



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO FORESTAL

Efecto del estrés hídrico y por altas temperaturas sobre algunas características de crecimiento, distribución de biomasa y composición isotópica de carbono de poblaciones de *Pinus pinceana*.

RODRIGO JULIÁN MARTIÑÓN MARTÍNEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2009

La tesis titulada: **Efecto del estrés hídrico y por altas temperaturas sobre algunas características de crecimiento, distribución de biomasa y composición isotópica de carbono de poblaciones de *Pinus pinceana***, realizada por el alumno: Rodrigo Julián Martiñón Martínez bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

FORESTAL

CONSEJO PARTICULAR

Consejero

Dr. J. Jesús Vargas Hernández

Asesor

Dr. Armando Gómez Guerrero

Asesor

Dr. Javier López Upton

Asesor

Dr. Humberto Vaquera Huerta

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Agosto de 2009

EFFECTO DEL ESTRÉS HÍDRICO Y POR ALTAS TEMPERATURAS SOBRE ALGUNAS CARACTERÍSTICAS DE CRECIMIENTO, DISTRIBUCIÓN DE BIOMASA Y COMPOSICIÓN ISOTÓPICA DE CARBONO DE POBLACIONES DE *PINUS PINCEANA*.

Rodrigo Julián Martiñón Martínez

Colegio de Postgraduados, 2009

Con el propósito de determinar las posibilidades de adaptación de *Pinus pinceana* Gord. a condiciones ambientales asociadas al cambio climático, conocer algunos de los mecanismos fisiológicos involucrados e identificar poblaciones con una mejor respuesta a dichas condiciones, se evaluó el efecto del estrés por sequía y por temperatura sobre el crecimiento, distribución de biomasa, composición isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$), y tasa relativa de crecimiento (TRC) en plantas de diferentes poblaciones bajo condiciones de invernadero. El diseño experimental incluyó dos ambientes de temperatura, con una diferencia promedio de 2 °C y dos condiciones de disponibilidad de agua. Los dos factores de estrés ocasionaron una reducción en el crecimiento, la acumulación de biomasa y la relación parte aérea-raíz de las plantas, pero solo el estrés hídrico ocasionó una reducción significativa en la discriminación isotópica, modificando el valor de $\delta^{13}\text{C}$. Se encontró una amplia variación entre las poblaciones en la respuesta a los dos tipos de estrés, tanto en el potencial de crecimiento y distribución de biomasa, como en el valor de $\delta^{13}\text{C}$ y TRC; las poblaciones de la región norte mostraron características adaptativas asociadas con una mayor tolerancia a la sequía que las poblaciones de la región sur. Estos resultados indican que el potencial de crecimiento, la distribución de biomasa y la eficiencia en el uso del agua juegan un papel importante en la adaptación de las poblaciones de *Pinus pinceana* a las condiciones de sequía que enfrentan en su hábitat natural y que es posible identificar poblaciones de esta especie con posibilidad de ajustarse a las condiciones de estrés que se anticipan con el cambio climático.

Palabras clave: Adaptación, cambio climático, distribución de biomasa, relación parte aérea-raíz, variación genética, $\delta^{13}\text{C}$, eficiencia en el uso del agua, tasa relativa de crecimiento.

EFFECT OF WATER AND HIGH-TEMPERATURE STRESS ON SOME GROWTH TRAITS, BIOMASS ALLOCATION AND CARBON ISOTOPIC COMPOSITION OF *PINUS PINCEANA* POPULATIONS.

Rodrigo Julián Martiñón Martínez

Colegio de Postgraduados, 2009

To determine the potential of *Pinus pinceana* Gord. for adaptation to environmental conditions linked to climate change, to know some of the physiological mechanisms involved, and to identify populations best adapted to such conditions, the effect of water and temperature stress on growth, biomass allocation, carbon isotopic composition ($\delta^{13}\text{C}$) and relative growth rate (RGR) was evaluated in seedlings of several populations under greenhouse conditions. The experimental design included two temperature environments, with an average difference of 2 °C, and two soil moisture conditions. Both stress factors caused a significant reduction in height growth, biomass accumulation and shoot-root ratio of seedlings, but only water stress caused a significant reduction in carbon isotopic discrimination, changing $\delta^{13}\text{C}$. A broad variation among populations was found in the response to both types of stress, in terms of growth potential, biomass allocation, $\delta^{13}\text{C}$, and RGR; populations from the northern region showed adaptive traits related with higher drought tolerance than populations from the southern region. These results indicate that growth potential, biomass allocation, and water use efficiency play an important role on adaptation of *Pinus pinceana* populations to drought conditions existing in their natural habitat, and that it is possible to identify populations of this species with potential to grow under the stress conditions foreseen with climate change.

Key words: Adaptation, climate change, biomass allocation, shoot-root ratio, genetic variation, $\delta^{13}\text{C}$, water use efficiency, relative growth rate.

Este trabajo de Tesis de M.C. forma parte del proyecto de investigación titulado “**Ecología, genética de poblaciones y estrategias de conservación de poblaciones naturales de *Pinus pinceana* Gordon**”, financiado por el Fondo Sectorial de Investigación Ambiental SEMARNAT-CONACYT a través del proyecto con clave 2002-C01-1429.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico brindado para mis estudios de maestría.

Al Colegio de Postgraduados por darme la oportunidad de realizar mis estudios de maestría.

Al Doctor J. Jesús Vargas Hernández por su invaluable apoyo y valiosos consejos en todas las etapas de esta investigación.

A los Doctores Javier López Upton y Armando Gómez Guerrero por todas las facilidades brindadas para realizar este trabajo.

Al Doctor Humberto Vaquera Huerta por su dedicación en la revisión de este documento.

A los señores Lauro Guadalupe Franco Mejía, Asunción Hernández Néquiz, Maximino Juárez Zárate, Jose Luis Gitiérrez y Sergio Prado Almeraya por su apoyo en la fase experimental de esta investigación.

Al M.C. Celestino Flores López por su apoyo en la colecta del material de campo en el norte de México.

DEDICATORIA

A mis padres Conrado Martiñón Ortega y Lucía Martínez Bravo, por todos sus consejos y por inculcarme buenos principios.

A mis Hermanos Elsa, Maria Olivia, Eusebia, Antolín y Alicia.

A Sara Rosario Hernández Gil, por su apoyo incondicional en todo momento.

A mis tíos Arcadio Bravo Balbuena y Rosario Camacho Sánchez. También a América, Yeni, Tania y Lao-tse.

CONTENIDO

RESÚMEN GENERAL	iii
GENERAL ABSTRACT	iv
AGRADECIMIENTOS	vi
DEDICATORIA	vii
CONTENIDO	viii
LISTA DE CUADROS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
CAPÍTULO I. RESPUESTA DE <i>PINUS PINCEANA</i> A ESTRÉS POR SEQUÍA Y ALTAS TEMPERATURAS	4
RESUMEN	4
ABSTRACT	5
INTRODUCCIÓN	6
MATERIALES Y MÉTODOS	8
Establecimiento del ensayo	8
Diseño experimental	8
Variables evaluadas	12
Análisis estadístico	12
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
Efecto del estrés por temperatura	14
Efecto del estrés hídrico	16
Interacción entre los dos tipos de estrés	17
Diferencias entre poblaciones en el crecimiento de las plantas	18
Variación en la respuesta de las poblaciones al estrés por temperatura ..	19
Variación en la respuesta de las poblaciones al estrés hídrico	21
CONCLUSIONES	24

CAPÍTULO II. EFECTO DEL ESTRÉS HÍDRICO Y TEMPERATURA SOBRE LA COMPOSICIÓN ISOTÓPICA DE CARBONO EN FOLLAJE DE <i>PINUS PINCEANA</i>	25
RESUMEN	25
ABSTRACT	26
INTRODUCCIÓN	27
MATERIALES Y MÉTODOS	30
Material biológico y condiciones del ensayo	30
VARIABLES EVALUADAS	31
Análisis estadístico	33
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
Composición isotópica de carbono en follaje de <i>Pinus pinceana</i>	34
Efecto del estrés sobre la composición isotópica	34
Diferencias entre poblaciones en la discriminación isotópica	35
Tasa relativa de crecimiento	38
Relación entre $\delta^{13}\text{C}$, tasa relativa de crecimiento y productividad potencial	40
CONCLUSIONES	43
CAPÍTULO III. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES	44
LITERATURA CITADA	48

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Pág.
I.1	Localización geográfica de las poblaciones de <i>Pinus pinceana</i> incluidas en el estudio.	10
I.2	Resultados del análisis de varianza (significancia estadística) para las características de crecimiento de las plantas de diferentes poblaciones de <i>Pinus pinceana</i> en respuesta a los factores de estrés por temperatura y humedad.	14
I.3	Valores promedio de las características de crecimiento de las plantas de <i>Pinus pinceana</i> en las condiciones de temperatura ambiente (T_0) y temperatura elevada (T_1).	15
I.4	Valores promedio de las características de crecimiento de las plantas de <i>Pinus pinceana</i> en las condiciones de humedad favorable (S_0) y estrés por sequía (S_1).	16
I.5	Valores promedio por población de las características de crecimiento de las plantas de <i>Pinus pinceana</i> al crecer en dos condiciones de temperatura y humedad.	19
I.6	Valores promedio por población de las características de crecimiento de las plantas de <i>Pinus pinceana</i> en condiciones de temperatura ambiente (T_0) y temperatura elevada (T_1) y repuesta relativa al estrés por temperatura (T_1/T_0) en las variables en que hubo una interacción significativa de las poblaciones con la temperatura.	20
I.7	Repuesta relativa al estrés por sequía (S_1/S_0) de las poblaciones de <i>Pinus pinceana</i> en las diferentes características de crecimiento de las plantas.	22
II.1	Localización geográfica de las poblaciones de <i>Pinus pinceana</i> incluidas en el estudio.	32
II.2	Resultados del análisis de varianza (significancia estadística) para la composición isotópica de carbono en follaje de 6 poblaciones de <i>Pinus pinceana</i> en respuesta a los factores de estrés por temperatura y humedad.	36

LISTA DE FIGURAS

Figura		Pág.
I.1	Mapa de distribución de las poblaciones de <i>Pinus pinceana</i> en la República Mexicana: 1) Norias; 2) El Recreo; 3) El Cinco; 4) Palmas Altas; 5) Santa Elena; 6) El Orégano; 7) Carbonerillas; 8) Matehualilla; 9) Ejido Núñez; 10) Maguey Verde; 11) El Arenalito; 12) San Cristóbal.	9
I.2	Fluctuación típica de temperatura a lo largo del día en las dos condiciones de temperatura del experimento (T_0 = testigo; T_1 = temperatura elevada).	11
I.3	Contenido de humedad del suelo en los tratamientos de riego (S_0) y sequía (S_1) durante el experimento (c.c.: capacidad de campo; p.m.p.: punto de marchitamiento permanente).	11
I.4	Interacción del estrés por sequía (S_1) y por temperatura (T_1) sobre el incremento promedio en diámetro de las plantas de <i>Pinus pinceana</i> con respecto al crecimiento en condiciones favorables de humedad (S_0) y temperatura (T_0).	17
II.1	Fluctuación típica de temperatura a lo largo del día en las dos condiciones de temperatura del experimento (T_0 = testigo; T_1 = temperatura elevada).	31
II.2	Interacción del estrés por sequía (S_1) y por temperatura (T_1) sobre la composición isotópica de carbono ($\delta^{13}C$) en el follaje de las plantas de <i>Pinus pinceana</i> con respecto al crecimiento en condiciones favorables de humedad (S_0) y temperatura (T_0).	36
II.3	Valores promedio de composición isotópica de carbono ($\delta^{13}C$) en el follaje de plantas de diferentes poblaciones de <i>Pinus pinceana</i> creciendo en dos condiciones de humedad del suelo y de temperatura.	37
II.4	Tasa relativa de crecimiento (TRC) promedio en altura (a) y biomasa final (b) en plantas de <i>Pinus pinceana</i> creciendo en dos condiciones de humedad del suelo (S_0 y S_1) y de temperatura (T_0 y T_1).	39
II.5	Tasa relativa de crecimiento (TRC) promedio en altura (a) y biomasa final (b) en plantas de diferentes poblaciones de <i>Pinus pinceana</i> creciendo en dos condiciones de humedad del suelo y de temperatura.	39
II.6	(a) Relación entre la composición isotópica ($\delta^{13}C$) promedio de las poblaciones de <i>Pinus pinceana</i> y su tasa relativa de crecimiento (TRC) promedio en altura; (b) $\delta^{13}C$ y TRC, en condiciones de sequía; (c) $\delta^{13}C$ en condiciones de sequía y TRC en condiciones favorables de humedad; y (d) $\delta^{13}C$ en condiciones de sequía y productividad potencial.	42

INTRODUCCION GENERAL

Pinus pinceana Gordon es una de las especies de pinos piñoneros endémicos de México; la especie se distribuye en forma de pequeños manchones en las zonas semiáridas del norte y centro de la República Mexicana, formando poblaciones aisladas en los estados de Hidalgo, Querétaro, San Luis Potosí, Zacatecas y Coahuila. El hábitat de la especie se caracteriza por su clima extremo en términos de humedad y temperatura, donde la precipitación anual rara vez sobrepasa los 400 mm y más del 60 % de la lluvia cae en el verano (Perry, 1991).

Esta especie es de gran importancia ecológica y económica para los habitantes de esas regiones. La especie proporciona alimento y refugio para la fauna silvestre y sombra a los pastos y plantas herbáceas pequeñas en los ecosistemas de las zonas áridas (Perry, 1991). Para las poblaciones humanas aledañas, la especie representa la principal fuente de leña y combustible disponible en esas zonas; de ella se obtienen también piñones comestibles y forraje para los animales domésticos (Ledig *et al.*, 2001).

La especie ha estado sujeta a la presión de las actividades humanas tales como el pastoreo intenso, colecta de semillas para consumo humano y el corte de ramas y árboles completos para leña y como consecuencia de esto la especie tiene una distribución natural muy restringida y está incluida dentro de la lista de especies raras y amenazadas (Perry, 1991; Ramírez *et al.*, 2008). Además, la tendencia en el aumento de temperatura y sequía asociadas al cambio climático amenazan aun más a las poblaciones localizadas en los ambientes de mayor aridez.

Las regiones donde se distribuye *Pinus pinceana* están separadas por montañas y grandes extensiones de zonas áridas; además, dentro de cada región, las poblaciones están aisladas por barreras geográficas, lo que dificulta el intercambio genético entre ellas. El aislamiento genético favorece la diferenciación de las poblaciones por efectos de deriva genética, como se ha demostrado en estudios de diversidad genética de la especie mediante isoenzimas (Ledig *et al.*, 2001; Molina-Freaner *et al.*, 2001).

A pesar de las fuertes presiones ambientales y antrópicas que enfrenta la especie en su hábitat natural, no existe suficiente información que permita establecer un programa adecuado de manejo y conservación de sus poblaciones (Molina-Freaner *et al.*, 2001). El aislamiento geográfico y el gradiente ambiental existente entre las poblaciones sugieren la posibilidad de que existan diferencias importantes entre las poblaciones en características de importancia adaptativa a factores de estrés ambiental, como la sequía y las temperaturas elevadas, por citar algunos.

Desafortunadamente, no se dispone de información sobre la respuesta en crecimiento, distribución de biomasa y otros procesos fisiológicos de las plantas en condiciones de sequía o de temperatura elevada, como posibles mecanismos adaptativos ante condiciones futuras de cambio climático. Aunque existen estudios anteriores que muestran que la especie tiene una amplia plasticidad fenotípica en el crecimiento de la raíz en respuesta al tipo de suelo (Córdoba *et al.*, 2008), y se han encontrado diferencias importantes en el crecimiento de las plantas asociadas al origen geográfico de las poblaciones (Ramírez, 2007), no hay información precisa sobre el patrón de asignación de biomasa en las plantas o la eficiencia en el uso del agua en condiciones de estrés ambiental.

En otras especies leñosas se ha encontrado que la tasa de crecimiento, el patrón de asignación de biomasa entre la parte aérea y la raíz de la planta y la eficiencia en el uso del agua, entre otras características fisiológicas, están fuertemente asociadas con la productividad y la capacidad de adaptación a diferentes condiciones de estrés, incluyendo sequía y altas temperaturas, pero la importancia relativa de estas características difiere entre especies. Por ejemplo, Zhang *et al.* (1996) encontraron diferencias entre poblaciones de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco, *Pinus ponderosa* Dougl. y *Larix occidentalis* Nutt. en estas características fisiológicas y del crecimiento de las plantas, al someterlas a condiciones de estrés hídrico; sin embargo, cada especie respondió de manera diferente a la sequía.

Una manera indirecta de evaluar la eficiencia en el uso del agua de las plantas es mediante la determinación de la composición isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) en sus tejidos estructurales. El valor de $\delta^{13}\text{C}$ refleja los procesos fotosintéticos de intercambio de CO_2 con la atmósfera en función de la disponibilidad de agua, ya que en la medida de que el estrés hídrico limita la

difusión del CO₂, la enzima RUBISCO utiliza en mayor grado el isótopo ¹³C en dicho proceso (O’Leary, 1988). En este sentido, en la medida en que la enzima es capaz de usar una mayor proporción del isótopo ¹³C, se tendrá una mayor tasa de fotosíntesis y producción de materia seca, sin modificar el consumo de agua, aumentando la eficiencia en el uso del agua. Dado que las poblaciones de *Pinus pinceana* se han visto expuestas a diferentes condiciones de humedad en su hábitat natural se espera que hayan desarrollado diferentes mecanismos de adaptación y que existan diferencias notorias entre ellas en el valor de δ¹³C, especialmente si se someten a condiciones restrictivas de humedad, como se ha demostrado en otras especies leñosas (Lauteri *et al.*, 1997; Olivas *et al.*, 2000).

El presente trabajo de investigación se ha dividido en dos capítulos. En el primer capítulo se analiza el efecto del estrés hídrico y por altas temperaturas sobre algunas características de crecimiento y distribución de biomasa en plantas de diferentes poblaciones de *Pinus pinceana* con el propósito de determinar las posibles diferencias adaptativas entre las poblaciones en respuesta a estos dos tipos de estrés por separado y en forma conjunta. En el segundo capítulo se evalúa la composición isotópica de carbono en el follaje y la tasa relativa de crecimiento en las plantas de una muestra (seis) de las poblaciones de *Pinus pinceana* estudiadas en el primer capítulo, en respuesta a las mismas condiciones de estrés hídrico y por temperatura; además, se describe la relación entre δ¹³C y la producción de biomasa en estas poblaciones.

Con la información obtenida en este trabajo será posible comprender los mecanismos de adaptación de la especie a condiciones ambientales específicas y obtener información útil para la restauración y manejo de sus poblaciones ante escenarios de altas temperaturas y sequía extrema derivados del cambio climático, al permitir la identificación de poblaciones que puedan tener una mejor respuesta en condiciones de estrés hídrico. Esta información es de gran utilidad por la importancia socioeconómica de la especie en el noroeste de México y como uno de los principales elementos estructurales de los ecosistemas de zonas áridas que abarcan más del 50% de la superficie del país.

CAPÍTULO I. RESPUESTA DE *PINUS PINCEANA* A ESTRÉS POR SEQUÍA Y ALTAS TEMPERATURAS

RESUMEN

Con el propósito de identificar las posibilidades de adaptación de *Pinus pinceana* Gordon a condiciones ambientales asociadas al cambio climático, se evaluó el efecto del estrés hídrico y por altas temperaturas sobre el crecimiento y distribución de biomasa en plantas de 12 poblaciones de la especie, en condiciones de invernadero. El diseño experimental incluyó dos ambientes de temperatura con diferencia promedio de 2°C, y dos niveles de disponibilidad de agua. Los dos factores ocasionaron una reducción significativa en el crecimiento del brote, acumulación de biomasa y relación parte aérea-raíz, pero el efecto del estrés hídrico fue dos a tres veces mayor que el de la temperatura. El aumento en temperatura ocasionó un mayor engrosamiento del tallo, efecto más notorio en estrés hídrico. Se encontró una amplia variación entre las poblaciones en el potencial de crecimiento y en la asignación de biomasa en respuesta a los factores de estrés, indicando una amplia plasticidad fenotípica en sus mecanismos de adaptación. En condiciones de estrés, las poblaciones de la región norte redujeron más la acumulación de biomasa y la relación parte aérea-raíz, pero produjeron más ramas que las del sur. Estos resultados indican que la especie tiene posibilidades de adaptarse al cambio climático, si las poblaciones con mejor respuesta al estrés que se anticipa, se utilizan en programas de conservación y de restauración ecológica.

Palabras clave: Adaptación, cambio climático, distribución de biomasa, estrés hídrico, plasticidad fenotípica, relación parte aérea-raíz, variación genética.

ABSTRACT

In order to identify the potential for adaptation of *Pinus pinceana* Gordon to environmental conditions associated with climate change, the effect of drought and high temperature stress on growth and biomass allocation in plants from 12 populations of the species was evaluated under greenhouse conditions. The experimental design included two different temperature environments with an average difference of 2 °C, and two levels of water availability. Both factors caused a significant reduction in shoot growth, biomass accumulation and shoot/root ratio, but the effect of water stress was two to three times higher. The increase in temperature caused a greater thickening of the stem, particularly under water stress. A wide variation among populations in growth potential and biomass allocation was found in response to stress factors, indicating a wide phenotypic plasticity in their adaptation mechanisms. Under stress conditions, populations from the northern region showed higher reductions in biomass accumulation and shoot/root ratio, but produced more branches than populations from the southern region. These results indicate that the species has the potential to adapt to climate change, if populations with best response to the predicted stress levels are used in conservation and ecological restoration programs.

Keywords: Adaptation, biomass allocation, climate change, genetic variation, phenotypic plasticity, shoot/root ratio, water stress.

INTRODUCCIÓN

Pinus pinceana Gordon es una de las pocas especies del género *Pinus* que crece en condiciones extremas de aridez, a orillas del desierto en el noreste y centro-este de México, en rodales puros, a veces mezclados con *Pinus cembroides* Zucc. (Perry, 1991). Esta especie es de gran importancia ecológica y económica para los habitantes de esas regiones. La especie representa uno de los elementos estructurales clave de los ecosistemas de piñonares y de ella dependen una gran cantidad de especies vegetales y animales silvestres que requieren de hábitat o alimento (Perry, 1991). Para las poblaciones humanas aledañas, la especie representa la principal fuente de leña disponible en esas zonas; de ella se obtienen también piñones comestibles (piñón blanco) y forraje para los animales domésticos (Ledig *et al.*, 2001).

La especie tiene una distribución natural limitada y está incluida dentro de la lista de especies raras y amenazadas (Perry, 1991; Ramírez *et al.*, 2008). Se conocen menos de 15 poblaciones pequeñas, dispersas y discontinuas en las laderas de las montañas de la Sierra Madre Oriental, en los estados de Coahuila, Zacatecas, San Luis Potosí, Querétaro e Hidalgo (Molina-Freaner *et al.*, 2001; Ramírez *et al.*, 2008); las poblaciones se encuentran en ambientes desfavorables, marginales para el desarrollo de una masa arbórea. Además, la mayoría de ellas se encuentran amenazadas por impactos derivados de actividades humanas, incluyendo pastoreo, incendios y extracción de leña y frutos. La tendencia en el aumento de temperatura y sequía asociadas al cambio climático amenaza a las poblaciones localizadas en los ambientes de mayor aridez.

A pesar de las fuertes presiones que enfrenta la especie en su hábitat natural, no existe suficiente información que permita establecer un programa adecuado de manejo y conservación (Molina-Freaner *et al.*, 2001). El aislamiento geográfico y el gradiente ambiental existente sugieren la posibilidad de que existan diferencias importantes entre las poblaciones en características de importancia adaptativa a sequía y temperaturas elevadas. Un estudio reciente muestra que las poblaciones de *Pinus pinceana* de la región norte presentan mayor contenido de cera en las hojas que las del sur (Ramírez, 2007); el mismo autor encontró una relación positiva entre el contenido de cera y el peso seco del follaje, indicando que las poblaciones de la especie

han desarrollado estrategias para adaptarse a las condiciones restrictivas del medio en que evolucionaron. Sin embargo, se carece de información sobre la plasticidad fenotípica y los mecanismos de adaptación de la especie a condiciones inducidas de estrés hídrico y altas temperaturas, así como del grado de diferenciación de las poblaciones en esta respuesta.

No existen datos sobre el crecimiento y distribución de biomasa de *Pinus pinceana* en condiciones de sequía o de temperatura elevada, mecanismos adaptativos importantes ante condiciones futuras de cambio climático. Córdoba *et al.* (2008) encontraron una amplia plasticidad fenotípica en el crecimiento de la raíz de *Pinus pinceana* en respuesta al tipo de suelo, y aunque hubo diferencias entre las poblaciones en el crecimiento de las plantas, el patrón de asignación de biomasa fue similar entre ellas. En otras especies leñosas se ha encontrado que la asignación de biomasa a la parte aérea y a la raíz está fuertemente asociada con la productividad y la capacidad de adaptación a diferentes condiciones de estrés, incluyendo sequía y altas temperaturas. Por ejemplo, Zhang *et al.* (1996) encontraron diferencias entre poblaciones de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco, *Pinus ponderosa* Dougl. ex Laws. y *Larix occidentalis* Nutt. en la asignación de materia seca al someterlas a condiciones de estrés hídrico.

En este trabajo se evalúa el efecto del estrés por sequía y por temperatura sobre el crecimiento y distribución de biomasa en plantas de *Pinus pinceana* con el propósito de determinar las posibles diferencias adaptativas entre las poblaciones en respuesta a los dos tipos de estrés. Esta información permitirá entender los mecanismos de adaptación de la especie a factores específicos y obtener datos útiles para la restauración y manejo de sus poblaciones ante las expectativas de cambio climático. Conforme aumente la severidad en las condiciones de sequía y altas temperaturas en las regiones semi-áridas de México, *Pinus pinceana* será una de las pocas especies de coníferas con potencial para reforestación en esas regiones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Establecimiento del ensayo

En el ensayo se evaluaron plantas de 12 poblaciones naturales de *Pinus pinceana* muestreadas en toda el área de distribución natural de la especie (Figura I.1). Siete de estas poblaciones provienen de la región norte (Coahuila y Zacatecas) y cinco de la región sur (San Luis Potosí, Querétaro e Hidalgo); los datos de localización geográfica se presentan en el Cuadro I.1. El experimento se estableció en el Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados, en marzo del 2007. Cada población estuvo representada por 10 familias de polinización libre. Se utilizaron plantas de 25 meses de edad crecidas en contenedores de 350 cm³ en un sustrato formado por corteza de pino, agrolita y suelo del vivero en proporción 25:25:50. Al iniciar el ensayo se seleccionaron plantas de tamaño homogéneo en cada población y se trasplantaron a envases de 1500 cm³ con el mismo sustrato. Se realizaron pruebas físicas para determinar las constantes de humedad del sustrato (capacidad de campo y punto de marchitamiento permanente) y en un ensayo previo se definió el nivel de humedad requerido para inducir estrés por sequía en ellas.

Para generar los dos ambientes de temperatura, el invernadero se separó en dos secciones; en una de ellas se colocaron dos calefactores portátiles, mientras que en la otra se mantuvieron las condiciones naturales de temperatura. En cada sección se registró la temperatura del aire a lo largo del estudio utilizando sensores electrónicos con capacidad de almacenamiento de datos. En el ambiente testigo (T_0) se tuvo una temperatura promedio de 29.5 °C en el día y 14.9 °C en la noche, simulando las condiciones de fluctuación de temperatura en el hábitat natural de la especie, mientras que en el otro ambiente (T_1) se tuvo una temperatura promedio de 31.3 °C en el día y de 16.8 °C en la noche, con una diferencia promedio de 2 °C entre ellos (Figura I.2).

Diseño experimental

Con el propósito de separar el efecto del estrés hídrico del estrés causado por altas temperaturas, se utilizó un diseño factorial de parcelas divididas en dos ambientes (temperatura),

con cuatro repeticiones por tratamiento. En cada ambiente de temperatura los tratamientos de humedad se asignaron a las parcelas grandes y las poblaciones a las parcelas pequeñas, con las repeticiones anidadas dentro de cada ambiente.



Figura I.1. Mapa de distribución de las poblaciones de *Pinus pincea* en la República Mexicana: 1) Norias; 2) El Recreo; 3) El Cinco; 4) Palmas Altas; 5) Santa Elena; 6) El Orégano; 7) Carbonerillas; 8) Matehualilla; 9) Ejido Núñez; 10) Maguey Verde; 11) El Arenalito; 12) San Cristóbal.

Cuadro I.1. Localización geográfica de las poblaciones de *Pinus pinceana* incluidas en el estudio.

Núm. de control	Población	Coordenadas geográficas		Altitud (m)
		Latitud (N)	Longitud (O)	
Región Norte				
1	Norias, Coah.	26° 27' 08"	101° 35' 40"	1800
2	El Recreo, Coah.	25° 17' 40"	101° 00' 02"	2238
3	El Cinco, Coah.	25° 10' 41"	101° 41' 16"	2250
4	Palmas Altas, Coah.	25° 07' 57"	101° 27' 04"	2090
5	Santa Elena, Coah.	25° 01' 38"	101° 24' 29"	2077
6	Lomas El Orégano, Zac.	24° 30' 19"	101° 27' 48"	2305
7	San José Carbonerillas, Zac.	24° 28' 16"	100° 26' 53"	2300
Región Sur				
8	Matehualilla, S.L.P.	22° 42' 32"	100° 28' 05"	2020
9	Ejido Núñez, S.L.P.	22° 40' 06"	100° 28' 24"	1930
10	Maguey Verde, Qro.	21° 05' 25"	099° 42' 00"	2176
11	El Arenalito, Hgo.	20° 39' 27"	099° 02' 58"	1880
12	San Cristóbal, Hgo.	20° 37' 53"	098° 58' 31"	1915

Al inicio del ensayo, todas las plantas se regaron a capacidad de campo; en el testigo (S_0 = humedad favorable) se repuso cada seis días el agua perdida por cada planta; en cambio, en el de estrés hídrico (S_1 = sequía) se permitió la desecación del suelo hasta que el contenido de humedad llegó al 12 % con relación a la masa, momento en que se agregó agua para llevarlo al 20 % (Figura I.3); estas condiciones de humedad se mantuvieron durante 160 días. Cada unidad experimental estuvo representada por 5 plantas.

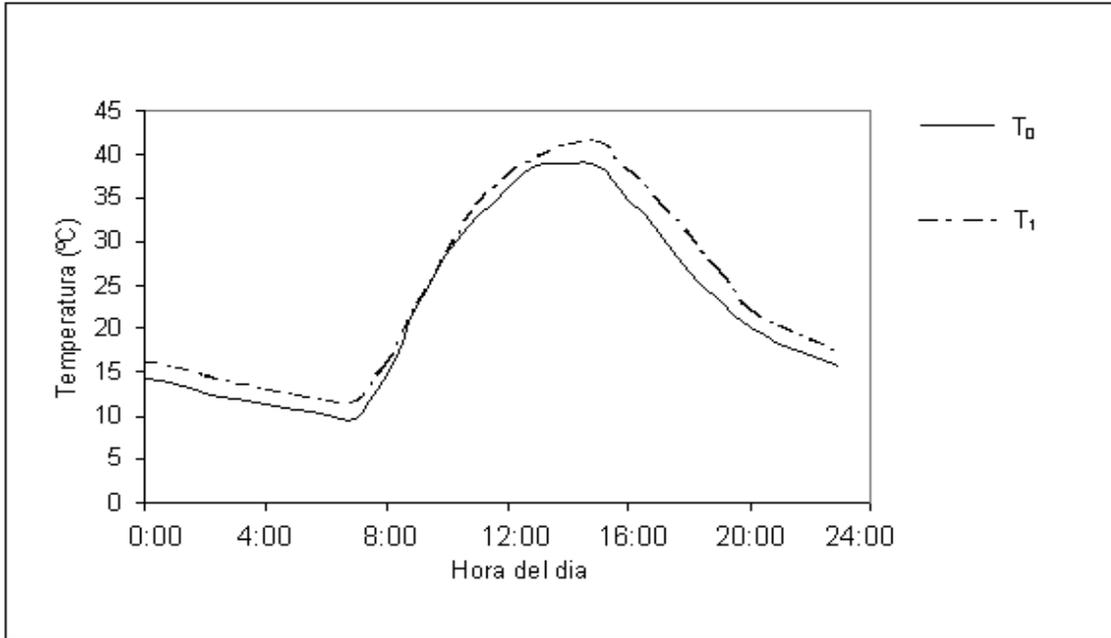


Figura I.2. Fluctuación típica de temperatura a lo largo del día en las dos condiciones de temperatura del experimento (T_0 = testigo; T_1 = temperatura elevada).

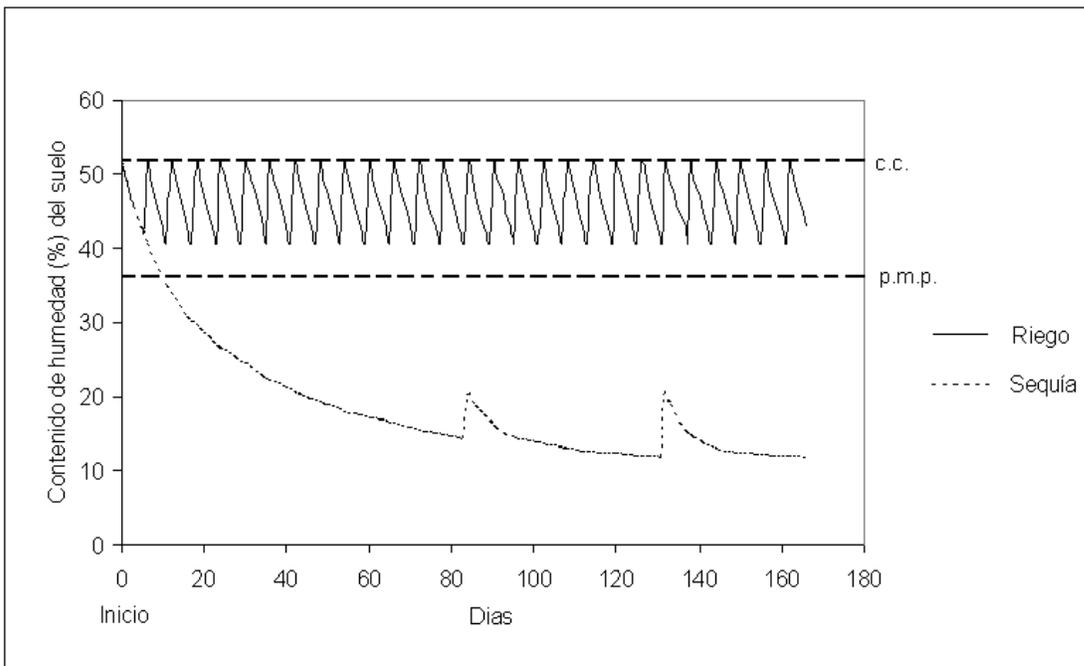


Figura I.3. Contenido de humedad del suelo en los tratamientos de riego (S_0) y sequía (S_1) durante el experimento (c.c.: capacidad de campo; p.m.p.: punto de marchitamiento permanente).

Variables evaluadas

Al inicio del experimento se midió la altura del tallo, el diámetro en la base del tallo y el número de ramas en cada una de las plantas. Al finalizar el experimento se realizó un análisis destructivo en todas las plantas del ensayo para medir la altura del tallo, el diámetro en la base del tallo, el número de ramas y la biomasa de raíz, tallo y hojas. Para obtener la biomasa, las muestras se secaron en un horno eléctrico a 70 °C hasta que alcanzaron peso constante. Con la diferencia entre el valor inicial y el valor final respectivo, se obtuvo el incremento en altura, diámetro y número de ramas de cada planta durante el periodo de estudio. Con los datos de biomasa se obtuvo la biomasa total de la planta y la relación parte aérea/raíz.

Análisis estadístico

Previo al análisis de varianza, se revisó que las diferentes variables cumplieran los supuestos requeridos, en especial su ajuste a una distribución normal; en el caso del número de ramas se utilizó la transformación raíz cuadrada. Un análisis de varianza con un modelo simplificado, que incluyó solo el efecto de los factores temperatura y sequía, mostró que en la mayoría de las características no se presentó una interacción significativa entre estos factores. Por lo tanto, se procedió a realizar un análisis de varianza de la respuesta de las plantas con el modelo estadístico completo (factores temperatura, sequía, poblaciones y sus interacciones). El análisis se realizó con el paquete estadístico SAS (SAS, 1998), utilizando los valores promedio por parcela y considerando todos los factores de efectos fijos.

En aquellos casos donde se encontraron diferencias significativas entre tratamientos o poblaciones se realizó una comparación de medias con la prueba de comparaciones múltiples de Duncan ($P=0.05$). Para estimar las diferencias entre las poblaciones en la respuesta a las condiciones de estrés, se calculó el cociente del valor promedio de la característica en el tratamiento de estrés entre el valor promedio del testigo. Este cociente representa el cambio relativo en las características promedio de las plantas al pasar de un ambiente a otro. De la misma manera, para evaluar la relación entre la respuesta de las poblaciones a las condiciones de estrés

con el potencial de crecimiento, se estimó la correlación de las diferentes características en condiciones de estrés con el peso seco de las plantas en condiciones favorables.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del estrés por temperatura

Se encontraron diferencias significativas entre los dos ambientes de temperatura en el incremento en altura y diámetro del tallo, así como en el peso seco de hojas, biomasa total y en la relación parte aérea-raíz (Cuadro I.2). Las plantas disminuyeron su crecimiento en condiciones de temperatura elevada, con excepción del diámetro del tallo, en donde se observó un crecimiento 27% mayor en alta temperatura (Cuadro I.3). La acumulación de biomasa total se redujo en un 7% por efecto de la temperatura, pero la reducción fue mayor en la parte aérea que en la raíz, ocasionando una reducción en la relación parte aérea-raíz (Cuadro I.3).

Cuadro I.2. Resultados del análisis de varianza (significancia estadística) para las características de crecimiento de las plantas de diferentes poblaciones de *Pinus pinceana* en respuesta a los factores de estrés por temperatura y humedad.

Fuente de variación	G.L.	Incremento en			Biomasa				Relación parte aérea/raíz
		Altura	diámetro	número de ramas	tallo	hojas	raíz	total	
Temperatura (T)	1	**	**	ns	ns	*	ns	*	**
Sequía (S)	1	**	**	**	**	**	**	**	**
T x S	1	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Población (P)	11	**	**	**	**	**	**	**	**
T x P	11	**	**	ns	ns	ns	*	ns	*
S x P	11	**	**	*	**	*	**	**	*
T x S x P	11	**	**	ns	ns	**	ns	*	ns

* y **Diferencias significativas con $p \leq 0.05$ y $p \leq 0.01$, respectivamente; ns, no significativo con $p = 0.05$.

Un aumento de 2 °C en la temperatura promedio fue suficiente para ocasionar una reducción en la tasa de crecimiento de las plantas de *Pinus pinceana*, en un periodo de tiempo

relativamente reducido, lo que indica la importancia del estrés inducido por este factor. La temperatura por arriba del nivel óptimo afecta negativamente diferentes procesos fisiológicos en las plantas, incluyendo la fotosíntesis, la respiración y el uso del agua (Kozlowski, 1979; Teskey y Will, 1999), así como el metabolismo de los ácidos nucleicos y la síntesis de proteínas (McDaniel, 1982), por lo que es lógico esperar que haya una reducción en la acumulación de materia seca. La reducción en la relación parte aérea-raíz se interpreta como un mecanismo de adaptación a las condiciones de estrés para mantener una relación más favorable entre la absorción de agua y la transpiración, que permita a las plantas un mejor balance de la carga energética en las hojas. Teskey y Will (1999) encontraron que temperaturas elevadas ocasionaron una reducción en el crecimiento en altura y en la acumulación de biomasa de *Pinus taeda* L. atribuyéndolo a la disminución de la capacidad fotosintética de las hojas y al aumento de la respiración oscura. Por el contrario, Cantin *et al.* (1997) encontraron que la biomasa de *Pinus banksiana* Lamb. aumentó al exponer las plantas a temperaturas y niveles de CO₂ elevados, y Zha *et al.* (2001) observaron efectos similares en *Pinus silvestris* L.; sin embargo, es posible que las temperaturas que ellos utilizaron no fueran suficientes para provocar estrés a las plantas ya que no sobrepasaron los 30 °C. Además, la fertilización con CO₂ resulta en ganancias en biomasa si la disponibilidad de agua y nutrientes no ha llegado a un nivel crítico (Schlesinger y Lichter, 2001).

Cuadro I.3. Valores promedio de las características de crecimiento de las plantas de *Pinus pinceana* en las condiciones de temperatura ambiente (T₀) y temperatura elevada (T₁).

Trat.	Incremento en			Biomasa (g)				Relación parte aérea/raíz
	altura (cm)	Diámetro (mm)	número de ramas	tallo	hojas	raíz	total	
T ₀	2.84 a [†]	0.30 b	1.29 a	2.36 a	3.70 a	3.27 a	9.34 a	1.91 a
T ₁	2.10 b	0.38 a	0.87 a	2.24 a	3.24 b	3.22 a	8.70 b	1.76 b

[†] Valores promedio en una misma columna seguidos por la misma letra no son estadísticamente diferentes entre condiciones de temperatura (p = 0.05).

Contrario a lo esperado, el aumento en temperatura ocasionó un mayor crecimiento en el diámetro del tallo de las plantas de *Pinus pinceana*. Kolb y Robberecht (1996) encontraron un comportamiento similar en plantas de *Pinus ponderosa*; estos autores interpretan dicha respuesta

como un mecanismo de adaptación para soportar las altas temperaturas, aumentando la superficie de conducción de agua en el xilema para ocasionar un mayor efecto de enfriamiento en la planta.

Efecto del estrés hídrico

Todas las variables evaluadas mostraron diferencias significativas entre las dos condiciones de humedad (Cuadro I.1). La sequía afectó más el crecimiento de las plantas que el estrés por temperatura; por ejemplo, el incremento en altura se redujo en casi un 80%, y el incremento en diámetro y en número de ramas disminuyó en un 50% (Cuadro I.4). La acumulación de biomasa también fue afectada por la sequía, con reducciones de 15 a 30%; la parte aérea fue más afectada que la raíz, ocasionando una reducción del 15% en la relación parte aérea-raíz (Cuadro I.4). Estudios en diferentes especies leñosas muestran que uno de los principales efectos de la sequía es la reducción del crecimiento, aunque la intensidad del efecto depende de la duración e intensidad del estrés hídrico y de los mecanismos de adaptación de la especie (Samuelson y Seiler, 1993; Ngugi *et al.*, 2003; Susiluoto y Berninger, 2007).

Cuadro I.4. Valores promedio de las características de crecimiento de las plantas de *Pinus pincea* en las condiciones de humedad favorable (S_0) y estrés por sequía (S_1).

Trat.	Incremento en			Biomasa (g)				Relación parte aérea/raíz
	altura (cm)	diámetro (mm)	número de ramas	tallo	hojas	raíz	total	
S_0	4.16 a [†]	0.45 a	1.54 a	2.70 a	3.94 a	3.49 a	10.13 a	1.98 a
S_1	0.79 b	0.23 b	0.63 b	1.90 b	3.01 b	3.00 b	7.91 b	1.69 b

[†] Valores promedio en una misma columna seguidos por la misma letra no son estadísticamente diferentes entre condiciones de humedad ($p = 0.05$).

La reducción de la relación parte aérea-raíz es un mecanismo que utilizan las plantas en condiciones de estrés hídrico para mantener un equilibrio más favorable entre la capacidad de absorción y la demanda transpiratoria (Cregg, 1994). Al igual que en nuestro estudio, Mcmillin y Wagner (1995) y Susiluoto y Berninger (2007) encontraron una reducción de la relación parte aérea-raíz en plantas de *Pinus ponderosa* y *Eucalyptus microtheca* F. Muell., respectivamente. En

Gliricidia sepium (Jacq.) Kunth ex Walp (García-Figueroa y Vargas-Hernández, 2000), *Pinus greggii* Engelm. (Hernández *et al.*, 2001) y *Pinus leiophylla* Schl. et Cham. (Martínez *et al.*, 2002) también se ha detectado la reducción en la relación parte aérea-raíz al exponerse a estrés hídrico, aunque los efectos difieren entre ellas.

Interacción entre los dos tipos de estrés

En la mayoría de las características no se encontró un efecto significativo de la interacción entre los dos factores de estrés sobre el crecimiento de las plantas (Cuadro I.1), lo cual indica que el efecto de cada uno de ellos fue independiente. Sin embargo, en el caso del diámetro del tallo, el aumento relativo ocasionado por la temperatura elevada fue mayor en las plantas sometidas a estrés hídrico que en las plantas creciendo en condiciones favorables de humedad (Figura I.4); al parecer, la mayor necesidad de enfriamiento ocasionada por el estrés hídrico estimuló en mayor grado el engrosamiento del tallo para aumentar la eficiencia de conducción de agua en el xilema, como se ha encontrado en *Pinus ponderosa* (Kolb y Robberecht, 1996).

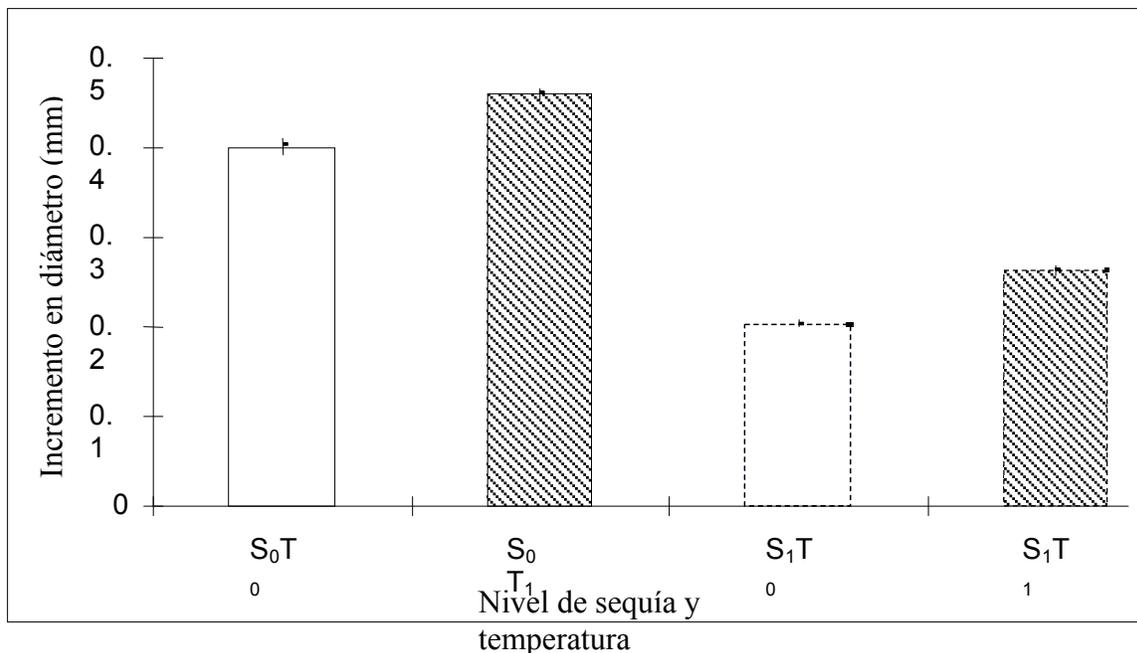


Figura I.4. Interacción del estrés por sequía (S₁) y por temperatura (T₁) sobre el incremento promedio en diámetro de las plantas de *Pinus pincea* con respecto al crecimiento en condiciones favorables de humedad (S₀) y temperatura (T₀).

Diferencias entre poblaciones en el crecimiento de las plantas

Se encontró una amplia variación entre las poblaciones en el crecimiento de las plantas, con diferencias significativas ($p < 0.01$) entre ellas en todas las características de crecimiento (Cuadro I.1). Las diferencias entre las poblaciones extremas fluctuaron desde 20%, en el caso de la biomasa total, hasta más del 50% en el caso del número de ramas, señalando la gran variabilidad geográfica existente en esta especie en el potencial de crecimiento y en otras características de importancia adaptativa (Cuadro I.5); la población de San José Carbonerillas presentó la menor relación parte aérea-raíz y el mayor incremento en altura, mientras que la de Maguey Verde presentó uno de los mayores valores en la relación parte aérea-raíz y uno de los menores incrementos en altura. En promedio, las poblaciones del sur acumularon mayor biomasa de tallo y total, y presentaron una mayor relación parte aérea-raíz que las poblaciones del norte, pero tuvieron menor incremento en altura y formación de ramas que éstas (Cuadro I.5). Estos resultados coinciden con los datos obtenidos por Ramírez (2007) en un estudio realizado con las mismas poblaciones de la especie, en donde se encontró que las poblaciones de la región norte acumularon menos biomasa que las del sur.

Estudios previos realizados en otras especies señalan que el patrón de asignación de biomasa es una característica de importancia adaptativa a condiciones de estrés. Por ejemplo, Zhang *et al.* (1996) encontraron diferencias significativas entre poblaciones de *Pseudotsuga menziesii* y *Pinus ponderosa* en la relación parte aérea-raíz; en ambos casos, las poblaciones de sitios secos presentaron una menor relación parte aérea-raíz. García-Figueroa y Vargas-Hernández (2000) también encontraron diferencias significativas entre poblaciones en el patrón de asignación de biomasa de ocho fuentes de semilla de *Gliricidia sepium*. Los resultados del presente estudio muestran que las poblaciones de *Pinus pinceana* de la región norte presentan el síndrome característico de adaptación a condiciones más severas de sequía, al mantener una menor relación parte aérea-raíz y una mayor proliferación de ramas, con un menor tamaño promedio de planta.

Cuadro I.5. Valores promedio por población de las características de crecimiento de las plantas de *Pinus pinceana* al crecer en dos condiciones de temperatura y humedad.

Población	Incremento en			Biomasa (g)				Relación parte aérea/raíz
	Altura (cm)	diámetro (mm)	número de ramas	tallo	hojas	raíz	total	
Norias	2.38 cde [†]	0.35 e	1.70 a	2.14 cde	3.21 cde	3.22 bcd	8.57 cd	1.69 def
El Recreo	2.90 ab	0.32 f	1.23 bc	2.13 cde	3.63 ab	3.34 bc	9.11 cd	1.76 cdef
El Cinco	2.60 bcd	0.29 g	1.08 bcd	2.16 cde	3.70 ab	3.35 bc	9.21 bc	1.81 cde
Palmas Altas	2.76 bc	0.24 h	0.70 d	1.97 e	3.39 bcd	3.33 bc	8.69 cd	1.65 ef
Santa Elena	2.61 bcd	0.46 a	1.05 bcd	2.07 de	3.46 abc	3.10 bcde	8.64 cd	1.79 cde
El Orégano	2.94 ab	0.38 c	1.33 ab	2.21 bcd	3.65 ab	3.25 bcd	9.11 cd	1.85 bcd
Carbonerillas	3.25 a	0.33 f	1.18 bc	2.00 de	3.11 de	3.25 bcd	8.36 d	1.62 f
X región norte	2.78	0.34	1.18	2.10	3.45	3.26	8.81	1.74
Matehualilla	2.22 def	0.34 e	1.06 bcd	2.38 b	3.37 bcd	2.79 e	8.54 cd	2.14 a
Ejido Nuñez	2.16 ef	0.42 b	0.85 cd	2.32 bc	3.03 e	2.96 de	8.31 d	1.91 bc
Maguey Verde	2.06 ef	0.30 g	0.78 cd	2.64 a	3.66 ab	3.04 cde	9.34 bc	2.12 a
Arenalito	2.11 ef	0.30 g	1.10 bcd	2.76 a	3.64 ab	3.84 a	10.24 a	1.74 def
San Cristóbal	1.89 f	0.37 d	0.88 bcd	2.72 a	3.79 a	3.43 b	9.94 ab	1.96 b
X región sur	2.09	0.35	0.93	2.56	3.50	3.21	9.27	1.97

[†] Valores promedio en una misma columna seguidos por la misma letra no son estadísticamente diferentes entre poblaciones ($p = 0.05$).

Variación en la respuesta de las poblaciones al estrés por temperatura

Las poblaciones respondieron de manera diferente a los ambientes de temperatura en el incremento en altura y en diámetro, así como en la acumulación de biomasa en la raíz y en la

relación parte aérea-raíz (Cuadro I.2). A pesar de que la respuesta promedio de las dos regiones geográficas fue similar en la mayoría de las variables, las poblaciones del norte fueron más sensibles al aumento de la temperatura en el incremento en diámetro (Cuadro I.6).

Cuadro I.6. Valores promedio por población de las características de crecimiento de las plantas de *Pinus pinceana* en condiciones de temperatura ambiente (T_0) y temperatura elevada (T_1) y repuesta relativa al estrés por temperatura (T_1/T_0) en las variables en que hubo una interacción significativa de las poblaciones con la temperatura.

Población	Incremento en altura (cm)			Incremento en diámetro (mm)			Biomasa de raíz (g)			Relación parte aérea/raíz		
	T_0	T_1	T_1/T_0	T_0	T_1	T_1/T_0	T_0	T_1	T_1/T_0	T_0	T_1	T_1/T_0
Norias	2.65	2.11	0.80	0.34	0.36	1.06	3.17	3.28	1.03	1.78	1.61	0.90
El Recreo	3.67	2.12	0.58	0.23	0.42	1.83	3.42	3.27	0.96	1.88	1.64	0.87
El Cinco	3.19	1.99	0.62	0.22	0.37	1.68	3.67	3.03	0.82	1.70	1.91	1.12
Palmas Altas	2.87	2.65	0.92	0.18	0.29	1.61	3.29	3.36	1.02	1.70	1.61	0.95
Santa Elena	3.20	2.03	0.63	0.36	0.55	1.52	3.11	3.09	0.99	1.90	1.68	0.88
El Orégano	3.28	2.61	0.79	0.42	0.34	0.81	3.13	3.37	1.08	1.97	1.72	0.87
Carbonerillas	3.68	2.86	0.78	0.31	0.34	1.10	3.55	2.97	0.84	1.66	1.59	0.96
Matehualilla	2.78	1.63	0.59	0.18	0.52	2.89	2.93	2.64	0.90	2.22	2.06	0.93
Ejido Núñez	2.55	1.79	0.70	0.42	0.41	0.98	2.93	2.98	1.02	1.95	1.87	0.96
Magüey Verde	2.15	1.96	0.91	0.20	0.40	2.00	2.89	3.19	1.10	2.27	1.96	0.86
Arenalito	2.24	1.98	0.88	0.38	0.22	0.58	3.83	3.85	1.01	1.83	1.65	0.90
San Cristóbal	2.19	1.60	0.73	0.37	0.36	0.97	3.34	3.52	1.05	2.09	1.83	0.88

Además, en las dos regiones geográficas se encontró una amplia variación entre las poblaciones en la respuesta al estrés por temperatura, indicando una amplia plasticidad fenotípica en los mecanismos para ajustarse a este factor ambiental. En la región norte la población de El

Recreo, Coahuila, presentó el mayor incremento relativo en diámetro, pero también la mayor reducción en el incremento en altura y en la relación parte aérea-raíz (Cuadro I.6), mientras que la población de El Orégano, Zacatecas, aumentó la asignación de recursos a la raíz, pero no el crecimiento en diámetro del tallo. La población de El Cinco, Coahuila, redujo en casi un 20% la asignación de recursos a la raíz, lo que ocasionó un aumento en la relación parte aérea-raíz y una fuerte reducción en el incremento en altura. En la región sur, sólo las poblaciones de Matehualilla y Maguey Verde aumentaron el diámetro del tallo, y sólo esta última presentó además un aumento en la asignación de recursos a la raíz, ocasionando la mayor reducción en la relación parte aérea-raíz. En la población de El Arenalito, en cambio, se redujo en 42% el incremento en diámetro del tallo, respuesta que contrastó con el resto de las poblaciones (Cuadro I.6). Es probable que los efectos de temperatura sean más notorios con un incremento mayor a 2 °C en la temperatura promedio.

Variación en la respuesta de las poblaciones al estrés hídrico

En todas las características evaluadas se encontró una interacción significativa ($p < 0.05$) de los tratamientos de humedad con las poblaciones (Cuadro I.2). Al parecer, en *Pinus pinceana* existe una amplia variación geográfica en el crecimiento de las plantas y en su capacidad de adaptación al estrés hídrico, como se ha encontrado en *Gliricidia sepium*, otra especie leñosa con una amplia distribución en climas cálidos y secos (García-Figueroa y Vargas-Hernández, 2000). Las poblaciones de *Pinus pinceana* del norte redujeron en mayor grado la acumulación de biomasa del tallo, pero produjeron mayor número de ramas que las del sur, en respuesta al déficit hídrico (Cuadro I.7); bajo condiciones de sequía, las poblaciones del norte acumularon menos biomasa que las del sur, debido fundamentalmente a una menor asignación de recursos al tallo.

Dentro de cada región geográfica se observó una amplia variabilidad entre las poblaciones en su respuesta al estrés hídrico. En la región norte, las poblaciones de Norias y El Orégano presentaron las mayores reducciones en la relación parte aérea-raíz, con una menor reducción en la acumulación de biomasa; en el caso de Norias, esta respuesta se logró a expensas de reducir el incremento en altura y diámetro del tallo (Cuadro I.7); en cambio, las poblaciones de Santa Elena, Coah. y San José Carbonerillas, Zac., tuvieron menores reducciones en la relación parte

aérea-raíz y en el incremento en altura, pero fueron las más afectadas en la acumulación de materia seca total (Cuadro I.7). En la región sur, la población de El Arenalito Hgo., a pesar de tener una de las relaciones parte aérea-raíz más bajas en condiciones de sequía, fue muy afectada en el incremento en altura y en la acumulación de biomasa. Esta es una de las poblaciones con mayor potencial de crecimiento en condiciones favorables de humedad, pero fue muy sensible al estrés hídrico. En cambio, la de Ejido Núñez redujo en mayor grado la relación parte aérea-raíz y presentó la menor reducción en la acumulación de biomasa de todas las de esta región (Cuadro I.7).

Cuadro I.7. Repuesta relativa al estrés por sequía (S_1/S_0) de las poblaciones de *Pinus pinceana* en las diferentes características de crecimiento de las plantas.

Población	Incremento en			Biomasa				Relación parte aérea/raíz
	altura	diámetro	número de ramas	tallo	hojas	raíz	total	
Norias	0.12	0.46	0.51	0.66	0.80	0.95	0.82	0.79
El Recreo	0.24	0.58	0.21	0.60	0.74	0.82	0.73	0.85
El Cinco	0.20	0.57	0.65	0.80	0.75	0.81	0.78	0.94
Palmas Altas	0.16	0.60	0.34	0.56	0.67	0.77	0.68	0.82
Santa Elena	0.24	0.59	0.47	0.65	0.67	0.71	0.68	0.91
El Orégano	0.22	0.46	0.37	0.73	0.83	0.97	0.85	0.81
Carbonerillas	0.24	0.57	0.55	0.73	0.78	0.81	0.78	0.95
Matehualilla	0.28	0.60	0.27	0.73	0.74	0.83	0.76	0.85
Ejido Núñez	0.19	0.40	0.43	0.83	0.89	1.02	0.92	0.81
Maguey Verde	0.18	0.54	0.32	0.68	0.71	0.90	0.76	0.76
Arenalito	0.11	0.44	0.60	0.69	0.75	0.81	0.75	0.92
San Cristóbal	0.13	0.53	0.15	0.77	0.85	0.94	0.86	0.86

No se encontró una correlación significativa entre el potencial de crecimiento de las poblaciones en condiciones favorables y su respuesta al estrés hídrico, pero sí con la respuesta al estrés por temperatura, en donde hubo una correlación positiva con la acumulación de biomasa del follaje y total. En cambio, la relación parte aérea-raíz en condiciones favorables se asoció en forma negativa con la acumulación de biomasa en la raíz en sequía y en forma positiva con la relación parte aérea-raíz en condiciones de estrés. Esto indica que las poblaciones utilizaron diferentes mecanismos de ajuste en la producción y distribución de biomasa ante las dos condiciones de estrés y que la relación parte aérea-raíz es mejor indicador de la respuesta de las poblaciones a las condiciones de estrés, que el potencial de crecimiento de las plantas. Es evidente que existe una amplia plasticidad fenotípica en estas poblaciones, con diferentes estrategias para adaptarse a las condiciones de estrés en su ambiente natural.

Córdoba *et al.* (2008) no encontraron diferencias significativas entre las poblaciones de *Pinus pinceana* en la relación parte aérea-raíz, una de las variables de mayor importancia en la respuesta a condiciones de estrés en este estudio. Sin embargo, en ese estudio se utilizaron plántulas de 3 meses de edad creciendo en dos tipos de suelo, y es probable que a esa edad y en esas condiciones aún no se manifestaran las diferencias entre poblaciones. En cambio, Ramírez (2007) encontró diferencias importantes entre las poblaciones en la relación parte aérea-raíz utilizando plantas de edad similar a las de este estudio.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos demuestran que existe una amplia variabilidad geográfica en el potencial de crecimiento y en la respuesta de *Pinus pinceana* a condiciones de estrés hídrico y por altas temperaturas. La especie muestra una amplia diversidad genética en las características de crecimiento relacionadas con la acumulación y asignación de biomasa, situación que favorece su capacidad de adaptación al gradiente ambiental que existe dentro de su área de distribución natural en las zonas áridas de la República Mexicana. Aunque la magnitud del efecto ocasionado por los dos tipos de estrés sobre las plantas difirió entre sí y entre las poblaciones, en ambos casos se detectó que la relación parte aérea-raíz es una característica importante en la respuesta adaptativa de las plantas. Las poblaciones con una mayor asignación de recursos a la raíz presentaron un mejor desempeño en condiciones de estrés hídrico y de temperatura elevada, por lo que es conveniente utilizar estas poblaciones con fines de restauración ecológica y de conservación de la especie. Por otro lado, los resultados indican que la especie tendría posibilidades de sobrevivir y adaptarse en las primeras fases de cambio climático que se anticipan, ya que es capaz de ajustar la asignación de biomasa y el engrosamiento del tallo en función de las condiciones de estrés a las que se enfrenta, ya sea por sequía o por altas temperaturas. Sin embargo, con los datos de este estudio no es posible pronosticar el comportamiento de la especie en sitios donde los cambios esperados en temperatura promedio rebasen los dos grados.

CAPÍTULO II. EFECTO DEL ESTRÉS HÍDRICO Y POR TEMPERATURA SOBRE LA COMPOSICIÓN ISOTÓPICA DE CARBONO EN FOLLAJE DE *PINUS PINCEANA*.

RESUMEN

Con el propósito de conocer los mecanismos fisiológicos en la adaptación de *Pinus pinceana* Gordon a condiciones de estrés ambiental e identificar poblaciones con mejor respuesta a dichas condiciones, se evaluó en invernadero el efecto del estrés hídrico y por alta temperatura sobre la composición isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$), la tasa relativa de crecimiento (TRC) y la acumulación de biomasa en plantas de seis poblaciones del pino. El diseño experimental incluyó dos ambientes de temperatura, con una diferencia promedio de 2 °C, y dos de disponibilidad de agua, 51% de humedad (capacidad de campo) y 12% de humedad (menor al punto de marchitez permanente). El ambiente de temperatura no influyó en el valor de $\delta^{13}\text{C}$, pero el estrés hídrico ocasionó una reducción significativa en la discriminación isotópica (mayor $\delta^{13}\text{C}$); el efecto fue mayor en temperatura favorable. Se encontró una variación significativa entre las poblaciones en los valores promedio de $\delta^{13}\text{C}$, TRC y acumulación de biomasa; las poblaciones de la región norte presentaron una menor discriminación isotópica y mayor TRC en altura en las dos condiciones de humedad que las australes. El valor promedio de $\delta^{13}\text{C}$ de las poblaciones se correlacionó en forma significativa con su TRC en altura, pero no con su productividad potencial. Estos resultados indican que la eficiencia en el uso del agua juega un papel importante en la capacidad de adaptación de las poblaciones de *P. pinceana* Gordon a las condiciones de sequía que enfrenta en su hábitat natural, y que es posible identificar poblaciones de la especie con posibilidades de ajustarse a las condiciones de mayor estrés ambiental que se anticipan con el cambio climático.

Palabras clave: Adaptación, cambio climático, discriminación isotópica de carbono, eficiencia en el uso del agua, estrés hídrico, productividad, tasa relativa de crecimiento.

ABSTRACT

With the purpose of knowing the physiological mechanisms underlying adaptation of *Pinus pinceana* Gordon to environmental stress and identifying populations with an appropriate response to such conditions, the effect of water and high temperature stress on carbon isotopic composition ($\delta^{13}\text{C}$), relative growth rate (RGR) and biomass accumulation in seedlings from six populations of this species was evaluated under greenhouse conditions. The experimental design included two temperature environments, with an average difference of 2 °C, and two conditions of water availability, soil moisture of 51% (field capacity) and 12% (lower than wilting point). Temperature environment did not affect $\delta^{13}\text{C}$, but water stress caused a significant reduction in isotope discrimination (higher $\delta^{13}\text{C}$), and the effect was larger under no temperature stress. A significant variation among populations was found in $\delta^{13}\text{C}$, RGR, and biomass accumulation; populations from the northern region showed lower carbon isotope discrimination and higher height-RGR in both soil water conditions than those from the southern region. Mean $\delta^{13}\text{C}$ of populations was significantly correlated with height-RGR but not with potential productivity. These results show that water use efficiency plays an important role in the adaptation of *Pinus pinceana* Gordon populations to drought conditions in their natural habitat and that it might be possible to identify populations with potential for adapting to the higher environmental stress associated to climate change.

Key words: Adaptation, climate change, carbon isotope discrimination, water use efficiency, water stress, productivity, relative growth rate.

INTRODUCCIÓN

La composición isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) es la abundancia proporcional de los isótopos estables de carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) presentes en un material con respecto a un estándar (García, 2002). Esta composición isotópica en tejido vegetal se utiliza como un indicador de las condiciones ambientales existentes en el momento en que ocurrió la fijación del carbono mediante fotosíntesis. La composición isotópica de carbono permite inferir la actividad fisiológica de la planta en términos de estrés hídrico e intercambio de CO_2 debido a que los cambios en $\delta^{13}\text{C}$ están relacionados con la actividad de los estomas (Farquhar *et al.*, 1982).

El mecanismo por el que se desarrolla una señal particular de $\delta^{13}\text{C}$ en tejido vegetal en plantas C_3 como los pinos, se explica principalmente por un proceso físico y uno bioquímico (Schlesinger, 1997). Durante el proceso físico la fracción más ligera de CO_2 ($^{12}\text{CO}_2$) tiende a difundirse más rápido hacia el interior de la hoja que la fracción pesada ($^{13}\text{CO}_2$). En el proceso bioquímico, la enzima involucrada en la fijación del carbono (RUBISCO) discrimina fuertemente la fracción $^{13}\text{CO}_2$ cuando los estomas están completamente abiertos (Schlesinger, 1997). Sin embargo, esta discriminación es menor cuando los estomas se cierran como resultado de un factor ambiental, por ejemplo estrés hídrico, ya que la planta debe usar todo el CO_2 contenido en el interior de la hoja (García, 2002).

La composición isotópica de carbono en los tejidos de la planta refleja los procesos fotosintéticos de intercambio de CO_2 con la atmósfera en función de la disponibilidad de agua, ya que en la medida de que el estrés hídrico limite la difusión del CO_2 , la enzima RUBISCO utilizará en mayor grado el isótopo ^{13}C en dicho proceso (O'Leary, 1988). Por ejemplo, Korol *et al.* (1999) encontraron diferencias significativas en $\delta^{13}\text{C}$ en tejidos de *Pinus radiata* D. Don formados en diferentes años, asociadas con la disponibilidad de humedad en cada año particular. Gómez *et al.* (2002) encontraron una correlación significativa entre el estrés hídrico y $\delta^{13}\text{C}$ en follaje de *Pinus ponderosa* Dougl.

Debido a que las poblaciones de una especie han desarrollado mecanismos de adaptación a las condiciones ambientales en que han evolucionado, se espera que existan diferencias notorias

entre ellas en el valor de $\delta^{13}\text{C}$, especialmente si se someten a condiciones restrictivas de humedad o de otros factores ambientales que influyen sobre el intercambio de gases (Lauteri *et al.*, 1997; Olivas *et al.*, 2000). Por ejemplo, Lauteri *et al.* (1997) encontraron diferencias significativas en la composición isotópica de carbono en el fruto de seis procedencias de *Castanea sativa* Mill., asociadas con las condiciones del sitio de origen; ellos encontraron valores entre -25.7 ‰ y -22.9 ‰, con una menor discriminación del isótopo pesado en las procedencias del oeste de Turquía que se encuentran en zonas de mayor aridez. De manera similar, García *et al.* (2003) encontraron diferencias importantes en el enriquecimiento de $^{13}\text{CO}_2$ -follaje, entre procedencias de *Pinus greggii* Engelm. var. *greggii* cuando fueron sometidas a dos tratamientos de humedad; la procedencia originaria del sitio más seco presentó una menor discriminación del isótopo pesado en ambas condiciones de humedad. En varias especies cultivadas y en árboles forestales se ha demostrado que existe variación genética en la discriminación isotópica de carbono, por lo que se ha propuesto que ésta podría ser utilizada como un criterio de selección para el mejoramiento de la eficiencia del uso del agua y el rendimiento (Flanagan y Johnsen, 1995).

La eficiencia en el uso del agua es un aspecto importante de la adaptación de las plantas a la sequía. Un incremento en la eficiencia del uso del agua indica que puede ser acumulado más carbono para el crecimiento con el uso de menos agua. De esta manera, un incremento en la eficiencia del uso del agua es una medida útil para la conservación del agua (Nilsen y Orcutt, 1996). Debido al papel que juega la tasa de fotosíntesis y la eficiencia en el uso del agua sobre la acumulación de biomasa, es lógico esperar que exista una relación entre el valor de $\delta^{13}\text{C}$ y la tasa de crecimiento de las plantas (Zhang *et al.*, 1997). Por ejemplo, García *et al.* (2003) en un ensayo realizado con cinco procedencias de *Pinus greggii* sometidas a dos tratamientos de humedad, encontraron que los valores de $^{13}\text{CO}_2$ -follaje se relacionaron con la productividad, diferenciando la respuesta de cada procedencia ante un déficit de humedad. El identificar este tipo de relaciones es de gran utilidad para predecir con base en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ la productividad y el desempeño potencial de genotipos o poblaciones específicas en ambientes determinados.

Pinus pinceana Gordon es una de las pocas especies de *Pinus* que crece en condiciones extremas de aridez, a orillas del desierto en el noreste de México, en rodales puros o mezclados con *Pinus cembroides* Zucc. (Perry, 1991). Esta especie es de gran importancia ecológica y

económica para los habitantes de esas regiones. Actualmente se conocen menos de 15 poblaciones pequeñas, dispersas y discontinuas en las laderas de las montañas de la Sierra Madre Oriental, desde Coahuila hasta Hidalgo (Molina-Freaner *et al.*, 2001; Ramírez *et al.*, 2008); las poblaciones se encuentran en ambientes desfavorables, muchas veces marginales para el desarrollo de una masa arbórea.

El estudio de la composición isotópica de carbono en *Pinus pinceana* nos puede proporcionar información útil acerca de sus características fotosintéticas y de su eficiencia y productividad en función de la disponibilidad de agua; con esta información es posible conocer con más detalle la amplitud ambiental de adaptación de la especie y los mecanismos que utiliza, así como identificar poblaciones que puedan tener una mejor respuesta en condiciones de estrés hídrico. Esta información es de gran importancia ya que la especie constituye un elemento clave de los ecosistemas de zonas áridas que dominan más de la mitad de la superficie del país y puede ser utilizada en los programas de restauración ecológica. El presente estudio se realizó con el propósito de analizar la composición isotópica de carbono en el follaje y la tasa relativa de crecimiento en plantas de seis poblaciones de *Pinus pinceana* en respuesta a condiciones de estrés hídrico y por temperatura, y describir la relación entre $\delta^{13}\text{C}$ y la producción de biomasa en estas poblaciones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico y condiciones del ensayo

En marzo del 2007 se estableció un experimento en el invernadero del Postgrado Forestal en el Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados para evaluar la respuesta de diferentes poblaciones naturales de *Pinus pinceana* a condiciones de estrés por sequía y temperatura. Las poblaciones incluidas en el ensayo, así como las condiciones experimentales del estudio se describen con detalle en el capítulo I, por lo que aquí sólo se mencionarán los aspectos generales del mismo.

Se utilizaron plantas de 25 meses de edad, de tamaño homogéneo, en envases de plástico de 1500 cm³ de capacidad con un sustrato de corteza de pino, agrolita y suelo del vivero en proporción 25:25:50. El invernadero se separó en dos secciones con una cortina de plástico para generar los dos ambientes de temperatura, y en una de ellas se colocaron calefactores portátiles para elevar la temperatura promedio del aire en 2 °C con respecto a la otra sección. La temperatura del aire se registró mediante sensores electrónicos con capacidad de almacenamiento de datos. En el ambiente testigo (T_0) la temperatura varió de un valor mínimo de 10.3 °C en la noche hasta un máximo de 39.2 °C en el día, simulando las condiciones de fluctuación de temperatura en el hábitat natural de la especie, mientras que en el otro ambiente (T_1) la temperatura alcanzó valores mínimos de 12.7 °C en la noche y máximos de 41.3 °C durante el día (Figura II.1).

En cada ambiente de temperatura se evaluaron dos condiciones de humedad del suelo (S_0 y S_1) durante un periodo de 160 días; en el testigo (S_0 = humedad favorable) se mantuvo un contenido de humedad cercano a capacidad de campo (51% en masa), reponiendo el agua perdida por las plantas cada seis días, mientras que en el de estrés hídrico (S_1 = sequía) se permitió la desecación del suelo hasta que el contenido gravimétrico de humedad llegó al 12% (con potencial más negativo que marchitez permanente), momento en que se agregó agua para llevarlo al 20% y repetir el ciclo. El diseño experimental fue un diseño factorial de parcelas divididas anidadas en dos ambientes de temperatura, con cuatro repeticiones dentro de cada ambiente. En cada nivel de

temperatura los tratamientos de humedad se asignaron a las parcelas grandes y las poblaciones a las parcelas pequeñas.

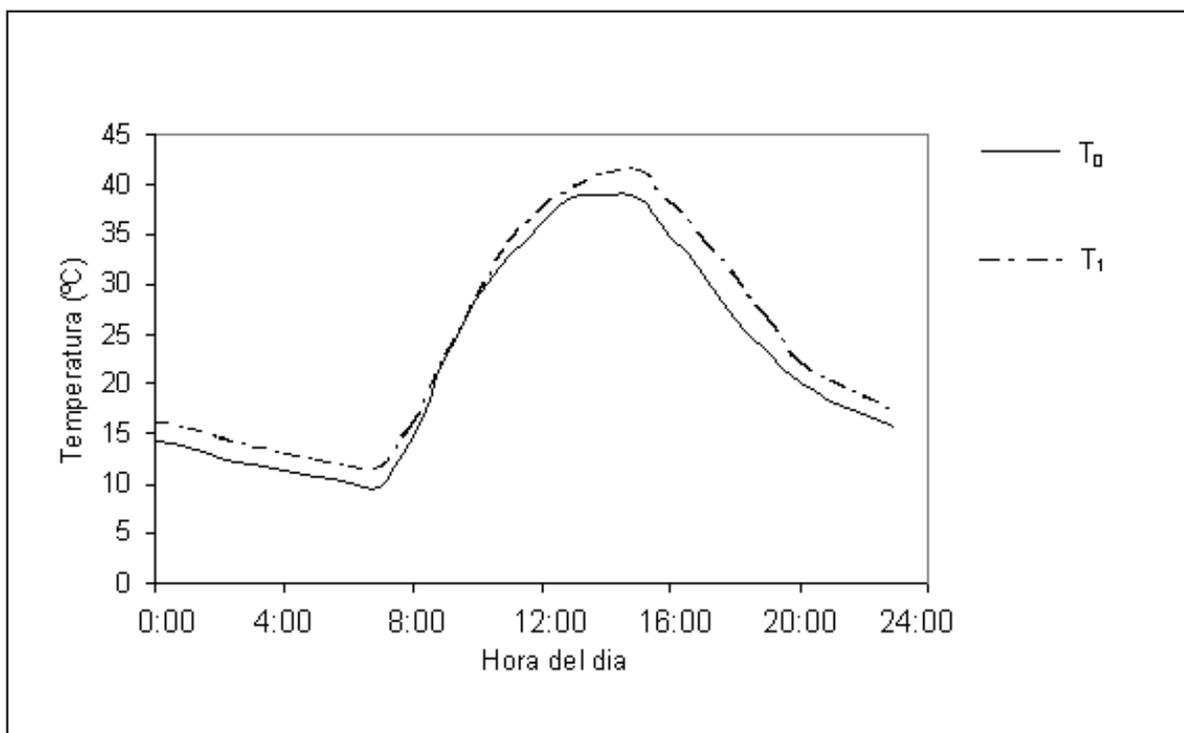


Figura II.1. Fluctuación típica de temperatura a lo largo del día en las dos condiciones de temperatura del experimento (T_0 = testigo; T_1 = temperatura elevada).

Para el análisis de la composición isotópica de carbono en el tejido vegetal y su relación con la tasa de crecimiento y respuesta adaptativa de las plantas a las condiciones de estrés impuestas, se utilizaron sólo seis de las doce poblaciones incluidas en el ensayo, cuatro de la región norte y dos de la sur. En el Cuadro II.1 se presentan los datos de localización de estas poblaciones muestreadas.

Variables evaluadas

Al inicio del experimento se determinó la altura y el diámetro del tallo de todas las plantas y la biomasa de hojas, tallo y raíces en una muestra de seis plantas por población. Al final del experimento se realizó nuevamente un análisis destructivo de todas las plantas en el ensayo para

Cuadro II.1. Localización geográfica de las poblaciones de *Pinus pinceana* incluidas en el estudio

No. de control	Población	Coordenadas geográficas		Altitud (m)
		Latitud (N)	Longitud (O)	
Región Norte				
1	Norias, Coah.	26° 27' 08"	101° 35' 40"	1800
3	El Cinco, Coah.	25° 10' 41"	101° 41' 16"	2250
5	Santa Elena, Coah.	25° 01' 38"	101° 24' 29"	2077
7	San José Carbonerillas, Zac.	24° 28' 16"	100° 26' 53"	2300
Región Sur				
9	Ejido Núñez, S.L.P.	22° 40' 06"	100° 28' 24"	1930
12	San Cristóbal, Hgo.	20° 37' 53"	098° 58' 31"	1915

determinar la altura y el diámetro del tallo y la biomasa total y sus componentes en las seis poblaciones seleccionadas; el follaje formado durante el periodo del ensayo se separó del resto. Para obtener la biomasa, las muestras se secaron en un horno eléctrico a 70 °C hasta que alcanzaron peso constante. Con los datos de diámetro y biomasa de las plantas muestreadas al inicio del experimento se obtuvo una ecuación de regresión para estimar la biomasa inicial de las otras plantas en el ensayo. Con estos datos se obtuvo la tasa relativa de crecimiento (TRC) en altura, diámetro del tallo y biomasa para cada población y tratamiento, con base en la fórmula descrita por Zhang *et al.* (1996):

$$TRC = \frac{LnX_f - LnX_i}{T_2 - T_1}$$

Donde: X_f = valor de la característica al final del experimento; X_i = valor de la característica al inicio del experimento; T_2 = tiempo al final del experimento; y T_1 = tiempo al inicio del experimento.

En el follaje formado durante los 5 meses del ensayo se midió la composición isotópica de carbono. Para ello se tomaron cinco acículas por planta para formar una muestra compuesta por unidad experimental, con cuatro repeticiones, para un total de 96 muestras. Las muestras de acículas se pulverizaron en un molino de balines de acero por 72 horas (El molino fue diseñado y construido en el Postgrado Forestal del Colegio de Postgraduados); después se colocaron 1600 microgramos de cada muestra en cápsulas de estaño para finalmente realizar la determinación de la composición isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) con un espectrómetro de masas (Europa Scientific ANCA-HYDRA 20-20) en la Universidad de California-Davis. La determinación de la composición de isótopos ($\delta^{13}\text{C}$) se realizó con respecto al estándar internacional PDB que es un material fósil de carbonato de calcio (Da Silveira *et al.*, 1989):

$$\delta^{13}\text{C} = \frac{(R_{\text{muestra}} - R_{\text{estándar}})}{R_{\text{estándar}}} \times 1000$$

Donde R_{muestra} y $R_{\text{estándar}}$ representan la proporción $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de la muestra y el estándar PDB, respectivamente.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza de la respuesta de las plantas con el paquete estadístico SAS (SAS, 1998), utilizando los valores promedio por parcela y considerando todos los factores como efectos fijos, de acuerdo con el modelo estadístico del diseño experimental empleado. En aquellos casos donde se encontraron diferencias significativas entre tratamientos o entre poblaciones, se realizó una comparación de medias, con la prueba de comparaciones múltiples de Duncan ($P=0.05$).

También se estimaron las correlaciones (coeficientes de correlación de Pearson) entre los valores de la composición isotópica de carbono de las poblaciones en las diferentes condiciones de estrés por sequía y temperatura con la tasa relativa de crecimiento, y el potencial de crecimiento de las poblaciones (biomasa total acumulada en condiciones favorables de humedad y temperatura).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición isotópica de carbono en follaje de *Pinus pinceana*

El valor promedio de composición isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) encontrado en el follaje de *Pinus pinceana* fue de -24.14 ‰, aunque fluctuó de -22.70 a -25.42‰. Este valor es ligeramente mayor al que se ha encontrado para otras especies vegetales con fotosíntesis C_3 , como es el caso de las especies de coníferas, en donde se reportan valores de $\delta^{13}\text{C}$ cercanos a -27‰ (Waring y Silvester, 1994; Zhang *et al.*, 1997; Brodribb y Hill, 1998; Anekonda *et al.*, 2004). Un valor de $\delta^{13}\text{C}$ más alto del promedio indica una menor discriminación del isótopo pesado de carbono, lo cual podría ser reflejo de una adaptación útil para fijar una mayor cantidad de carbono en las condiciones ambientales desfavorables en que se desarrolla *Pinus pinceana* en su hábitat natural. En estudios con otras especies forestales también se han encontrado ocasionalmente valores de $\delta^{13}\text{C}$ que difieren de los esperados para las especies C_3 . Por ejemplo, García *et al.* (2003) encontraron valores de $\delta^{13}\text{C}$ que fluctuaron de -28.5 a -31‰ en *Pinus greggii*, pero una de las procedencias originaria de un sitio árido presentó un valor promedio de -23.54‰ que coincide con el valor promedio encontrado en este estudio. Brodribb y Hill (1998), en un estudio con 13 especies de coníferas colectadas en áreas de altitud y precipitación contrastante, encontraron que la composición isotópica de carbono varió entre especies de -29.0 a -24.5 ‰, aunque no se detectó una correlación significativa entre $\delta^{13}\text{C}$ y los parámetros fisiológicos o ambientales estudiados [lluvia, altitud, $(\text{C}_i/\text{C}_a)_{\text{min}}$ y eficiencia de carboxilación]. Por otro lado, Panek (1996) al analizar la composición isotópica de carbono en el follaje de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco, en condiciones climáticas contrastantes a lo largo de un gradiente climático, encontró que el valor de $\delta^{13}\text{C}$ varió de -26.53 a -19.56 ‰, y al igual que en otros estudios, la población del sitio con menor precipitación presentó la menor discriminación del isótopo pesado.

Efecto del estrés sobre la composición isotópica

La composición isotópica de carbono en el follaje de *Pinus pinceana* fue afectada por la condición de humedad del suelo y por la interacción de este factor con la temperatura del ambiente, pero la temperatura por sí sola no influyó esta característica (Cuadro II.2). De acuerdo

a lo esperado, en condiciones de sequía (S_1) se redujo la discriminación del isótopo pesado de carbono, con un valor promedio de $\delta^{13}\text{C}$ de -23.86‰ , en relación con el valor de -24.42‰ encontrado en condiciones de humedad favorable (Figura II.2); la diferencia es de sólo 0.56‰ , pero resultó significativa. Desde el punto de vista teórico (Farquhar *et al.*, 1982), las plantas sometidas a estrés hídrico presentan valores de composición isotópica menos negativos, ya que al reducirse la difusión del CO_2 al interior de la hoja por el cierre de estomas, la enzima RUBISCO se ve obligada a utilizar el isótopo pesado existente en las células del mesófilo de la hoja.

Estudios realizados en otras especies de coníferas coinciden con los resultados obtenidos en *Pinus pinceana*. Por ejemplo, Zhang *et al.* (1997) encontraron una reducción en la discriminación isotópica de carbono de -29.0 a -27.5‰ en los tejidos de plantas de *Pinus ponderosa* al ser sometidas a estrés hídrico, con respecto a las plantas creciendo en condiciones favorables de humedad; una diferencia de 1.5‰ entre niveles de humedad. Panek y Waring (1995) encontraron que plantas de *Pseudotsuga menziesii* creciendo en ambientes cálidos y secos presentaron valores de $\delta^{13}\text{C}$ menos negativos que aquellas creciendo en ambientes más húmedos; ellos mencionan que el déficit de presión de vapor y la humedad del suelo fueron los factores que más influenciaron la abundancia del isótopo pesado en el follaje de las plantas.

El efecto del estrés hídrico sobre la composición isotópica de carbono fue más notorio en condiciones favorables de temperatura (T_0) que en condiciones de temperaturas elevadas (T_1), ya que en el primer caso el valor promedio de $\delta^{13}\text{C}$ aumentó (*i.e.*, menor discriminación del isótopo) de -24.7 a -23.7 , mientras que en el segundo el cambio fue de -24.2 a -24.0 (Figura II.2). Estos resultados también indican que aunque el estrés por temperatura ocasionó una menor discriminación en el isótopo de carbono en plantas que estaban bien irrigadas, este efecto ya no se notó en las plantas que estaban en condiciones de estrés hídrico, posiblemente por el efecto ya ocasionado por la sequía, o por un estímulo de la temperatura para mantener los estomas abiertos.

Diferencias entre poblaciones en la discriminación isotópica

El análisis de varianza mostró que existen diferencias significativas entre las poblaciones en la composición isotópica del carbono en el follaje formado durante el periodo de estudio

Cuadro II.2. Resultados del análisis de varianza (significancia estadística) para la composición isotópica de carbono en follaje de seis poblaciones de *Pinus pinceana* en respuesta a los factores de estrés por temperatura y humedad.

Fuente de variación	G.L.	Composición isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$)
Temperatura (T)	1	ns
Sequía (S)	1	**
T x S	1	**
Población (P)	5	**
T x P	5	ns
S x P	5	ns
T x S x P	5	ns

**Diferencias significativas con $P \leq 0.01$; ns, no significativo con $P = 0.05$.

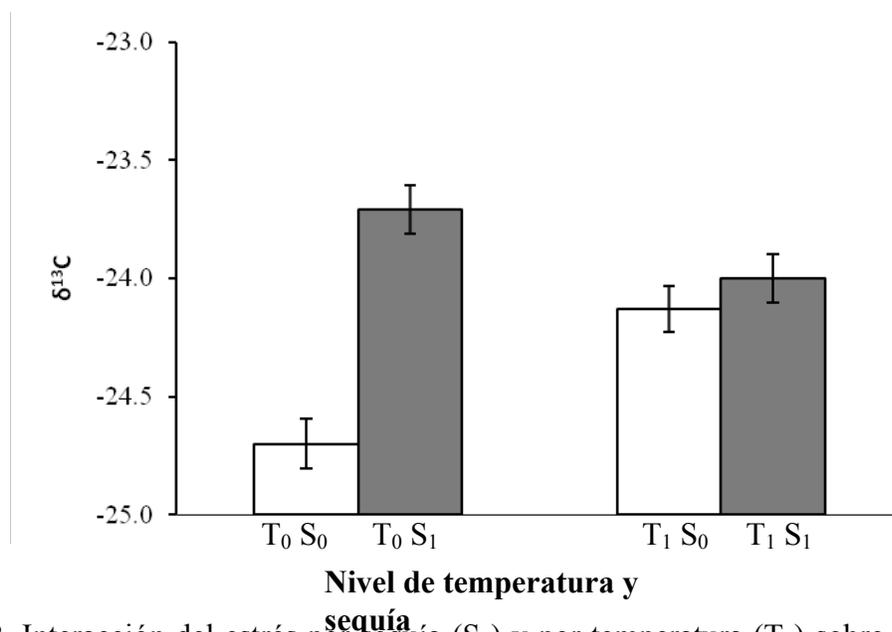


Figura II.2. Interacción del estrés por sequía (S_1) y por temperatura (T_1) sobre la composición isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) en el follaje de las plantas de *Pinus pinceana* con respecto al crecimiento en condiciones favorables de humedad (S_0) y temperatura (T_0).

(Cuadro II.2). Las poblaciones de la región norte presentaron en promedio una menor discriminación del isótopo ^{13}C que las poblaciones del sur, con valores de $\delta^{13}\text{C}$ de -23.99 y de -24.43, respectivamente (Figura II.3). Sin embargo, todas las poblaciones respondieron de manera similar al estrés hídrico en términos de $\delta^{13}\text{C}$, ya que la interacción sequía x poblaciones no fue significativa (Cuadro II.2). La diferencia en el comportamiento de las plantas de las poblaciones del norte en promedio de las dos condiciones ambientales impuestas en el estudio indican que en ellas existe una capacidad intrínseca distinta para adaptarse a las condiciones de estrés hídrico, que puede estar asociada con el hecho de que en esa región la especie está expuesta a condiciones más severas de sequía. Al parecer, esta situación provoca que las plantas de estas poblaciones cierren sus estomas por periodos de tiempo más largos, dando como resultado un mayor enriquecimiento de ^{13}C en sus tejidos y una mayor eficiencia en el uso del agua. Estos resultados coinciden con los datos de estudios previos con *Pinus pinceana*, en donde se ha encontrado que las poblaciones del norte tienen mayor contenido de cera cuticular y menor relación parte aérea/raíz (Ramírez, 2007), características relacionadas con otros mecanismos de adaptación a condiciones de sequía.

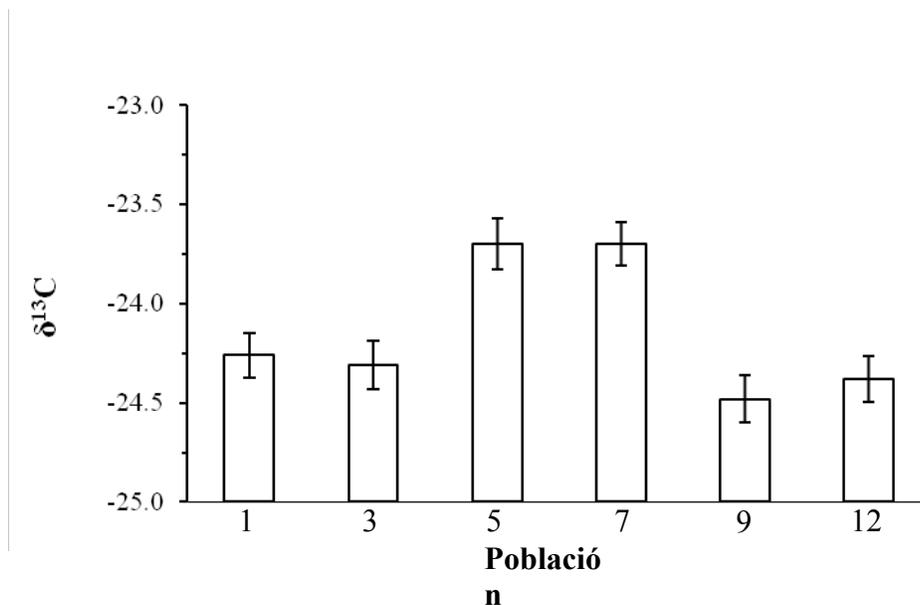


Figura II.3. Valores promedio de composición isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) en el follaje de plantas de diferentes poblaciones de *Pinus pinceana* creciendo en dos condiciones de humedad del suelo y de temperatura.

Olivas *et al.* (2000) también encontraron diferencias importantes entre poblaciones de *Pinus ponderosa* en la composición isotópica de carbono en el follaje de las plantas al someterse a condiciones de estrés hídrico. Al igual que en el caso de *Pinus pinceana*, las poblaciones originarias de sitios más secos presentaron menor discriminación del isótopo pesado; en ese estudio tampoco se encontró un efecto significativo de la interacción entre las poblaciones y el nivel de humedad sobre el valor promedio en $\delta^{13}\text{C}$, y algo similar ocurrió en árboles adultos de *Pinus ponderosa* (Cregg *et al.*, 2000) y *Picea mariana* (Mill.) BSP (Flanagan y Johnsen, 1995) creciendo en condiciones de campo.

Sin embargo, Zhang *et al.* (1997) no encontraron diferencias en $\delta^{13}\text{C}$ entre poblaciones de *Pinus ponderosa* con diferente grado de tolerancia a la sequía, concluyendo que en esas poblaciones no existe una relación clara entre la composición isotópica de carbono en el follaje y la tolerancia a la sequía. Los autores mencionan que en *Pinus ponderosa* la selección natural no ha favorecido a la eficiencia en el uso del agua como mecanismo de adaptación a condiciones de sequía; en ese caso la población tolerante a sequía tiene estomas más sensibles que las poblaciones menos tolerantes, resultando en tasas fotosintéticas más altas cuando hay agua disponible, y tasas de fotosíntesis neta más bajas cuando el agua es limitante. Desde esta perspectiva, en condiciones de sequía parece ser más importante para las plantas de *Pinus ponderosa* eliminar la pérdida de agua que aumentar la eficiencia en el uso de ésta.

Tasa relativa de crecimiento

En concordancia con los resultados del capítulo anterior, la tasa relativa de crecimiento (TRC) de las plantas se redujo en forma significativa en condiciones de estrés hídrico y por altas temperaturas, aunque el efecto del estrés hídrico fue mucho mayor que el de la temperatura (Figura II.4). De la misma manera, se encontraron diferencias significativas ($P < 0.01$) entre las poblaciones en la TRC de las plantas; las poblaciones del norte tuvieron una TRC promedio más elevada que las del sur (Figura II.5).

También se encontraron diferencias significativas en la TRC de las poblaciones en respuesta al estrés hídrico impuesto; en general, las poblaciones del norte mantuvieron mayores

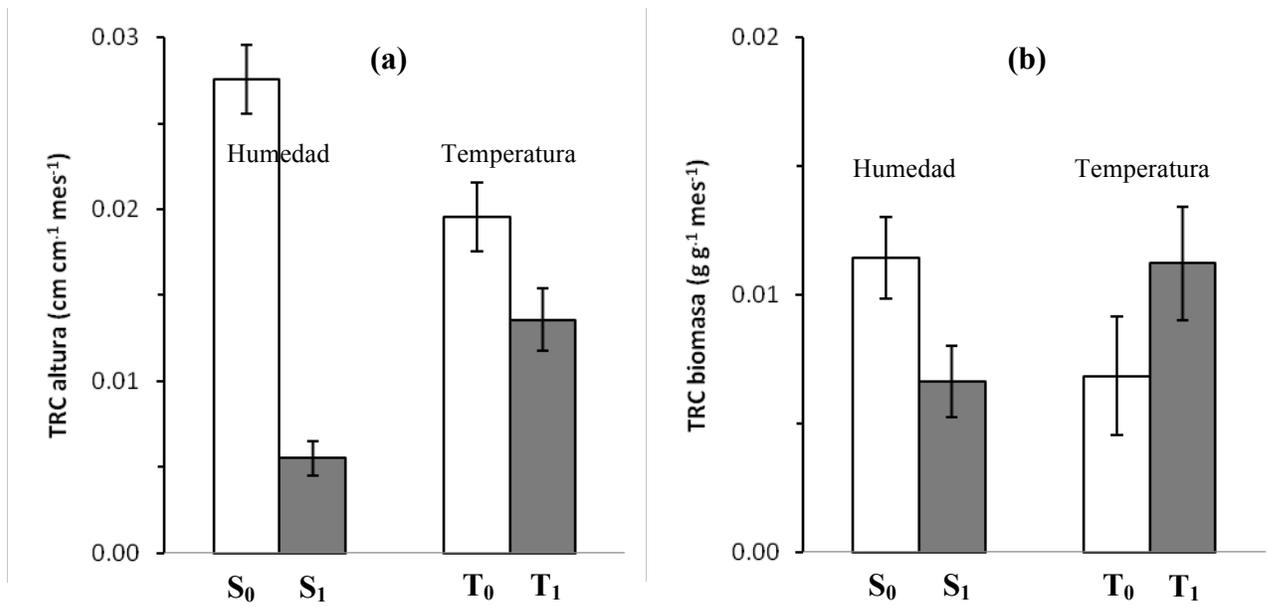


Figura II.4. Tasa relativa de crecimiento (TRC) promedio en altura (a) y biomasa final (b) en plantas de *Pinus pinceana* creciendo en dos condiciones de humedad del suelo (S₀ y S₁) y de temperatura (T₀ y T₁).

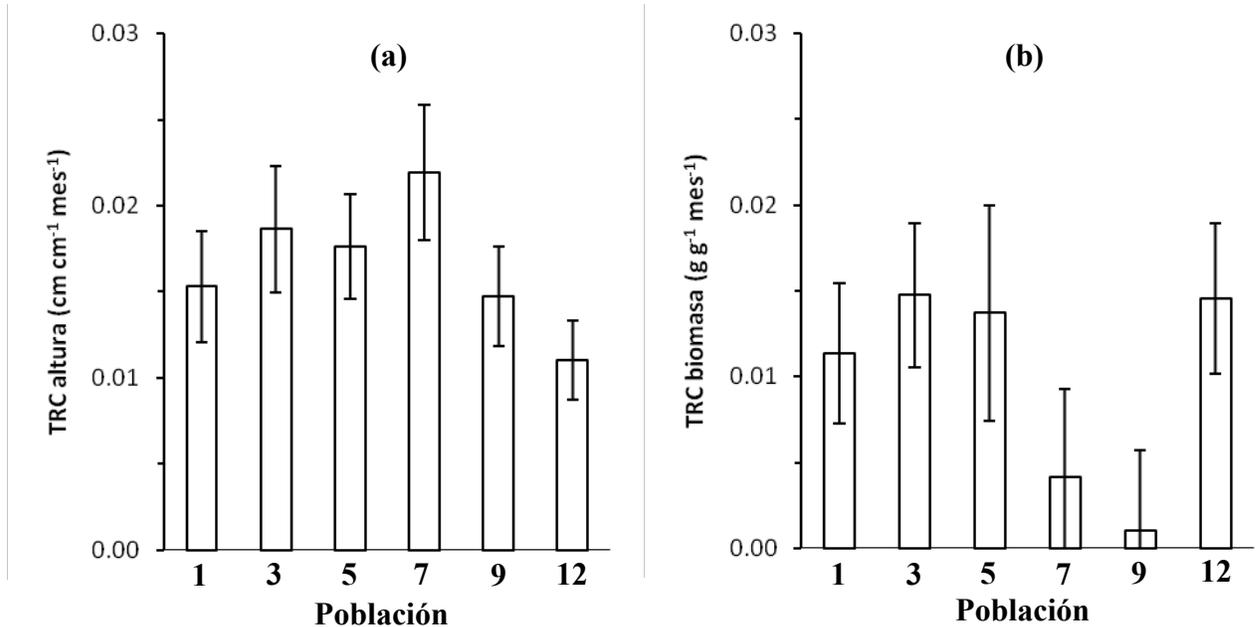


Figura II.5. Tasa relativa de crecimiento (TRC) promedio en altura (a) y biomasa final (b) en plantas de diferentes poblaciones de *Pinus pinceana* creciendo en dos condiciones de humedad del suelo y de temperatura.

TRC en altura y biomasa total en condiciones de sequía que las poblaciones del sur, pero esos resultados se debieron más bien a las diferencias en el tamaño inicial de las plantas (los individuos del norte tenían menor biomasa acumulada al inicio del estudio), que al crecimiento absoluto de las plantas, como se mostró en el capítulo anterior.

Relación entre $\delta^{13}\text{C}$, tasa relativa de crecimiento y productividad potencial.

La composición isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) de las poblaciones se relacionó en forma positiva ($r = 0.71$) con su tasa relativa de crecimiento promedio en altura (Figura II.6a), indicando que las poblaciones con menor discriminación en ^{13}C , presentaron una mayor TRC promedio en altura durante el periodo de estudio; sin embargo, $\delta^{13}\text{C}$ no se correlacionó de manera significativa con la TRC promedio en biomasa total de las poblaciones. De la misma manera, en condiciones de sequía se encontró una fuerte correlación positiva ($r = 0.86$) entre $\delta^{13}\text{C}$ y la TRC promedio en altura de las poblaciones (Figura II.6b), pero esta correlación desaparece en condiciones favorables de humedad. Estos resultados indican que aunque en condiciones favorables de humedad la capacidad de utilización del isótopo pesado de carbono de las poblaciones no es importante desde el punto de vista de su tasa de crecimiento en altura, en condiciones de sequía esta posibilidad les permite mantener una mayor tasa de crecimiento en altura. Flanagan y Johnsen (1995) también observaron una elevada correlación positiva entre el valor promedio en $\delta^{13}\text{C}$ y la altura promedio de los árboles en familias de *Picea mariana* en un sitio de baja productividad y ambiente seco, pero la correlación no fue significativa en otros dos sitios de mayor productividad. Por otro lado, Zhang *et al.* (1996) encontraron resultados contrastantes en diferentes especies de coníferas sometidas a dos condiciones de disponibilidad de agua; por ejemplo, $\delta^{13}\text{C}$ se correlacionó en forma significativa con el crecimiento en altura y producción de biomasa en *Larix occidentalis* Nutt. y *Pseudotsuga menziesii* pero no en *Pinus ponderosa*. Los resultados registrados en diferentes especies parecen indicar que aunque los mecanismos fisiológicos responsables de la variación entre poblaciones en el crecimiento de las plantas difieren entre especies, la eficiencia en el uso del agua es importante cuando se presentan condiciones de baja humedad en el suelo.

Es importante señalar que aunque el valor de $\delta^{13}\text{C}$ de las poblaciones en condiciones de sequía se correlacionó en forma positiva ($r = 0.66$) y significativa con la TRC en altura de las poblaciones en condiciones favorables de humedad (Figura II.6c), la capacidad de discriminación isotópica no se relacionó con la productividad potencial de las poblaciones, medida en términos de la acumulación de biomasa total de las plantas en condiciones ambientales favorables (Figura II.6d). Al parecer, la productividad potencial y la eficiencia en el uso del agua en condiciones de sequía son dos características independientes en *Pinus pinceana*, por lo que las poblaciones con mayor acumulación de biomasa en condiciones favorables no necesariamente son las más eficientes en el uso del agua al enfrentar condiciones de sequía. Sin embargo, estos resultados también indican que mediante una evaluación extensiva de las poblaciones de la especie sería posible identificar poblaciones con un potencial productivo adecuado que también tengan una mayor capacidad de respuesta en la eficiencia del uso del agua al exponerse a condiciones de estrés hídrico, como se ha encontrado en otras especies forestales (Flanagan y Johnsen, 1995; Zhang *et al.*, 1996).

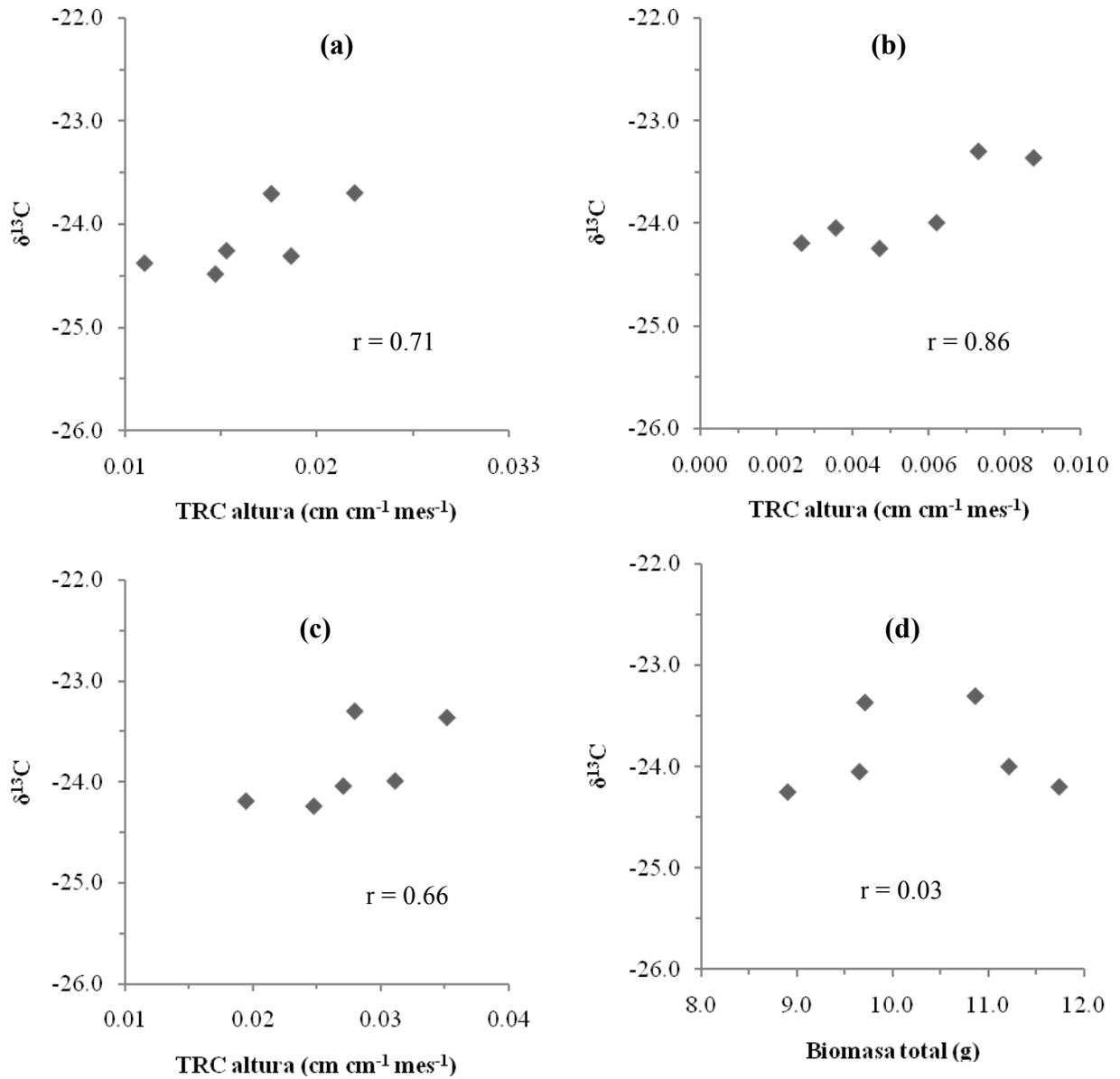


Figura II.6. (a) Relación entre la composición isotópica ($\delta^{13}\text{C}$) promedio de las poblaciones de *Pinus pinceana* y su tasa relativa de crecimiento (TRC) promedio en altura; (b) $\delta^{13}\text{C}$ y TRC en condiciones de sequía; (c) $\delta^{13}\text{C}$ en condiciones de sequía y TRC en condiciones favorables de humedad; y (d) $\delta^{13}\text{C}$ en condiciones de sequía y productividad potencial.

CONCLUSIONES

Pinus pinceana mostró una variación geográfica significativa en la composición isotópica de carbono en su follaje, que se mantuvo estable en las diferentes condiciones ambientales en que se evaluaron las plantas. Dado que una menor discriminación en el isótopo pesado de carbono se asocia con una mayor eficiencia en el uso del agua de las plantas, esta característica tiene una gran importancia en la capacidad de adaptación de las poblaciones a las condiciones de estrés hídrico que comúnmente enfrentan en su hábitat natural. Las diferencias encontradas entre las poblaciones en $\delta^{13}\text{C}$ son consistentes con las diferencias en otras características morfológicas y fisiológicas que se han encontrado en esta especie, incluyendo el contenido de cera cuticular en el follaje, la tasa de crecimiento, y la acumulación y distribución de biomasa a la parte aérea y raíz de las plantas, en lo que parece ser una manifestación clara de la selección natural en respuesta al gradiente ambiental que existe dentro del área de distribución natural de la especie en las zonas áridas de México.

El hecho de que el valor de $\delta^{13}\text{C}$ de las poblaciones en condiciones de sequía no mostró una correlación significativa con su productividad potencial indica que estas características son independientes, por lo que es posible encontrar poblaciones con mayor eficiencia en el uso del agua bajo condiciones de estrés hídrico y al mismo tiempo aumentar o mantener la productividad de la especie. Las poblaciones que combinen estas dos características son de gran importancia para iniciar un programa de restauración y conservación ecológica de la especie frente a las condiciones de mayor estrés ambiental que se anticipan con el cambio climático.

CAPÍTULO III. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

Los resultados del estudio muestran que durante el proceso evolutivo de *Pinus pinceana* se han desarrollado diferentes mecanismos adaptativos en respuesta a las condiciones de estrés ambiental que enfrenta en su área de distribución natural. Estos mecanismos adaptativos se reflejaron en las diferentes características morfo-fisiológicas que fueron evaluadas en las plantas al exponerlas a las condiciones de estrés por sequía y altas temperaturas. Por ejemplo, aunque los dos factores de estrés influyeron negativamente sobre el crecimiento y la acumulación y distribución de biomasa en las plantas, el efecto no fue de la misma magnitud ni dirección en todos los casos, indicando que diferentes mecanismos fisiológicos estuvieron involucrados en la respuesta.

El estrés hídrico tuvo un efecto más drástico que el aumento en temperatura sobre las variables de crecimiento y biomasa, lo cual pudo deberse a que la intensidad del estrés por sequía fue mucho mayor (al reducir el contenido de humedad del suelo por abajo del PMP durante más de 5 meses), mientras que el estrés por temperatura consistió en elevarla en promedio solo 2 °C por arriba del testigo. Por otro lado, en el caso del crecimiento en diámetro del tallo, es evidente que los dos factores de estrés ocasionaron una respuesta distinta, implicando diferentes mecanismos fisiológicos de adaptación en las plantas; mientras que la sequía ocasionó como reacción principal una menor asignación de recursos en el tallo y parte aérea de la planta, reduciendo el crecimiento en diámetro, el aumento de temperatura ocasionó un mayor engrosamiento del tallo, con mayor asignación de recursos a este órgano, lo que se ha identificado en otras especies como un mecanismo para aumentar la conductividad hidráulica del tallo y ocasionar un efecto de enfriamiento en la parte aérea.

La disminución de la relación parte aérea-raíz y de la tasa relativa de crecimiento de las plantas por efecto de los factores de estrés es una consecuencia lógica de los resultados mencionados en el párrafo anterior, dado que todas las variables de crecimiento y biomasa de las plantas fueron afectadas por la sequía y el aumento de temperatura; aunque el efecto de ambos factores sobre la parte aérea de la planta generalmente fue mayor que sobre la raíz, la magnitud del cambio fue distinta entre ellos.

Una situación similar se observó en el caso de la composición isotópica de carbono, en donde el estrés por temperatura no afectó de manera significativa esta variable en las plantas, mientras que en el caso del estrés hídrico sí se observó un efecto significativo en la dirección esperada. Como se señaló anteriormente, es posible que la diferencia en temperatura entre los dos ambientes (2 °C en promedio) no haya sido suficiente para modificar la composición isotópica de carbono porque los estomas no respondieron a esta variación en temperatura o porque la temperatura haya tenido efectos contrarios sobre la tasa de transpiración, aumentando por un lado el déficit de presión de vapor en la atmósfera y estimulando al mismo tiempo una mayor apertura de los estomas; sería conveniente realizar estudios en donde la diferencia de temperatura entre el testigo y el tratamiento de estrés fuera más amplia para verificar estos supuestos.

El efecto del estrés hídrico sobre la composición isotópica de carbono en *Pinus pinceana* es consistente con el efecto que se ha observado en diversos estudios realizados con otras especies leñosas. Una respuesta común de muchas especies forestales al estrés hídrico es el cierre de estomas para reducir la transpiración. Si la planta tiene la capacidad para aprovechar en estas condiciones el isótopo pesado de carbono en el proceso de fotosíntesis, se tendrá un mayor enriquecimiento de $^{13}\text{CO}_2$ en los tejidos (i.e, una menor discriminación isotópica), lo cual se traduce en una mayor eficiencia en el uso del agua. En este sentido, es importante señalar que las plantas de *Pinus pinceana* presentaron en promedio una menor discriminación isotópica de carbono que la mayoría de las especies C_3 que se han reportado en la literatura, indicando su adaptación natural a condiciones de mayor estrés hídrico; además, el valor de discriminación se redujo aún más al exponer las plantas a condiciones de sequía.

Por otra parte, fue evidente que las poblaciones respondieron de diferente manera a los dos tipos de estrés estudiados y esto se reflejó en los valores de las variables de crecimiento y distribución de biomasa; estas diferentes respuestas ya eran previsibles porque las poblaciones están aisladas geográficamente y sus hábitats presentan condiciones climáticas y edáficas diferentes por lo que las poblaciones han evolucionado de manera diferente. Algunos de las características morfo-fisiológicas y mecanismos de adaptación a condiciones de aridez más importantes detectados en este estudio y otros similares son la producción de cera cuticular en las poblaciones que crecen en ambientes extremos, el engrosamiento del tallo en respuesta a las

temperaturas altas y la mayor asignación de biomasa a la raíz como un mecanismo para minimizar el efecto del estrés hídrico o por altas temperaturas, manteniendo un balance más equitativo entre la capacidad de absorción y conducción de agua con la demanda transpiratoria de la planta.

Al analizar la composición isotópica de carbono entre las poblaciones también se encontraron diferencias significativas entre ellas en condiciones de sequía, indicando diferencias importantes entre ellas en la eficiencia en el uso del agua. Al igual que en el caso de las otras características evaluadas, las poblaciones del norte, que se encuentran en condiciones de mayor aridez, presentaron características adaptativas relacionadas con un mayor nivel de tolerancia a la sequía, que las plantas de las poblaciones en la región sur del área de distribución natural de la especie. A pesar de lo anterior, dentro de cada región se encontró una variación importante en estas características de importancia adaptativa a condiciones de sequía; incluso, fue evidente la amplia plasticidad fenotípica de la especie que se manifestó en que las poblaciones mostraron mecanismos diferentes en su respuesta a la sequía; mientras que en algunas la tendencia principal fue reducir su tasa de crecimiento en altura o modificar el engrosamiento del tallo, en otras fue modificar la relación parte aérea-raíz o la eficiencia en el uso del agua.

La correlación significativa entre $\delta^{13}\text{C}$ y la TRC en altura, y la falta de correlación entre $\delta^{13}\text{C}$ y la TRC promedio en biomasa total de las poblaciones indican que la ganancia de carbono, por efecto de la variación de la composición isotópica de las poblaciones, se utilizó en mayor medida para mantener el crecimiento vertical de las plantas. El hecho de que la fuerte correlación positiva entre $\delta^{13}\text{C}$ y la TRC promedio en altura de las poblaciones desaparezca, al pasar de la condición de sequía a la de humedad óptima, es un indicativo de que al disponer de suficiente humedad las poblaciones realizan una mayor discriminación isotópica.

Dado que la composición isotópica de carbono no se relacionó con la productividad potencial de las poblaciones, y tomando en cuenta el alto grado de correlación que existe entre la composición isotópica de carbono y la eficiencia en el uso del agua, podemos inferir que las poblaciones que producen más biomasa no necesariamente realizan un uso más eficiente del agua en condiciones de estrés hídrico. Esto nos da una idea de la complejidad de las relaciones entre

los procesos fisiológicos de la especie y los mecanismos adaptativos que se desencadenan al enfrentar condiciones de estrés ambiental, y sugiere la necesidad de realizar una evaluación extensiva para seleccionar los genotipos con más productividad pero que también hagan un uso más eficiente del agua en condiciones limitantes de este recurso.

La información de las variables de crecimiento y producción de biomasa es de mucha utilidad pues nos da una idea de la capacidad de adaptación de la especie a un ambiente determinado; sin embargo, con la información obtenida de la composición isotópica de carbono nos da una idea más clara y precisa del comportamiento de la especie; la información de los dos capítulos es muy valiosa y tiene que tomarse en cuenta sobre todo si se quiere tener éxito en el desarrollo de un plan de manejo y conservación de la especie ante los escenarios climáticos actuales y futuros. Los resultados muestran que la especie, en particular algunas de sus poblaciones, tiene la capacidad potencial para ajustar sus procesos fisiológicos en condiciones de estrés hídrico y por aumento de temperatura, similares a los que se esperan en las primeras fases del cambio climático que se anticipa para un futuro cercano. Sin embargo, con los datos de este estudio no es posible pronosticar el comportamiento de la especie en sitios donde los cambios esperados en temperatura promedio rebasen los dos grados centígrados.

LITERATURA CITADA

- Anekonda, T., C. Jones, B. N. Smith, and L. D. Hansen. 2004. Differences in physiology and growth between coastal and inland varieties of Douglas-fir seedlings in a common garden. *Thermochimica Acta* 422: 75-79.
- Brodribb, T. and R. S. Hill. 1998. The photosynthetic drought physiology of a diverse group of southern hemisphere conifer species is correlated with minimum seasonal rainfall. *Functional Ecology* 12: 465-471.
- Cantin, D., M. F. Tremblay, M. J. Lechowicz, and C. Potvin. 1997. Effects of CO₂ enrichment, elevated temperature, and nitrogen availability on the growth and gas exchange of different families of Jack pine seedlings. *Can. J. For. Res.* 27: 510-520.
- Córdoba R., D., J. J. Vargas H., y J. A. Arévalo R. 2008. Adaptabilidad de poblaciones de *Pinus pinceana* en dos suelos. *Rev. Fitotecnia Mexicana.* 31: 273-279.
- Cregg, B. M. 1994. Carbon allocation, gas exchange and needle morphology of *Pinus ponderosa* genotypes known to differ in growth and survival under imposed drought. *Tree Physiol.* 14: 883-898.
- Cregg, B. M., J. M. Olivas G., and T. C. Hennessey. 2000. Provenance variation in carbon isotope discrimination of mature ponderosa pine trees at two locations in the Great Plains. *Can. J. For. Res.* 30: 428-439.
- Da Silveira, L., L. Sternberg, S. S. Mulkey, and S. J. Wright. 1989. Ecological interpretation of leaf carbon isotope ratios: influence of respired carbon dioxide. *Ecology* 70: 1317-1324.
- Farquhar, G. D., M. H. O'Leary, and J. A. Berry. 1982. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Aust. J. Plant Physiol.* 9: 121-137.
- Flanagan, L. B., and K. H. Johnsen. 1995. Genetic variation in carbon isotope discrimination and its relationship to growth under field conditions in full-sib families of *Picea mariana*. *Can. J. For. Res.* 25: 39-47.
- García F., M., and J. J. Vargas H. 2000. Growth and biomass allocation of *Gliricidia sepium* seed sources under drought conditions. *J. Sust. For.* 10: 45-50.

- García G., R. 2002. Composición isotópica de carbono y crecimiento en procedencias de *Pinus greggii* Engelm. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Méx., México. 71 p.
- García G., R., A. Gómez G., J. López U., and J. J. Vargas H. 2003. Composición isotópica de carbono y crecimiento de *Pinus greggii* Engelm en vivero. *Agrociencia* 37: 467-475.
- Gómez G., A., M. J. Singer, R. F. Powers, and W. R. Horwath. 2002. Soil compaction effects on water status of ponderosa pine assessed through $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ composition. *Tree Physiol.* 22: 459-467.
- Hernández P., C., J. J. Vargas H., C. Ramírez H., y A. Muñoz O. 2001. Variación geográfica en la respuesta a la sequía en plántulas de *Pinus greggii* Engelm. *Ciencia Forestal en México* 26: 61-79.
- Kolb, P. F. and R. Robberecht. 1996. High temperature and drought stress effects on survival of *Pinus ponderosa* seedlings. *Tree Physiol.* 16: 665-672.
- Korol, R. L., M. U. F. Kirschbaum, G. D. Farquhar, and M. Jeffreys. 1999. Effects of water status and soil fertility on the C-isotope signature in *Pinus radiata*. *Tree Physiology* 19: 551-562.
- Kozlowski, T.T. 1979. *Tree Growth and Environmental Stresses*. University of Washington Press, Seattle, WA. 194 p.
- Lauteri, M., A. Scartazza, M. C. Guido, and E. Brugnoli. 1997. Genetic variation in photosynthetic capacity, carbon isotope discrimination and mesophyll conductance in provenances of *Castanea sativa* adapted to different environments. *Functional Ecology* 11: 675-683.
- Ledig, F. T., M. A. Capó A., P. D. Hodgskiss., H. Sbay, C. Flores L., M. Thompson C., and B. Bermejo V. 2001. Genetic diversity and the mating system of a rare mexican piñon, *Pinus pinceana*, and a comparison with *Pinus maximartinezii* (Pinaceae). *Am. J. Bot.* 88: 1977-1987.
- Martínez T., T., J. J. Vargas H., J. López U., y A. Muñoz O. 2002. Respuesta al déficit hídrico en *Pinus leiophylla*: acumulación de biomasa, desarrollo de hojas secundarias y mortandad de plántulas. *Terra.* 20: 291-301.
- McDaniel, R. G. 1982. The physiology of temperature effects on plants. *In*: Christiansen, M. N., and Ch. F. Lewis (eds). *Breeding Plants for Less Favorable Environments*. John Wiley & Sons. USA. pp: 13-45.

- McMillin, J. D., and M. R. Wagner. 1995. Effects of water stress on biomass partitioning of *Ponderosa pine* seedlings during primary root growth and shoot growth periods. *For. Sci.* 41: 594-610.
- Molina-Freaner, F., P. Delgado, D. Piñero, N. Pérez N., and E. Alvarez B. 2001. Do rare pines need different conservation strategies? Evidence from three Mexican species. *Can. J. Bot.* 79: 131-138.
- Ngugi, M. R., M. A. Hunt, D. Doley, P. Ryan, and P. Dart. 2003. Dry matter production and allocation in *Eucalyptus cloeziana* and *Eucalyptus argophloia* seedlings in response to soil water deficits. *New For.* 26: 187-200.
- Nilsen, E.T., and D. M. Orcutt. 1996. *The Physiology of Plants Under Stress: Abiotic Factors.* John Wiley & Sons, Inc. USA. 689 p.
- O'Leary, M. H. 1988. Carbon isotopes in photosynthesis: fractionation techniques may reveal new aspects of carbon dynamics in plants. *BioScience* 38: 328-336.
- Olivas G., J. M., B. M. Cregg, and T. C. Hennessey. 2000. Genotypic variation in carbon isotope discrimination and gas exchange of ponderosa pine seedlings under two levels of water stress. *Can. J. For. Res.* 30(10): 1581–1590
- Panek, J. A. 1996. Correlations between stable carbon-isotope abundance and hydraulic conductivity in Douglas-fir across a climate gradient in Oregon, USA. *Tree Physiology* 16: 747-755.
- Panek, J. A., and R. H. Waring. 1995. Carbon isotope variation in Douglas-fir foliage: improving the $\delta^{13}\text{C}$ -climate relationship. *Tree Physiology* 15: 657-663.
- Perry, J. P. Jr. 1991. *The Pines of Mexico and Central America.* Timber Press, Portland, Oregon, USA. 231 p.
- Ramírez H., C. 2007. Quantitative trait variation and allozyme diversity of *Pinus pinceana*. Ph. D. Thesis in Forestry. University of New Brunswick, Canada. 213 pp.
- Ramírez H., C., T. Beardmore, and J. Loo. 2008. Overcoming dormancy of *Pinus Pinceana* seeds. *Seed Sci. Tech.* 36: 1-20.
- Samuelson, L. J., and J. R. Seiler. 1993. Interactive role of elevated CO₂, nutrient limitations, and water stress in the growth responses of red spruce seedlings. *For. Sci.* 39: 348-358.
- SAS Institute. 1998. *SAS/STAT User's; Version 8.0.* SAS Institute, Cary, N. C., USA. 1028 p.

- Schlesinger, W. H. 1997. Biogeochemistry: an analysis of global change. 2nd ed. Academic Press, San Diego. 588 p.
- Schlesinger, W.H., and J. Lichter. 2001. Limited carbon storage in soil and litter of experimental forest plots under increased atmospheric CO₂. *Nature* 411:466-469
- Susiluoto, S., and F. Berninger. 2007. Interactions between morphological and physiological drought responses in *Eucalyptus microtheca*. *Silva Fennica* 41: 221-229.
- Teskey, R. O., and R. E. Will. 1999. Acclimation of loblolly pine (*Pinus taeda*) seedlings to high temperatures. *Tree Physiol.* 19: 519-525.
- Waring, R. H., and W. B. Silvester. 1994. Variation in foliar $\delta^{13}\text{C}$ values within the crowns of *Pinus radiata* trees. *Tree Physiology* 14: 1203-1213.
- Zha, T., A. Ryyppo, K. Wang, and S. Kellomaki. 2001. Effects of elevated carbon dioxide concentration and temperature on needle growth, respiration and carbohydrate status in field-grown Scots pine during the needle expansion period. *Tree Physiol.* 21: 1279-1287.
- Zhang, J., J. D. Marshall, and L. Fins. 1996. Correlated population differences in dry matter accumulation, allocation, and water-use efficiency in three sympatric conifer species. *For. Sci.* 42: 242-249.
- Zhang, J. W., Z. Feng, B. M. Cregg, and C. M. Schumann. 1997. Carbon isotopic composition, gas exchange, and growth of three populations of ponderosa pine differing in drought tolerance. *Tree Physiology* 17:461-466.