

$$PLC = 100 \times \left(1 - \frac{k_i}{k_{\max}} \right)$$

Donde: PLC es el porcentaje de pérdida de la conductividad del xilema, K_i es la conductividad hidráulica, K_{\max} corresponde a la conductividad hidráulica máxima medida a baja velocidad.

El procedimiento se repitió por lo menos para ocho medidas de presión, con un incremento de -0.5 MPa hasta que el PLC alcanzara al menos el 90%. La velocidad del rotor se controla con un taquímetro de resolución electrónica de 10 rpm y la presión del xilema se ajustó a aproximadamente -0.02 MPa. Se utilizó el Cavisoft software (version 2.0, BIOGECO de la Universidad de Bordeaux) para las mediciones de conductividad y el cálculo de todas las curvas de vulnerabilidad (VC).

El porcentaje de pérdida de la conductancia del xilema en función de la presión del xilema (MPa) representa la curva de vulnerabilidad de la muestra (VC). Una función sigmoide (Pammenter y Van der Willigen, 1998) ajustando la pendiente de la curva de vulnerabilidad de cada muestra mediante la siguiente ecuación:

$$PLC = \frac{100}{\left[1 + \exp\left(\frac{S}{25} * (P - P_{50})\right) \right]}$$

Donde P_{50} (MPa) es la presión del xilema al inducir un 50% la pérdida de la conductancia y S (% MPa-1) es la pendiente de la curva de la vulnerabilidad en el punto de inflexión. La conductividad hidráulica específica del xilema (K_S , m^2 MPa-1 s-1) se calculó como K_{max} dividido por el área del vaso del xilema de la muestra.

Análisis estadísticos

Para determinar si existió diferencias significativas entre procedencias, se realizó un análisis de varianza para cada una de las variables evaluadas, con el procedimiento (GLM de SAS, 2004). Se utilizó el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde: Y_{ij} = valor del j -ésimo individuo de la i -ésima población, μ = media general, τ_i = efecto de la j -ésima población y ε_{ij} = error experimental. Los componentes de varianza fueron estimados mediante el procedimiento VARCOMP de SAS (SAS Institute, 2004), usando el método de máxima verosimilitud restringida (REML).

Se realizó un análisis de regresión (Procedimiento REG de SAS) para determinar si existe una relación entre la resistencia promedio por población a la cavitación de la planta y la altitud de origen de la procedencia, con la finalidad de determinar si existe un patrón de diferenciación altitudinal. Se utilizó el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 X_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde Y_{ij} = media de la población, β_0 = intercepción, β_1 = parámetro de regresión, X_i = altitud de origen de la *i-ésima* población, y ε_{ij} = error.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza no mostró diferencias significativas entre procedencias en la resistencia a la cavitación (presión del xilema para inducir 50% de pérdida de la conductividad hidráulica), medido como P_{50} ($P=0.3038$) (Cuadro 2). El P_{50} promedio por población tuvo valores que van desde -3.2 a -3.7 (Figura 1).

En el análisis de varianza no mostró diferencias significativas en la pendiente de la curva de vulnerabilidad ($P = 0.2445$). Sin embargo existe una asociación significativa entre la altitud de origen y la pendiente de la curva de vulnerabilidad ($r^2=0.8160$; $P= 0.0053$). (Figura 2).

El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre procedencias en la conductividad hidráulica específica (K_s) ($P=0.0039$) (Cuadro 2), además de una asociación significativa entre la altitud de origen y la conductividad hidráulica máxima ($r^2=0.5900$; $P=0.0436$) (Figura 3).

*Cuadro 2. Porcentaje de contribución a la varianza total (%) y nivel de significancia (P) en el análisis de varianza de P_{50} , K_s , y Pendiente, a la edad de 5 años de 10 procedencias de *Pinus hartwegii*.*

Variable	Procedencia		Error
	%	P	%
P_{50}	9.1	0.3038	90.9
Pendiente	8.6	0.2445	91.4
K_s	47.4	0.0039	52.6

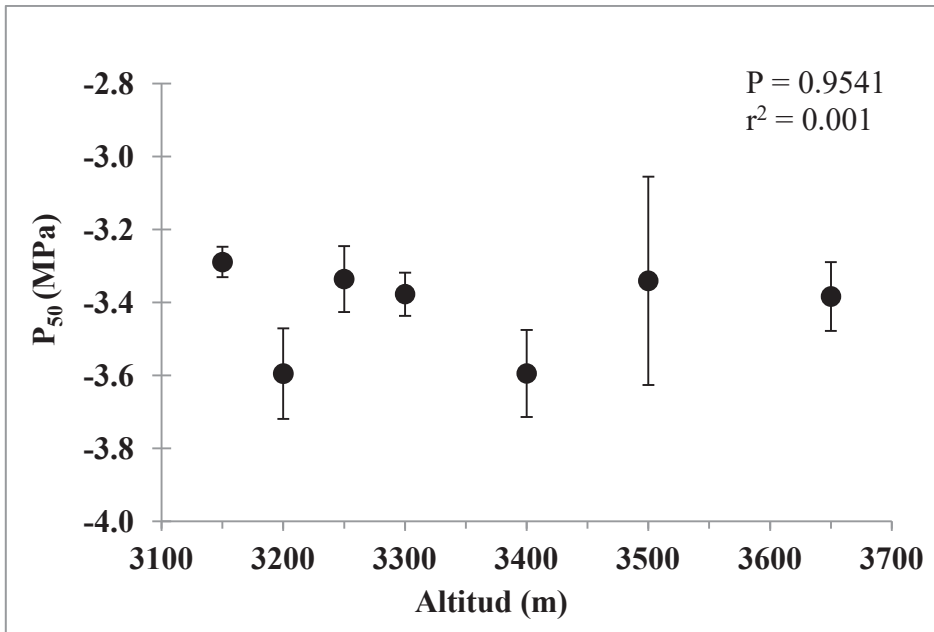


Figura 1. Relación entre la pérdida del 50% de la conductividad (P_{50}) promedio por población con la altitud de origen de siete procedencias de *Pinus hartwegii*. Las líneas verticales corresponden al error estándar.

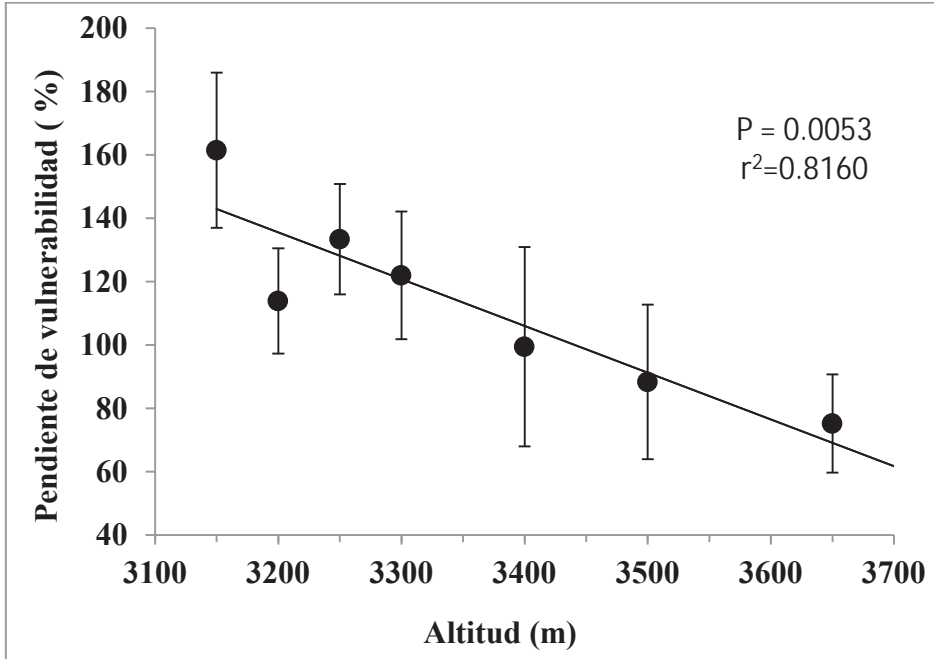


Figura 2. Relación entre la pendiente promedio por población con la altitud de origen de siete procedencias de *Pinus hartwegii*. Las líneas verticales corresponden al error estándar.

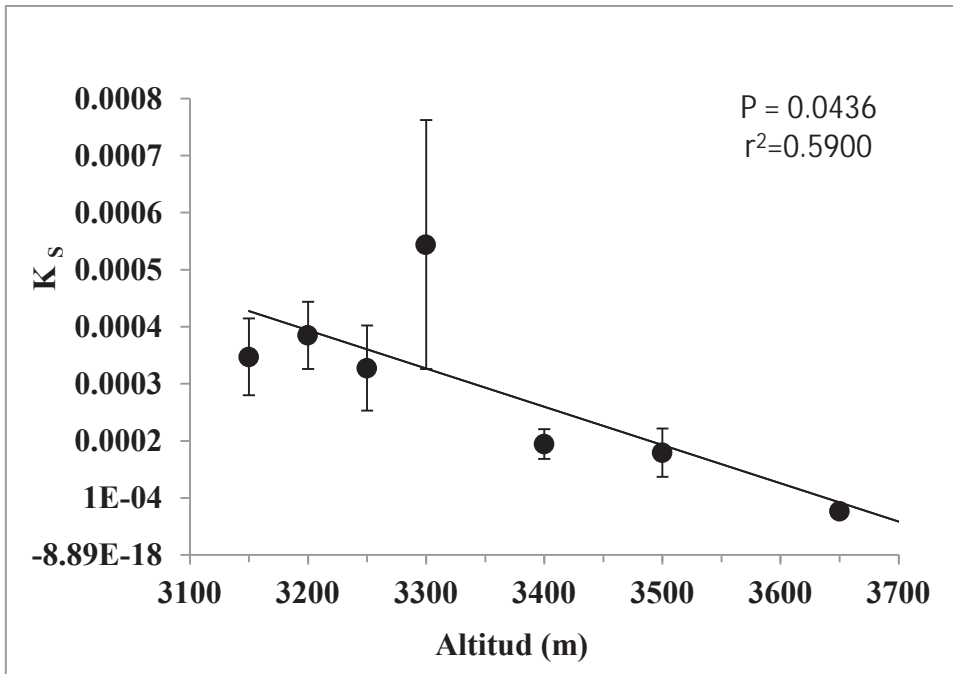


Figura 3. Relación entre el K_s promedio por población con la altitud de origen de 7 procedencias de *Pinus hartwegii*. Las líneas verticales corresponden al error estándar.

Los valores de P_{50} encontrados (-3.25 a -3.74), son valores similares a *Pinus albicaulis*, una conífera del norte de los Estados Unidos y sur de Canadá con distribución en el límite altitudinal superior arbóreo (Delzon *et al.*, 2010), lo cual es similar al hábitat ecológico de *Pinus hartwegii*. Estos resultados están dentro del intervalo de valores de otros estudios hechos en coníferas, donde la resistencia a la cavitación presenta valores desde -3 hasta -12 MPa en 40 especies coníferas (Delzon *et al.*, 2010). De la misma manera ocurre con especies del bosque tropical seco con valores de P_{50} de -0.18 a -14.1 MPa, (Maherali *et al.*, 2004).

Los valores de cavitación para *Pinus hartwegii* sugieren que es una de las especies dentro del grupo de las coníferas con realmente poca resistencia a la cavitación (valores negativos más cercanos al cero que a valores más extremos negativos), por lo tanto, poco resistente a condiciones de estrés hídrico. Esto pudiera poner a las poblaciones de *P. hartwegii* en una situación de mayor vulnerabilidad para enfrentar el incremento de aridez por el cambio climático. Sáenz-Romero *et al.*, (2010) sugieren la migración asistida para

especies forestales hacia mayores altitudes. Sin embargo, para el caso de las poblaciones de Michoacán, dado que esta especie habita hasta la cumbre de Pico de Tancítaro, no se podrán mover las poblaciones a altitudes mayores a la altitud de la cima (3860 msnm) (García *et al.*, 2002). Por tanto, la migración se tendrá que hacer hacia otras montañas más altas del país, como son el Volcán de Colima, Nevado de Toluca, Popocatepetl, Iztaccíhuatl, la Malinche y Pico de Orizaba.

Si bien el tamaño de muestra del presente trabajo es pequeño, hay que tomar en cuenta que en otros trabajos (Delzon *et al.*, 2010; Lamy *et al.*, 2011) utilizan muestras pequeñas por especie. Según algunos artículos para las especies los valores de P_{50} prácticamente no cambia entre poblaciones, pero sí entre especies. Se han hecho estudios donde la misma especie con diferente condición ambiental (sequía o humedad) presentan el mismo valor para la resistencia a la cavitación. Además de estar muy bien adaptadas a sus condiciones ambientales por ejemplo *Juniperos osteosperma* y *Juniperus scopulorum* con valores de P_{50} por arriba de -10 son de climas secos, lo cual los hace muy resistente a la sequia; por otro lado, *Pinus cembra*, *Pinus albicaulis* y *Pinus sylvestris* con valores en P_{50} no mayores a -5, que son originarios de condiciones ambientales húmedas son poco resistentes a la sequia.

Aparentemente, existe cierto grado de acoplamiento entre las poblaciones y los ambientes a los cuales están adaptadas, ya que a medida que aumenta la altitud, K_s y pendiente disminuyen. Los valores de estos parámetros son directamente relacionados al tamaño de los vasos. A altitudes bajas, probamente los vasos son homogéneos y grandes (pendiente baja), por tanto existe mayor conductividad; por otro lado a altitudes altas, los vasos son heterogéneos y pequeños (pendiente alta), con menor conductividad pero mayor resistencia a la cavitación, ya que los vasos pequeños son más difíciles de embolizar, debido a que la resistencia a la cavitación es proporcional al tamaño del vaso (Delzon *et al.*, 2010), y poblaciones con traqueidas amplias son más vulnerables a la cavitación.

Las poblaciones muestran diferentes estrategias hídricas en relación a la altitud de donde procede la semilla. Las poblaciones que presentan conductividades hidráulicas bajas fueron las de mayores altitudes. En un estudio hecho con tres especies de pino (*Pinus*

nigra, *P. pinaster* y *P. sylvestris*) se encontró que a pesar de las diferencias significativas en la mortandad debida a la sequía, la conductividad hidráulica máxima y la vulnerabilidad a las embolias eran prácticamente idénticas en las tres especies (Martínez-Vilalta y Piñol, 2002). En nuestro caso el riesgo de cavitación sería mayor para poblaciones de altitudes bajas durante periodos de sequía.

CONCLUSIONES

Los valores de P_{50} para *P. hartwegii* oscilaron entre -3.25 y -3.73, lo cual coloca a esta especie como poco resistente a la cavitación. No se encontraron diferencias significativas entre poblaciones en la resistencia a la cavitación, y por tanto no existió diferenciación genética significativa entre poblaciones para esta característica. Tampoco hubo diferencias significativas para la pendiente de la curva de vulnerabilidad, sin embargo, se presenta una correlación significativa con la altitud de origen de la procedencia.

Existió diferenciación genética entre poblaciones para K_s . además de una regresión significativa, en donde las plantas de poblaciones originadas a elevaciones más bajas mostraron valores mayores de conductividad hidráulica específica (K_s), que en las plantas originadas de elevaciones altas.

LITERATURA CITADA

- Aitken S. N., Yeaman J. A., Holliday T., Wang and Curtis-McLane S. (2008). Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations. *Evolutionary Applications* 1:95-111.
- Allen C.D., (2009). Muerte regresiva del bosque inducida por el clima: ¿un fenómeno mundial en aumento? *Revista Internacional de Silvicultura e Industrias Forestales*. Vol. 60231/232
- Brodribb T.J, Cochard H. (2009) Hydraulic failure defines the recovery and point of death in water-stressed conifers. *Plant Physiology* 149: 575-584.
- Cochard H., (2002) A technique for measuring xylem hydraulic conductance under high negative pressures. *Plant Cell and Environment* 25: 815-819.

- Cochard H., Damour G., Bodet C, Tharwat I., Poirier M, Ameglio T. (2005) Evaluation of a new centrifuge technique for rapid generation of xylem vulnerability curves. *Physiologia Plantarum* 124:410–418.
- Comisión Forestal del Estado de Michoacán (COFOM). 2002. Informe técnico de ejecución para la instrumentación en el Estado de Michoacán del Programa Nacional de Reforestación PRONARE. Morelia, Michoacán, México, COFOM. 14 p.
- Delzon S., Douthe C., Sala A., Cochard H. (2010). Mechanism of water-stress induced cavitation in conifers: bordered pit structure and function support the hypothesis of seal capillary-seeding. *Plant, Cell and Environment* 33: 2101-2111.
- García Ruiz I, Nava Velázquez J, Flores Ruiz R.E., Cházaro Ruiz M., Machuca Núñez J.A., del Rio Núñez E., (2002). Flora del Parque Nacional Pico de Tancítaro, Michoacán. Gobierno del Estado/Secretaría de Urbanismo y Medio Ambiente/Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (IPN)/CONABIO. Morelia, Michoacán, México 135 p.
- Lauer W., (1978). Timberline studies in central Mexico. *Artic Alpine Res.* 10: 383–396.
- Lamy J-B, Bouffier L, Burlett R, Plomion C, Cochard H, Delzon S, (2011) Uniform selection as a primary force reducing population genetic differentiation of cavitation resistance across a species range. *PLoS ONE* 6(8):e23476
- Lynch M, Walsh B, editors (1998) *Genetics and analysis of quantitative traits*: Sinauer Associates.
- Martinez-Vilalta J., Pinol J. (2002) Drought-induced mortality and hydraulic architecture in pine populations of the NE Iberian Peninsula. *Forest Ecology and Management* 161: 247-256.
- Maherali H., Pockman W. & Jackson R. (2004) Adaptive variation in the vulnerability of woody plants to xylem cavitation. *Ecology* 85: 2184–2199.
- Pammenter NW, Vander Willigen C. (1998) A mathematical and statistical analysis of the curves illustrating vulnerability of xylem to cavitation. *Tree Physiol* 18: 589–593

- Perry J.P. (1991). *The Pines of Mexico and Central America*. Timber Press. Portland, Oregon, USA. 231 pp.
- Raffa K.F., Aukema B.H., Bentz B.J., Carroll A.L., Hicke J.A., Turner M.G. y Romme W.H. (2008). Cross-scale drivers of natural disturbances prone to anthropogenic amplification the dynamics of bark beetle eruptions. *Bioscience* 58(6): 501–517.
- Rehfeldt G.E, Crookston N.L, Sáenz-Romero C., Campbell E. (2012) North American vegetation analysis for land use planning in a changing climate: A statistical solution to large classification problems. *Ecological Applications*. 22(1): 119-141.
- Sáenz-Romero C., G.E. Rehfeldt, N.L. Crookston, P. Duval y Beaulieu J. (2009). Estimaciones de cambio climático para Michoacán. Implicaciones para el sector agropecuario y forestal y para la conservación de la Mariposa Monarca. Cuadernos de Divulgación Científica y Tecnológica del Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología de Michoacán, C+Tec, Serie 3, Num. 28. 21 p.
- Sáenz-Romero C., Rehfeldt G.E., Crookston N.L., Pierre D., St-Amant R., Bealieu J., Richardson B. (2010). Contemporary and projected spline climate surfaces for Mexico and their use in understanding climate-plant relationships. *Climatic Change* 102: 595-623.
- SAS Institute Inc (2004) SAS/STAT Computer Software. Release 9.1. SAS Institute Inc, Cary, North Carolina, 3rd Edition.
- Taiz L. and Zeiger E. (2003). *Plant Physiology*. 3rd Edition. Annals of Botany Company 91: 750-751.
- Vilagrosa A., Bellot J., V.R. Vallejo and E. Gil-Peigrín. (2003). Cavitation, stomatal conductance and leaf dieback in seedlings of two co-occurring Mediterranean shrubs during an intense drought. *J. Exp. Bot.* 54:2015–2024.
- Viveros-Viveros H., Sáenz-Romero C., Lopez-Upton, J., Vargas-Hernández J. J. (2007). Growth and frost damage variation among *Pinus pseudostrobus*, *P. montezumae* and *P. hartwegii* tested in Michoacán, Mexico. *Forest Ecol. Manag.* 253: 81–88.

Viveros-Viveros H. Sáenz-Romero C., Vargas-Hernández J.J., López-Upton J., Ramírez-Valverde G. and Santacruz-Varela A. (2009). Altitudinal genetic variation in *Pinus hartwegii* Lindl. I. : height growth, shoot phenology, and frost damage in seedlings. *Forest Ecology and Management* 257:836-842.

CAPITULO III.- CONCENTRACIÓN DE CLOROFILAS EN 13 PROCEDENCIAS DE *Pinus hartwegii*

Esperanza Loya-Rebollar¹, Cuauhtémoc Sáenz-Romero¹, Nahúm M. Sánchez-Vargas¹, Roberto Linding-Cisneros², Philippe Lobit¹, Javier Villegas-Moreno³

¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (IIAF-UMSNH). Km 9.5 carretera Morelia–Zinapécuaro, C.P. 58880, Tarímbaro Michoacán, México. e-mail: camarg4@hotmail.com, csaenzromero@gmail.com, nsanchezv@yahoo.com, plobit@gmail.com.

²Centro de Investigaciones en Ecosistemas, Universidad Nacional Autónoma de México (CIEco-UNAM, Campus Morelia). Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701, Col. Ex-Hacienda de San José de La Huerta, C.P. 58190, Morelia, Michoacán, México. e-mail: rlindig@oikos.unam.mx.

³Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (IIQB-UMSNH). Edificio B-3, Ciudad Universitaria, Av. Francisco J. Mujica s/n Col. Felicitas del Río C.P. 58030, Morelia, Michoacán, México. e-mail: jvilmor@gmail.com

RESUMEN

Con el propósito de evaluar el contenido de clorofila como indicador de su capacidad fotosintética, se seleccionaron 13 procedencias de *Pinus hartwegii* establecidas en un ensayo de jardín común a los 5 años de edad. No se encontraron diferencias significativas entre procedencias en las variables clorofila *a* ($P=0.1172$), clorofila *b* ($P=0.1145$), clorofila total ($P=0.1125$) y relación clorofila *a/b* ($P=0.6341$). Las medias por población fueron clorofila *a* 556.41 mg/L, clorofila *b* 482.65 mg/L, clorofila total 1037.85 mg/L y la relación clorofila *a/b* 1.28. No se encontró un patrón altitudinal de diferenciación genética entre las poblaciones para la producción de clorofila. Esto puede limitar el uso de la concentración de clorofila como indicador para evaluar la tolerancia de las poblaciones de *Pinus hartwegii* a un determinado estrés y seleccionar procedencias tolerantes a factores de estrés.

Palabras clave: Clorofila total, clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila *a/b*, *Pinus hartwegii*.

CHLOROPHYLLS CONCENTRATION IN 13 PROVENANCE OF *Pinus hartwegii*

Esperanza Loya-Rebollar¹, Cuauhtémoc Sáenz-Romero¹, Nahúm M. Sánchez-Vargas¹, Roberto Linding-Cisneros², Philippe Lobit¹, Javier Villegas-Moreno³

¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (IIAF-UMSNH). Km 9.5 carretera Morelia–Zinapécuaro, C.P. 58880, Tarímbaro Michoacán, México. e-mail: camarg4@hotmail.com, esaenzromero@gmail.com, nsanchezv@yahoo.com, plobit@gmail.com.

²Centro de Investigaciones en Ecosistemas, Universidad Nacional Autónoma de México (CIEco-UNAM, Campus Morelia). Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701, Col. Ex-Hacienda de San José de La Huerta, C.P. 58190, Morelia, Michoacán, México. e-mail: rlindig@oikos.unam.mx.

³Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (IIQB-UMSNH). Edificio B-3, Ciudad Universitaria, Av. Francisco J. Mujica s/n Col. Felicitas del Río C.P. 58030, Morelia, Michoacán, México. e-mail: jvilmor@gmail.com

SUMMARY

In order to assess the chlorophyll content as an indicator of photosynthetic capacity, we selected 13 provenances of *Pinus hartwegii* established in a common garden test at 5 years of age. There were no significant differences among provenances in the variables chlorophyll a ($P = 0.1172$), chlorophyll b ($P = 0.1145$), total chlorophyll ($P = 0.1125$) and relative chlorophyll a / b ($P = 0.6341$). The mean for chlorophyll a population were 556.41 mg / L, chlorophyll b 482.65 mg / L, total chlorophyll 1037.85 mg / L and the ratio chlorophyll a / b 1.28. There was no altitudinal pattern of genetic differentiation among populations for the production of chlorophyll. This may limit the use of chlorophyll as an indicator to evaluate the tolerance of populations of *Pinus hartwegii* a certain stress tolerant and select sources of stress factors.

Keywords: Total chlorophyll, chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll a/b, *Pinus hartwegii*.

INTRODUCCION

Cuando una planta está sometida a condiciones que se alejan significativamente de su óptimo fisiológico se dice que está sometida a *estrés*, si bien las diferentes especies o variedades difieren en sus requerimientos óptimos y por tanto en sus respuestas de estrés (Levitt, 1980). Además, hay períodos o etapas del desarrollo, como el estadio de plántula, donde las especies pueden ser particularmente sensibles (o insensibles) a un estrés determinado.

El conocimiento de los mecanismos de resistencia al estrés permite comprender los procesos evolutivos implicados en la adaptación de las plantas a ambientes adversos y predecir hasta cierto punto la respuesta vegetal. El contenido de clorofila en las hojas de las plantas es un indicador de su capacidad fotosintética, así como de la presencia de un estrés o enfermedad, dado que la clorofila y otros pigmentos son los más importantes, puesto que están estrechamente vinculados a la capacidad fotosintética y al estado fisiológico de plantas (España *et al.*, 2010)

Los factores ambientales cambian con la altitud del sitio donde crecen las poblaciones. Esos factores son, entre otros, como temperatura, radiación solar (particularmente ultravioleta), humedad del aire y demanda evaporativa, y probablemente fertilidad de suelo. La producción de clorofilas puede proporcionar información útil sobre respuestas fotosintéticas a las tensiones ambientales tales como temperaturas de congelación y estrés por falta de humedad. La aclimatación de las plántulas de precondicionado a la sequía en términos de tasas de fotosíntesis y conductancia estomática ha sido ampliamente descrita en la literatura y ha sido considerada como un importante mecanismo de regulación para mejorar el desempeño de las plántulas (Stewart *et al.*, 1995).

Por lo anterior es importante la selección de procedencias que se ajusten a requerimientos ambientales determinados o simplemente, a mejorar la productividad de una especie (Nilsen y Orcutt, 1996). De una forma genérica, se ha demostrado que en casi todas las especies existen mecanismos fisiológicos que permiten un incremento en su resistencia a un determinado estrés. Sin embargo, no todas las especies muestran

variaciones en los mismos caracteres ni la intensidad de variación es la misma (Vilagrosa *et al.*, 2003).

El objetivo de este trabajo fue determinar la concentración de la clorofila tipo *a* y *b* extraída de plantas creciendo en un ensayo de 13 procedencias de *Pinus hartwegii*. Con la finalidad de conocer si existen diferencias genéticas entre poblaciones para ese carácter.

MATERIALES Y METODOS

En enero del 2005 se colectaron semillas de polinización abierta de 13 poblaciones de *Pinus hartwegii* en Pico de Tancítaro, Michoacán. La colecta se realizó siguiendo un gradiente altitudinal, desde los 3150 m de altitud (19° 25.967' N, 102° 16.972' W) hasta los 3750 m (19° 25.120' N, 102° 18.750' W), con una diferencia altitudinal de 50 m entre cada sitio. Llamaremos población al conjunto de individuos pertenecientes a una procedencia y procedencia a los sitios de origen donde se colectó la semilla (Sáenz-Romero *et al.*, 2006). Las plántulas fueron establecidas en vivero, para posteriormente establecerlas en un ensayo de jardín común.

Concentración de clorofila *a*, *b* y total

Esta variable se determinó en plántulas de *P. hartwegii* a los 5 años de edad, con muestras del ensayo de jardín común. La técnica utilizada fue una modificación de la reportada por Lichtenhaler (1987).

En septiembre del 2010, por la mañana, se realizó la colecta de 2 cm de 2 acículas al azar de la parte media de la planta. La muestra se pesó en una balanza semianalítica, después se maceraron en un mortero con 4 ml de alcohol. El macerado se colocó en tubos de ensayo de vidrio y se almacenaron en oscuridad durante 1 hora con el fin de que se llevara a cabo la extracción de clorofila.

Transcurrido este tiempo, se tomó una muestra de 2 ml y se colocó en una celda para medir la absorbancia en un espectrofotómetro (Genesis 6, Thermo, Electro Corporation, Madison, Wisconsin) utilizando alcohol como blanco. Las longitudes de onda utilizadas y donde se obtiene un máximo de absorción de clorofilas fueron 664.2 nm para clorofila *a* y 648.6 nm para clorofila *b*.

Los datos de absorbancia para cada una de las longitudes de onda se usaron para calcular las concentraciones de cada una de las clorofilas (*a*, *b* y total), utilizando las siguientes ecuaciones:

$$\text{Clorofila } a = 13.36 (A_{664.2}) - 5.19 (A_{648.6})$$

$$\text{Clorofila } b = 27.43 (A_{648.6}) - 8.12 (A_{664.2})$$

$$\text{Clorofila total} = 5.24 (A_{664.2}) + 22.24 (A_{648.6})$$

Donde: 13.36, 5.19, 27.43, 8.12, 5.24, 22.24 son constantes, $A_{664.2}$ y $A_{648.6}$ son los valores de absorbancia obtenidos en el espectrofotómetro en cada una de las longitudes de onda.

Los resultados obtenidos en cada una de las ecuaciones son los valores de las concentraciones de las diferentes clorofilas. Posteriormente se hicieron los cálculos para reportar los resultados en mg/L de clorofila con un factor de corrección con la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Ca Cb Ct (4)}}{g}$$

Donde: Ca es clorofila *a*, Cb es clorofila *b*, Ct clorofila total y peso *g* es el peso de la muestra utilizada para la extracción de clorofila.

Análisis estadístico

Para determinar si hubo diferencias significativas entre procedencias, se realizó un análisis de varianza para cada una de las variables evaluadas, con el procedimiento PROC GLM de SAS (SAS Institute, 2004). Se utilizó el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + \beta_i + \tau_j + \beta_i * \tau_j + \varepsilon_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} = valor promedio de la *ijk*-ésima unidad experimental, μ = media general, β_i = efecto del *i*-ésimo bloque, τ_j = efecto de la *j*-ésima población, $\beta_i * \tau_j$ = interacción del *i*-

ésimo bloque con la j -ésima población y ε_{ijk} = error experimental. Poblacion y bloque se consideraron efectos aleatorios.

La contribución a la varianza total de cada componente se estimó utilizando PROC VARCOMP, con el método REML (SAS Institute, 2004).

Se realizó un análisis de regresión con el procedimiento, REG de SAS (SAS Institute, 2004), con la finalidad de determinar si existía un patrón de diferenciación altitudinal. Se utilizó el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 X_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde Y_{ij} = media de la población, β_0 = interceptada, β_1 = pendiente, X_i = altitud (m) de la i -ésima procedencia, y ε_{ij} = error.

RESULTADOS Y DISCUSION

El análisis de varianza no mostró diferencias significativas entre procedencias para las concentraciones de clorofila a ($P= 0.1172$), clorofila b ($P= 0.1145$), clorofila total ($P= 0.1125$) y la relación entre las clorofilas a/b ($P=0.6341$). De igual forma no se encontraron diferencias significativas entre bloques, ni diferencias significativas para la interacción bloque por procedencia. (Cuadro 1). El promedio general fue de clorofila a 556.41 mg/L, clorofila b 482.65 mg/L, clorofila total 1037.85 mg/L y relación clorofila a/b 1.28.

Se ha demostrado que la influencia de varios factores ambientales (altitud, pendiente, densidad y orientación) es determinante sobre la composición de las hojas (contenidos de nitrógeno, carbono y clorofila y proporción entre clorofilas a y b). En estudios con el oyamel (*Abies religiosa* L.) se encontró que la concentración de clorofilas en las hojas es principalmente afectada por la altitud y la pendiente del lugar (España *et al.*, 2010); es decir, la altitud afecta al contenido de clorofila, en donde a mayor altitud, menor es el contenido de clorofila. Lo cual no se observó en este trabajo en las procedencias provenientes de diferente altitud.

Por otra parte un estudio de jardín común, donde se compara el efecto de la competencia intra- e inter-familiar (familias de medios hermanos de *Pinus pseudostrabus*),

considerando el nivel de competencia como un nivel de estrés y considerando como variable de respuesta la variación en el contenido de clorofila total, clorofilas *a* y *b*. Determinó que la condición de competencia intra-familiar (plantas rodeadas de individuos genéticamente similares), encontrando diferencias significativas en la producción de clorofilas, no siendo así en la condición de competencia inter-familiar (individuos genéticamente diferentes), donde no se encontraron diferencias significativas en la producción de clorofilas (Cambrón-Sandoval *et al.*, 2011).

Otros estudios con *Pinus greggii* con tratamientos de estrés por sequia, de la misma manera no afectó la tasa fotosintética, por tanto la concentración de clorofila no mostró diferencia significativa (Cetina *et al.*, 2001). De la misma manera otro estudio de *Pinus greggii* donde cuantifican la cantidad de clorofilas bajo diferentes niveles de riego en vivero, no se encontraron diferencias significativas en los tratamientos (Maldonado-Benítez, 2010). En otros estudios con otras coníferas como *Pinus pseudostrobus*, *Pinus michoacana* donde tampoco se han encontrado diferencias significativas entre poblaciones (Gómez-Romero *et al.*, 2012 en revisión). El hecho de no encontrar diferenciación genética en caracteres fisiológicos como lo fue también en la resistencia a la cavitación (capítulo II) y tampoco en la concentración de clorofila, nos indica tal vez que son caracteres fijos. Además de ser una limitante para la selección de procedencias a condiciones de estrés.

Cuadro 1. Porcentaje de contribución a la varianza total (%) y significancia (P) a la edad de 5 años de 13 procedencias de Pinus hartwegii.

Variable	Procedencia		Bloque		Bloque*Proc.		Error
	%	P	%	P	%	P	
Clorofila <i>a</i>	1.42	0.1172	0.00	0.3997	0.00	0.5963	98.58
Clorofila <i>b</i>	1.45	0.1145	0.00	0.4258	0.00	0.6063	98.55
Clorofila Total	0.49	0.1125	0.00	0.2958	0.00	0.7403	99.51

En el análisis de regresión no se encontró una asociación significativa entre clorofila *a* ($r^2=0.2432$, $P=0.2483$), clorofila *b* ($r^2=0.2365$, $P=0.2600$), clorofila total ($r^2=0.2636$, $P=0.4039$) y relación clorofila *a/b* ($r^2=0.1431$, $P=0.4622$) con la altitud de origen de la procedencia (Figuras 1, 2 y 3). Sin embargo, existe una tendencia altitudinal (no significativa), en donde las poblaciones de la parte central de la distribución altitudinal, tienen mayor concentración de clorofilas que las poblaciones de los extremos altitudinales superior e inferior. Esto es más evidente ajustando un modelo cuadrático de regresión (figuras 1, 2 y 3).

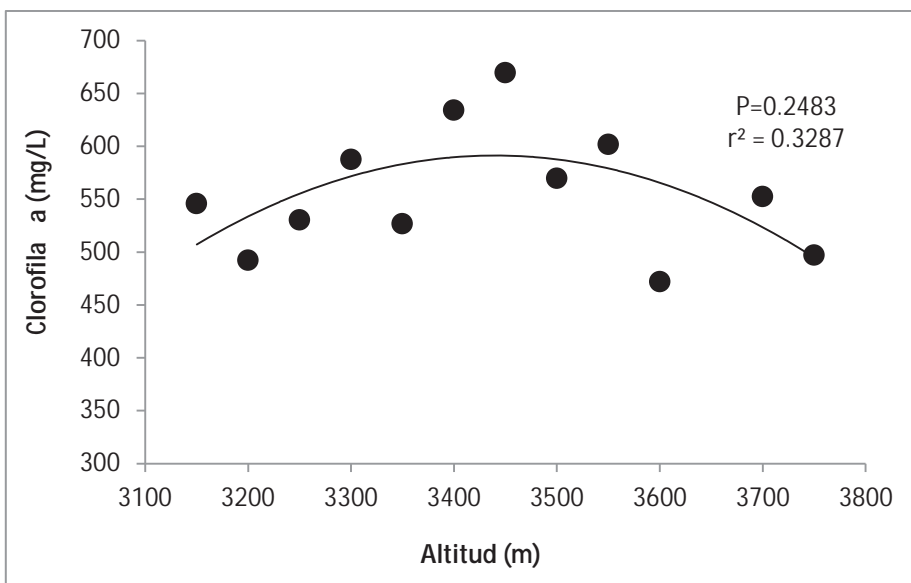


Figura 1. Relación entre el promedio por población de clorofila a con la altitud de origen de las procedencias.

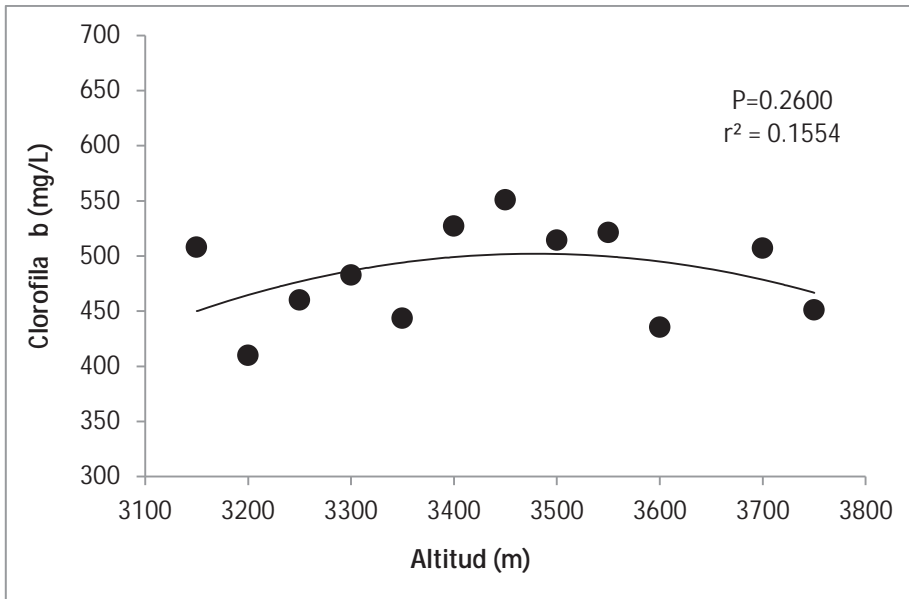


Figura 2. Relación entre el promedio por población de clorofila b con la altitud de origen de las procedencias.

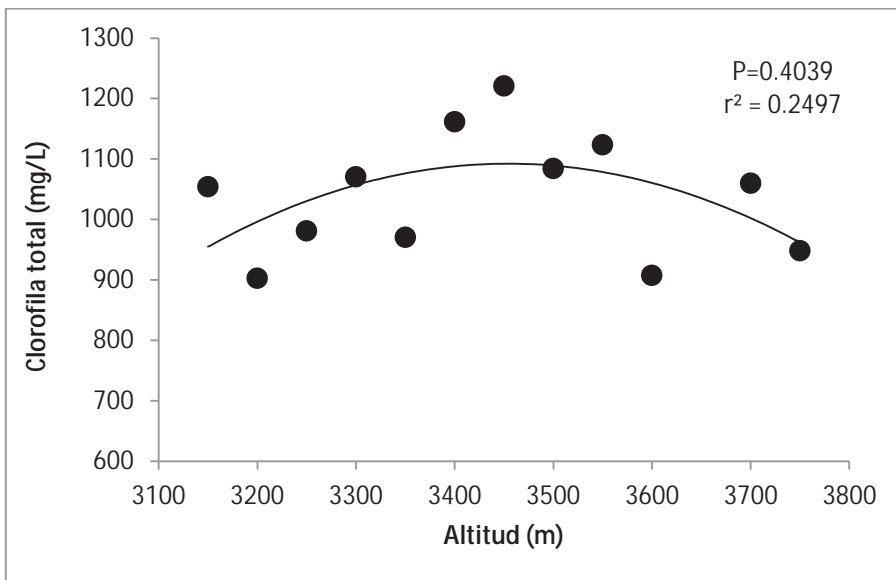


Figura 3. Relación entre el promedio por población de clorofila total con la altitud de origen de las procedencias.

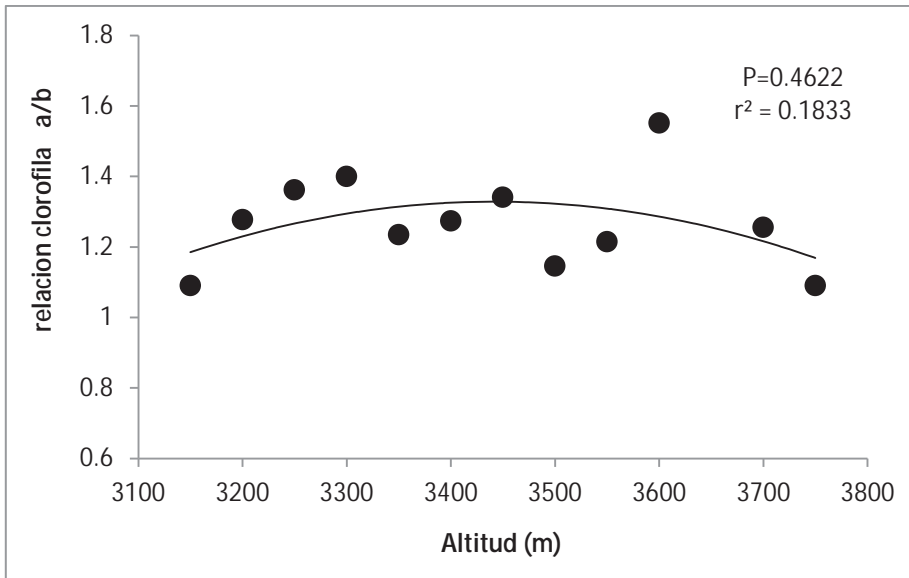


Figura 4. Relación entre el promedio por población de la relación clorofila a/b con la altitud de origen de las procedencias.

CONCLUSIONES

No se encontró un patrón de diferenciación genética entre procedencias para la concentración de clorofila *a*, clorofila *b*, ni para la relación clorofila *a/b* y clorofila total.

LITERATURA CITADA

- Cambrón-Sandoval, V. H., España-Boquera, M. L., Sánchez-Vargas, N., Sáenz-Romero C., Vargas-Hernández J.J. Herrerías-Diego Y. (2011). Producción de clorofilas en *Pinus pseudostrobus* en etapas juveniles bajo diferentes ambientes de desarrollo. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 17(2): 253-260.
- Cetina A., V.M., V.A. González H., M.L. Ortega D., J.J. Vargas H., M.T. Colina L., A. Villegas M. (2002). Supervivencia y crecimiento en campo de *Pinus greggii* Engelm., previamente sometidas a podas o sequia en vivero. Agrociencia 36:233-241.

- España Boquera, Ma. L., Lobit, Philippe, Castellanos Morales, V. (2010). Leaf chlorophyll content estimation in the monarch butterfly Biosphere Reserve. *Revista Fitotecnica Mexicana* 33 (2): 175 – 181.
- Levitt, J. (1980). *Responses of Plants to Environmental Stresses. Volume II*, 2nd ed. Academic Press, New York.
- Lichtenthaler, H.K., (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes. In: Packer, L. Douce, R. (Eds.), *Methods in Enzymology, Plant Cell Membranes*, Vol. 148. Academic Press, San Diego, California, pp. 350-382.
- Maldonado-Benitez, (2010). *Sustratos alternativos para la producción de Pinus greggii Engelm. En vivero*. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México.
- Nilsen, E.T., y Orcutt, D.M. (1996). *Physiology of Plants under stress. Abiotic Factors*. John Wiley & Sons, New York. 97 pp.
- SAS Institute Inc, (2004) SAS/STAT Computer Software. Release 9.1. SAS Institute Inc, Cary, North Carolina, 3rd Edition.
- Vilagrosa, A., Cortina, J., Gil-Pelegrín, E. y Bellot, J. (2003). Suitability of drought-preconditioning techniques in Mediterranean climate. *Restoration Ecology* 11: 208-216.

CONCLUSION GENERAL

El patrón de variación genética entre las poblaciones de *Pinus hartwegii* a lo largo del gradiente altitudinal es significativo, donde las plantas originadas de las poblaciones procedentes de altitudes más bajas muestran un mayor crecimiento en altura y mayor acumulación de biomasa, en comparación con poblaciones de altitudes mayores. Sin embargo no existe una diferenciación genética en caracteres fisiológicos como resistencia a la cavitación (P_{50}) y en contenido de clorofilas tanto *a* como *b*. Esto hace más vulnerable poblaciones de estrés ambiental y efectos del cambio climático.

Se propone una zonificación altitudinal, para decidir el manejo de semilla y plantas de *P. hartwegii* para fines de reforestación en Pico de Tancítaro, consistente en tres zonas altitudinales: Zona 1, de 3150 a 3350 msnm de altitud; Zona 2, de 3350 a 3550 msnm, y Zona 3, de 3550 a 3750 msnm. Esto proporciona una herramienta para decidir la transferencia de fuentes de semilla dentro y entre zonas productoras para acoplar adecuadamente los genotipos a los ambientes.

Para contrarrestar los efectos del cambio climático, se propone mover la semilla altitudinalmente entre 250 m y 300 m de altitud hacia arriba. considerando que *Pinus hartwegii* tiene poblaciones en la cima de Pico de Tancítaro (3800 m), para las poblaciones de mayor altitud se tendría que mover la semilla a otras montañas más altas del país, como lo son el Popocatepetl, Iztaccihatl, La Maliche y La Marquesa.