



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales

Maestría Institucional en Ciencias Biológicas Fisiología y Genética Vegetal

“Variación Genética Altitudinal Entre Poblaciones de *Abies religiosa* y Zonificación Altitudinal en Ensayo de Jardín Común”

Tesis que para obtener el Grado de Maestra en Ciencias

Presenta: Marisol Alejandra Ortiz Bibian

Director de tesis. Dr. Cuauhtémoc Sáenz Romero

Co-director: Dr. Arnulfo Blanco García

Morelia, Michoacán Marzo 2017



Director de tesis: Dr. Cuauhtémoc Sáenz Romero¹

Co-director: Dr. Arnulfo Blanco García²

Comité:

Dr. Roberto A. Lindig Cisneros³

Dr. Nahum M. Sánchez Vargas¹

Dra. Yvonne Herrerías Diego²

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH)

¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF-UMSNH),

²Facultad de Biología (UMSNH)

Morelia, Michoacán, México.

Universidad Autónoma de México (UNAM).

³Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad (IIES-UNAM)

Morelia, Michoacán, México.

RECONOCIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la oportunidad y la beca 662164/572923 otorgada.

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, especialmente al Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales.

A mi asesor, Dr. Cuauhtémoc Sáenz Romero por el apoyo incondicional, la tutoría, las múltiples observaciones, las aportaciones y seguimiento al trabajo.

Al Dr. Arnulfo Blanco García, quien fungió como co-asesor del presente trabajo y al Dr. Roberto A. Lindig Cisneros, por la inclusión en el proyecto.

Mi más sincero agradecimiento y reconocimiento a los integrantes de la mesa sinodal, Dr. Arnulfo Blanco García, Dr. Roberto A. Lindig Cisneros, Dra. Yvonne Herrerías Diego y Dr. Nahum M. Sánchez Vargas, por sus valiosas aportaciones, observaciones y mejoras al trabajo.

Al M.C. Dante Castellanos Acuña, a la M.C Verónica Osuna Vallejo del Instituto de Investigaciones agropecuarias y forestales y a la Dra. Mariela Gómez Romero del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas de la Universidad Autónoma de México (IIES-UNAM), campus Morelia, por su valiosa ayuda en el proceso experimental.

Al M.C. Miguel Ángel Silva Farías, por el apoyo en campo y obtención de la fuente de semilla.

Quiero también reconocer el apoyo de las siguientes instituciones gracias a las cuales, ha sido posible la realización de este trabajo: Al Monarch Butterfly Fund (a través de la Dra. Karen Oberhauser), Fondo Mexicano para la Conservación de la Naturaleza, al grupo de trabajo sobre Recursos Genéticos Forestales de la Comisión forestal de América del Norte. A la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), por el financiamiento otorgado.

Tabla de contenido

ÍNDICE CUADROS Y FIGURAS	6
RESUMEN GENERAL	9
ABSTRACT	10
INTRODUCCIÓN GENERAL	11
ANTECEDENTES GENERALES	15
OBJETIVO	19
HIPÓTESIS	19
BIBLIOGRAFÍA GENERAL	20
CAPÍTULO I	24
RESUMEN	25
INTRODUCCIÓN	27
METODOLOGÍA	31
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	34
1. <i>Altura de la planta e índices de crecimiento</i>	39
2. <i>Peso seco</i>	39
3. <i>Daño por heladas</i>	40
Zonificación altitudinal y climática	43
4. <i>Estimación de la zonificación considerando cambio climático año 2030</i>	44
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
1) ÍNDICES DE CRECIMIENTO	45
1.1. <i>Altura Final y Elongación Total</i>	45
1.2. <i>Fecha de Inicio y Término de Elongación</i>	49
1.3. <i>Periodo y Tasa de crecimiento</i>	53
2). <i>Peso Seco</i>	56
3).- <i>Resistencia a Daño por Heladas</i>	60
4) DIFERENCIACIÓN GENÉTICA ALTITUDINAL ENTRE POBLACIONES DE <i>A. religiosa</i> , Y ASOCIACIÓN AL GRADIENTE ALTITUDINAL. UNA SÍNTESIS	64
5) ZONIFICACIÓN ALTITUDINAL CLIMÁTICA	68
6) ZONIFICACIÓN FUTURA DÉCADA 2030, CONSIDERANDO CAMBIO CLIMÁTICO	73
CONCLUSIONES	76

BIBLIOGRAFÍA	78
CAPÍTULO II.....	84
RESUMEN	85
INTRODUCCIÓN.....	87
METODOLOGÍA	90
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	92
CONCLUSIONES	96
BIBLIOGRAFÍA	97
DISCUSIÓN GENERAL.....	100
CONCLUSIONES GENERALES.....	106
BIBLIOGRAFÍA GENERAL.....	109

ÍNDICE CUADROS Y FIGURAS

Figura 1. Coordenadas geográficas y altitud de origen de las 15 procedencias de <i>A. religiosa</i> , recolectadas en el Cerro de San Andrés Mpio. Ciudad Hidalgo, Michoacán.....	32
Figura 2. Escala de valoración visual de daño por heladas, inducido en laboratorio. El daño va de cero a uno dónde cero es 0 % y 1 es 100 % de daño.....	41
Figura 3. Índices de crecimiento de 15 poblaciones de <i>A. religiosa</i> , del Cerro de San Andrés Municipio de Cd. Hidalgo, Michoacán. a) Altura total final promedio y b) Elongación total.....	46
Tabla 1. Análisis de varianza de índices de crecimiento: Altura final y Elongación total de 15 procedencias de <i>A. religiosa</i> a los 28 meses de edad en jardín común, Morelia, Michoacán. Porcentaje de contribución a la varianza total (%) y valores de significancia (P).....	47
Figura 4. Índices de crecimiento de 15 poblaciones de <i>A. religiosa</i> , del Cerro de San Andrés Municipio de Cd. Hidalgo, Michoacán. a) Fecha promedio de inicio de elongación y b) Fecha promedio término de elongación, contra altitud de origen de la procedencia (msnm).....	49
Tabla 2. Análisis de varianza de índices de crecimiento: Fecha de inicio de elongación (días Julianos) y Fecha de término de elongación (días Julianos) de 15 procedencias de <i>A. religiosa</i> a los 28 meses de edad en jardín común, Morelia, Michoacán. Porcentaje de contribución a la varianza total (%) y valores de significancia (P).....	51
Tabla 3. Análisis de varianza de índices de crecimiento: Periodo de crecimiento (días) y Tasa de elongación (mm/día) de 15 procedencias de <i>A. religiosa</i> a los 28 meses de edad en jardín común, Morelia, Michoacán. Porcentaje de contribución a la varianza total (%) y valores de significancia (P).....	52

Figura 5. Índices de crecimiento de 15 poblaciones de <i>A. religiosa</i> , del Cerro de San Andrés Municipio de Cd. Hidalgo, Michoacán. a) Periodo de crecimiento y b) Tasa de elongación, contra altitud de origen de la procedencia (msnm).....	54
Figura 6. Peso seco promedio de 15 procedencias de <i>Abies religiosa</i> , recolectadas a lo largo de un gradiente altitudinal de 2850 a 3540 msnm en el Cerro de San Andrés, Mpio. de Ciudad Hidalgo Michoacán.....	57
Tabla 4. Análisis de varianza peso seco aéreo de 15 procedencias de <i>A. religiosa</i> a los 36 meses de edad en jardín común, Morelia, Michoacán. Porcentaje de contribución a la varianza total (%) y valores de significancia (P).....	58
Tabla 5. Análisis de varianza de 15 procedencias de <i>A. religiosa</i> en resistencia a daño por helada, evaluación a los 34 meses de edad, en jardín común, Morelia, Michoacán. Porcentaje de contribución a la varianza total (%) y valores de significancia (P).....	60
Figura 7. Porcentaje promedio de daño por heladas (-20 °C) de acículas de 15 procedencias de <i>Abies religiosa</i> recolectadas a lo largo de un gradiente altitudinal, en el Cerro de San Andrés Mpio. de Cd. Hidalgo, Michoacán.....	60
Tabla 6. Resumen del total de caracteres evaluados y valor de significancia (P) para establecer la zonificación altitudinal.....	64
Tabla 7. Límites de elevación de zonas semilleras de <i>A. religiosa</i> para efectos de conservación, basado en la diferenciación genética altitudinal de las poblaciones.....	66
Figura 8. Regresión del componente principal uno promedio por procedencia contra a) altitud de origen de la procedencia y b) temperatura media del mes más frío.....	68

Tabla 8. Límites climáticos y de elevación de zonas semilleras de <i>A. religiosa</i> para el clima contemporáneo	promedio	(1961-1990)	
.....			71

Figura 9. Valores promedio de temperatura media del mes más frío (MTCM) de las 15 procedencias: clima contemporáneo y clima proyectado para la década centrada en el año 2030. Variables climáticas obtenidas bajo ensamble RCP 6.0 watts/ m ² contra el origen de altitud de la procedencia.....	72
--	----

Tabla 9. Límites altitudinales de clima y elevación (msnm) de tres zonas semilleras de <i>A. religiosa</i> para el clima proyectado en la década centrada en el año 2030.....	73
---	----

Figura 10. Porcentaje de pérdida de electrolitos, de acículas de 15 procedencias de <i>Abies religiosa</i> , incubadas a 60°C, 40°C y 20°C.....	91
---	----

Figura 11. Porcentaje de pérdida o fuga de electrolitos promedio por población contra altitud de origen de 15 poblaciones de <i>A. religiosa</i> provenientes del Cerro de San Andrés Municipio. de Ciudad. Hidalgo. Michoacán.....	93
---	----

RESUMEN GENERAL

En este trabajo, se analizaron los patrones de variación genética en caracteres cuantitativos de valor adaptativo, en poblaciones de *Abies religiosa* “oyamel”, con los objetivos de: 1) Determinar si existe la diferenciación genética entre poblaciones de oyamel, 2) Cuantificar si tal variación está asociada al gradiente altitudinal-climático y 3) Proponer una zonificación altitudinal-climática para el movimiento asistido de las poblaciones de oyamel, a fin de reacoplar las poblaciones al clima proyectado para la década centrada en el año 2030. Se recolectaron conos de 15 poblaciones de oyamel a lo largo de un transecto altitudinal (de 2850 a 3540 msnm), en el Cerro de San Andrés, Municipio de Ciudad. Hidalgo, Michoacán., sitio cercano a la Reserva de la Biósfera de la Mariposa Monarca. Se estableció un ensayo de procedencias con un diseño de bloques completos al azar. Se evaluó la altura de la planta y a partir de ésta se calcularon un conjunto de índices de crecimiento, peso seco total aéreo, la resistencia de las acículas al daño por heladas y la resistencia de las acículas a temperaturas extremas.

Se encontraron diferencias significativas entre procedencias en ocho de 11 caracteres evaluados ($P \leq 0.0167$) y un patrón significativo de asociación de la variación genética al gradiente altitudinal. Este patrón de asociación se demostró mediante un análisis de regresión ($R^2 = 0.2908$; $P \leq 0.0366$). Un análisis de componentes principales, sugiere que la diferenciación genética entre poblaciones, está fuertemente asociada con el gradiente altitudinal y climático.

Una diferencia altitudinal de 350 m o 1.2 °C de diferencia en temperatura media anual (MTCM acrónimo en inglés) hace a dos poblaciones genéticamente diferentes. Se propone una zonificación altitudinal-climática (basada en el clima contemporáneo) en intervalos de 1.2 °C de MTCM: Zona I, de 9.7 a 8.5 °C de MTCM o de 2650 a 3000 msnm; Zona II de 8.5 a 7.4 °C de MTCM o de 3000 a 3350 msnm y Zona III de 7.4 a 6.2 °C de MTCM o 3350 a 3700 msnm. Sin considerar el cambio climático, se sugiere coleccionar semilla de cada zona altitudinal/climática, y reforestar en la misma zona; o a ± 175 m a partir del sitio de colecta. Considerando el cambio climático, proyectando la altitud a la cual ocurrirá la misma MTCM para la década centrada en el año 2030, se sugiere coleccionar semilla de cada zona y reforestar la zona inmediata superior. Realizar un movimiento altitudinal de de 350 m hacia arriba, a fin de re-acoplar a las poblaciones al clima que les será propicio en el futuro, pero que ocurrirá a mayor altitud en el año 2030.

Palabras clave: *Abies religiosa*, cambio climático, zonificación, diferenciación genética.

ABSTRACT

In this work, the genetic variation patterns in quantitative traits of adaptive value were analyzed in populations of *Abies religiosa* "oyamel": 1) To determine if genetic differentiation exists between populations of oyamel, 2) To quantify if such Variation is associated with the altitudinal-climatic gradient and 3) Propose an altitudinal-climatic zonation for the assisted movement of the oyamel populations, in order to realign the populations to the climate projected for the decade centered in the year 2030. Cones of 15 Populations of oyamel along an altitudinal transect (from 2850 to 3540 m), in Cerro de San Andrés, Municipio de Ciudad. Hidalgo, Michoacán., mountain near the Biosphere Reserve of the Monarch Butterfly. A provenance trial with a randomized complete block design was established. The height of the plant was evaluated and a set of growth rates, total aerial dry weight, the resistance of the needles to frost damage and the resistance of the needles to extreme temperatures were calculated.

Significant differences were found between provenances in eight of 11 evaluated characters ($P \leq 0.0167$) and a significant association pattern of genetic variation to the altitudinal gradient. This pattern of association was demonstrated by a regression analysis ($R^2 = 0.2908$; $P \leq 0.0366$). An analysis of major components suggests that genetic differentiation between populations is strongly associated with the altitudinal and climatic gradient.

An altitudinal difference of 350 m or 1.2 ° C difference in mean annual temperature (MTCM) makes two populations genetically different. Altitude-climatic zoning (based on contemporary climate) is proposed in MTCM 1.2 ° C intervals: Zone I, from 9.7 to 8.5 ° C of MTCM or from 2650 to 3000 meters; Zone II of 8.5 to 7.4 ° C of MTCM or of 3000 to 3350 msnm and Zone III of 7.4 to 6.2 ° C of MTCM or 3350 to 3700 msnm. Without considering climate change, it is suggested to collect seed from each altitudinal / climatic zone, and to reforest in the same area; Or ± 175 m from the collection site. Considering climate change, projecting the altitude at which the same MTCM will occur for the decade centered in the year 2030, it is suggested to collect seed from each zone and reforest the immediate upper area. Perform an altitudinal movement of 350 m upwards, in order to recouple the populations to the climate that will be conducive to them in the future, but which will occur at a higher altitude in the year 2030

INTRODUCCIÓN GENERAL

Los procesos microevolutivos actúan sobre la variabilidad genética de las especies, generando poblaciones genéticamente adaptadas a un ambiente local (Rehfeldt 1993). Los ensayos de jardín común nos permiten evidenciar la diferenciación genética entre poblaciones en caracteres cuantitativos (Florian *et. al.*, 2013). La diferenciación genética entre poblaciones y la asociación de ésta al gradiente ambiental es común en coníferas mexicanas que se distribuyen en gradientes altitudinales (Sáenz-Romero *et. al.*, 2012a).

De manera general, se ha reportado un patrón de adaptación en el que las especies y poblaciones distribuidas a menor altitud muestran mayor potencial de crecimiento y desarrollo, que las poblaciones que ocupan la parte alta de la distribución altitudinal, debido a que éstas últimas tienen un patrón de crecimiento predeterminado más moderado, aparentemente para escapar del daño por heladas (Sáenz-Romero y Tapia-Olivares, 2008; Viveros-Viveros *et. al.*, 2007; Loya-Rebollar *et. al.*, 2013).

Este patrón de adaptación se verá afectado por el cambio climático; el aumento en la temperatura y las alteraciones en el régimen de lluvias, generarán un desacoplamiento entre los ambientes y los genotipos (Sáenz-Romero *et. al.*, 2010), ocasionando consecuencias negativas sobre los individuos y repercutiendo en la salud general de las poblaciones de especies forestales, causando un decaimiento y eventualmente, la muerte masiva de individuos. En la actualidad, la evidencia del desfase y el daño sobre la cubierta forestal es global (Allen *et. al.*, 2010; Sáenz-Romero *et. al.*, 2012a; López-Gómez *et. al.*, 2014).

Los cambios en el régimen climático y las presiones por factores antropogénico interactúan, ocasionando cambios rápidos, sin precedentes, lo que representa un reto importante para el manejo y la conservación de las poblaciones vegetales (Aitken *et. al.*,

2008). Por ello, se han sugerido estrategias de mitigación al cambio climático que incluyen: captura de carbono, reducción de las emisiones globales de gases de efecto invernadero y estrategias adaptativas que incluyen iniciativas de aumento en la resistencia y resiliencia, para facilitar la transición de los ecosistemas actuales a las nuevas condiciones (Millar *et. al.*, 2007).

Abies religiosa es una conífera mexicana de afinidad boreal distribuida altitudinalmente desde 2500 hasta 3700 msnm sobre la faja volcánica Trans-mexicana (Rzedowski, 2005; Benavides-Mesa *et. al.*, 2011): Sus poblaciones exhiben un patrón de variación fenotípica a lo largo del gradiente altitudinal (Castellanos-Acuña *et. al.*, 2014) y aparentemente se encuentran fuertemente amenazadas por la reducción de su nicho climático-ambiental por el cambio climático (Sáenz-Romero *et. al.*, 2012a; López-Gómez *et. al.*, 2014; Cruz-Cárdenas *et. al.*, 2016).

En este trabajo se propone la migración asistida de poblaciones de oyamel, como una alternativa para mitigar los efectos del cambio climático. La migración consistiría en mover las poblaciones intencionalmente mediante asistencia humana, hacia sitios donde disminuyan las presiones climático-ambientales, mediante programas masivos de reforestación (Sáenz-Romero *et. al.*, 2016).

Previamente, se ha sugerido una zonificación altitudinal provisional basada en la evaluación de caracteres morfológicos para *A. religiosa* (Castellanos-Acuña *et al.*, 2014). Ese trabajo indica que el ancho de intervalo del movimiento de germoplasma en la que se sugiere para efectos de conservación de recursos genéticos, restauración ecológica y de asegurar la adaptación de las plantas al clima contemporáneo, sin considerar cambio climático, debe ser de 250 m o ± 125 m a partir del sitio de la colecta. Considerando la migración asistida como una herramienta de adaptación de las poblaciones al cambio climático, se ha sugerido mover a las poblaciones montaña arriba altitudinalmente 300 m,

a fin de re-acoplarlas al clima que les será propicio en la década centrada en el año 2030 (Sáenz-Romero et al 2012a).

La presente tesis tiene por objetivo determinar el patrón de diferenciación genética entre poblaciones de *Abies religiosa* (oyamel) a lo largo de un gradiente ambiental, para caracteres cuantitativos. A partir de ello, se pretende desarrollar estrategias de adaptación de las poblaciones de *A. religiosa* al cambio climático, generando como producto final una zonificación climática altitudinal que ayude a decidir el movimiento de germoplasma en programas de reforestación, considerando el cambio climático.

Los datos para desarrollar el presente trabajo se obtuvieron de un ensayo de jardín común en el que se evaluó el desempeño de 15 poblaciones de *A. religiosa* colectadas a lo largo de un transecto altitudinal, cubriendo la distribución natural de la especie en Cerro de San Andrés, un sitio cercano a la Reserva de la Biósfera de la Mariposa Monarca, Michoacán.

Según Rehfeldt (1993), la diferenciación genética con valor adaptativo se encuentra contenida en un conjunto de caracteres cuantitativos, por lo que evaluamos un conjunto caracteres descritos por índices de crecimiento de plantas creciendo en el ensayo de jardín común, además de resistencia al daño por heladas (inducido en laboratorio) y tolerancia a temperaturas extremas.

Este trabajo presenta dos capítulos

En el **capítulo I** se presenta la evaluación del conjunto de variables de desarrollo, crecimiento y resistencia a heladas, y se describe el patrón de diferenciación genética asociada al gradiente altitudinal. También se propone una zonificación climática altitudinal de la especie, considerando clima contemporáneo y clima futuro (centrado en la década de 2030), para efectos de planear la migración asistida de las poblaciones de la especie considerando cambio climático.

En el **capítulo II** se exponen los resultados de la respuesta de las acículas a temperaturas extremas evaluada mediante el porcentaje de pérdida o fuga de electrolitos.

ANTECEDENTES GENERALES

De acuerdo a las estimaciones de cambio climático, se pronostica para México un incremento en la temperatura y un decremento en la precipitación. Aunque con cierta incertidumbre, la temperatura media anual podría incrementar 1.5 °C, mientras que la precipitación podría disminuir hasta 6.7 % para el año 2030, comparando con el promedio de los años 1961-1990. En los años sucesivos la situación se agravará, ya que, para finales de siglo, se espera que el aumento de la temperatura media anual sea de 2.2°C y la disminución de la precipitación 11.5%. Estas cifras, se traducirán en un aumento en la aridez del país (Sáenz-Romero *et. al.*, 2010), con reducciones en el nicho climático de *A. religiosa* (Sáenz-Romero *et. al.*, 2012a) y consecuencias importantes sobre las poblaciones forestales (Sáenz-Romero *et. al.*, 2010; Sáenz-Romero *et. al.*, 2012a; Loya-Rebollar *et. al.*, 2013; Cruz-Cárdenas *et. al.*, 2016). Se espera que el hábitat climático para el bosque de pino-encino disminuya drásticamente y aumenten significativamente el de las regiones áridas (Rehfeldt *et. al.*, 2012).

El cambio climático generará un desfase adaptativo entre las poblaciones forestales y el clima para el cual evolutivamente están adaptadas (Sáenz-Romero *et. al.*, 2010; Rehfeldt *et. al.*, 2012). Las poblaciones forestales han logrado adaptarse al entorno que los rodea, los factores bióticos-abióticos y los disturbios que los afectan naturalmente a nivel local (Rehfeldt 1988; Rehfeldt 1993), sin embargo, el cambio climático inducido por la acción humana está ocasionado cambios en la intensidad, frecuencia, duración y magnitud de los disturbios climáticos a nivel local, regional y global, alterando la composición, estructura y procesos funcionales a nivel ecosistémico, resultando en la muerte masiva de individuos, particularmente de climas continentales y en los límites xéricos de distribución de las especies (Dale *et al.* 2001; Allen *et. al.*, 2010; Mátyás, 2010).

Esto quiere decir que la capacidad de los árboles para adaptarse a los cambios en el hábitat por efecto del cambio climático, se ve rebasada en magnitud y velocidad por los cambios que ocurren como consecuencia del cambio climático, lo que eventualmente podría resultar en la extinción local de aquellas especies que no logren adaptarse a la velocidad requerida por las condiciones bajo el contexto de cambio climático (Aitken *et. al.*, 2008; Alfaro *et. al.*, 2014).

Ante este factor de presión de selección, producto del cambio climático, los individuos de algunas especies han migrado altitudinalmente hacia arriba y colonizado nuevos sitios de manera natural (Gian-Reto *et. al.*, 2002; Lenoir *et. al.*, 2008) modificando o disminuido su rango de distribución (Aitken *et. al.*, 2008), alterando su fisiología y fenología (Menzel *et. al.*, 2006). Sin embargo, en general esto ha sucedido a una velocidad y en una magnitud muy inferior a lo necesario para mantener acopladas las poblaciones al clima que les es propicio (Aitken *et. al.*, 2008; Sáenz-Romero *et al.*, 2016).

Aquellas especies y/o poblaciones que no logren migrar hacia sitios más favorables o aclimatarse al aumento en la temperatura y a la intensidad sequía, sufrirán estrés fisiológico, repercutiendo en la salud de los árboles y eventualmente en la muerte de los individuos (Aitken *et. al.*, 2008; Allen *et. al.*, 2010). En América del Norte se ha registrado la muerte de más de 1 millón de hectáreas de especies de *Picea* en Alaska (Berg *et. al.*, 2006), más de 374,000 km² de *Pinus contorta* y *Populus tremuloides* en Canadá (Hogg *et. al.*, 2008; Kurz *et. al.*, 2008) y más de un millón de hectáreas de *Pinus edulis* (Breshears *et. al.*, 2009). Cabe destacar que la muerte masiva de individuos no solo se ha reportado en Norte América sino a nivel global (Allen *et. al.*, 2010).

Con toda esta evidencia existen razones suficientes para pensar que las especies forestales mexicanas corren el mismo riesgo, sobre todo aquellas con historias de vida longevas, bajo potencial de fecundidad, poca variación fenotípica, capacidad limitada de

dispersión de semillas y de distribución alpina, que tendrán poca o nula capacidad de migrar y adaptarse con la suficiente rapidez (Aitken *et. al.*, 2008).

La evidencia del deterioro de cubierta forestal debido al desacoplamiento en curso entre las poblaciones naturales forestales y el clima que les es propicio, se ha observado en México, dentro de la Reserva de la Biósfera de la Mariposa Monarca, en Michoacán (Sáenz-Romero *et. al.*, 2012a López-Gómez *et. al.*, 2014) y los pronósticos no parecen ser nada buenos. Según las proyecciones contemporáneas del nicho climático del oyamel, se estima que el área idónea de la especie en México disminuirá 62 % para la década centrada en 2030, 88 % para la década centrada en 2060 y 96 % para la década centrada en 2090 (Sáenz-Romero *et. al.*, 2012a).

No obstante, con intervención humana podrían migrarse las poblaciones hacia sitios donde se estima que ocurrirá el clima propicio para el establecimiento de la especie (Sáenz-Romero *et al* 2012a). En general, el movimiento debe hacerse a mayor altitud dentro del rango histórico de distribución de la especie o bien fuera de él a latitudes con dirección a los polos (Pedlar *et. al.*, 2012).

Sin embargo, deben definirse los lineamientos para cada especie, establecer la magnitud y el sentido del movimiento de las poblaciones que se desea migrar (Sáenz-Romero, 2004). Una zonificación consiste en dividir el rango de distribución natural de una especie en bandas altitudinales, el establecimiento de las zonas se logra encontrando la diferencia mínima significativa que hace que dos poblaciones sean genéticamente diferentes en caracteres cuantitativos (Sáenz-Romero, 2004)

Para evidenciar la diferenciación genética y establecer una zonificación, se han evaluado caracteres adaptativos, entre ellos: índices de crecimiento en ensayos de procedencia (Rehfeldt 1988; Rehfeldt 1993; Viveros-Viveros *et. al.*, 2009; Sáenz-Romero *et. al.*, 2011a, 2011b; Sáenz-Romero *et al.*, 2012b; Loya-Rebollar *et. al.*, 2013) caracteres

morfológicos (Viveros-Viveros *et. al.*, 2013; Castellanos-Acuña *et. al.*, 2014) fenología (Kramer *et. al.*, 2000) y tolerancia a daño por heladas (Rehfeldt 1988; Sáenz-Romero y Tapia-Olivares 2008; Viveros-Viveros *et. al.*, 2007, Viveros-Viveros *et. al.*, 2009).

En México, la diferenciación genética entre poblaciones asociada al gradiente ambiental y la zonificación con fines de conservación y adaptación al cambio climático se ha reportado por lo menos en seis especies de coníferas (Sáenz-Romero *et. al.*, 2006; Viveros-Viveros *et. al.*, 2007; Sáenz-Romero *et. al.*, 2008; Viveros-Viveros *et. al.*, 2009 Viveros-Viveros *et. al.*, 2010; Sáenz-Romero *et. al.*, 2012b; Sáenz-Romero *et. al.*, 2011a Sáenz-Romero *et. al.*, 2011b; Sáenz-Romero *et al.*, 2012b; Castellanos-Acuña *et. al.*, 2013; Sáenz-Romero *et. al.*, 2013; Loya-Rebollar *et. al.*, 2013; Viveros-Viveros *et. al.*, 2013), incluyendo una zonificación provisional para las poblaciones de *A. religiosa* (Castellanos-Acuña *et al.*, 2014).

OBJETIVO

Determinar si existe diferenciación genética altitudinal entre poblaciones de *Abies religiosa*, colectadas a lo largo del gradiente altitudinal.

Establecer una zonificación altitudinal con base en los resultados obtenidos y generar lineamientos del movimiento del germoplasma, considerando clima contemporáneo y clima futuro (década centrada en el año 2030).

HIPÓTESIS

La altitud es un factor de selección relevante que promueve la diferenciación genética entre poblaciones de coníferas, por lo que se espera que exista un patrón de diferenciación genética entre poblaciones de *Abies religiosa* asociado a un gradiente altitudinal para caracteres cuantitativos adaptativos.



BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Aitken S. N., Yeaman S., Holliday A. J., Wang T. y Curtis-McLane S. 2008. Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations. *Evolutionary Applications*. 1:95-111.
- Alfaro R. I., Fady B., Vendramin G. G., Dawson I. K., Fleming R. A., Sáenz-Romero C., Lindig-Cisneros R. A., Murdock T., Vinceti B., Navarro C. M. 2014. The role of forest genetic resources in responding to biotic and abiotic factors in the context of anthropogenic climate change. *Forest Ecology Management* 333:76–87
- Allen C. D., Macalady A. K., Chenchouni H., Bachelet D., McDowell N., Vennetier M., Kitzberger T., Rigling A., Breshears D. D., Hogg E.H., Gonzalez P., Fensham R., Zhang Z., Castro J., Demidova N., Jong-Hwan L., Allard G., Running W. S., Semerci A. y Cobb N. 2010. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate risks for forests. *Forest Ecology and Management*. 259:660-684.
- Benavides-Mesa H. M., Gazca-Guzmán M. O., López-López S. F., Camacho-Morfin., F., Fernández-Grandizo D. Y., De la Garza-López de Lara M P., y Nepamuceno-Martínez F. 2011. Variabilidad en el crecimiento de plántulas de ocho procedencias de *Abies religiosa* (H.B.K.) Schlecht. et Cham., en condiciones de vivero. *Madera y Bosques*. 17(3):83-102.
- Berg E. E., Henry J. D., Fastie C. L., De Volder A. D., Matsuoka S. M. 2006. Spruce beetle outbreaks on the Kenai Peninsula, Alaska, and Kluane National Park and Reserve Yukon Territory: relationship to summer temperatures and regional differences in disturbance regimes. *Forest Ecology and Management* 227:219-232.
- Breshears D D., Myers O. B., Meyer C. W., Barnes F. J., Zou C. B., Allen C. C., McDowell N. G. y Pockman W. T. 2009. Tree die-off in response to global change-type drought: mortality insights from a decade of plant water-potential measurements. *Front.Ecol. Environ*. 7:185-189.
- Castellanos-Acuña D, Sáenz-Romero C, Lindig-Cisneros RA, Sánchez-Vargas NM, Lobbit P, Montero-Castro J. C. 2013. Variación altitudinal entre especies y procedencias de *Pinus pseudostrobus*, *P. devoniana* y *P. leiophylla*. Ensayo de vivero. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 19(3):399-412.
- Castellanos-Acuña D., Lindig-Cisneros R. A., Silva-Farías M. Á. y Sáenz-Romero C. 2014. Zonificación altitudinal provisional de *Abies religiosa* en un área cercana a la Reserva de

la Biósfera de la Mariposa Monarca, Michoacán. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente. 11 (2): 215-224

Cruz-Cárdenas G., López-Mata L., Silva T J., Bernal-Santana N., Estrada-Godoy F., López-Sandoval J. A. 2016. Modelado de la distribución potencial de especies de Pinaceae bajo escenarios de cambio climático en Michoacán. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 22:135-148.

Dale V. H., Joyce L. A., McNulty S., Neilson R. P., Ayres M. P., Flannigan M. D., Hanson J. P., Irland L. C., Lugo A. E., Peterson C. J., Simberloff D., Swanson F. J., Stocks B. J. y Wotton M. B. 2001. Climate Change and Forest Disturbances. BioScience. 51:723-734.

Florian J. A., Aitken S N., Alía R., González-Martínez S. C., Hänninen H., Kremer A., Lefèvre F., Lenormand T., Yeaman S., Whetten R., Savolainen O. 2013. Potential for evolutionary responses to climate change – evidence from tree populations. Global Change Biology. 19:1645-1661.

Gian-Reto W., Post E., Convey P., Menzel A., Parmesan C., Trevor J. C. Beebee., Jean-Mark F., Hoegh-Guldberg O., Bairlen F. 2002. Ecological responses to recent climate change. Nature. 416:389-395.

Hogg E. H., Brandt J. P., Kochtubajda B. 2002 Growth and dieback of Aspen forests in northwestern Alberta, Canada, in relation to climate and insects. Canadian Journal of Forest Research. 32:823-832.

Kurz W. A., Dymond C.C., Stinson G., Rampley G. J., Neilson E.T., Carroll A. L., Ebata. T., Safranyik L. 2008. Mountain pine beetle and forest carbon feedback to climate change. Nature. 452:987-990.

Kramer k., Leinonen I. y Loustau D. 2000 The importance of phenology for the evaluation of impact of climate change on growth of boreal, temperate and Mediterranean forests ecosystems: and overview. Biometeorol. 44(2): 67-75.

Lenoir J., Gégout J C., Marquet P A., P de Ruffray., Brisse H. 2008. A significant upward shift in plant species optimum elevation during the 20th century. Science. 320:1768-1771.

López-Gómez V., Arriola-Padilla J. V. y Pérez-Miranda R. 2014. Daños por factores abióticos y bióticos en los bosques de oyamel (*Abies religiosa* (Kunth) Schldl. et. Cham) de la Reserva de la Biósfera de la Mariposa Monarca. Revista Mexicana de Ciencias Forestales. 6:56-73.

- Loya-Rebollar E, Sáenz-Romero C, Lindig-Cisneros R. A., Lobit P, Villegas-Moreno J. A. and Sánchez-Vargas N. M. 2013. Clinal variation in *Pinus hartwegii* populations and its application for adaptation to climate change. *Silvae Genetica* 62(3):86-95.
- Mátyás C. 2010. Forecasts needed for retreating forests. *Nature* 464:1271.
- Millar C. I., Stephenson N. L., S.L. Stephens. 2007. Climate change and forest of the future managing in the face of uncertainty. *Ecological Applications*. 17(8): 2145-2151.
- Pedlar J. H., Mc Kenney D. W., Aubin I., Beardmore T., Beaulieu J., Iverson L. O`Neill G. A., Winder R. S. y Ste-Marie C. 2012. Placing forestry in the assisted migration debate. *BioScience*. 62 (9):835-841.
- Rehfeldt G. E. 1988. Ecological genetics of *Pinus contorta* from the Rocky Mountains (USA): a synthesis. *Silvae Genetics* 37:131-135.
- Rehfeldt G. E. 1993. Genetic variation in the Ponderosae of the Southwest. *American Journal of Botany*. 80:330-343.
- Rzedowski, G. C. de, J. Rzedowski y colaboradores, 2005. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a. ed., 1a reimpression., Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán), 1406 pp.
- Sáenz-Romero, C. 2004. Zonificación estatal y altitudinal para la colecta y movimiento de semillas de coníferas en México. In J. J. Vargas-Hernández, B. Bermejo-Velázquez, & F. T. Ledig (Eds.), Manejo de recursos genéticos forestales. México: CONAFOR-Comisión Forestal de América del Norte. pp. 72–86
- Sáenz-Romero, C. and Tapia-Olivares, B. L. 2008. Genetic variation in frost damage and seed zone delineation within an altitudinal transect of *Pinus devoniana* (*P. michoacana*) in Mexico. *Silvae Genetica* 57(3):165-17.
- Sáenz-Romero C., Beaulieu, J., y Rehfeldt, G. E. 2011a. Variación genética altitudinal entre poblaciones de *Pinus patula* de Oaxaca, México, en cámaras de crecimiento simulando temperaturas de calentamiento global. *Agrociencia* 45(3):399-411.
- Sáenz-Romero C., Ruiz-Talonia L. F., Beaulieu, J., Sánchez-Vargas N. M. and Rehfeldt G. E. 2011b. Variación genética entre poblaciones de *Pinus patula* en un gradiente altitudinal. ensayo de vivero en dos ambientes. *Revista Fitotecnia Mexicana* 34(1):19-25.
- Sáenz-Romero C., Rehfeldt G. E, Duval P, Lindig-Cisneros R. A. 2012a. *Abies religiosa* habitat prediction in climatic change scenarios and implications for monarch butterfly conservation in Mexico. *Forest Ecology and Management* 275:98-106

- Sáenz-Romero C., Rehfeldt G. E., Soto-Correa J. C., Aguilar-Aguilar S., Zamarripa-Morales V. y López-Upton J. 2012b. Variación genética altitudinal entre poblaciones de *Pinus pseudostrobus* de Michoacán, México. Resultados de ensayo en casas de sombra en dos localidades. Revista Fitotecnia Mexicana. 35(2):111-120.
- Sáenz-Romero C., Lamy J. P., Loya-Rebollar E., Plaza-Aguilar A., Burlett R., Lobit P. y Delzon S. 2013. Genetic variation of drought-induced cavitation resistance among *Pinus hartwegii* populations from an altitudinal gradient. Acta Physiologiae Plantarum 35:2905–2913.
- Sáenz-Romero C; Lindig-Cisneros R. A; Joyce D. G; Beaulieu J; St. Clair J B; Jaquish B. C. 2016. Migración asistida de las poblaciones forestales para la adaptación de árboles ante el cambio climático. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 22(3): 303-323.
- Viveros-Viveros H., Sáenz-Romero C., López-Upton J. y Vargas-Hernández J. J. 2007. Growth and frost damage variation among *Pinus pseudostrobus*, *P. montezumae* and *P. hartwegii* tested in Michoacán, México. Forest Ecology and Management 253:81-88.
- 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 257:836-842.
- Viveros-Viveros H., Tapia-Olivares B. L., Sáenz-Romero C., Vargas-Hernández J. J., López-Upton J., Santacruz-Varela A. y Ramírez-Valverde G. 2010. Variación isoenzimática de *Pinus hartwegii* Lindl. en un gradiente altitudinal en Michoacán, México. Agrociencia 44:723-733.
- Viveros-Viveros H., Camarillo-Luna A. R., Sáenz-Romero C. y Aparicio-Rentería A. 2013. Variación altitudinal en caracteres morfológicos de *Pinus patula* en el estado de Oaxaca (México) y su uso en la zonificación. Bosques. 34(2): 173-179

CAPÍTULO I

Variación Genética Altitudinal Entre Poblaciones de *Abies religiosa* y Zonificación Climática- Altitudinal bajo clima Contemporáneo y futuro (2030)



Ensayo de procedencias de *A. religiosa* en jardín común (IIAF-UMSNH, Morelia, Michoacán).

RESUMEN

Para evidenciar la diferenciación genética y el patrón de asociación clinal entre 15 poblaciones de *A. religiosa* (recolectadas de los 2850 a los 3540 msnm, en el Cerro de San Andrés cerca de la RBMM en Michoacán) y establecer una zonificación para el movimiento del germoplasma, se evaluaron caracteres cuantitativos de carácter adaptativo, i.e. altura total, elongación total, fecha de inicio de elongación, fecha de término de elongación, periodo de crecimiento, tasa de elongación, peso seco de tallos, follaje, peso seco total y daño por heladas, en un ensayo de jardín común (a 1850 msnm en el IIAF-UMSNH. Morelia Michoacán.). Se obtuvieron diferencias significativas entre poblaciones con un patrón altitudinal en: altura total ($P=0.0011$), elongación total ($P=0.0167$), fecha de término de elongación ($P=0.0018$), peso seco de tallos ($P=0.0152$), peso seco de follaje ($P=0.0096$), peso seco total ($P=0.0103$) y resistencia al daño por heladas ($P=0.0103$). Mediante un análisis de regresión se obtuvo una asociación significativa entre la altitud de origen de la población y la altura total ($R^2=0.4061$, $P=0.01103$), la elongación total ($R^2=0.4416$, $P=0.0067$), la fecha del término de elongación ($R^2=0.5470$, $P=0.0016$), el peso seco de follaje ($R^2=0.2908$, $P=0.0366$) y el daño por heladas ($R^2=0.86684$, $P<0.0001$). Esto indica que las poblaciones están diferenciadas genéticamente y que además la diferenciación genética está asociada al gradiente ambiental altitudinal. Una diferencia altitudinal de 350 m hace que dos poblaciones sean estadísticamente diferentes.

Se estableció una zonificación altitudinal-climática con fines de conservación y manejo, para el movimiento de las poblaciones de oyamel, considerando el clima contemporáneo. La zonificación consta de tres zonas: Zona I, de 2650 a 3000 msnm o de 9.7 a 8.5 °C de temperatura media del mes más frío, Zona II de 3000 a 3350 msnm o de

8.5 a 7.4 °C de temperatura media del mes más frío, y Zona III de 3350 a 3700 msnm o 7.4 a 6.2°C de temperatura media del mes más frío.

Considerando cambio climático y la adaptación de las poblaciones al clima esperado para década centrada en 2030 (RCP 6.0), se determinó otra zonificación: Zona I₂₀₃₀ de 3000 a 3350 msnm o de 9.7 a 8.5 °C de temperatura media del mes más frío, Zona II₂₀₃₀ de 3350 a 3700 msnm o de 8.5 a 7.4 °C de temperatura media del mes más frío y Zona III₂₀₃₀ de 3700 a 4050 msnm o de 7.4 a 6.2 °C de temperatura media del mes más frío. Notar que los límites climáticos de la zonificación para clima contemporáneo y para clima futuro son los mismos, pero ocurren a diferente altitud. La zonificación para el clima del año 2030 se usaría para el establecimiento de reforestaciones, con planta originada de semilla colectada en las zonas de la zonificación contemporánea. Es decir, para compensar los efectos del cambio climático, por ejemplo, se colectaría semilla en la zona contemporánea I (2650 a 3000 msnm o de 9.7 a 8.5 °C de temperatura media del mes más frío), se produciría planta en vivero y se reforestaría en la correspondiente zona I₂₀₃₀ (3000 a 3350 msnm o de 9.7 a 8.5 °C de temperatura media del mes más frío).

INTRODUCCIÓN

Abies religiosa “oyamel” es una conífera nativa de México, se encuentra en 11 estados de la República Mexicana y sus poblaciones se distribuyen en sitios templados de alta montaña de los 2500 a 3660 y hasta los 3750 msnm a lo largo del Eje Volcánico Trans-mexicano (Rzedowski, 2005; Benavides-Mesa *et. al.*, 2011), dónde la precipitación anual está por encima de los 1000 mm, la temperatura media anual varía entre 7 y 15 °C a lo largo del gradiente altitudinal, llegando en algunos sitios a 20 °C (Rzedowski, 2005).

El bosque de oyamel situado entre el Estado de México y Michoacán, provee de hábitat a las poblaciones de mariposa monarca, que arriban a nuestro país al concluir su fenómeno migratorio después de un largo viaje desde Canadá (Anderson y Brower, 1996; Oberhauser y Peterson, 2003). Por esta cualidad, la zona fue decretada como Reserva de la Biósfera de la Mariposa Monarca (RBMM; SEMARNAT, 2000).

A lo largo del mundo se han reportado numerosos casos de declinación y mortalidad forestal relacionados con estrés climático (Allen *et. al.*, 2010). El debilitamiento de la cubierta forestal se ha observado dentro de la RBMM, aparentemente como resultado del estrés por sequía inducido por el cambio climático (Sáenz-Romero *et. al.*, 2012a).

Se sabe que poblaciones de coníferas mexicanas de distribución alpina, se encuentran diferenciadas genéticamente a lo largo del gradiente altitudinal y la diferenciación genética se encuentra asociada a la altitud, como respuesta a los patrones de selección ambiental local presentes a lo largo del gradiente altitudinal (Sáenz-Romero *et. al.*, 2012b). Se piensa que el debilitamiento de los individuos en el límite altitudinal inferior de la distribución natural es consecuencia del desfase ocurrido entre las cambiantes condiciones climáticas presentes en los sitios locales de distribución de las

especies y la plasticidad fenotípica (resultado de la capacidad genética) de los árboles para adaptarse a dichos cambios ante el cambio climático (Mátyás, 2010).

Como consecuencia del cambio climático, el clima apto para el establecimiento de los bosques de coníferas en la Faja Volcánica Trans-mexicana podría reducirse hasta un 92% para la década centrada en el año 2090 (Rehfeldt *et. al.*, 2012). Alfaro *et. al.*, (2014), menciona que “La distribución actual de los recursos genéticos forestales en la tierra es el resultado de la mezcla entre dos factores: procesos naturales y acciones humanas”, por este motivo las poblaciones forestales se encuentran en riesgo.

La diferenciación genética entre poblaciones y la asociación de ésta diferenciación a lo largo del gradiente altitudinal y latitudinal, determina el impacto del cambio climático sobre las poblaciones de especies forestales (Rehfeldt *et. al.*, 2014). Por ello, entender la adaptación genética diferencial entre poblaciones y la tendencia de ésta adaptación a lo largo del gradiente ambiental o altitudinal, nos permitirá generar el conocimiento necesario para sugerir medidas de manejo orientadas a buscar la adaptación de las poblaciones de oyamel al cambio climático (Castellanos-Acuña *et. al.*, 2014).

Con el objetivo de conservar los bosques de oyamel, así como todos los servicios ecosistémicos que proveen y de manera implícita el fenómeno migratorio de la mariposa monarca, se ha propuesto realizar Migración Asistida (MA) de las poblaciones de *A. religiosa*, para re-acoplar (mover intencionalmente mediante programas de reforestación) las poblaciones al sitio donde en el futuro se espera que ocurra el área con las condiciones apropiadas para el desarrollo y establecimiento de la especie (Sáenz-Romero *et. al.*, 2012; Castellanos-Acuña *et. al.*, 2014). La Migración Asistida (MA) es una medida de conservación que consiste en mover intencionalmente con asistencia humana las poblaciones de una especie dentro o fuera del rango histórico como una estrategia de

adaptación y mitigación de los efectos antropogénicos del cambio climático (Hoegh-Guldberg *et. al.*, 2008; Sáenz-Romero *et. al.*, 2016).

No obstante, para poder hacer MA de las poblaciones de oyamel, es necesario contar con una zonificación que nos indique el sentido y la distancia del movimiento de las poblaciones a partir del sitio de colecta. Una zonificación altitudinal se obtiene al contar con información acerca de la diferencia altitudinal mínima significativa que hace que dos o más poblaciones sean genéticamente diferentes para algunos caracteres. Esta información se consigue experimental mediante ensayos de procedencia (Sáenz-Romero, 2004)

Los ensayos de procedencia de jardín común nos revelan información sobre los niveles y patrones de variación genética de los caracteres cuantitativos que son importantes en la adaptación (Howe Savolainen *et. al.*, 2007 en Aitken *et. al.*, 2008). Los caracteres de crecimiento son de importancia adaptativa; sin embargo, están afectados fuertemente por el ambiente. Por ello, se requiere la evaluación múltiple de caracteres morfométricos y fisiológicos que evidencien el potencial genético y diferenciación genética entre poblaciones a lo largo del gradiente ambiental (Rehfeldt 1988; Rehfeldt 1993).

En síntesis:

- i) Hay evidencia del deterioro de las poblaciones de oyamel, dentro de la RBMM y fuera de ella (Alvarado Rosales y Hernández-Tejeda, 2002; Sáenz-Romero *et. al.*, 2012a) lo que pone en peligro no sólo la permanencia del bosque sino también el fenómeno migratorio de la mariposa monarca. Las proyecciones de pérdida de área con el nicho climático apropiado para el desarrollo de la especie son desalentadoras (Sáenz-Romero *et. al.*, 2012a; Cruz-Cárdenas *et. al.*, 2016).
- ii) Se ha sugerido MA de las poblaciones para mitigar los efectos del desacoplamiento adaptativo de las poblaciones de *A. religiosa* ante el cambio

climático. Sin embargo, no existe el conocimiento necesario para poder delimitar la zonificación para establecer la MA (Sáenz-Romero *et. al.*, 2012a; Castellanos-Acuña *et. al.*, 2014).

El objetivo de este trabajo es determinar si existe una diferenciación genética entre poblaciones a lo largo del gradiente altitudinal y si tal diferenciación está asociada con el gradiente altitudinal. De ser así, se procedería a realizar la zonificación altitudinal para la MA de las poblaciones de *A. religiosa* en el clima contemporáneo y futuro (década centrada en 2030). La finalidad de este trabajo es generar lineamientos del manejo de la especie que pudieran ser aplicados dentro de la Reserva de la Biosfera de la Mariposa Monarca para mantener la cubierta forestal de oyamel y conservar los sitios de estancia invernal de la mariposa.

METODOLOGÍA

Recolecta de la semilla y establecimiento del ensayo de procedencias

Con el objetivo de que los resultados obtenidos en este experimento sean aplicados a la Reserva de la Biósfera de la Mariposa Monarca (RBMM), en septiembre de 2010 se recolectaron conos de oyamel, en el Cerro de San Andrés, Municipio de Ciudad Hidalgo Michoacán, México que se ubica a 50 km al Oeste de la RBMM.

La recolecta de germoplasma se llevó a cabo en 15 sitios en un transecto altitudinal a cada 50 m de distancia lineal, cubriendo todo el rango de distribución altitudinal natural del bosque de *Abies* en el lugar (de los 2850 a los 3550 msnm). Los sitios muestreados en general tuvieron exposición noroeste (Fig. 1). Siguiendo la metodología de Rehfeldt (1993), en cada sitio se colectaron conos maduros de entre 10 y 11 árboles seleccionados al azar; se colectaron semillas de árboles separados a 30 m de distancia entre ellos, con el objetivo de disminuir las probabilidades de endogamia.

Es importante señalar que a cada sitio muestreado se le denominó **procedencia** y al conjunto de árboles muestreados en cada sitio, se le denominó **población**.

Procedencia	Latitud (N)	Longitud (O)	Altitud (msnm)
1	19°48'01.0"	100°36'04.7"	3540
2	19°48'03.6"	100°36'06.8"	3500
3	19°48'06.3"	100°36'10.3"	3450
4	19°48'19.0"	100°36'13.5"	3400
5	19°48'20.2"	100°36'13.8"	3350
6	19°48'23.8"	100°36'18.6"	3300
7	19°48'36.1"	100°36'16.3"	3250
8	19°48'38.0"	100°36'20.6"	3200
9	19°48'40.9"	100°36'26.4"	3150
10	19°48'49.0"	100°36'31.2"	3100
11	19°48'58.7"	100°36'30.6"	3050
12	19°48'10.1"	100°36'28.4"	3000
13	19°48'15.0"	100°36'05.8"	2950
14	19°48'23.0"	100°36'54.3"	2900
15	19°48'38.6"	100°36'29.8"	2850

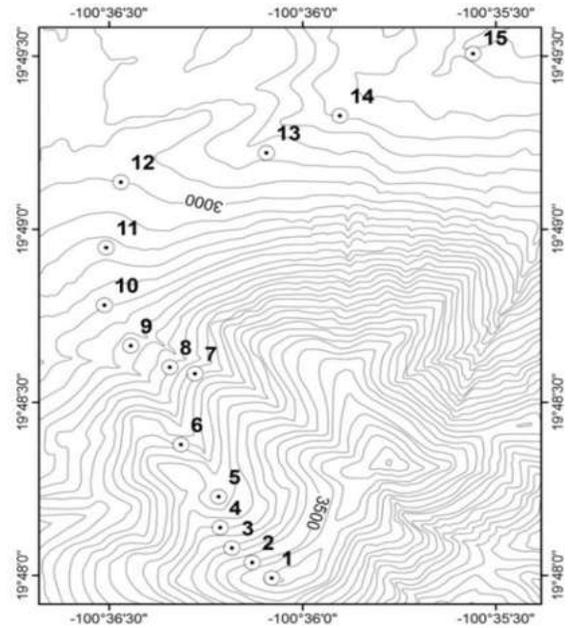


Figura 1. Coordenadas geográficas y altitud de origen de las 15 procedencias de *A. religiosa*, recolectadas en el Cerro de San Andrés Municipio. Ciudad Hidalgo, Michoacán.

Los conos se etiquetaron y mantuvieron siempre su identidad altitudinal y fueron llevados al Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (IIAF-UMSNH); donde los conos se secaron exponiéndolos al sol durante 15 días y se procesaron para extraer la semilla.

Las semillas se germinaron en almácigo de turba de musgo sin ningún tratamiento pregerminativo y las plántulas se trasplantaron en tubetes (Beaver Plastics de México® con capacidad de 380 cm³) que contenían una mezcla de turba de musgo, agrolita y vermiculita (en una proporción 2:1:1) y un fertilizante de liberación prolongada (Osmocote®), un litro de fertilizante por cada 100 litros de mezcla de sustrato. Las plántulas permanecieron durante nueve meses en un invernadero del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad de la Universidad Nacional Autónoma

de México, en Morelia, Michoacán, con riego aproximadamente cada tercer día y deshierbe.

Posteriormente, se montó un ensayo de procedencia de jardín común en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF-UMICH) en Morelia, Michoacán en marzo de 2014, en camas elevadas de crecimiento. Las camas consistieron en un marco de madera de 12.3 m por 1.25 m de ancho y 0.6 m de alto. En el fondo se colocó una capa de 20 cm de “tezontle” (roca volcánica porosa) para facilitar el drenaje y aislar a las plantas del suelo local (excesivamente arcilloso). Sobre el tezontle, se colocó una capa de 40 cm de tierra de arrastre de río (de textura limosa), mezclado con materia orgánica originada de ramas y hojas de poda de árboles picada finamente. La intención era simular al suelo del bosque. El ensayo tuvo un diseño experimental de bloques completos al azar. Consistió en seis bloques completos, tres de ellos en una cama elevada de crecimiento y tres en la otra, con las 15 procedencias en cada bloque, con seis plantas por parcela. El espaciamiento fue de 20 cm entre plantas dentro de parcela y de 25 cm entre parcelas, colocando en los extremos de las camas una faja de protección para evitar efecto de orilla.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los parámetros de crecimiento y altura total se estimaron por individuo, usando el paquete estadístico SAS (2004), mediante un PROC NLIN en siguiendo el modelo de Rehfeldt, (1993), y Loya-Rebollar *et. al.*, 2012.

$$Y_i = \frac{1}{1 + e^{(\beta_0 + \beta_1 x + \frac{\beta_2}{x})}}$$

Dónde Y_i = Es la *i-ésima* observación de la altura total de la planta; β_0 , β_1 y β_2 son los parámetros de la regresión; x =es el día Juliano en el que se realizó la medición.

Los parámetros (β_0 , β_1 y β_2) de la regresión serán usados para estimar la curva de crecimiento y predecir los valores de cada planta individual usando el modelo

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

Dónde P_i = Predice el crecimiento (altura total) de la *i-ésima* planta; β_0 , β_1 y β_2 son los parámetros de la regresión; x =tiempo en el día Juliano en el que se realizó la medición; Z =es la elongación total (mm).

Las variables usadas en el análisis de varianza incluyen: peso seco de ramas, tallo y total aéreo (ramas con follaje + tallo), daño por heladas, elongación total (la diferencia de la altura de la planta obtenida al inicio del experimento y al final de éste), el día Juliano en el que cada planta elonga los primeros 2 mm (considerando el inicio del crecimiento, estimado mediante la regresión), así como el día Juliano en el que ocurrieron los últimos dos milímetros de elongación esto es el día Juliano en el que cesa el crecimiento (considerando fecha de fin de crecimiento, estimado mediante regresión). La tasa de crecimiento en la que ocurre entre el 20 % y el 80 % de la elongación total (estimado mediante regresión, expresado como mm de crecimiento por día) y la duración en días del

periodo de crecimiento (el número de días entre el día Juliano que termina el crecimiento menos el día Juliano en el que inicia el crecimiento).

Las variables anteriores fueron usadas para hacer un análisis de la varianza con el objetivo de observar la existencia de diferencias entre procedencias empleando un PROC GLM (SAS, 2004). La proporción del aporte de los componentes de la varianza se estimó usando un PROC VARCOMP, METHOD=REML, usando el siguiente modelo estadístico:

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

En dónde: μ =media general, β_i =efecto del i -ésimo bloque, P_j =efecto de la j -ésima procedencia, $\beta_i * P_j$ =efecto de la interacción entre el i -ésimo bloque y la j -ésima procedencia, ε_{ijk} =error.

A partir del ANOVA, se estimó para cada variable la Diferencia Mínima Significativa (DMS) necesaria para declarar a dos poblaciones estadísticamente diferentes ($\alpha= 0.20$). Tal diferenciación se considera una diferenciación genética entre poblaciones, toda vez que en el ensayo de jardín común podemos considerar que las poblaciones están sometidas a un solo ambiente, y por tanto, es posible asumir que las diferencias entre poblaciones se deben a factores genéticos.

Se realizó un análisis de regresión entre las medias por población contra la altitud de origen, de aquellas variables que resultaron significativas en el ANOVA, para determinar cuáles variables mostraban un patrón de variación a lo largo del gradiente altitudinal.

Aquellas variables que resultaron significativas (para ambos análisis, ANOVA y regresión contra altitud), fueron incorporadas en un análisis de componentes principales

PRINCOMP; SAS, (2004), usando las medias por población, para expresar de manera conjunta la diferenciación entre poblaciones.

La relación entre el gradiente ambiental (a lo largo del transecto altitudinal) y la variación genética entre poblaciones, se evaluó usando una regresión entre el componente principal 1 (PRIN1) del análisis anterior contra variables climáticas de cada procedencia.

Las variables climáticas se obtuvieron para el clima contemporáneo, considerado como el promedio del periodo 1961-1990 obtenidas de modelos climáticos “spline” disponibles en el sitio web <http://forest.moscowsl.wsu.edu/> y <http://charcoal.cnre.vt.edu/climate/customData/>. Se obtuvieron 18 variables climáticas básicas generadas por los modelos “spline”, más algunas variables compuestas que han demostrado su relevancia en la distribución de biomas (Sáenz-Romero *et. al.*, 2012; Rehfeldt *et. al.*, 2012), o de las especies forestales (Sáenz-Romero *et. al.*, 2010), o en el modelaje de hábitat climático propicio para *Abies religiosa* (Sáenz-Romero *et. al.*, 2012a).

Las variables climáticas se abrevian según su acrónimo en inglés para facilitar su identificación en el sitio web, son: la Temperatura Media Anual (MAT, °C), Precipitación Media Anual (MAP, mm), Precipitación en el Período de Crecimiento (abril hasta septiembre, GSP, mm), Temperatura Media del Mes más Frío (MTCM, °C), Temperatura Media Mínima del mes más frío (MMIN, °C), Temperatura Media del mes más caliente (MTWM, °C), temperatura media máxima del mes más caliente (MMAX, °C), Fecha en días Julianos de la última helada de la primavera (SDAY, día), Fecha en días Julianos de la primera helada en otoño (FDAY, día), Periodo libre de heladas (FFP = FDAY - SDAY, días), Grados día anuales >5°C (DD5, °C), Grados día >5 °C acumulados dentro del período libre de heladas (GSDD5, °C), fecha en días julianos en los que la suma de los grados-día > 5 °C alcanza 100 (D100, día), Grados-día anuales <0 °C basado en la

temperatura media mensual (DD0, °C), Grados-días <0 °C basado en la temperatura mínima media mensual (MMINDDD0, °C), precipitación de verano (julio + agosto; SMRPB, mm), Balance de precipitación Verano/Primavera: [(julio + agosto) / (abril + mayo; SMRSPRPB, cociente)], Precipitación de primavera (abril + mayo; SPRP, mm), precipitación de verano: julio + agosto (SMRP, mm); Precipitación de invierno: (noviembre + diciembre + enero + febrero; WINP, mm). Las interacciones climáticas usadas para estimar algunos índices fueron: Índice de aridez (AAI=DD^{0.5}/MAP), Índice de aridez en el período de crecimiento (SDI=(GSDD^{0.5})/GSP; índice), Interacción entre la precipitación de la temporada de crecimiento y la temperatura del mes más frío (GSPMTCM=(GSP*MTCM)1000; índice), coeficiente de precipitación entre la precipitación de la temporada de crecimiento y la total anual (PRATIO=GSP/MAP; cociente), Diferencial de temperatura anual (TDIFF=MTWM-MTCM, °C), Interacción entre la precipitación de verano y el diferencial anual de temperatura (GSPTD=GSP*TDIFF/100, índice).

Para determinar la asociación entre las variables de respuesta y el gradiente ambiental (altitudinal o climático), se empleó un análisis de regresión con la altitud de la procedencia o bien el valor de cada variable climática individualmente (de cada procedencia), usando un modelo lineal y cuadrático, usando PROC REG; de SAS (2004), el modelo fue el siguiente:

Modelo lineal

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

Modelo cuadrático

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2 X_i^2 + \varepsilon_{ij}$$

Dónde Y_{ij} = valor del componente principal uno (PRIN1) para la *i-ésima* población, β_0 =interceptada, β_1 y β_2 =parámetros de la regresión, X_i = valor de la variable climática o altitud (m) para la *i-ésima* procedencia y ϵ_{ij} =error.

1. Altura de la planta e índices de crecimiento

Los árboles crecieron durante 10 meses en ensayo de jardín común y en enero de 2015, cuando las plantas tenían 19 meses de edad, se inició a tomar la lectura de altura (al milímetro) y diámetro de las plantas cada 21 días, y cada diez días durante la temporada de crecimiento.

Para tomar la lectura de la altura de la planta al milímetro, se colocó una regla de forma vertical sobre una barra metálica situada de manera horizontal de extremo a extremo a lo ancho del cajón y se marcó la posición de dicha barra en los cajones. Esto para garantizar la repetitividad de las mediciones.

Empleando la metodología de Rehfeldt (1993), los índices de crecimiento [altura total (mm), elongación total (mm), fecha de inicio de elongación (día Juliano), periodo de elongación (día), fecha término de elongación (día Juliano) y tasa de crecimiento (mm/día)] fueron estimados por árbol, mediante una regresión obtenida a partir de la altura de la planta estimada al milímetro durante diez meses en el ensayo de procedencias de jardín común (más detalles en la sección de análisis estadísticos).

2. Peso seco

Para obtener el peso seco de las plantas, inicialmente cuatro de los seis bloques fueron cosechados a los 30 meses de edad, cuando las plantas aún se encontraban en el reposo invernal (diciembre de 2015). Se separó el tallo de las ramas y follaje. Los dos bloques restantes fueron cosechados en junio de 2016 cuando los árboles cumplieron tres años de edad, para permitir la determinación de daño por heladas (descrita abajo) en estos dos bloques. Sin embargo, para la estimación de peso seco, se eliminaron los brotes ocurridos después de los 30 meses de edad, para garantizar que los árboles fueran comparables con los cuatro bloques cosechados inicialmente en diciembre de 2015.

Los componentes (tallo y ramas con follaje) de cada individuo se introdujeron en bolsas de papel y se secaron en una estufa durante 72 h a 60 °C. Posteriormente, se pesaron en una balanza de precisión de 1 g. El peso seco total aéreo se obtuvo de la suma del tallo y las ramas con follaje.

3. Daño por heladas

El daño por heladas fue inducido en acículas y brotes de 15 procedencias de *Abies religiosa* que crecieron en dos bloques en el ensayo de procedencias de jardín común, a los 34 meses de edad. Los experimentos se realizaron en Laboratorio de Botánica del IIAF-UMICH inicialmente en invierno, cuando las plantas se encuentran en reposo invernal (enero-febrero) 2016. Sin embargo, debido a que ensayos piloto demostraron que en acículas maduras el daño por heladas no es evidente, aun infringiendo daño con temperaturas de hasta -20 °C, con las que apenas se observó desecación, sin encontrar diferencias entre procedencias. Por lo anterior, se decidió usar ramillas colectadas en marzo del 2016; al inicio de la primavera (cuando las plantas aún no elongaban, pero estaban relativamente próximo a romper el reposo invernal (la elongación de yemas ocurre entre mediados y finales del mes de abril).

Se colectaron por la mañana (7:00 am) dos ramas por individuo de entre cinco y 10 cm de longitud (dependiendo de la arquitectura de cada planta) de la parte apical de cada planta, tratando de localizar las que tenían acículas muy inmaduras, poco lignificadas, dispuestas en la roseta de la yema líder de las ramas superiores. La colecta se llevó a cabo 24 horas posteriores a un riego a capacidad de campo (para descartar daño por heladas en interacción por estrés por sequía).

Las ramas se introdujeron en bolsas de plástico selladas (Ziploc® de 20 x 18 cm) dentro de una caja de cartón, (para generar un efecto amortiguador (buffer) y aminorar la velocidad de cambio de temperatura), en refrigerador a 4 °C durante 12 horas. Al término

de este tiempo, se colocaron dentro de la misma caja de cartón (colocando un sensor remoto de termómetro dentro de la caja para llevar a cabo un mejor monitoreo de la temperatura) en un congelador Torrey® con termostato modificado para control manual. El tratamiento partió de 4 °C y la temperatura fue descendiendo gradualmente 1 °C cada 20 minutos (3 °C por hora) hasta llegar a una temperatura objetivo de -20 °C (misma que se determinó a partir del resultado de pruebas piloto), buscando un daño intermedio a fin de poder visualizar un gradiente de variación entre las procedencias. Una vez que llegó a -20 °C, la temperatura fue aumentando nuevamente de forma gradual 1 °C cada 20 minutos (3 °C /hora), hasta llegar nuevamente a 1 °C. Posteriormente a la prueba se permitió que las muestras alcanzaran la temperatura ambiente durante aproximadamente 12 horas, dejando las muestras dentro del congelador apagado y finalmente, las muestras se dejaron a temperatura ambiente sobre una mesa de laboratorio durante 72 horas, para permitir la expresión visual del daño por frío.

La evaluación al daño por heladas consistió en valorar visualmente en 10 acículas ubicadas en el extremo terminal de la rama (la roseta que rodea la yema terminal), los siguientes aspectos: 1) pérdida de turgencia, 2) coloración y 3) necrosis en el tejido. Se tomaron valores individuales de cada acícula con un índice de daño que va de: 0=acícula sin daño evidente, más allá de la desecación natural producida por haber sido desprendida de la rama y haber quedado expuesta por cuatro días, con la forma de las hojas casi normal, solamente rígida y un poco obscurecida por la desecación); 0.5 = daño intermedio (acícula doblada parcialmente, verde oscuro con pocos tonos de café); 1= daño severo (acícula doblada o torcida de manera pronunciada, severa desecación, tejido necrosado en tonos cafés evidente), similar al preestablecido por Viveros-Viveros *et. al.*, 2007. Los valores del índice por cada acícula se sumaron por rama, los valores de la

rama podían ser de 0 (todas las acículas sin daño) a 10 (daño severo en todas las acículas), que se transformó a porcentaje (0 a 100 %) (Fig. 2).



Figura 2. Escala de valoración visual de daño por heladas, inducido en laboratorio. El daño va de cero a uno, donde cero es 0 % y 1 es 100 % de daño.

Zonificación altitudinal y climática

Se obtuvo un promedio de la equivalencia en diferencia altitudinal que hacen que dos poblaciones sean significativamente diferentes, a partir de los valores de la Diferencia Mínima Significativa (DMS) de aquellos caracteres que fueron significativos tanto en el ANOVA (entre poblaciones) como en la regresión de procedencia contra altitud.

Como la DMS de cada variable es un valor no comparable a la de otro carácter, primero se encontró su equivalencia en el intervalo altitudinal para cada carácter, mediante el análisis de regresión (PROC REG, SAS 2014) del cada caracter contra la altitud de origen de las poblaciones; esa equivalencia altitudinal fue la que se promedió entre caracteres.

Se realizó un análisis de componentes principales con aquellos caracteres que fueron significativos tanto para el ANOVA como para la regresión de la procedencia contra la altitud. De ese análisis, se obtuvo el componente principal uno (PRIN1). Se estableció la relación entre PRIN1 y cada una de las variables climáticas mediante una regresión, usando un modelo lineal y cuadrático. Luego, se encontró la relación entre el valor de cada variable climática para cada procedencia y la altitud de origen de las mismas, mediante un análisis de regresión lineal. De esta forma, se obtuvo la equivalencia de la diferencia mínima significativa que hace a dos poblaciones genéticamente diferentes, tanto en valores climáticos [para la variable climática que fue identificada como la asociada de manera más pronunciada al patrón de variación clinal que fue la Temperatura Media del Mes Más Frío (MTCM; °C) con el componente principal uno (PRIN1)], como en diferencia altitudinal.

Una vez establecidos la magnitud del intervalo altitudinal y el intervalo climático (para la variable climática más asociada) que hacen que dos poblaciones sean genéticamente diferentes, se trasladó la zonificación a otras variables climáticas de uso

común Temperatura Media del Mes Más Frío (MTCM; °C), Días Grado acumulados por arriba de 5 °C (GSDD5; días/grado), la diferencia en el Día en el que ocurre la primera Helada en Otoño (FDAY; día) y Periodo Libre de heladas (FFP; días).

Si bien la altitud es en realidad una variable sustituta de valores climáticos, el énfasis en obtener una zonificación altitudinal derivada de la climática, radica en que la altitud es una variable más fácil de emplear en el manejo silvícola.

4. Estimación de la zonificación considerando cambio climático año 2030.

Siguiendo el objetivo de re-acoplar las poblaciones que se encuentran en el hábitat climático propicio contemporáneo al hábitat climático futuro (década centrada en el año 2030), se estimaron los valores de MTCM para cada procedencia para la década centrada en el año 2030, usando un ensamble de 18 modelos bajo el escenario de concentraciones de gases de efecto invernadero RCP 6.0 watts/m² (un escenario de concentración de gases de efecto invernadero intermedio). Las estimaciones se realizaron usando los modelos “spline” del sitio <http://charcoal.cnre.vt.edu/climate/customData/>, que para la región de México, están basados en Sáenz-Romero *et al.* (2010).

Posteriormente, se estableció la relación entre los valores de MTCM (en el escenario del año 2030) y la altitud de cada procedencia mediante una regresión. Finalmente, se estimó a qué altitud ocurrirán los valores de MTCM en el futuro (año 2030) que corresponden a los límites de la zonificación climática bajo clima contemporáneo, definidos por los valores de MTCM contemporáneos. Es decir, se encontró la equivalencia altitudinal de la zonificación contemporánea, pero bajo un clima futuro. Esto con la finalidad de orientar el movimiento del germoplasma contemporáneo, para ser acoplado a un clima futuro.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1) ÍNDICES DE CRECIMIENTO

Los seis índices de crecimiento: 1.1) Altura final, elongación total, 1.2) Fecha de inicio y , término de elongación y 1.3) Periodo de elongación y tasa de crecimiento durante el período de mayor elongación (cuando ocurre entre el 20 y el 80 % del crecimiento), se derivaron de la modelación de las curvas de crecimiento obtenidas mediante las mediciones de la altura de la planta realizadas frecuentemente en el ensayo de jardín común de acuerdo a la metodología establecida por Rehfeldt, 1993 y modificada por Loya-Rebollar *et. al.*, 2012. (Ver metodología y análisis estadístico).

1.1. **Altura Final y Elongación Total**

La altura final representa la última medición registrada al término del experimento. Es un carácter que suele estimarse para obtener información del potencial genético de las poblaciones y por lo tanto diferenciación genética entre poblaciones (Viveros–Viveros *et al* 2009; Sáenz-Romero *et. al.*, 2012; Loya-Rebollar *et. al.*, 2013). Se caracteriza por presentar varios elementos que nos ayudan a identificar y separar el brote de la yema principal en componentes (Salazar-García *et. al.*, 1999), por este motivo fue evaluada en los individuos de las poblaciones de oyamel.

Se encontró que existen diferencias significativas entre poblaciones para la variable **altura total** (ANOVA, $P=0.0011$). El 12 % de la contribución a la varianza la aportaron las procedencias, lo cual quiere decir que el potencial de crecimiento en la altura de la planta presenta un control genético significativo. La contribución a la varianza de los bloques fue nula; esto significa que el ambiente bajo el cual crecieron los árboles es homogéneo (Tabla 1). En promedio las 15 poblaciones a los dos años de edad presentaron una altura total de 480 mm.

Se encontró también una asociación significativa entre la altitud de origen de la procedencia y la altura total promedio de la planta ($R^2=0.4061$, $P=0.0103$). Con una tendencia en la que, las poblaciones originadas en sitios de menor elevación tienen mayor altura total promedio, comparadas con las poblaciones que ocurren a mayor elevación (Fig. 3b).

La población seis originada a 3300 msnm no experimentó la tendencia general que se observó; desde el inicio del experimento, ésta población estuvo representada por plantas con un crecimiento atípico inesperadamente bajo (en promedio 297 mm), por lo que cabe preguntarse si los árboles colectados en la población seis tendrían algún efecto de endogamia acumulada. De tal forma que, la interpretación se hizo basada en la tendencia que exhiben las poblaciones restantes y siguiendo la tendencia general de los datos.

Empleando un alfa de 0.2, la diferencia mínima significativa (DMS) que hizo que dos poblaciones fueran estadísticamente diferentes para el carácter **altura total** es 108.22 mm ó 363 m de diferencia altitudinal, éste resultado fue mayor al reportado por Sáenz-Romero y colaboradores (2006), en poblaciones de *Pinus oocarpa*, que fue 47.44 mm. Las diferencias en el valor de la DMS podrían atribuirse a la naturaleza del experimento, ya que el desempeño de las poblaciones de *P. oocarpa* se evaluó en campo y no bajo condiciones homogéneas como las presentes en el jardín común, lo cual resultó positivo. En éste experimento no hubo efecto de bloques ni de interacción bloque x procedencia, en esta variable.

Respecto a la **elongación total**, que es la diferencia entre la altura inicial y la altura final de la planta registrada al término del experimento, también se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre procedencias ($P=0.0167$). La aportación de la procedencia a la varianza total fue de 7 %. Esto indica que la elongación total

también es un carácter que presenta control genético. A pesar de las diferencias encontradas entre las medias de las procedencias, la mayor variabilidad se presentó dentro del error (87 %; Tabla 1); éste alto valor, se explica por el amplio nivel de variación de elongación total dentro de procedencias (Farfán *et. al.*, 2002).

También se encontró un patrón altitudinal significativo entre la elongación total promedio por población y la altitud de origen de la población ($R^2=0.4416$, $P=0.0067$). En el que las plantas de poblaciones originadas a mayor altitud presentaron menor potencial de elongación que las poblaciones de la parte baja de la distribución altitudinal (Fig. 3a). Este mismo patrón de variación genética asociada al gradiente altitudinal se encontró en poblaciones de *P. hartwegii* (Loya-Rebollar *et. al.*, 2013), *P. pseudostrobus* (Viveros-Viveros *et. al.*, 2005), *P. patula* (Sáenz-Romero *et. al.*, 2011) y *P. oocarpa* (Sáenz-Romero *et. al.*, 2006).

La elongación máxima promedio fue 215 mm, que la presentó la población originada de 2900 msnm, mientras que la elongación mínima promedio fue 167 mm, de la población originada a 3450 msnm (Fig. 3b). El promedio general de elongación durante el segundo año de edad de las plantas de las 15 poblaciones fue 249 mm.

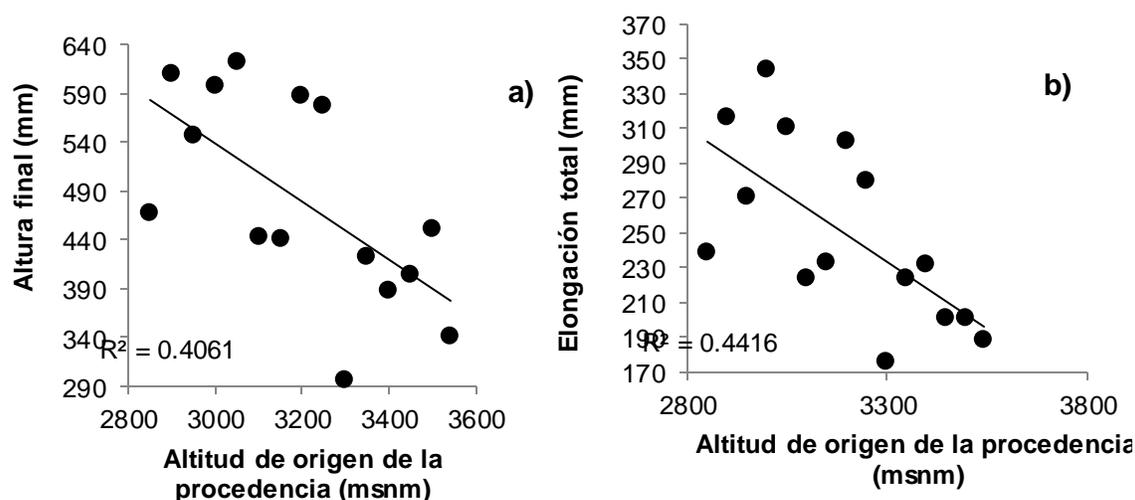


Figura 3. Índices de crecimiento de 15 poblaciones de *A. religiosa*, del Cerro de San Andrés Municipio de Cd. Hidalgo, Michoacán. **a)** Altura total final promedio ($R^2=0.4061$, $P=0.0103$) y **b)** Elongación total ($R^2=0.4416$, $P=0.0067$)

La diferencia mínima significativa que hizo a dos poblaciones estadísticamente diferentes ($\alpha=0.2$), en altura final es 66.04 mm, lo que en altitud corresponde a 427 m de diferencia altitudinal.

Tabla 1. Análisis de varianza de índices de crecimiento: Altura final y Elongación total de 15 procedencias de *A. religiosa* a los 28 meses de edad en jardín común, Morelia, Michoacán. Porcentaje de contribución a la varianza total (%) y valores de significancia (P).

Índices de crecimiento					
Fuente de variación	G.L.	Altura final		Elongación total	
		%	P	%	P
Bloque	5	0.0	0.7543	0.0	0.6935
Procedencia	14	12.9	0.0011	7.0	0.0167
Bloque*Procedencia	58	10.8	0.1040	6.0	0.0564
Error	247	76.3		87.0	

1.2. Fecha de Inicio y Término de Elongación

La fecha de inicio de elongación de la yema se expresó en el número de día Juliano (desde el 1^{ro} de enero) en la que la planta experimenta los dos primeros milímetros de crecimiento en elongación.

No se encontraron diferencias significativas entre procedencias para la **fecha de inicio de elongación** de crecimiento ($P=0.9785$). La contribución de la procedencia a la varianza fue muy baja, 2.3 % (Tabla 2). En otros trabajos reportados tampoco encontraron diferencias en el inicio del crecimiento de las poblaciones de *P. hartwegii* (Loya-Rebollar *et. al.*, 2013). Probablemente no se encontraron diferencias en el inicio de la elongación de poblaciones de oyamel debido a que éste carácter presenta una amplia plasticidad fenotípica (Böhlenius *et. al.*, 2006), aunque éste fenómeno se sabe está determinado genéticamente (Hännien y Tanino, 2011),

Tampoco se obtuvo una relación entre la **fecha de inicio de elongación** y la altitud de origen de la procedencia (Fig. 4a. $R^2 = 0.0047$, $P=0.8083$). Hubo una diferencia de 6 días entre el inicio de elongación de la población originada de la mayor altitud (3550) y la población originada a menor altitud (2850 msnm). Estos resultados sugieren una elongación de yemas indiferenciada respecto al origen altitudinal de la procedencia, lo cual es inesperado, ya que se suponía que a mayores altitudes las plantas estarían adaptadas a una menor temperatura promedio anual y un mayor número de días con heladas y por lo tanto su crecimiento inicial debió ser más tardío. Sin embargo, como se ha mencionado antes, la plasticidad de este carácter es versátil, al parecer las plantas respondieron a las condiciones ambientales del jardín común con éxito.

Se sabe que el brote de las yemas depende de la suma de la acumulación de calor (grados día) hasta que se rebasa un umbral de temperatura acumulado (Hännien y Tanino, 2011). En el experimento de jardín común, la elongación en promedio inició a finales de abril y principios de mayo. En campo la respuesta pudiera ser diferente, debido

a que las plantas se enfrentan a mayores adversidades (Rehfeldt, 1988). Como consecuencia de cambio climático se espera que este caracter sea uno de los caracteres más afectados.

Las poblaciones de las especies con distribución alpina y latitud Norte serán las más perturbadas por la diferencia en la temperatura ambiental, la duración del fotoperiodo y la sequía, que desfazarán el brote de las yemas (Gienapp *et. al.*, 2008). Un brote más temprano o más tardío durante otoño para las poblaciones de la parte baja de la distribución altitudinal podría significar la muerte de las yemas por helada, que no podrían crecer en el siguiente ciclo (Gienapp *et. al.*, 2008; Florian *et. al.*, 2013).

De no ser por la población seis (que tiene un crecimiento atípico) y la población cuatro (originada a los 3400 msnm), pudo haber una tendencia en la que las plantas originadas en la parte baja de la distribución altitudinal elongan antes de las poblaciones de la parte alta de la distribución altitudinal (Fig. 4a). Esta tendencia se ha observó en ensayos de procedencias hechas con *Quercus petrea* (Alberto *et. al.*, 2011).

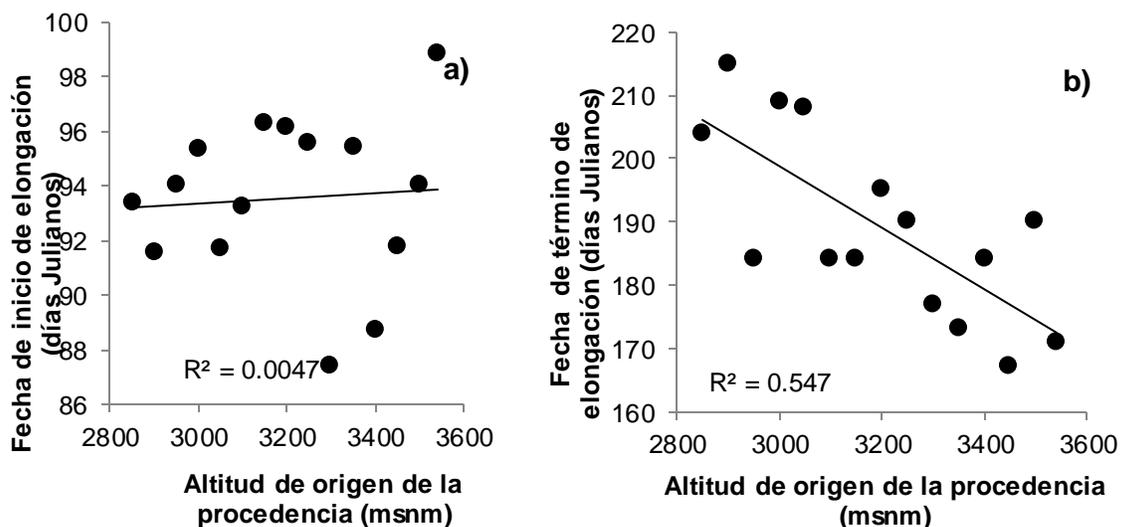


Figura 4. Índices de crecimiento de 15 poblaciones de *A. religiosa*, del Cerro de San Andrés Municipio de Cd. Hidalgo, Michoacán. **a)** Fecha promedio de inicio de elongación ($R^2=0.0047$, $P=0.8083$) y **b)** Fecha promedio término de elongación ($R^2=0.5470$, $P=0.0016$), contra altitud de origen de la procedencia (msnm).

Se presentaron diferencias significativas entre procedencias en la **fecha** en la que ocurrieron los últimos dos milímetros de crecimiento, algo que llamamos **término de elongación** de la yema líder ($P=0.0018$). La mayor contribución a la varianza la presentó el error con 82.8 %, seguido del bloque y la procedencia con 8 y 8.5 % respectivamente (Tabla 2). El 82 % de contribución a la varianza por el error indica que existe mucha variación entre árboles dentro de las procedencias, la fecha de término de elongación fue una variable que en el ensayo exhibió menos plasticidad que la fecha de inicio de elongación.

La **fecha de término** promedio de elongación de las 15 poblaciones ocurrió el día 189 Juliano, es decir el 8 de julio de 2015. Las plántulas de la población 14 que vinieron de la parte baja de la distribución altitudinal en promedio finalizaron su crecimiento más tarde (el 3 de agosto), mientras que las plantas de la población tres originadas a 3450 msnm terminaron primero su elongación aproximadamente el 16 de junio (17 días antes que las poblaciones de la parte baja de la distribución altitudinal baja), seguidas de las plantas que provienen de 3550 msnm que lo hicieron en promedio cuatro días después (20 de junio) (Figura 4b).

Se obtuvo un valor significativo en la regresión entre la elongación promedio de la elongación total y la altitud de origen de la procedencia ($R^2=0.5474$, $P=0.0016$) en el que las poblaciones originados a menor altitud cesaron su crecimiento en fechas posteriores a los que lo hicieron las poblaciones de mayor altitud (Fig. 4b). Las poblaciones de *P. hartwegii* no presentaron diferencias en la fecha término de elongación, estudios posteriores se requerirán para poder comprender la plasticidad de este par de caracteres.

Tabla 2. Análisis de varianza de índices de crecimiento: Fecha de inicio de elongación (días Julianos) y Fecha de término de elongación (días Julianos) de 15 procedencias de *A. religiosa* a los 28 meses de edad en jardín común, Morelia, Michoacán. Porcentaje de contribución a la varianza total (%) y valores de significancia (P).

Índices de crecimiento					
Fuente de Variación	G.L	Fecha de inicio de elongación		Fecha de término de elongación	
		%	P	%	P
Bloque	5	3.0	0.2662	8.5	0.0001
Procedencia	14	0.0	0.9785	8.0	0.0018
Bloque*Procedencia	58	0.0	0.2102	0.7	0.1095
Error	239 [†]	97.0		82.8	

G.L= Grados de Libertad, para Fecha de término de elongación los G.L.=247[†]

Desde 1960 en Europa y Norte América, se han observado cambios importantes en la fenología de las plantas: inician el periodo de elongación y floración, antes de primavera (Gian-Reto *et. al.*, 2002). Estudios posteriores serían requeridos para poder tener resultados concluyentes acerca de la plasticidad fenotípica de la elongación de las yemas en las poblaciones de oyamel, si la intención es mover las poblaciones altitudinalmente mediante migración asistida, para acoplar de la manera más certera los genotipos.

1.3. *Periodo y Tasa de crecimiento*

El **periodo de crecimiento** se definió como el número de días (número de días Julianos) en los que la planta crece; se obtuvo al encontrar la diferencia entre el término y el inicio del crecimiento. La **tasa de crecimiento** fue descrita como la elongación por día que ocurre entre el 20 y el 80 % de la elongación de la yema

A mayores altitudes la severidad del ambiente impone no solo la restricción de distribución de las especies (Jump *et. al.*, 2009), sino también favorece la diferenciación genética entre poblaciones y un patrón clinal en el crecimiento y la fenología de las especies en los eventos fenológicos (Rehfeldt 1988; Vitasse *et. al.*, 2009).

Inesperadamente, el periodo de crecimiento entre poblaciones no fue estadísticamente diferente (ANOVA, $P=0.0916$). Este resultado es semejante al que encontró Loya-Rebollar (2013), en poblaciones de *P. hatrwegi*. El porcentaje de contribución de las poblaciones a la varianza total fue para el periodo de crecimiento de 2.3 % y 0 % para la tasa de elongación. Estos valores son muy diferentes a los reportados por Rehfeldt (1993) en poblaciones de *Pinus ponderosae*.

Tabla 3. Análisis de varianza de índices de crecimiento: Periodo de crecimiento (días) y Tasa de elongación (mm/día) de 15 procedencias de *A. religiosa* a los 28 meses de edad, en jardín común, Morelia, Michoacán. Porcentaje de contribución a la varianza total (%) y valores de significancia (P).

Índices de crecimiento					
Fuente de Variación	G.L.	Periodo de crecimiento (días)		Tasa de elongación (mm/día)	
		%	P	%	P
Bloque	5	13.5	0.0002	1.9	0.2426
Procedencia	14	2.3	0.0916	0.0	0.5523
Bloque*Procedencia	58	3.7	0.0269	11.5	0.0155
Error	239 [†]	80.6		86.6	

G.L.= Grados de Libertad, para la tasa de elongación 246[†]

Se encontró una tendencia significativa entre el periodo de crecimiento expresado en días julianos y la altitud de origen de las poblaciones ($R^2=0.5381$, $P=0.0021$) ver Tabla 3. Las poblaciones originadas en la parte baja de la distribución altitudinal exhibieron un periodo más amplio de crecimiento que las poblaciones de la parte alta de la distribución altitudinal (Fig.5a). En sitios con temperaturas más favorables que normalmente ocurren a baja elevaciones, el periodo de crecimiento podría llegar a ser más largo y decrecer conforme incrementa la elevación (Körner, 2007) lo cual es consistente con lo encontrado en este trabajo.

Es contrastante el periodo de crecimiento promedio entre las plántulas de la población 15 y las de la población uno (los extremos altitudinales); las de la población 15 (a 2850 msnm) elongaron durante 111 días aproximadamente; esto significa que crecieron durante 39 días más que las plántulas de la población de 3550 msnm.

En la **tasa de crecimiento**, no se encontraron diferencias significativas entre procedencias ($P=0.5523$; Tabla 3). El aporte de la procedencia a la varianza total para este carácter fue cero; el mayor porcentaje de contribución lo aportó el error (Tabla 3).

Tampoco se encontró una asociación significativa entre la tasa de elongación promedio por población y la altitud de origen de la procedencia ($R^2=0.1593$, $P=0.1410$). Sin embargo, se pudo notar una tendencia en el que las poblaciones de la parte alta de la distribución altitudinal presentan una tasa de elongación menor a las plantas de las poblaciones de la parte baja (Fig.5b).

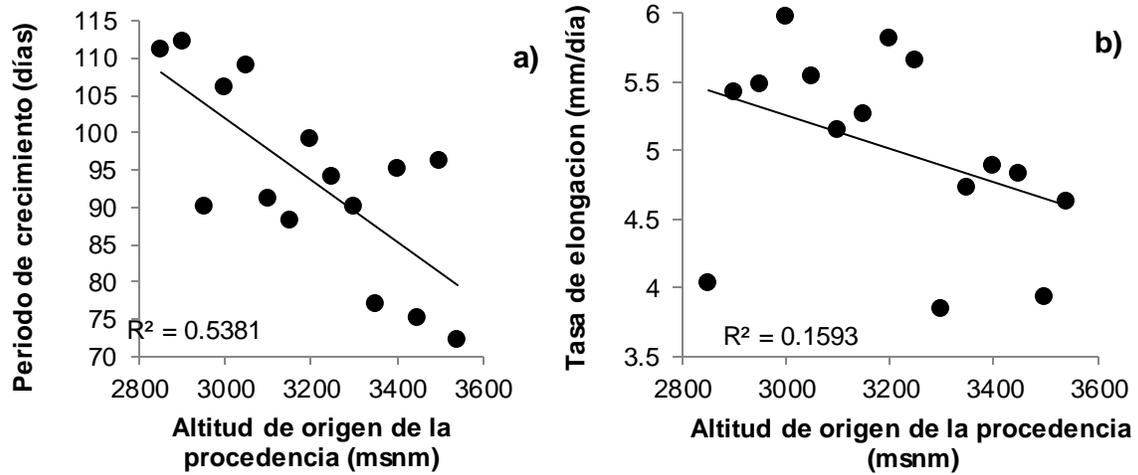


Figura 5. Índices de crecimiento de 15 poblaciones de *A. religiosa*, del Cerro de San Andrés Municipio de Cd. Hidalgo, Michoacán. **a)** Periodo de crecimiento ($R^2=0.5381$, $P=0.0021$) y **b)** Tasa de elongación ($R^2=0.1593$, $P=0.1410$), contra altitud de origen de la procedencia (msnm).

2. *Peso Seco*

El peso seco de los individuos se evaluó en el ensayo de jardín común para determinar si existe diferenciación genética entre poblaciones de oyamel en acumulación de biomasa.

Se encontraron diferencias significativas entre procedencias de la acumulación de peso seco total aéreo ($P=0.0104$), peso seco del follaje ($P=0.0096$) y peso seco de tallos ($P=0.0152$).

El 5.4 % y 5.9 % de la varianza total del peso seco follaje y peso seco total aéreo respectivamente, se debió a la procedencia (Tabla 4), lo cual es consistente con lo que reporta Sáenz-Romero et al (2011), para el peso seco aéreo de poblaciones de *P. patula*, 5.04 %. A pesar de que las diferencias entre las medias por población de peso seco son notables, el mayor porcentaje de contribución a la varianza lo presentó el error; sin embargo, esto era esperarse debido a que la variación entre árboles dentro de las poblaciones fue muy alta.

Tal como se esperaba se encontró una asociación significativa con la altitud de origen de la población en el peso seco de follaje ($R^2=0.2908$, $P=0.0366$) y la altitud de origen de la procedencia. En esta asociación, las poblaciones que provienen de la parte baja y media de la distribución altitudinal 14 (2900 msnm) y siete (3250 msnm) tienen más peso seco aéreo que las poblaciones originadas en la parte alta de la distribución altitudinal (Fig. 6). Este mismo patrón de asociación se encontró en poblaciones de *P. hartwegii* (Loya-Rebollar et. al., 2013), *P. pseudostrobus* (Sáenz-Romero et. al., 2012) y *Picea abies* (Oleksyn et. al., 1998). La relación inversa entre peso seco y altitud aquí encontrada, puede explicarse por la adaptación de las poblaciones al clima local, a mayor altitud la tasa fotosintética decrece y aumenta la tasa de respiración (Oleksyn et. al., 1998).

Aunque la regresión entre el peso seco de tallos ($R^2=0.2222$, $P=0.0820$) y el peso seco total aéreo ($R^2=0.2671$, $P=0.0536$) y la altitud de origen de la población no es significativa, se observó una tendencia en la que el peso seco promedio de los tallos está inversamente asociado a la altitud de origen de la procedencia (Fig. 6).

Por motivos que aún se desconocen la población seis (3300 msnm; 67 g) presentó un crecimiento pobre y poca acumulación de peso seco aéreo; incluso su peso seco total aéreo fue más bajo que el de la procedencia de menor altitud (3550 msnm; 81 g). Por otro lado, la población siete alcanzó la mayor acumulación de peso seco promedio total 181 g.

La diferencia entre el peso seco total aéreo máximo de la procedencia siete y el mínimo procedencia fue de aproximadamente 100 g. La población 14 originada de 2900 msnm (parte baja de la distribución altitudinal), y la población siete originada de la parte media de la distribución altitudinal 3250, fueron las poblaciones que más peso seco acumuló en follaje (103 g y 116 g respectivamente). Mientras que la procedencia que acumuló menos peso seco en el follaje fue la uno (3550 msnm) 53 g. Debido al crecimiento anormal la procedencia seis presenta también un peso seco bajo en el follaje: 44 g.

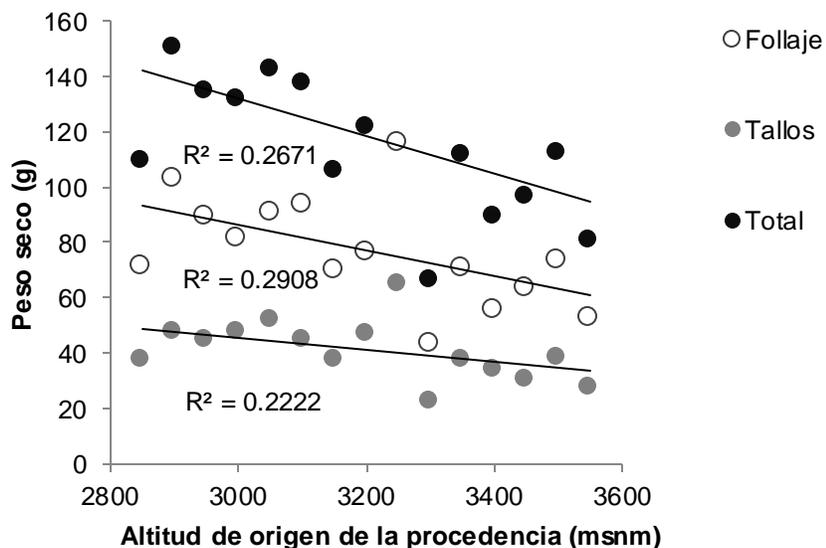


Figura 6. Peso seco promedio de 15 procedencias de *Abies religiosa*, recolectadas a lo largo de un gradiente altitudinal de 2850 a 3540 msnm en el Cerro de San Andrés, Mpio. de Ciudad Hidalgo Michoacán.

Como se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre poblaciones en el peso seco del follaje y el gradiente altitudinal, se estimó la DMS que hace que dos poblaciones sean significativamente diferentes ($\alpha=0.2$). Se obtuvo que 23.7 g hacen que dos poblaciones sean diferentes, lo cual equivale a 542 m de diferencia altitudinal. Sin embargo, no se encontró significativa la asociación entre peso seco de tallo y total de la parte aérea con la altitud de origen ($R^2=0.2222$; $P=0.0536$ respectivamente)

Tabla 4. Análisis de varianza del peso seco aéreo de 15 procedencias de *A. religiosa* a los 36 meses de edad en jardín común, Morelia, Michoacán. Porcentaje de contribución a la varianza total (%) y valores de significancia (P).

Peso seco							
Fuentes de Variación	G.L.	Tallo (g)		Follaje (g)		Total (g)	
		%	P	%	P	%	P
Bloque	5	0.0	0.5868	0.0	0.5801	0.0	0.6718
Procedencia	14	5.4	0.0152	5.9	0.0096	5.9	0.0103
Bloque*Procedencia	69	5.0	0.1817	6.5	0.0774	5.9	0.1232
Error	320	89.6		87.6		88.2	

3.- Resistencia a Daño por Heladas

Esta variable se evaluó para demostrar la variación genética entre poblaciones de *A. religiosa* a lo largo del gradiente altitudinal. Éste patrón se ha encontrado en *Pinus hartwegii* (Viveros-Viveros *et. al.*, 2009), *Pinus devoniana* (Sáenz-Romero y Tapia-Olivares, 2008), donde las poblaciones originadas en la parte baja de la distribución altitudinal, son menos resistentes al daño por heladas que las poblaciones de la parte alta de la montaña.

Se encontró una diferenciación genética entre poblaciones (ANOVA, $P=0.0130$) cuya aportación a la varianza total fue 66 % (Tabla 5). La resistencia a heladas media por población, representó una tendencia de asociación al gradiente altitudinal (descrita por el modelo cuadrático de regresión $R^2=0.8684$, $P<0.0001$), en el que las poblaciones originadas a menor altitud, presentaron menor resistencia al daño por heladas que las poblaciones originadas a mayor altitud (Fig. 7).

Esta misma tendencia se halló en poblaciones de *Pinus devoniana* y *Pinus hartwegii* cuyos resultados se obtuvieron empleando una metodología semejante a la de éste trabajo (Sáenz-Romero y Tapia-Olivares, 2008; Viveros-Viveros *et. al.*, 2009). En 1988, Rehfeldt encontró un patrón de asociación entre la diferenciación genética entre poblaciones reflejada en la tolerancia al daño por heladas, y la altitud de origen de la procedencia y demostró que la tolerancia de las poblaciones de *Pinus contorta* al daño heladas está fuertemente asociada al periodo y los días libres de helada presente en el sitio local de distribución de la población.

El mismo patrón de asociación clinal se ha observado no sólo entre poblaciones de una misma especie sino entre especies diferentes: *P. pseudostrobus*, *P. montezumae* y *P. hartwegii* (Viveros-Viveros *et. al.*, 2007). Las temperaturas mínimas presentes a mayor elevación, la disponibilidad del agua, el viento, la presión y el tipo de suelo representan

importantes limitaciones que las plantas deben enfrentar (Körner, 2007; Jump *et. al.*, 2009) promoviendo que las poblaciones se adapten genéticamente a lo largo del gradiente altitudinal (Rehfeldt, 1988). El aumento en la temperatura media anual y la disminución del agua en las siguientes décadas impondrá mayor estrés sobre las poblaciones vegetales (Sáenz-Romero *et. al.*, 2010).

Tabla 5. Análisis de varianza de 15 procedencias de *A. religiosa* en resistencia a daño por heladas, evaluación a los 34 meses de edad, en jardín común, Morelia, Michoacán. Porcentaje de contribución a la varianza total (%) y valores de significancia (P).

Resistencia de las acículas al daño por helada			
Fuente de variación	G.L.	%	P
Bloque	14	7.21	<0.0001
Procedencia	1	62.9	0.0130
Bloque*Procedencia	12	7.38	0.0002
Error	186	22.6	

El daño promedio de las 15 procedencias de *A. religiosa* fue 30 %. Apparently las acículas son muy resistentes a las temperaturas bajas, ya que el daño se concentró en las acículas más jóvenes.

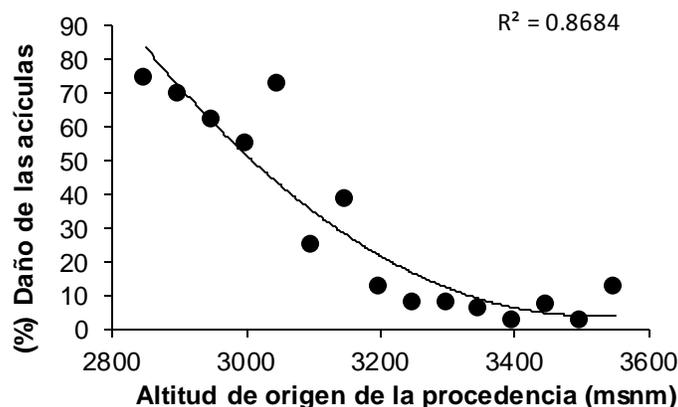


Figura 7. Porcentaje promedio de daño por heladas (-20 °C) de acículas de 15 procedencias de *Abies religiosa* colectadas a lo largo de un gradiente altitudinal, en el Cerro de San Andrés Mpio. de Cd. Hidalgo, Michoacán.

Las poblaciones de oyamel que vienen de la parte baja de la distribución altitudinal, son más susceptibles al daño por heladas hasta un 74 % de daño fue registrado para la población que viene de los 2850 msnm, en contraste la población originada a 3500 msnm únicamente presentó 5 % de daño, esto quiere decir que, en promedio las poblaciones de la parte alta de la distribución altitudinal son mucho más resistentes al daño por heladas (Fig. 7).

Lo anterior indica que se debe tener cuidado al realizar la migración asistida de las poblaciones de oyamel, particularmente con las poblaciones que se encuentran en la parte media y baja de la distribución de la especie ya que son más susceptibles al daño y éste podría determinar el éxito o fracaso del establecimiento de las plántulas en campo. Por otro lado, las poblaciones originadas a mayores elevaciones, por arriba de los 3200 msnm, podrían moverse casi libremente montaña arriba, ya que presentaron menos de 15 % de daño, lo cual es muy alentador para realizar migración asistida (Figura 7).

Por encontrarse un patrón clinal significativo entre la diferenciación genética a la resistencia al daño por heladas y la altitud, esta variable fue empleada (junto con las variables significativas de crecimiento) para establecer la zonificación altitudinal-climática de la especie.

En este trabajo se encontró que 16.5 % de diferencia de daño por heladas, hace que dos o más poblaciones sean genéticamente diferentes; éste porcentaje equivale a 133 m de diferencia altitudinal, es decir que a cada 133 m dos poblaciones son genéticamente diferentes para éste carácter. Esto desde luego es una diferencia altitudinal muy pequeña, que ilustra la muy pronunciada diferenciación genética que hay entre poblaciones para este carácter.

Estudios anteriores de resistencia entre poblaciones al daño por heladas indican también una diferenciación genética entre poblaciones. En *Pinus devoniana*, donde el rango de distribución natural es de 1600 a 2400 m, la DMS es 19.9 %, lo que equivale a 387 m de diferencia altitudinal (Sáenz-Romero y Tapia-Olivares 2008). En poblaciones de *Pinus hartwegii* en un rango de distribución natural de la especie de 3000 a 3600 msnm, se encontró una DMS de 9.12% equivalente a 346 m de diferencia altitudinal (Viveros-Viveros *et al* 2009)

Ésta comparación de resultados en el que a cada 387 m dos poblaciones de *Pinus devoniana* se diferencian genéticamente (Sáenz-Romero y Tapia-Olivares 2008), y a cada 346 m las poblaciones de *P. hartwegii* (Viveros-Viveros *et al* 2009), y las poblaciones de *A. religiosa* a cada 133 m, podría estar indicando que a mayores altitudes la presión selectiva ambiental es más intensa, y esto promueve que diferenciación genética de las poblaciones sea más marcada.

Es de esperar que, como consecuencia del cambio climático, el rango de distribución contemporáneo de la especie se vea comprometido, sobre todo para las poblaciones que se encuentran en el límite xérico de la distribución altitudinal baja de la especie (Mátyás, 2010). Perder a los individuos de los márgenes de la distribución significa mucho, ya que probablemente son los más resistentes y tolerantes a las condiciones ambientales adversas de estrés por sequía (Aitken *et. al.*, 2008).

La evaluación del daño por heladas permitió evidenciar la diferenciación genética y su asociación al gradiente altitudinal, así como la susceptibilidad de las poblaciones del límite altitudinal inferior al congelamiento. La diferenciación genética obtenida en la resistencia al daño por heladas a través de la DMS nos permitió determinar la zonificación altitudinal y climática para la especie.

4.- DIFERENCIACIÓN GENÉTICA ALTITUDINAL ENTRE POBLACIONES DE *A. religiosa*, Y ASOCIACIÓN AL GRADIENTE ALTITUDINAL. UNA SÍNTESIS

Encontramos que existe una diferenciación genética entre poblaciones y una asociación significativa con la altitud (msnm) en los caracteres de: altura total (mm), elongación total (mm), fecha de término de elongación (días Julianos), peso seco de follaje (g) y resistencia de daño por heladas (% daño) (Tabla 6.) Dónde todos éstos caracteres reflejan los equilibrios adaptativos entre crecimiento y riesgo de daño por heladas (Rehfeldt, 1988).

Estos resultados evidencian dos cosas importantes, 1) existen diferencias genéticas entre poblaciones a lo largo del gradiente altitudinal de distribución de la especie y 2) ésta diferenciación está asociada al gradiente altitudinal. Por esta razón fue posible establecer una zonificación altitudinal para las poblaciones de *A. religiosa*.

Tabla 6. Resumen del total de caracteres evaluados y valor de significancia (P) para establecer la zonificación altitudinal

Caracter	ANOVA Población (P , $\alpha=0.05$)	Asociación con altitud de origen de la procedencia		Equivalencia en diferencia altitudinal de la Diferencia Mínima Significativa (P , $\alpha=0.2$)
		P	R^2	
Atura total (mm)	0.0011*	0.0103*	0.4061	363
Elongación total (mm)	0.0167*	0.0067*	0.4416	427
Fecha de inicio de elongación (Días Julianos)	0.9785	0.8083	0.0047	----
Fecha de término de elongación (Días Julianos)	0.0018*	0.0016*	0.5470	355
Periodo de crecimiento (Días)	0.0916	0.0021*	0.5381	----
Tasa de elongación (mm/día)	0.5523	0.1410	0.1593	----
Peso seco de tallos (g)	0.0152*	0.0820	0.2771	----
Peso seco follaje (g)	0.0096*	0.0366*	0.2908	542
Peso seco total (g)	0.0103*	0.0536	0.2222	----
Daño por heladas (%)	0.0103*	<0.0001*	0.8684	133
Promedio				364

La zonificación se estableció con el promedio de la equivalencia en diferencia altitudinal que representa la Diferencia Mínima Significativa (DMS) para cada uno de los caracteres cuantitativos evaluados ($\alpha=0.20$). Para el establecimiento de la zonificación, solo fueron consideradas aquellos caracteres que presentaron diferencias significativas entre poblaciones y un patrón altitudinal significativo asociado a la altitud (msnm) de origen de la población (Tabla 6). Se encontró que la DMS fue: 66.04 mm para altura total, 108.22 mm para elongación total, 17 días para fecha (días Julianos) término de elongación, 23.7 g para peso seco de ramas y 16.5 % para resistencia a daño por heladas (Tabla 6).

La relación de la DMS con el coeficiente de la regresión hecha contra altitud de origen de la procedencia) probó que las poblaciones de *A. religiosa* se diferencian genéticamente si están separadas a una diferencia altitudinal de 427 m para altura total, 363 m para elongación total, 355 m para la fecha de término de elongación, 542 m para peso seco de follaje y 133 m para resistencia a daño por heladas (Tabla 6). Como la diferenciación genética a lo largo del gradiente altitudinal no fue la misma para todos los caracteres, se tomó el promedio de todas las variables, que resultó en 364 m de diferencia altitudinal, valor que para fines prácticos se redondeó a 350 m de diferencia altitudinal.

La manera en la que se interpretó este dato fue que las poblaciones de *A. religiosa* se diferencian genéticamente en promedio cada 350 m de diferencia altitudinal. Considerando que la distribución de las poblaciones naturales de oyamel a nivel nacional se encuentra en promedio de los 2600 msnm a los 3700 msnm (Benavides-Mesa *et. al.*, 2011), es razonable dividir el rango de distribución altitudinal en tres bandas altitudinales.

Basados en lo anterior, se delinearon tres zonas para el movimiento del germoplasma para efectos de conservación, con un ancho de banda de 350 m, sin considerar cambio climático: Zona I, de 2650 msnm a 3000 msnm; Zona II, de 3000 msnm a 3350 msnm; y Zona III, de 3350 msnm a 3700 msnm. Como el objetivo de la zonificación es conservación y no se contemplan los efectos del cambio climático, las poblaciones pueden moverse libremente dentro de cada zona altitudinal, o bien, moverse en altitud hacia arriba o hacia abajo 175 m de diferencia altitudinal a partir de cada sitio de colecta (Tabla 7).

Tabla 7. Límites de elevación de zonas semilleras de *A. religiosa* para efectos de conservación, basado en la diferenciación genética altitudinal de las poblaciones.

Zona	Altitud			
	Límite (m)		Rango (m)	Intervalo (±)
	Bajo	Alto		
I	2650	3000	350	175.5
II	3000	3350	350	175.5
III	3350	3700	350	175.5

5.- ZONIFICACIÓN ALTITUDINAL CLIMÁTICA

Para establecer la zonificación climática, se realizó un análisis de componentes principales (PRIN1), a partir de aquellas que resultaron significativas tanto para el ANOVA como para la regresión contra altitud (Tabla 6) para reducir el número de variables en la que está expresada la diferenciación genética entre poblaciones, utilizando las medias por población de cada variable. El componente principal uno (PRIN1) obtuvo el 75.7 % del total de la contribución a la variación, el segundo componente principal contribuyó sólo con 14.02 %. Por ello PRIN1, fue considerado como la variable que explica la mayor parte de la varianza.

La diferenciación genética entre poblaciones se expresó en los valores de PRIN1 (Fig. 8a), PRIN1 presentó un claro patrón de asociación al gradiente altitudinal. Valores positivos y elevados de PRIN1 concordaron con las siguientes características: mayor potencial de elongación, peso seco total, así como menor resistencia a daño por heladas; valores negativos de PRIN1 corresponden a plantas con menor elongación, menor altura final de la planta, cesan su crecimiento de manera más anticipada, tienen menor peso y mayor resistencia al daño ocasionado por heladas (Fig. 8a). Este mismo patrón se ha descrito en otros experimentos con otras especies de *Pinus* (Rehfeldt 1993; Loya-Rebollar *et. al.*, 2013).

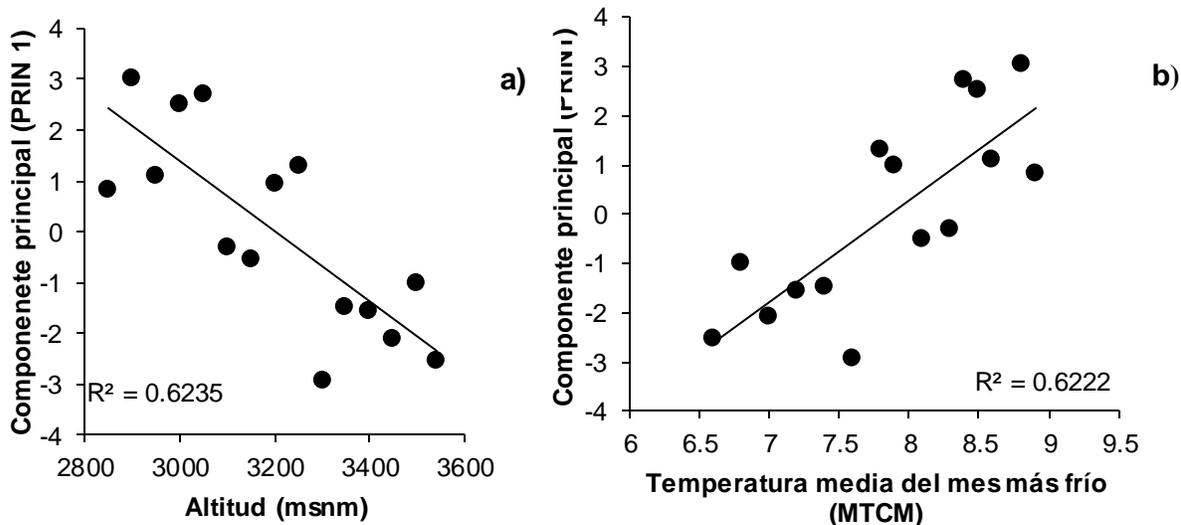


Figura 8. Regresión del componente principal uno (PRIN1) promedio por procedencia contra **a)** altitud de origen de la procedencia ($R^2=0.6235$, $P=0.0005$) y **b)** temperatura media del mes más frío (MTCM, $R=0.6222$, $P=0.0005$). Valores altos y positivos de PRIN1 representan plantas con mayor capacidad de crecimiento; valores bajos y negativos de PRIN1 representan plantas de menor crecimiento.

Para poder trasladar los rangos de diferencia mínima significativa altitudinal a rangos de diferencia climática, se realizó una regresión entre PRIN1 y las 26 variables climáticas (obtenidas del sitio web <https://forest.moscowsl.wsu.edu/>), para explorar la relación entre el gradiente altitudinal-ambiental. En todos los casos se encontró una relación lineal significativa entre la altitud y las variables climáticas-ambientales ($P < 0.0137$). Por ejemplo: Días Grado > 5 °C acumulados en el periodo libre de heladas (GSDD5) ($P=0.0004$, $R^2=0.6383$), Día Juliano de la Primera Helada en Otoño (FDAY) ($P=0.0004$, $R^2=0.6370$), Periodo Libre de Heladas (FFP) ($P=0.0005$, $R^2=0.6206$) así como Temperatura Media del Mes Más Frío (MTCM) ($P=0.0005$, $R^2=0.6222$), por esta razón se dice que la zonificación es tanto altitudinal como Climática.

En el análisis de regresión se encontró, que existe un patrón climático consistente de diferenciación genética entre poblaciones, donde las poblaciones originadas en sitios

con mayor temperatura promedio del mes más frío (un clima más benévolo) en general dan origen a plántulas con mayor potencial de elongación (poblaciones con valores positivos de PRIN1; Fig. 8b), mientras que las poblaciones de sitios más fríos, con menores valores de temperatura media del mes más frío, dan origen a plantas con menor potencial de crecimiento (valores negativos de PRIN1; Fig. 8b). Lo anterior es resultado de los procesos microevolutivos que generan una especialización fisiológica y fenológica en las poblaciones al sitio local altitudinal, lo que ha promueve la diferenciación genética adaptativa a lo largo del gradiente ambiental-altitudinal (Rehfeldt, 1988).

Para establecer la zonificación climática equivalente a la zonificación altitudinal previamente descrita, se emplearon variables climáticas relevantes para el establecimiento de la especie, bajo los dos siguientes criterios: 1) aquellos de fácil acceso y obtención en campo y 2) variables climáticas fáciles de comprender. Por lo que, la Temperatura Media del Mes más Frío (MTCM), Periodo Libre de heladas (FFP), Días grado acumulados por encima de 5 °C (GSDD5) y la diferencia en el periodo de días en las que ocurre la primera helada de otoño (FDAY) fueron las variables seleccionadas para establecer la zonificación climática de *A. religiosa*, seleccionadas entre el conjunto de variables climáticas con una asociación altamente significativa en la regresión contra altitud.

Cabe destacar que las variables climáticas empleadas en la zonificación también son importantes para el crecimiento, e intervienen en los fenómenos fenológicos y fisiológicos de las plantas, particularmente durante el periodo de crecimiento y la duración de la dormancia estacional (Körner, 2007). Un incremento de 100 m en altitud corresponde aproximadamente a 0.5 °C de temperatura media anual, medio grado menos de temperatura media del mes más frío, lo cual consiste con lo reportado por Jump *et. al.*,

(2009) de que un grado de latitud o 100 m de altitud corresponden aproximadamente a 0.6°C de cambio en la temperatura.

Pese a que las variables climáticas de precipitación juegan un papel relevante para el crecimiento y establecimiento de los árboles tampoco se emplearon, ya que “los gradientes de precipitación pueden no tener ninguna tendencia ni seguir un patrón” (Körner, 2007). Además de que, al ser una variable muy compleja, existe una constante dificultad para modelarla y predecirla (Körner, 2007).

La diferencia mínima significativa (DMS) encontrada en altitud se trasladó a intervalos climáticos de Temperatura Media del Mes más Frío (MTCM ajuste de la regresión contra la altitud $P < 0.0001$, $R^2 = 0.9886$ ver Fig. 6), Periodo libre de Heladas (FFP; $P < 0.0001$, $R^2 = 0.7659$), Días grado por encima de 5 °C (GSDD5; $P < 0.0001$, $R^2 = 0.9891$) y día Juliano de la Primera Helada en Otoño (FDAY; $P < 0.0001$, $R^2 = 0.7141$) mediante los parámetros de la regresión. El resultado de lo anterior es que la diferencia mínima significativa (DMS) que hace que dos o más poblaciones estadísticamente diferentes fue 350 m de altitud; 1.2 °C de temperatura media del mes más frío, 14 días de periodo libre de heladas, 323 grados día acumulados por encima de 5 °C y 6 días de diferencia en la que ocurre la primera helada de otoño (Tabla 8).

Las zonas altitudinales ahora también climáticas fueron estimadas cubriendo todo el rango de distribución de la especie. Iniciando con el valor predicho de Temperatura media del mes más frío para la población que ocurre a la más baja elevación (9.7 °C) y delimitando el cambio de intervalo de zona climática por cada 1.2 °C de diferencia en temperatura media del mes más frío (MTCM). ZONA I, 9.7 a 8.5 °C de MTCM; ZONA II 8.5 a 7.4 °C de MTCM y ZONA III 7.4 a 6.2 °C de MTCM. Se encontró la equivalencia de dichas temperaturas en límites altitudinales lo que resultó en tres zonas: ZONA I; 2650 a 3000 msnm, ZONA II; 3000 a 3350 msnm y ZONA III; 3350 a 3700 msnm (Tabla 8). En

síntesis, los intervalos de zona son de 1.2 °C de temperatura media del mes más frío (MTCM), 14 días de periodo libre de heladas (FFP), 323 grados día (GSDD5) y 6 días de FDAY (Tabla 8).

En México actualmente se cuenta con zonificaciones para: *Pinus oocarpa* (Sáenz-Romero *et. al.*, 2006) tres zonas altitudinales dónde el ancho altitudinal de zona son 200 m, *P. devoniana/michoacana* dos zonas altitudinales de 400 m (Sáenz-Romero y Tapia-Olivares, 2007), *Pinus pseudostrobus* tres zonas de 300 m (Sáenz-Romero *et. al.*, 2012), *Pinus patula* tres bandas altitudinales de 200 m (Sáenz-Romero *et. al.*, 2011), *Pinus hartwegii* tres zonas de 200 m (Loya-Rebollar *et. al.*, 2013).

Tabla 8. Límites climáticos y de elevación de zonas semilleras de *A. religiosa* para el clima contemporáneo promedio (1961-1990).

Zona	Altitud (msnm)			Temperatura media del mes más frío (MTCM)					Periodo libre de Heladas (FFP)			
	Límite (m)		Rango (m)	Intervalo (±)	Límite (°C)		Rango (°C)	Intervalo (±)	Límite (Días)		Rango (Días)	Intervalo (±)
	Bajo	Alto		Bajo	Alto		Bajo	Alto	Bajo	Alto		
I	2650	3000	350	175.5	9.7	8.5	1.2	0.5	179	165	14	7
II	3000	3350	350	175.5	8.5	7.4	1.2	0.5	165	151	14	7
III	3350	3700	350	175.5	7.4	6.2	1.2	0.5	151	137	14	7

Continúa Tabla 8

Zona	Altitud (msnm)			Días grado acumulados por encima de 5°C (GSDD5)					Día en el que ocurre la primera helada de otoño (FDAY)			
	Límite (m)		Rango (m)	Intervalo (±)	Límite (°C)		Rango (°C)	Intervalo (±)	Límite (Días)		Rango (Días)	Intervalo (±)
	Bajo	Alto		Bajo	Alto		Bajo	Alto	Bajo	Alto		
I	2650	3000	350	175.5	1458	1781	323	162	288	294	6	3
II	3000	3350	350	175.5	1135	1458	323	162	282	288	6	3
III	3350	3700	350	175.5	811	1135	323	162	276	282	6	3

6.- ZONIFICACIÓN FUTURA DÉCADA 2030, CONSIDERANDO CAMBIO CLIMÁTICO

Considerando cambio climático, para la adaptación de los genotipos al clima esperado para la década de 2030, los intervalos de los límites altitudinales se re-estimaron, empleando la temperatura media del mes más frío MTCM, mediante la estimación de la predicción de altitud a la que ocurrirá la misma MTCM (definida en el clima contemporáneo), proyectada a la década centrada en el año 2030 (Fig. 9).

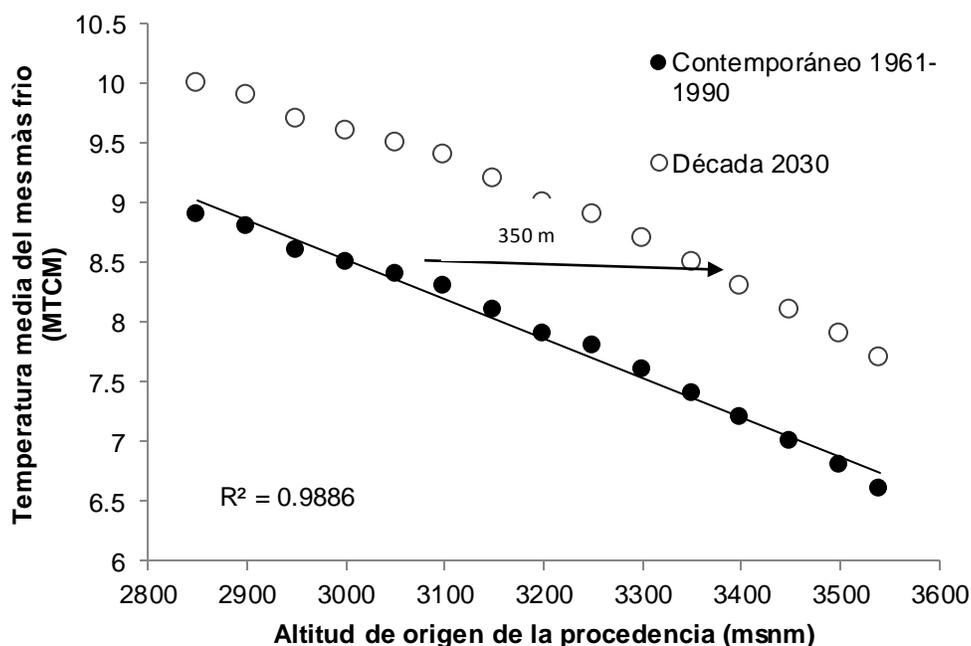


Figura 9. Valores promedio de temperatura media del mes más frío (MTCM) de las 15 procedencias: clima contemporáneo (símbolos llenos) y clima proyectado para la década centrada en el año 2030 (símbolos vacíos), contra el origen de altitud de la procedencia. Los valores del clima futuro se obtuvieron del ensamble RCP 6.0 watts/ m², La flecha indica de que magnitud tendría que ser el movimiento altitudinal hacia arriba para reacoplar las poblaciones al clima futuro (aproximadamente 350 m de diferencia altitudinal).

De acuerdo a la estimación, los límites de las tres zonas en el clima contemporáneo ocurrirán a 347 m a mayor altitud, para la década centrada en el año 2030 (Fig. 9), cifra que se redondeó a 350 m de diferencia altitudinal por simplicidad.

Realineando las zonas altitudinales obtenidas a partir del clima contemporáneo, pero ajustando la altitud que le correspondería bajo al clima futuro en 2030, el equivalente climático de las zonas contemporáneas para la década centrada en el año 2030 sería: Zona I₂₀₃₀ de 3000 a 3350, Zona II₂₀₃₀ de 3350 m a 3700 m y Zona III₂₀₃₀ de 3700m a 4050 (Tabla 9).

Tabla 9. Límites altitudinales de clima y elevación (msnm) de tres zonas semilleras de *A. religiosa* para el clima proyectado en la década centrada en el año 2030.

Zona	Altitud			Temperatura Media del Mes más Frío (MTCM)				
	Límites (msnm)		Rango (m)	Intervalo (±)	Límites (°C)		Rango (°C)	Intervalo (±)
	Bajo	Alto			Alto	Bajo		
I ₂₀₃₀	3000	3350	350	175	9.7	8.5	1.1	0.5
II ₂₀₃₀	3350	3700	350	175	8.5	7.4	1.1	0.5
III ₂₀₃₀	3700	4050	350	175	7.4	6.2	1.1	0.5

En el futuro, cambiarán los intervalos altitudinales y climáticos MTCM de las zonas contemporáneas, como consecuencia del desplazamiento climático a mayores altitudes. En promedio la temperatura que contemporáneamente ocurre en un sitio, ocurrirá 350 m más arriba en el año 2030. Notar que los límites climáticos de la zonificación contemporánea (Tabla 8) son los mismos que los de la zonificación bajo clima futuro (Tabla 9). Sin embargo, los límites altitudinales son diferentes, ya que el clima contemporáneo ocurrirá en el futuro a una altitud diferente.

Parte de la Zona II₂₀₃₀ y la totalidad de la Zona III₂₀₃₀ exceden el límite máximo de distribución actual de *A. religiosa* a nivel nacional (Rzedowski 2005) y la Zona III₂₀₃₀ exceden la altitud del Cerro de San Andrés (3600 msnm). Ello implicaría un movimiento

hacia otras montañas de mayor altitud, como los volcanes Popocatepetl, Iztaccíhuatl y Pico de Orizaba.

Para re-acoplar las poblaciones al clima futuro Sáenz-Romero y colaboradores (2012a) proponen mover altitudinalmente las poblaciones de oyamel entre 275 y 300 m más arriba de los sitios que habitan contemporáneamente lo cual es muy semejante con lo encontrado en este trabajo. En otros trabajos el movimiento de las poblaciones montaña arriba, para compensar el cambio del clima en el sitio de distribución actual de las especies debe ser: para *A. religiosa* 250 m (de acuerdo con la zonificación provisional basada en caracteres morfológicos por Castellanos-Acuña *et. al.*, 2014), *Pinus oocarpa* 200 m (Sáenz-Romero *et. al.*, 2006), *P. devoniana/michoacana* 400 m (Sáenz-Romero y Tapia-Olivares, 2007), *Pinus pseudostrobus* 300 m (Sáenz-Romero *et. al.*, 2012), *Pinus patula* 200 m (Sáenz-Romero *et. al.*, 2011), *Pinus hartwegii* 300 m (Loya-Rebollar *et. al.*, 2013).

De acuerdo con los resultados se propone coleccionar semilla en las Zona semillera I del clima contemporáneo (Zona I de la Tabla 8), producir planta en vivero y plantar en la correspondiente Zona I_{2030} (Tabla 9), lo que significará un traslado altitudinal del germoplasma promedio de 350 m a mayor elevación. Y así sucesivamente para las otras dos zonas altitudinales.

CONCLUSIONES

La zonificación generada en este trabajo fue diferente a la zonificación preestablecida por Castellanos-Acuña *et. al.*, 2014 basada en caracteres morfológicos para las poblaciones de *A. religiosa* en Michoacán.

La zonificación contemporánea consta de tres zonas: ZONA I, de 2650 a 3000 msnm o de 9.7 a 8.5 °C de temperatura del mes más frío (MTCM por su acrónimo en inglés); ZONA II de 3000 a 3350 msnm o de 8.5 a 7.4 °C de MTCM y ZONA III 3350 a 3700 msnm o de 7.4 a 6.2 °C de MTCM. Para efectos de reforestación y/o conservación de la especie, sin considerar cambio climático, se sugiere coleccionar semilla, producir planta en vivero y reforestar la misma zona en la que se colectó o en su defecto a ± 175 m de diferencia en altitud de donde se colectó.

Si se considera adaptar a las poblaciones al clima esperado para la década de 2030 por medio de Migración Asistida (MA), conviene coleccionar semilla en la Zona I, producir planta en vivero, endurecer la planta y reforestar en la Zona I₂₀₃₀, es decir 350 m más arriba. La zona I₂₀₃₀ futura, tiene los mismos límites climáticos que la zona I contemporánea, pero los límites altitudinales ocurren a 350 m de mayor altitud y así sucesivamente para las zonas futuras II₂₀₃₀ y III₂₀₃₀.

Debido a la altitud de la montaña de la Reserva de la Biósfera de la Mariposa Monarca (RBMM), solo se podría hacer la MA de la Zona I contemporánea (2650 a 3000 msnm) a la ZONA I₂₀₃₀ (2990-3340 msnm). Y parcialmente de la Zona II a la Zona II₂₀₃₀.

La evidencia del decaimiento de la cubierta forestal y los trabajos de modelación de nicho climático (Sáenz-Romero *et al* 2012; López-Gómez *et al* 2014; Cruz-Cárdenas *et al* 2016;) demuestran que es urgente iniciar el proceso de migración de las poblaciones de oyamel por lo menos dentro de la RBMM.

Buscando la adaptación de las poblaciones al clima esperado para la década de 2030, la alternativa a las poblaciones de oyamel de la Zona II y III es migrar hacia montañas más altas dentro del Estado de Michoacán al Cerro Pico de Tancítaro (3845 msnm), o fuera de Michoacán, en la Marquesa, la Malinche, y los volcanes Iztacchíhuatl, Popocatépetl y Pico de Orizaba (Sáenz-Romero *et. al.*, 2012a).

Por otra parte, tendría que explorarse la viabilidad y porcentaje de germinación de la semilla, ya que estudios previos indican un bajo porcentaje de germinación para producir planta en vivero de las poblaciones ubicadas en ambos extremos altitudinales (superior e inferior) (Ortiz-Bibian *et. al.*, 2014) lo que implica un reto importante para efectuar la migración asistida de las poblaciones del límite altitudinal inferior de *A. religiosa*.

BIBLIOGRAFÍA

- Aitken S. N., Yeaman S., Holliday A. J., Wang T. y Curtis-McLane S. 2008. Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations. *Evolutionary Applications*. 1:95-111.
- Alberto F., Bouffier L., Louvet J-M., Lamy J-V., Delzon S., Kremer A. 2011 Adaptive responses for seed and leaf phenology in natural populations of sessile oak along an altitudinal gradient. *Evolutionary Biology* 24:1442-1454.
- Alfaro R., Frady B., Giovanni Giuseppe V., Loo J. A Fleming R., Sáenz-Romero C., Lindig-Cisneros R.A., Murdock T., Vicenti B., Navarro C.M., Skroppa T., Baldinelli G. & El-Kassaby Y.A. 2014. The role of forest genetic resources in responding to biotic and abiotic factors in the context of anthropogenic climate change. *Forest Ecology and Management*. 04:1-12.
- Allen C. D., Macalady A. K., Chenchouni H., Bachelet D., McDowell N., Vennetier M., Kitzberger T., Rigling A., Breshears D. D., Hogg E.H., Gonzalez P., Fensham R., Zhang Z., Castro J., Demidova N., Jong-Hwan L., Allard G., Running W. S., Semerci A. y Cobb N. 2010. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate risks for forests. *Forest Ecology and Management*. 259:660-684.
- Alvarado-Rosales D. y Hernández-Tejeda T. 2002 Decline of sacred fir in the Desierto de los Leones National Park. *Urban Air Pollution and Forests* 156: 243-260.
- Anderson J.B., Brower L.P. 1996. Freeze-protection of overwintering monarch butterflies in Mexico: critical role of the forest as a blanket and an umbrella. *Ecological Entomology*. 21:107-116.
- Benavides M., H. M., Gazca, G., M. O., López, L., S. F., Camacho M., F., Young F. G., D., Garza L., M. P. y Nepamuceno M., F. 2011. Variabilidad en el crecimiento de plántulas de ocho procedencias de *Abies religiosa* (H.B.K.) Schlecht. et Cham., en condiciones de vivero. *Madera y Bosques* 17(3):83-102.
- Böhlenius H., Huang T., Charbonnel-Campaa L., Brunner A M., Jansson S., Straus HS, Nilsson O. 2006. CO/FT Regulatory module controls timing of flowering and seasonal growth cessation in trees. *Science* 312:1040-1043.

- Castellanos-Acuña D, Sáenz-Romero C, Lindig-Cisneros RA, Sánchez-Vargas NM, Lobbit P, Montero-Castro J. C. 2013. Variación altitudinal entre especies y procedencias de *Pinus pseudostrobus*, *P. devoniana* y *P. leiophylla*. Ensayo de vivero. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 19(3):399-412.
- Castellanos-Acuña D., Lindig-Cisneros R. A., Silva-Farías M. A y Sáenz-Romero C. 2014. Zonificación altitudinal provisional de *Abies religiosa* en un área cercana a la Reserva de la Biósfera de la Mariposa Monarca, Michoacán. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente. 215-224 pp.
- Cruz-Cárdenas G., López-Mata L., Silva T J., Bernal-Santana N., Estrada-Godoy F., López-Sandoval J. A. 2016. Modelado de la distribución potencial de especies de Pinaceae bajo escenarios de cambio climático en Michoacán Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 22:135-148.
- Dale V. H., Joyce L. A., McNulty S., Neilson R. P., Ayres M. P., Flannigan M. D., Hanson J. P., Irland L. C., Lugo A. E., Peterson C. J., Simberloff D., Swanson F. J., Stocks B. J. y Wotton M. B. 2001. Climate change and forest disturbances. BioScience. 51:723-734.
- Florian J A., Aitken S N., Alía R., González-Martínez SC., Hanninen Heikki., Kremer A., Lefevre A., Lenormand T., Yeaman S., Whetten R., Savolainen O. 2013. Potential for evolutionary responses to climate change – evidence from tree populations. Global Change Biology 19:1645-1661.
- Gian-Reto W., Post E., Convey P., Menzel A., Parmesan C., Trevor J. C. Beebee., Jean-Mark F., Hoegh-Guldberg O., Bairlen F. 2002. Ecological responses to recent climate change. Nature. 416:389-395.
- Gienapp P., Teplitsky J., Alho J. S., Mills J.A., Merilä J., 2008 Climate change and evolution: disentangling environmental and genetic responses. Molecular Ecology 17:167-178.
- Hänninen H., Tanino K. 2011 The seasonality in a warming climate, Trends in plant science 16:412-416.
- Hoegh-Guldberg., Hughes L., McIntyre S., Lindenmayer D. B., Parmesan C., Possingham H P., Thomas C.D. 2008 Assisted colonization and rapid climatic change. 321:345-346.
- Iglesias-Andreu, L. G., Sánchez-Velásquez, L. R., Tivo-Fernández, Y., Luna-Rodríguez, M., Flores-Estévez, N., Noa-Carrazana, J. C., Ruiz-Bello, C., & Moreno-Martínez, J. L. 2010. Effect of gamma radiation on *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham. Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente, 16(1), 5-12.

- Jump A S., Mátyás C., Peñuelas J. 2009. The altitude-for-latitude disparity in the range retractions of woody species. *Trends in Ecology and Evolution* 24:694-701.
- Kramer A., Leinonen I. y Loustau D. 2000 The importance of phenology for the evaluation of impact of climate change on growth of boreal, temperate and Mediterranean forests ecosystems: and overview. *Biometeorol* (44) 67-75.
- Körner C. 2007 The use of altitude in ecological research. *Trends in Ecology & Evolution* 22:569-574.
- Lenoir J., Gégout J C., Marquet P A., P de Ruffray., Brisse H. 2008. A significant upward shift in plant species optimum elevation during the 20th century. *Science* 320:1768-1771.
- López-Gómez V., Arriola-Padilla J. V. y Pérez-Miranda R. 2014 Daños por factores abióticos y bióticos en los bosques de oyamel (*Abies religiosa* (Kunth) Schldl. et. Cham) de la Reserva de la Biósfera de la Mariposa Monarca. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*. 6:56-73.
- Loya-Rebollar E, Sáenz-Romero C, Lindig-Cisneros R. A., Lobit P, Villegas-Moreno J. A. and Sánchez-Vargas N. M. 2013. Clinal variation in *Pinus hartwegii* populations and its application for adaptation to climate change. *Silvae Genetica* 62(3):86-95.
- Mátyás C. 2010. Forecasts needed for retreating forests. *Nature* 464:1271.
- Menzel, A., Sparks, T. H., Estrella, N., Koch, E., Aasa, A., Ahas, R., Alm-Kübler, K., Bissolli, P., Braslavská, O., Briede, A., Chmielewski, F. M., Crepinsek, Z., Curnel, Y., Dahl, Å., Defila, C., Donnelly, A., Filella, Y., Jatczak, K., Måge, F., Mestre, A., Nordli, Ø., Peñuelas, J., Pirinen, P., Remišová, V., Scheifinger, H., Striz, M., Susnik, A., Van Vliet, A. J. H., Wielgolaski, F.-E., Zach, S. and Züst, A. 2006. European phenological response to climate change matches the warming pattern. *Global Change Biology*, 12: 1969–1976.
- Moscow Forestry Sciences Laboratory, USDA Forest Service. 2016. Forest.moscowfsl.wsu.edu URL. <http://forest.moscowfsl.wsu.edu/> Fecha de acceso 27 agosto 2016.
- Novel P. S and De la Barrera E. 2003. Tolerances and acclimation to low and high temperatures for cladodes, fruits and roots of a widely cultivated cactus *Opuntia ficus-indica*. *New Phytologist* 157:271-279.
- Oberhauser K., Peterson A. T. 2003. Modeling current and future potential wintering distributions of Eastern North American monarch butterflies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 100:14063-14068.

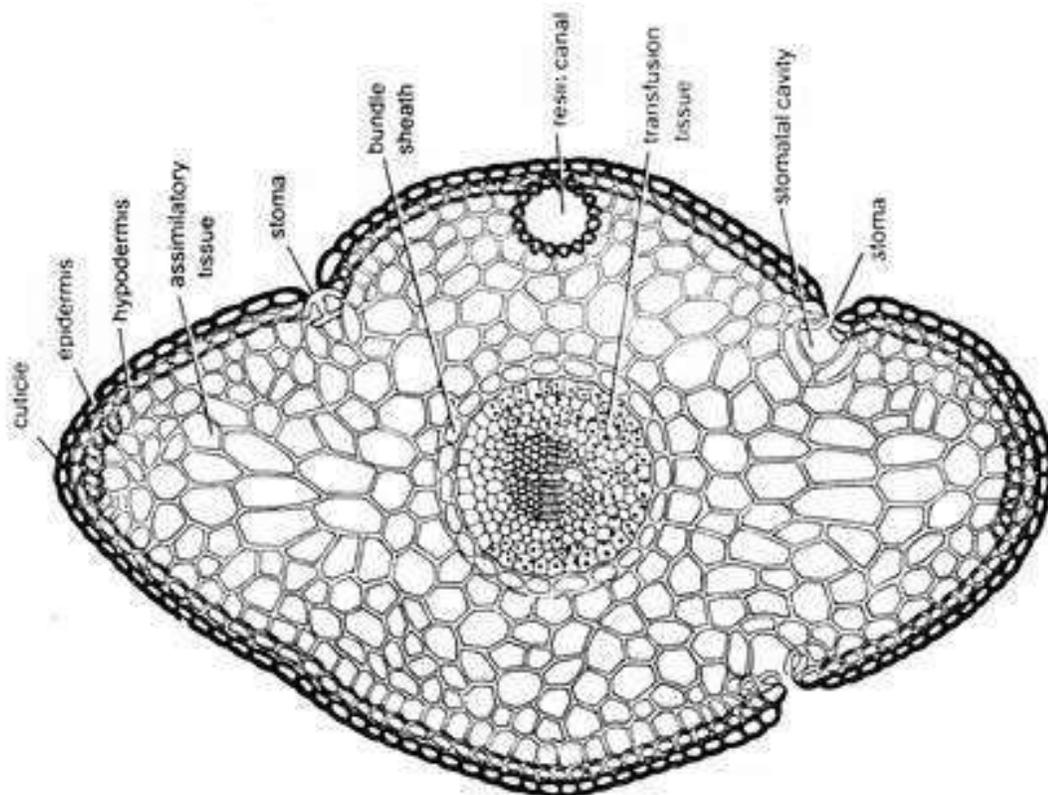
- Oleksyn J., Modrzynski M. G., Tjoelker R. Z., Ytkowiak P. B., Reich., Karolewski P. 1998. Growth and physiology of *Picea abies* populations from elevational transects: common garden evidence for altitudinal ecotypes and cold adaptation. *Functional Ecology* 12: 573-590.
- Ortiz-Bibian M A., Sáenz-Romero C., Blanco-García A., Herrerías-Diego Y. 2014. Variación de calidad de semilla entre procedencias de *Abies religiosa* (H.B.K.) Schld *et Cham*. Colectadas a lo largo de un gradiente altitudinal. (Tesis de pregrado) Facultad de Biología Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México. 70p.
- Rehfeldt G. E. 1988. Ecological genetics of *Pinus contorta* from the Rocky Mountains (USA): a synthesis. *Silvae Genetica* 37:131-135.
- Rehfeldt G. E. 1993. Genetic variation in the Ponderosae of the Southwest. *American Journal of Botany*. 80:330-343.
- Rehfeldt G E., Jaquish B C., López-Upton J., Sáenz-Romero C., St Clair J B., P Leites., Joice G D. 2014. Comparative genetic responses to climate for the varieties of *Pinus ponderosa* and *Pseudotsuga menziessi*: realized climate niches. *Forest Ecology and Management*. 324: 126-137.
- Ruiz-Talonia L. F, Sánchez-Vargas NM, Bayuelo-Jiménez J S, Lara-Cabrera S I, Sáenz-Romero C. 2014. Altitudinal genetic variation among native *Pinus patula* provenances: performance in two locations, seed zone delineation and adaptation to climate change. *Silvae Genetica* 63(4):139–149.
- Rzedowski, G. C. de, J. Rzedowski y colaboradores, 2005. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a. ed., 1a reimpresión., Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán), 1406 p.
- SAS Institute Inc 2004; SAS/STAT Computer Software. Release 9.1 3th edition. SAS Institute Inc, Cary North Carolina, USA.
- Sáenz-Romero C., Snively A.E. y Lindig-Cisneros R. A. 2003. Conservation and restoration of pine forest genetic resources in México. *Silvae Genetica* 52:233-236
- 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. and Tapia-Olivares, B. L. 2008. Genetic variation in frost damage and seed zone delineation within an altitudinal transect of *Pinus devoniana* (*P. michoacana*) in Mexico. *Silvae Genetica* 57(3):165-17.
- Sáenz-Romero C., Rehfeldt G E., Crookston NL., Duval P., St-Amant R J., Richardson Bryce A. 2010. Spline models of contemporary, 2030, 2060 and 2090 Climates for Mexico and their use un understanding climate-change impacts on the vegetation. *Climatic Change*. 102:595-623
- Sáenz-Romero C., Beaulieu, J., y Rehfeldt, G. E. 2011a. Variación genética altitudinal entre poblaciones de *Pinus patula* de Oaxaca, México, en cámaras de crecimiento simulando temperaturas de calentamiento global. *Agrociencia*. 45(3):399-411.
- Sáenz-Romero C., Ruiz-Talonia L. F., Beaulieu, J., Sánchez-Vargas N. M. and Rehfeldt G. E. 2011b. Variación genética entre poblaciones de *Pinus patula* en un gradiente altitudinal. ensayo de vivero en dos ambientes. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 34(1):19-25.
- Sáenz-Romero C, Rehfeldt G. E, Duval P, Lindig-Cisneros P. 2012a. *Abies religiosa* habitat prediction in climatic change scenarios and implications for monarch butterfly conservation in Mexico. *Forest Ecology and Management*. 275:98-106.
- Sáenz-Romero C., Rehfeldt G. E., Soto-Correa J. C., Aguilar-Aguilar S., Zamarripa-Morales V. y López-Upton J. 2012b. Variación genética altitudinal entre poblaciones de *Pinus pseudostrobus* de Michoacán, México. Resultados de ensayo en casas de sombra en dos localidades. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 35(2):111-120.
- Sáenz-Romero C, Lamy JP, Loya-Rebollar E, Plaza-Aguilar A, Burlett R, Lobit P and Delzon S. 2013. Genetic variation of drought-induced cavitation resistance among *Pinus hartwegii* populations from an altitudinal gradient. *Acta Physiologiae Plantarum* 35:2905–2913.
- Sáenz-Romero C; Lindig-Cisneros R. A; Joyce D. G; Beaulieu J; St. Clair J B; Jaquish B. C. 2016. Migración asistida de las poblaciones forestales para la adaptación de árboles ante el cambio climático. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 22(3): 303-323.
- Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) 2000. URL <http://mariposamonarca.semarnat.gob.mx/santuarios.html>. Fecha de acceso junio 2016.
- Vitasse Y., Delzon S., Bresson C.C., Michalet R., Kremer A. 2009. Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. *N. R. C Research Press*. 39: 1259-1269.
- Viveros-Viveros, H., Sáenz-Romero, C., López-Upton, J. y Vargas-Hernández, J. J. 2005. Variación genética altitudinal en el crecimiento de plantas de *Pinus pseudostrobus* Lindl. En campo. *Agrociencia* 39(5):575-587

- Viveros-Viveros, H., Sáenz-Romero, C., López-Upton, J., and Vargas-Hernández, J. J. 2007. Growth and frost damage variation among *Pinus pseudostrobus*, *P. montezumae* and *P. hartwegii* tested in Michoacán, México. *Forest Ecology and Management*. 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.
- Viveros-Viveros, H., Tapia-Olivares, B. L., Sáenz-Romero, C. Vargas-Hernández, J. J., López-Upton, J., Santacruz-Varela, A. y Ramírez-Valverde, G. 2010. Variación isoenzimática de *Pinus hartwegii* Lindl. en un gradiente altitudinal en Michoacán, México. *Agrociencia*. 44:723-733.
- Viveros-Viveros H, Camarillo-Luna A. R, Sáenz-Romero C, Aparicio-Rentería A. 2013. Variación altitudinal en caracteres morfológicos de *Pinus patula* en el estado de Oaxaca (México) y su uso en la zonificación. *Bosque (Valdivia)*. 34(2): 173-179.

CAPÍTULO II

RESISTENCIA A TEMPERATURAS EXTREMAS, FUGA DE ELECTROLITOS



Corte transversal, *Picea excelsa*, <http://www.biol.ogydisscussion.com/gymnosperm/coniferous-leaves-external-morphology-and-anatomy-conifers/22394>.

RESUMEN

Con el objetivo de determinar la variación genética altitudinal y establecer una zonificación para las poblaciones de *A. religiosa*. Se recolectó semilla de 10 árboles en 15 sitios a lo largo de la distribución altitudinal de la especie (de los 2850 a los 3540 msnm) dentro del Cerro de San Andrés, en Michoacán. Cada sitio de recolecta de semilla se ubicó a 50 m lineales de diferencia altitudinal. Al sitio altitudinal de origen de la semilla se le denominó procedencia y al conjunto de árboles muestreados en cada sitio se denominó población.

Para determinar la diferenciación genética altitudinal de las poblaciones de oyamel en la resistencia a temperaturas extremas, se estableció un ensayo de procedencia de jardín común en el IIAF-UMSNH. Cuando las plantas tenían entre 28 y 30 meses de edad, entre octubre noviembre y diciembre del año 2015, se evaluó la resistencia de las acículas de oyamel a temperaturas extremas. El tratamiento consistió en incubar 10 acículas maduras de varios individuos de cada una de las 15 poblaciones de oyamel a 60 °C, 40 °C y -20 °C durante 90 min y evaluar la pérdida de electrolitos mediante un conductímetro.

Se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.0001$) en la pérdida de electrolitos y también diferencias significativas entre procedencias dentro de los tratamientos: 60 °C ($P = 0.0004$), 40 °C ($P < 0.0001$) y a -20 °C ($P = 0.0005$). Sin embargo, no se obtuvo una asociación significativa entre la pérdida de electrolitos promedio por población y el gradiente altitudinal (a 40 °C: $R^2 = 0.0745$, $P = 0.6308$), a 60 °C: $R^2 = 0.2327$, $P = 0.2020$), a -20 °C, ($R^2 = 0.0801$, $P = 0.6571$)- Sin embargo, es posible visualizar que las poblaciones originadas en la parte baja de la distribución altitudinal son menos resistentes al daño por temperaturas extremas que las poblaciones de la parte media y alta de la distribución altitudinal.

La estandarización de la técnica para acículas y la evaluación en el periodo de exposición, así como la duración de exposición a las temperaturas extremas, pueden mejorar los resultados obtenidos al emplear esta técnica. Trabajos posteriores se requerirán para tener resultados que puedan discernir si existen diferencias entre procedencias (que era lo esperado)- Por el momento la evaluación de éste caracter no se incluyó en la determinación de la zonificación altitudinal climática de la especie.

INTRODUCCIÓN

Las temperaturas extremas determinan la sensibilidad diferencial de los individuos de la misma especie. En las plantas leñosas, los órganos reproductivos, las yemas de crecimiento, pero sobre todo las hojas son más sensibles que los tallos y raíces a los cambios abruptos de temperatura (Inouye, 2000; Inouye, 2008).

A nivel celular el congelamiento ocasiona la formación de cristales extracelulares, ocasionando lesiones en el tejido, la difusión del agua fuera de las células provoca deshidratación en la planta complicando el metabolismo (Inouye, 2000). Por otro lado, las temperaturas cálidas, incrementan la evaporación, provocando deshidratación en las células (Kolb y Robberecht, 1996). Será la duración e intensidad del estrés el factor determinante para ocasionar un daño permanente en la planta (Novel y De la Barrera, 2003).

En coníferas, la arquitectura de la planta es una estrategia para la resistencia ante las temperaturas extremas (Hancock, 2016). A lo largo del año, las coníferas experimentan ritmicidad climática ajustando su actividad metabólica a los cambios ambientales sincronizadas a las estaciones del año. El tiempo de la aclimatación por frío varía entre especies, procedencias y variedades (Levit 1980; Sakai y Larcher 1987). En general, lo que se ha observado es que la resistencia a las heladas es más baja durante el periodo de crecimiento y mayor durante el periodo de dormancia en invierno. (Fuchigami *et. al.*, 1992). Éste fenómeno de aclimatación estacional, está regulado por la longitud del fotoperiodo, la temperatura del aire, el estatus de la humedad en el suelo (Levitt 1980):

De acuerdo con las proyecciones de clima futuro, se espera que ocurra un cambio importante en la distribución del nicho climático idóneo de las poblaciones de *A. religiosa* a nivel nacional, lo que comprometerá seriamente el estado de salud de las poblaciones

(Sáenz-Romero *et. al.*, 2012), ya que éstas se encuentran adaptadas genéticamente a las condiciones ambientales de los sitios que habitan (Castellanos-Acuña *et. al.*, 2014). De especial importancia son las poblaciones de oyamel que se encuentran en la frontera del estado de México y el estado de Michoacán, ya que en esta región ocurre la estancia invernal de las poblaciones de mariposa monarca, que culminan su fenómeno migratorio en territorio mexicano (SEMARNAT, 2000; Sáenz-Romero *et. al.*, 2012; Castellanos-Acuña *et. al.*, 2014).

Por lo anterior, es imprescindible generar lineamientos que apunten a la conservación y/o mitigación de los efectos del cambio climático sobre las poblaciones de oyamel, por lo que se ha propuesto que se acoplen las poblaciones al clima esperado para las décadas futuras, mediante una práctica conocida como migración asistida (Sáenz-Romero *et. al.*, 2016).

Para lograr éste re-acoplamiento, se requiere establecer una zonificación que nos delimitaría el sentido y la distancia de movimiento que se tendría que hacer (Sáenz-Romero *et. al.*, 2004; Castellanos-Acuña *et. al.*, 2014). La zonificación se logra al conseguir el valor de diferencia mínima significativa que hace que dos poblaciones sean estadísticamente diferentes para uno o varios caracteres evaluados (Rehfeldt 1993; Sáenz-Romero *et. al.*, 2004).

Con el objetivo de generar la mayor información posible para delimitar la zonificación para el acoplamiento de las poblaciones al clima futuro (centrado en la década de 2030), se evaluó la resistencia a temperaturas extremas de las acículas de 15 poblaciones de *Abies religiosa* provenientes del Cerro de San Andrés (Mpio. de Cd. Hidalgo, Michoacán, México) que fueron colectadas a lo largo del gradiente altitudinal (de los 2850 a 3550 msnm; una población a cada 50 m). Por medio de la cuantificación de la fuga o pérdida de electrolitos después de someter las muestras de tejido a temperaturas

extremas, ya que ésta técnica usualmente nos permite obtener resultados confiables de la resistencia de las acículas al daño por temperaturas extremas.

La fuga de electrolitos se expresa como la proporción de la pérdida o salida de electrolitos de un tejido dañado por congelación a partir de la pérdida de electrolitos del tejido muerto por la misma causa (Flint *et. al.*, 1967). Para esta prueba, se tiene un control (un tejido no lesionado) para corregir la fuga de electrolitos de un tejido, por lo que se ha desarrollado un índice de lesión en el que el porcentaje de pérdida de la muestra control muestra un valor de 0 % y el porcentaje de electrolitos del tejido tiene un valor de hasta 100 % o fuga máxima de electrolitos bajo condiciones extremas. La temperatura que da un índice del valor de la lesión del 50 % es el valor denominado LT50 (dosis letal 50). La suposición que se asume en este índice es que el daño severo del tejido por congelación dará valores cercanos al 100 % (Sutinen *et. al.*, 1992).

El objetivo de este trabajo es determinar si existen diferencias en la resistencia de las acículas dentro y entre poblaciones, así como un patrón altitudinal asociado a la pérdida de electrolitos o resistencia de las acículas promedio por población, en donde sería de esperarse que las poblaciones originadas a mayor altitud, presenten menos fuga de electrolitos debido a temperaturas extremas frías. En contraste, se esperaría que las poblaciones originadas a menor altitud, presenten menos fuga de electrolitos debido a que serían más resistentes a temperaturas extremas cálidas.

METODOLOGÍA

En 2010 se colectaron conos de 10 árboles de 15 sitios establecidos a lo largo del gradiente altitudinal (2850 a los 3550 msnm; una población cada 50 m de diferencia altitudinal) en Cerro de San Andrés Municipio. de Ciudad Hidalgo, Michoacán. Las semillas fueron germinadas y las plantas crecidas en un ensayo de vivero. En marzo de 2014, cuando las plántulas cumplieron nueve meses de edad, se estableció en Morelia, Michoacán un ensayo de procedencias en jardín común. El ensayo establecido fue de bloques completos al azar, donde cada población estuvo representada por seis plantas por parcela.

La tolerancia a temperaturas extremas fue estudiada en laboratorio de Fisiología Ecológica y Agroecología del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad (UNAM campus Morelia). Durante octubre, noviembre y diciembre de 2015 (de los 28 a los 30 meses de edad de la planta), un período en el que las plantas se encuentran en reposo invernal. Se usó la metodología de Soto-Correa *et. al.*, (2013) con algunas modificaciones, para estimar la pérdida de electrolitos o resistencia de las membranas a las temperaturas extremas.

En el ensayo de jardín común, por cada una de las 15 procedencias por cada planta se colectaron 2 acículas maduras de 10 árboles seleccionados al azar para cada tratamiento de temperatura; se analizaron 2 acículas maduras por cada planta.

Las acículas fueron llevadas al laboratorio y se lavaron tres veces con agua destilada y des-ionizada en viales de vidrio de 13 ml, a 200 revoluciones por minuto (rpm) en un agitador mecánico por 15 min.

Cada acícula fue pesada, etiquetada y cortada para obtener solo 1.5 cm de tejido que fue colocado dentro de un vial de 1.5 ml que contenía en el fondo un algodón húmedo con agua destilada para evitar la desecación durante el tratamiento.

Durante 90 minutos las acículas se incubaron a 40, 60 y -20°C, para evaluar la resistencia de las 15 procedencias a temperaturas extremas.

Posteriormente, las muestras fueron extraídas con pinzas del vial de incubación y colocadas individualmente en viales de vidrio con 15 ml de agua destilada y des-ionizada. Para tomar la lectura de la conductividad y/o pérdida de electrolitos, las acículas se llevaron al agitador mecánico durante 40 min a 200 rpm. Posteriormente se empleó un conductímetro Orion-3® (Thermo Electron Corp., Marietta, OH, USA) para evaluar la conductividad de cada muestra.

Para obtener la fuga máxima de electrolitos, 10 muestras de acículas por procedencia, fueron hervidas durante 5 min en 15 ml de agua destilada y des ionizada en vasos de precipitado. Se llevaron al agitador por 40 min a 200 rpm y se tomó la lectura de la conductividad.

Para obtener la fuga de electrolitos por manipulación las acículas (es decir, un tratamiento testigo), únicamente fueron cortadas y expuestas a temperatura ambiente durante 90 min y se empleó la misma metodología para estimar la fuga de electrolitos.

Con los datos obtenidos, para cada tratamiento se realizó un PROC ANOVA empleando el software SAS, 2004 y un PROC REG (SAS, 2004) para identificar una posible asociación entre el porcentaje de fuga de electrolitos y la altitud de origen de la procedencia. El análisis se realizó con la diferencia entre el valor de fuga de electrolitos del tratamiento menos el del testigo.

De existir un patrón de diferenciación entre poblaciones y una asociación entre el porcentaje de la pérdida de electrolitos y la altitud de origen de la población, se encontrará la Diferencia Mínima Significativa (LSD $\alpha=0.2$) que hace que dos poblaciones sean estadísticamente diferentes para incluirlo en la zonificación altitudinal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en la pérdida de electrolitos ($P < 0.0001$, Fig. 10). Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre procedencias dentro de tratamientos para $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($P = 0.0004$), $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($P < 0.0001$) y a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($P = 0.0005$) respectivamente (Figura 11).

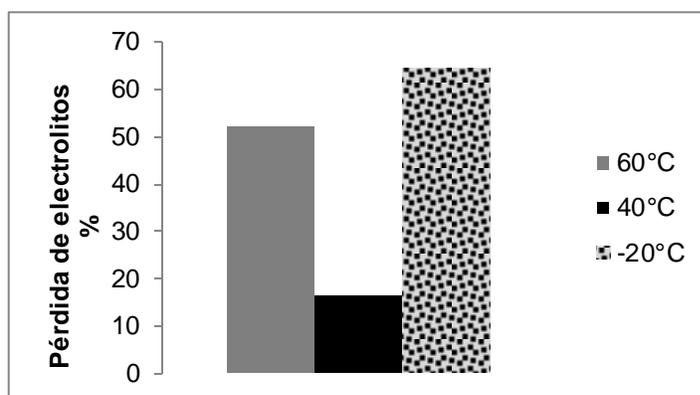


Figura 10. Porcentaje de pérdida de electrolitos, de acículas de 15 procedencias de *Abies religiosa*, incubadas a: $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (diferencia entre tratamientos: $P < 0.0001$).

No se obtuvo un patrón claro de asociación entre la pérdida de electrolitos promedio por población y el gradiente altitudinal (a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$: $R^2 = 0.0745$, $P = 0.6308$), a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$: $R^2 = 0.2327$, $P = 0.2020$), a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $R^2 = 0.0801$, $P = 0.6571$) (Fig. 10). Esto a pesar de que en otro trabajo se encontró que existe un patrón de asociación altitudinal entre la fuga de electrolitos y el origen de altitud de la procedencia en *Picea abies* [L. Karst.], en la que árboles que crecen a mayor elevación en promedio pierden menos electrolitos. Es decir, son más resistentes al daño por heladas que los árboles que se encuentran distribuidos en la parte baja de la distribución altitudinal (Gömöry *et. al.*, 2010).

El tiempo de exposición al tratamiento de incubación de las hojas de *A. religiosa* puede haber sido insuficiente para observar una tendencia altitudinal. Gömöry *et. al.*, 2010 incubaron las acículas de *Picea abies* a -20 , -80 y $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, progresivamente reduciendo $5\text{ }^{\circ}\text{C}$

un promedio de incubación de 4 horas y encontraron diferencias entre procedencia en la resistencia al daño por temperaturas extremas.

Sutinen *et. al.*, 1992 demostraron que existe una relación entre la resistencia de acículas de *Pinus nigra* y *Pinus resinosa* al daño por heladas y la estacionalidad en los meses más fríos, en los que ocurre una menor fuga de electrolitos.

Es posible que, al existir una estacionalidad marcada en la resistencia al daño por heladas para *A. religiosa* (Sutinen *et. al.*, 1992), mecanismo semejante al mecanismo que subyace cuando se infringe estrés por sequía (Guo-Jianyin *et. al.*, 2010), no se haya encontrado un patrón clinal asociado entre el porcentaje de fuga de electrolitos entre poblaciones de *A. religiosa* y la altitud de origen de la procedencia.

Pese a que la resistencia a temperaturas extremas y la expresión de la resistencia a las heladas puede estar controlada genéticamente (Sakai y Larcher 1987), éste es uno de los caracteres que exhibe mayor plasticidad. Se ha demostrado mediante ensayos de jardín común que el tiempo en el que entran en dormancia las plantas de diferentes procedencias frecuentemente exhiben una variación genética a lo largo del gradiente altitudinal (Daehlen *et. al.*, 1995 en Gömöry *et. al.*, 2010).

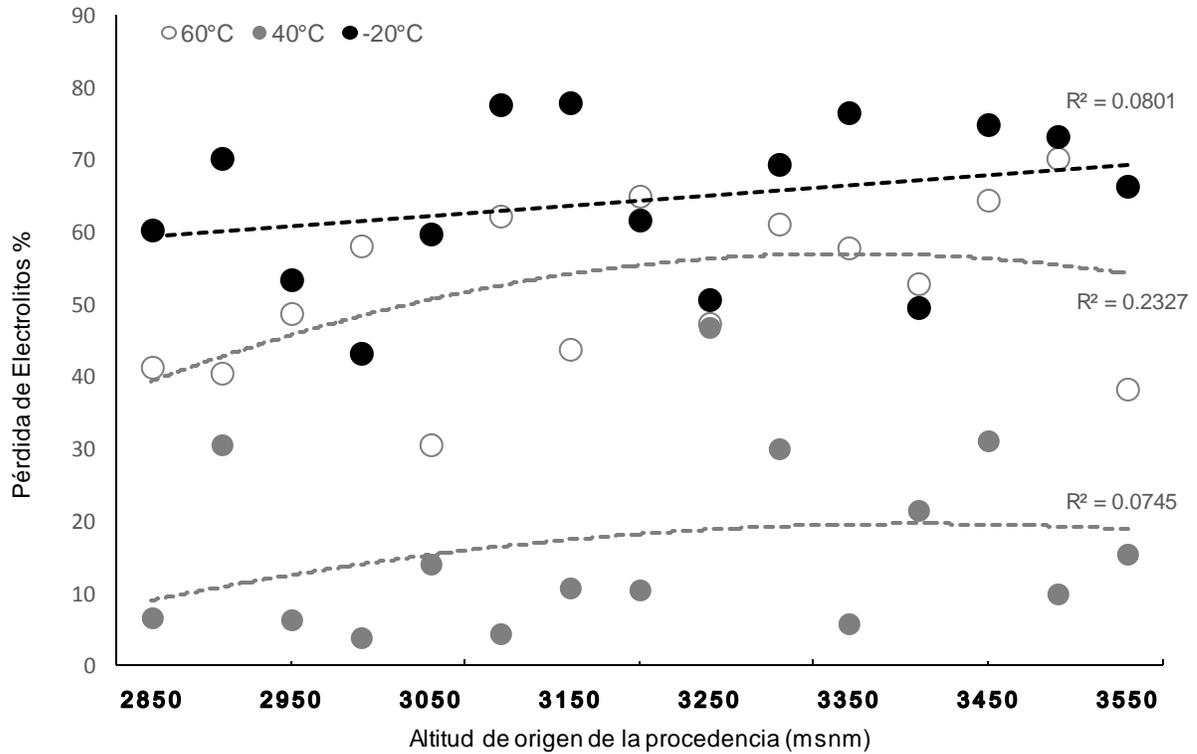


Figura 11. Porcentaje de pérdida o fuga de electrolitos promedio por población contra altitud de origen de 15 poblaciones de *A. religiosa* provenientes del Cerro de San Andrés Mpio. de Cd. Hgo. Michoacán. Los valores han sido corregidos por el valor de pérdida de electrolitos de un testigo

Considerando que el cambio climático significará que ocurrirá una disminución en la precipitación y mayor temperatura (Sáenz-Romero *et. al.*, 2010), se podría explorar además del uso de nodrizas en las plantaciones en campo, (Sáenz-Romero *et. al.*, 2012), la fertilización en vivero de las plántulas con una solución de nitrato de amonio, ya que se ha demostrado que dicha práctica funciona para aumentar la resistencia a estrés por sequía en *Abies fabri* (Guo-Jianyin *et. al.*, 2010).

Para trabajos futuros es recomendable que, se considerado el tiempo de exposición de las acículas al momento de ser incubadas a cada tratamiento de temperatura extrema. En este trabajo, pudo no haber sido suficiente para infringir un daño al tejido suficiente para poder observar una tendencia clara de diferenciación entre poblaciones.

CONCLUSIONES

Las temperaturas extremas aquí probadas no ocurren de manera natural en el sitio dónde se colectó la planta. Sin embargo, el objetivo fue encontrar diferenciación en la resistencia de acículas individuales, entre poblaciones de *A. religiosa*. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de la fuga de electrolitos entre tratamientos de temperaturas extremas. Pero no se encontró un patrón de asociación entre el porcentaje de fuga de electrolitos y la procedencia ni en relación a la altitud de origen de la procedencia.

Al no encontrarse un patrón de diferenciación genética entre la fuga de electrolitos por población y el gradiente altitudinal, éste carácter no pudo ser incluido en el establecimiento de la zonificación altitudinal para el movimiento asistido de las poblaciones de *A. religiosa*.

El peso de la acícula en fresco siempre estuvo relacionado con la proporción de fuga de electrolitos, el lavado inicial de las acículas es fundamental para poder apreciar resultados.

Se sugiere continuar explorando mediante esta técnica la adaptación de las poblaciones al gradiente altitudinal, ya que se emplea menos tiempo que en la evaluación de daño por heladas de acículas en la que se emplea el congelador de control manual y ramillas. Sin embargo, se requiere la estandarización en la técnica para poder emplear esta metodología en trabajos futuros, ya que la técnica ha sido desarrollada principalmente para latifoliadas.

BIBLIOGRAFÍA

- Castellanos-Acuña D., Lindig-Cisneros R. A., Silva-Farías M. A y Sáenz-Romero C. 2014. Zonificación altitudinal provisional de *Abies religiosa* en un área cercana a la reserva de la biósfera de la mariposa monarca, Michoacán. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente. 20 (2):215-224.
- Fuchigami L. H., C. J. Weiser, K. Kobayashi, R. Timmis, and L. V. Gusta. 1982. A degree growth stage (°GS) model and cold acclimation in temperate woody plants. In Plant Cold Hardiness and Freezing Stress. Mechanisms and Crop Implications Vol. 2. Academic Press, New York, pp 93-116.
- Gömöry D, Foffová E, Kmet J, Longauer R, Romšáková I. 2010. Norway Spruce (*Picea Abies* [L.] Karst.) Provenance variation in autumn cold hardiness: Adaptation or acclimation? Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 52/2: 42–49.
- Guo Jianying., Yang Yan., Wang Genxu., Yang Liudong y Sun Xiangyang. 2010. Ecophysiological responses of *Abies fabri* seedlings to drought stress and nitrogen supply. Physiological Plantarum 139: 135-347.
- Hurme P. Repo T. Savolainen O. Pääkkönen T. 1997. Climatic adaptation of bud set and frost hardiness in Scots pine (*Pinus sylvestris*). Can. J. For. Res. 27:716-723.
- Inouye D. W., 2000. The ecological and evolutionary significance of frost in the context of climate change. Ecology letters. 3:457-463.
- Inouye D W.2008. Effects of climate change on phenology, frost damage, and floral abundance of montane wildflowers. Ecology. 89:353-362.
- Kolb P. F., Robberrecht R. 1996. High temperature and drought stress effects on survival of *Pinus ponderosae* seedlings. Tree physiology. 16: 665-672.
- Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Vol. I, Chilling, freezing and high temperature stresses. 2nd Ed. Academic Press, Orlando, Florida, 497 p.

- Liisa M. S., P. Palta P. J. y Peter B. R. 1992. Seasonal differences in freezing stress resistance of needles of *Pinus nigra* and *Pinus resinosa*: evaluation of electrolyte leakage method. *Tree Physiology* 11: 241-254.
- Rehfeldt G. E. 1993. Genetic variation in the *Ponderosae* of the Southwest. *American Journal of Botany*. 80:330-343.
- Sáenz-Romero, C. 2004. Zonificación estatal y altitudinal para la colecta y movimiento de semillas de coníferas en México. In J. J. Vargas-Hernández, B. Bermejo-Velázquez, & F. T. Ledig (Eds.), *Manejo de recursos genéticos forestales*. México: CONAFOR-Comisión Forestal de América del Norte. pp. 72–86.
- Sáenz-Romero C., Rehfeldt G. E., Crookston N. L., Pierre D., St-Amant R., Bealieu J., Richardson B. 2010. Spline models of contemporary, 2030, 2060, 2090 climates for Mexico and their use in understanding climate-change impacts on the vegetation. *Climatic Change*, 102:595-623.
- Sáenz-Romero C., Rehfeldt GE., Duval P., Lindig-Cisneros R. A. 2012. *Abies religiosa* habitat prediction in climatic change scenarios and implications for monarch butterfly conservation in Mexico. *Forest Ecology and Management* 275:98-106
- Sakai, A. and W. Larcher. 1987. Frost survival of plants. Responses and adaptation to freezing stress. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 321 p.
- Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) 2000. URL <http://mariposamonarca.semarnat.gob.mx/santuarios.html>. Fecha de acceso junio 2016.
- Soto-Correa C. J., Sáenz-Romero C., Lindig-Cisneros R., De la Barrera M. E. 2012. The neotropical shrub *Lupinus elegans*, from temperate forests, may not adapt to climate change. *Plant Biology* 15: 607-610.
- Sutinen M. L., Palta J. P. y Reich P. B. 1992. Seasonal differences in freezing stress resistance of needles of *Pinus nigra* and *Pinus resinosa*: evaluation of the electrolyte leakage method. *Tree Physiol.* 11 (3):241-254.

Statistical Analysis System (SAS Institute Inc.). (2004). SAS/STAT 9.1 User's Guide. Cary, N.C., USA: Autor.

DISCUSIÓN GENERAL

Existe una diferenciación genética altitudinal entre poblaciones de *A. religiosa* para altura total, elongación total, fecha de término de elongación, peso seco de tallos, peso seco de follaje, peso seco total aéreo, y daño por heladas ($P < 0.0167$) a los 30 meses de edad de la planta.

La diferenciación genética entre poblaciones para las variables: altura total (mm), elongación total (mm), fecha término de elongación (día Juliano), peso seco de follaje (g) y daño por heladas (%) está fuertemente asociada al gradiente altitudinal y climático ($P < 0.0366$). De manera general, los individuos de las poblaciones originadas a mayor altitud en general crecen menos, culminan su elongación de manera más anticipada, contienen menos peso seco en el follaje y presentan mayor resistencia al daño por heladas, que las poblaciones originadas a menores altitudes.

Respecto al análisis de temperaturas extremas inducidas en laboratorio y la evaluación mediante la técnica de fuga de electrolitos. No se encontró una asociación estadísticamente significativa entre poblaciones para el daño infringido por temperaturas extremas (fuga de electrolitos) y el gradiente altitudinal, es posible observar una débil tendencia asociada al gradiente altitudinal, en el que las poblaciones originadas en la parte baja de la distribución altitudinal son más tolerantes al daño por temperaturas extremas (40, 60 y -20 °C). La falta de significancia estadística podría deberse a que el tiempo de exposición a las temperaturas y la técnica empleada en la incubación, pudo haber sido inadecuada. Probablemente un mayor tiempo de exposición a las temperaturas extremas y la exposición de las acículas durante una época del año diferente a la cual se colectaron las muestras (por ejemplo, abril-agosto), habría inducido un patrón de diferenciación entre poblaciones más pronunciado. Lo anterior porque se ha demostrado que durante otoño las acículas experimentan cambios a nivel celular, incrementando la

lignificación y concentración de suberina de las paredes celulares para impedir el daño infringido durante el invierno (Sutinen *et. al.*, 1992). Por ello, se considera deseable ensayar en investigaciones futuras tales adecuaciones a la técnica, para posiblemente encontrar una diferenciación entre poblaciones asociado al gradiente altitudinal. En el caso de la inducción de daño por heladas en laboratorio, se hicieron numerosos ensayos de prueba y error, hasta encontrar la temperatura y el tiempo de exposición a la misma, con la cual se obtenía un daño medible.

Con base a los resultados del ensayo de jardín común, las poblaciones de oyamel se diferencian genéticamente en promedio a cada 350 m de diferencia altitudinal. Este valor es cercano al reportado para otras especies de *Pinus* mexicanos que habitan sitios de alta montaña (Sáenz Romero *et. al.*, 2004).

Sin considerar cambio climático, para efecto de conservación de la especie, restauración ecológica y reforestación, se propone una zonificación que comprende tres zonas de un ancho de 350 m, 1.2 °C de temperatura media del mes más frío, 14 días de periodo libre de heladas, 323 días grado por arriba de 5 °C, y 6 días de diferencia respecto a la fecha en la que ocurre la primera helada de Otoño. Los límites altitudinales propuestos de la **Zona I** van de 2650 a 3000 msnm, para la **Zona II** de 3000 a 3350 y **Zona III** de 3350 a 3700 msnm y el germoplasma podría moverse libremente dentro de cada zona. Alternativamente, el movimiento podría ser ± 175 m del sitio de colecta, ó ± 0.5 °C de temperatura media del mes más frío, ó ± 7 días de periodo libre de heladas, o ± 162 °C días grado por arriba de 5 °C, o ± 3 de diferencia respecto a la fecha en la que ocurre la primera helada de otoño.

Sin embargo, considerando las proyecciones de cambio climático, para efectos de la migración asistida se requeriría el movimiento de las poblaciones de oyamel 350 m más arriba, para re-acoplarlas al nicho climático futuro centrada en la década de 2030. Esto

significaría coleccionar semilla en una zona altitudinal, producir planta en vivero, y plantar en la zona altitudinal contigua a mayor altitud. Esto significaría un movimiento altitudinal en promedio de 350 m de diferencia altitudinal.

Existe una persistente controversia en la aplicación de la migración asistida de poblaciones como herramienta de adaptación ante el cambio climático. En el pasado, el manejo y la conservación de los bosques se hacía bajo el supuesto de que mantener las condiciones originales era lo mejor, ya que no se tenían presentes los efectos del cambio climático sobre las poblaciones forestales. Es decir, básicamente el manejo de los bosques se hacía abajo los paradigmas ecológicos de sustentabilidad, variabilidad histórica e integridad ecológica. Sin embargo, estos conceptos usan las condiciones forestales históricas como medio de obtención de información acerca de cómo deberían estructurarse los bosques sanos y mantener su condición “natural” (Millar *et al.*, 2007).

En contra de la Migración asistida de las poblaciones se argumenta que no existe evidencia suficiente de largo plazo para saber si es una buena estrategia y que, por otro lado, podrían generarse desajustes y efectos negativos sobre las interacciones bióticas y otros organismos, dónde tampoco es considerado el tipo de suelo, por lo que recomiendan que ésta práctica se tome con reserva (Bucharova 2016). Sin embargo, existe evidencia de que las interacciones entre especies y las respuestas competitivas en climas cambiantes pueden ser complejas e inesperadas (Suttle *et al.*, 2007). También existe evidencia reciente sólida de que la declinación forestal debida al cambio climático, ya es un proceso global en curso (Allen *et al.*, 2010).

Es esencial aceptar que el futuro será diferente al pasado, lo que en el presente nos obliga a manejar los bosques de nuevas maneras. Restaurar y mantener las condiciones históricas ahora ya no asegura las posibilidades de mantener sanos los ecosistemas, por lo que se requiere tener flexibilidad estratégica y asumir riesgos, así

como aprender de la experiencia, la evidencia y del conocimiento ya generado (Millar *et al.*, 2007). La capacidad de responder en la actualidad será cada vez más importante en el futuro (Millar *et al.*, 2007; Aitken *et al.*, 2008).

La evidencia del deterioro de la cubierta forestal dentro de la Reserva de la Biósfera de la Mariposa Monarca no debería ignorarse. Aunque los efectos reales del cambio climático aún se desconocen en gran medida (por falta de monitoreo de parcelas permanentes), resistir y esperar los resultados del cambio climático significaría asumir también el riesgo de no hacer nada, aun contando con información y conocimiento parcial. En el mejor de los escenarios la migración asistida permitiría la transición y adaptación gradual de los genotipos evitando una catástrofe.

Si se desea reacoplar las poblaciones al clima centrado en la década de 2030, la migración de las poblaciones de *A. religiosa* tendría que hacerse de manera inmediata. La migración de las poblaciones que ya se encuentran en las partes más altas del estado de Michoacán y Estado de México dentro de la RBMM, y que por tanto al intentar moverse 300 m hacia arriba en altitud no habría sitios disponibles dentro de la RBMM, implicaría que el movimiento fuera hacia montañas más altas, como el Nevado de Toluca, Popocatepetl, Iztaccíhuatl, la Malinche y Citlaltepétl (Pico de Orizaba).

Sin embargo, la sugerencia de movimiento de fuente de semillas requiere valoraciones en campo (Sáenz-Romero 2004). El movimiento de las poblaciones hacia sitios a mayor elevación implica el riesgo de daño por heladas (Sáenz-Romero y Tapia-Olivares 2008).

El endurecimiento en vivero y el uso de plantas nodrizas como *Lupinus elegans* y/o *Lupinus montanus* (a mayores elevaciones), podrían contribuir a la protección del daño por heladas, nutrición y adaptación de las plántulas (Blanco-García *et al.*, 2011; Soto-Correa *et al.*, 2014) que vienen de menores altitudes. Otra posibilidad es la fertilización

en vivero con una solución de nitrato de amonio, que podrían aumentar la resistencia a estrés por sequía; esto se ha probado que tiene éxito en plántulas de *Abies fabri* (Guo-Jianyin *et. al.*, 2010).

La migración asistida de las poblaciones de oyamel requeriría de un programa masivo de producción de planta en vivero y reforestación, en el que el financiamiento y la calidad de la semilla es un factor que debe considerarse seriamente. Si bien existe incertidumbre en cuanto al efecto que la migración asistida de las poblaciones de oyamel, tendría sobre las interacciones bióticas, es algo que aún no es posible determinar. Modelar la respuesta de las interacciones bajo estrés climático y competencia resulta muy complejo (Kariklanderud 2005).

Los resultados sugieren una modificación a la zonificación provisional de *A. religiosa* hecha por Castellanos-Acuña y colaboradores (2014). Los resultados demuestran que, con base a la diferenciación genotípica, son 350 m de diferencia altitudinal, y no 250 metros (como lo sugiere la evidencia morfológica; Castellanos Acuña *et al* 2014), lo que hace que dos poblaciones sean genéticamente diferentes.

Aunque se encontró una clara asociación en la diferenciación genética entre poblaciones en la resistencia del daño a heladas y el gradiente altitudinal (climático), se desconoce aún la respuesta de adaptación y plasticidad genética que las poblaciones han desarrollado para resistir un estrés por sequía.

Es de esperar que exista una diferenciación genética a largo del gradiente altitudinal en la tolerancia al estrés hídrico. Así como existe un patrón de adaptación en el que las poblaciones de menor altitud crecen más, pero son más susceptibles al daño por heladas, en contraste con las poblaciones de mayor altitud, que crecen menos, pero son más resistentes al daño por heladas (Rehfeldt, 1988), sería de esperar que las

poblaciones que se distribuyen a menor altitud fuesen más resistentes al estrés hídrico que las poblaciones de la parte alta de la distribución altitudinal.

Por lo anterior, es de extrema importancia en investigaciones futuras, generar conocimiento sobre si la presión selectiva del estrés hídrico pudiera haber generado una diferenciación genética entre poblaciones, y si tal patrón opera de manera complementaria (en el otro extremo de la variación ambiental altitudinal) al de la resistencia a heladas (éste último parece ser el factor de presión selectiva más fuerte, considerando lo pronunciado del patrón de diferenciación asociado al gradiente altitudinal). Lo anterior permitiría tener una visión más integral de los riesgos y ventajas potenciales de la migración asistida y futuras propuestas de manejo. Se sugieren experimentos futuros de supresión de lluvias mediante ensayos de procedencia en jardín común, para lograr comprender la adaptación de las poblaciones ante este factor.

CONCLUSIONES GENERALES

Existen diferencias genéticas significativas entre poblaciones de *Abies religiosa* (oyamel) y una asociación de esta diferenciación al gradiente altitudinal.

De manera general, las poblaciones originadas en la parte alta de la distribución altitudinal presentan menor potencial de crecimiento que las poblaciones originadas en la parte baja de la distribución ambiental y las procedencias de la parte baja de la distribución altitudinal crecen más, y durante más tiempo.

Dado que el oyamel se distribuye en sitios templados de alta montaña (Rzedowski 2001), se sugiere una zonificación climática-altitudinal, cubriendo el rango total de la distribución altitudinal de la especie. La zonificación propuesta está constituida por tres bandas altitudinales, de 350 m de ancho cada una y de 1.2 °C de diferencia de Temperatura Media del Mes más Frío (MTCM), 14 días de Periodo Libre de Heladas (FFP), 323 grados día acumulados < 5 °C (GSDD5) y 6 días de diferencia en el Día que ocurre la Primera Helada en Otoño (FDAY).

Para fines de conservación y sin considerar cambio climático, la recomendación es: coleccionar semilla en cada zona altitudinal y reforestar esa misma zona. Es decir, en la ZONA I, de los 2650 a 3000 msnm, equivalente a una MTCM de 9.7° a 8.5 °C, producir planta en vivero y reforestar dentro de la misma zona en que se colectó, o bien, ±175m del sitio de colecta. ZONA II: coleccionar semilla de los 3000 a los 3350 msnm, con MTCM de 8.5 a 7.4 °C y reforestar en la misma zona o bien, a ±175 m del sitio donde se colectó la semilla. ZONA III: Coleccionar semilla de los 3350 a los 3700 msnm donde MTCM va de 7.4 a 6.2 °C, producir planta en vivero y reforestar en la misma zona, o bien, a ±175m del sitio originario de la semilla.

Considerando cambio climático proyectado para la década centrada en 2030 se sugiere, mover altitudinalmente las poblaciones de oyamel 350 m más arriba a partir del

sitio de colecta de semilla, para re-acoplar las poblaciones a sitios dónde se espera que ocurran las mismas condiciones climáticas en la década centrada en 2030.

La manera de realinear las poblaciones a la Zona I₂₀₃₀: es, coleccionar semilla de 2650 a 3000msnm (Zona I contemporánea), producir planta en vivero y plantar en promedio 350 m más arriba, moviendo las poblaciones a la siguiente zona altitudinal, que es de 3000 msnm 3350 msnm, que será la altitud a la que se espera que ocurra la misma MTCM 9.7 a 8.5 °C. Es decir, es necesario coleccionar en la Zona I contemporánea y mover el germoplasma a la Zona II contemporánea, misma que es equivalente climáticamente a la Zona I₂₀₃₀ futura). Para reforestar la Zona II₂₀₃₀ futura, coleccionar semilla de los 3000 a 3350 msnm (Zona II contemporánea), producir planta en vivero y mover las poblaciones 350 m más arriba, a los 3340 a 3690 msnm, dónde ocurrirá de 8.5 a 7.4 °C MTCM en 2030 (Zona III contemporánea, equivalente climáticamente a la Zona II₂₀₃₀ futura). Finalmente, para reforestar la Zona III futura (año 2030) coleccionar planta de los 3360 a los 3700 msnm, producir planta en vivero y reforestar de 3690 a 4026 msnm dónde ocurrirán ahora de 7.4 a 6.2 °C MTCM, en la zona III₂₀₃₀ futura.

El estudio indica que las variables climáticas que se presentan a lo largo del gradiente altitudinal actúan como presión de selección, promoviendo la diferenciación genética a lo largo del gradiente altitudinal.

La propuesta es aplicable al bosque de la Reserva de la Biósfera de la Mariposa Monarca, dado que las poblaciones que se coleccionaron para obtener estos resultados se encuentra a solo 58 km al Oeste de distancia lineal de la Reserva.

Los hallazgos tienen implicaciones importantes para reforestaciones realizadas fuera del Estado de Michoacán, dado que la delimitación de zonas altitudinales se hizo cubriendo el rango de distribución ambiental de la especie. En otras palabras, la

zonificación es aplicable a otras áreas de distribución de *Abies religiosa*, al menos en el Eje Neovolcánico.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Allen C. D., Macalady A. K., Chenchouni H., Bachelet D., McDowell N., Vennetier M., Kitberger T., Rigling A., Breshears D. D., Hogg E.H., Gonzalez P., Fensham R., Zhang Z., Castro J., Demidova N., Jong-Hwan L., Allard G., Running W. S., Semerci A. y Cobb N. 2010. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate risks for forests. *Forest Ecology and Management*. 259:660-684.
- Blanco-García A., Sáenz-Romero C., C. Martorell., P Alvarado-Sosa., R. A Lindig-Cisneros. 2011. Nurse plant and mulching effects on tree conifer species in a Mexican temperate forest. *Ecological Engineering*. 37:994-998.
- Bucharova A. 2016. Assisted migration with species range ignores biotic interactions and lacks evidence. *Restoration Ecology*. 1: 1-5.
- Castellanos-Acuña D., Lindig-Cisneros R. A., Silva-Farías M. Á. y Sáenz-Romero C. 2014. Zonificación altitudinal provisional de *Abies religiosa* en un área cercana a la Reserva de la Biósfera de la Mariposa Monarca, Michoacán. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 11 (2): 215-224
- Guo Jianying., Yang Yan., Wang Genxu., Yang Liudong y Sun Xiangyang. 2010. Ecophysiological responses of *Abies fabri* seedlings to drought stress and nitrogen supply. *Physiological Plantarum* 139: 135-347.
- Kariklanderud. 2005. Climate change effects on species interactions in an alpine plant community. *Journal of Ecology*. 93: 127-137
- Millar C. I., Stephenson N. L., S.L. Stephens. 2007. Climate change and forest of the future managing in the face of uncertainly. *Ecological Applications*. 17(8): 2145-2151.
- Rehfeldt G. E. 1988. Ecological genetics of *Pinus contorta* from the Rocky Mountains (USA): a synthesis. *Silvae Genetics* 37:131-135.
- Sáenz-Romero, C. 2004. Zonificación estatal y altitudinal para la colecta y movimiento de semillas de coníferas en México. In J. J. Vargas-Hernández, B. Bermejo-Velázquez, & F. T. Ledig (Eds.), *Manejo de recursos genéticos forestales*. México: CONAFOR-Comisión Forestal de América del Norte. pp. 72–86

- Sáenz-Romero, C. and Tapia-Olivares, B. L. 2008. Genetic variation in frost damage and seed zone delineation within an altitudinal transect of *Pinus devoniana* (*P. michoacana*) in Mexico. *Silv. Genet.* 57(3):165-17.
- Sáenz-Romero C; Lindig-Cisneros R. A; Joyce D. G; Beaulieu J; St. Clair J B; Jaquish B. C. 2016. Migración asistida de las poblaciones forestales para la adaptación de árboles ante el cambio climático. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 22(3): 303-323.
- Soto-Correa J.C., Lindig-Cisneros R. A., C. Sáenz-Romero. 2014. *Lupinus elegans* Kunt assisted migration in common garden field tests. *Revista Fitotecnia Mexicana.* 37(2): 107-116.
- Sutinen M. L., Palta J. P. y Reich P. B. 1992. Seasonal differences in freezing stress resistance of needles of *Pinus nigra* and *Pinus resinosa*: evaluation of the electrolyte leakage method. *Tree Physiol.* 11 (3):241-254.
- Suttle K.B., Meredith A. T., y Power M. E. 2007. Species interactions reverse grassland responses to changing climate. *Science.* 315: 640-642.