



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN CIENCIAS FORESTALES

**VARIACION ADAPTATIVA
ALTITUDINAL DE *Abies religiosa*
(H.B.K.) SCHLTDL. *et* CHAM. EN EL
CERRO TLÁLOC**

JESÚS DANIEL CASTILLO FLORES

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2016

La presente tesis titulada: **VARIACION ADAPTATIVA ALTITUDINAL DE *Abies religiosa* (H.B.K.) SCHLTDL. et CHAM. EN EL CERRO TLÁLOC** realizada por el alumno: **JESÚS DANIEL CASTILLO FLORES** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTORADO EN CIENCIAS
EN CIENCIAS FORESTALES**

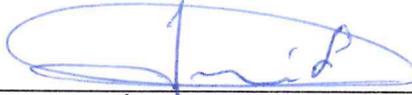
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



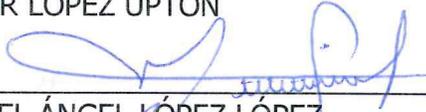
Dr. MARCOS JIMÉNEZ CASAS

ASESOR



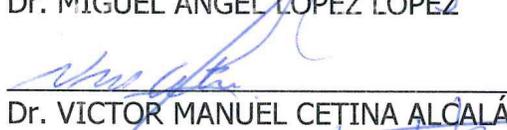
Dr. JAVIER LÓPEZ UPTON

ASESOR



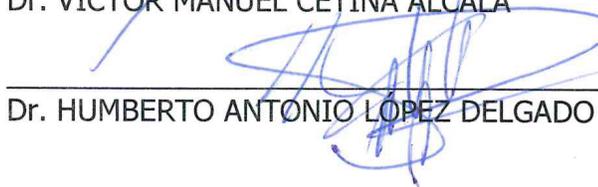
Dr. MIGUEL ÁNGEL LÓPEZ LÓPEZ

ASESOR



Dr. VÍCTOR MANUEL CETINA ALCALÁ

ASESOR



Dr. HUMBERTO ANTONIO LÓPEZ DELGADO

Montecillo, Texcoco, Estado de México, noviembre de 2016

VARIACION ADAPTATIVA ALTITUDINAL DE *Abies religiosa* (H.B.K.)

SCHLTDL. et CHAM. EN EL CERRO EL TLÁLOC

JESÚS DANIEL CASTILLO FLORES, D. en C.
Colegio de Postgraduados, 2016.

RESUMEN

Abies religiosa (oyamel) se localiza principalmente a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal, altitudinalmente de 2400 a 3600 m, donde se pronostica que el cambio climático modificará las condiciones de temperatura y humedad en detrimento de la especie; por lo que la migración asistida podrá ser una opción para conservar la especie. Por lo tanto, es necesario conocer la capacidad de esta especie a sobrevivir y crecer en condiciones de heladas y sequías en relación a su distribución altitudinal. En este estudio se analiza el efecto altitudinal en plantas de *A. religiosa*, en relación a la ocurrencia de heladas en condiciones naturales (cerro Tláloc) y de laboratorio, en este último se enfatiza la condición de sequía. Además, se determina el papel del potasio, como elemento nutritivo, en el proceso de aclimatación y resistencia de *A. religiosa* a heladas. Los niveles altitudinales no afectaron la fenología vegetativa, el crecimiento y la supervivencia de las plantas, ni causaron daño foliar; aunque en la altitud más baja el daño en las acículas de las plantas y mortalidad fueron ligeramente mayores. Las heladas simuladas magnificaron el daño foliar cuando las plantas estaban en estrés hídrico, independientemente del nivel altitudinal de plantas. Finalmente, el potasio en plántulas de *A. religiosa* les generó mayor resistencia a la helada simulada, expresada por el menor daño foliar. Se sugiere proyectar estos estudios con poblaciones localizadas en los límites superiores de distribución altitudinal de la especie e implementar esquemas de fertilización que generen plántulas con concentraciones altas de potasio, para proveer a las plantas de mayor resistencia a heladas.

Palabras clave: *Abies religiosa*, bajas temperaturas, estrés hídrico, migración asistida, potasio, procedencias.

ALTITUDINAL ADAPTATIVE VARIATION OF *Abies religiosa* (H.B.K.)

SCHLTDL. et CHAM. IN THE CERRO EL TLÁLOC

JESÚS DANIEL CASTILLO FLORES, D. en C.
Colegio de Postgraduados, 2016.

ABSTRACT

Abies religiosa (oyamel) is mainly located along the Transverse Neovolcanic Axis, between 2400 and 3600 m of altitude, where it is predicted that climate change will modify the temperature and humidity conditions to the detriment of the species; so assisted migration may be an option to conserve this species. Therefore, it is necessary to know the ability of this species to survive and grow under frost and drought conditions in relation to its altitudinal distribution. In this study the altitudinal effect in *A. religiosa* plants is analyzed, in relation to the occurrence of frost both in natural conditions (Cerro Tláloc) as in the laboratory, where the drought condition is emphasized. In addition, the role of potassium, as a nutritive element, in the process of acclimatization and resistance of *A. religiosa* to frost is determined. The altitudinal levels tested did not affect the vegetative phenology, the growth and the survival of the plants, nor did they cause foliar damage. Although in the lower altitude the damage in the plants' needles and mortality were slightly higher. Simulated frosts magnified needle damage when plants were in water stress, regardless of the altitudinal level of plants. Finally, potassium in seedlings of *A. religiosa* gives them greater resistance to frost, showed by the lower needle damage.

Keywords: *Abies religiosa*, low temperatures, water stress, assisted migration, potassium, provenances.

AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados por haberme dado la oportunidad de realizar mis estudios de Doctorado y con ello contribuir a mi superación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el financiamiento otorgado durante mi estancia en el Colegio de Postgraduados.

A mis padres por su siempre infinito amor y apoyo, por darme ánimos en todo momento y por enseñarme a luchar por mis sueños.

A mis hermanos por su siempre apoyo y palabras de aliento en los momentos más complicados.

A cada uno de mis amigos por ser parte fundamental en este proceso y por compartir cada momento. De manera particular a Alejandra Yunuen por su gran apoyo en todo momento en especial por su gran ayuda en las salidas al campo y lo que ellas implicaban, sin ti este proceso hubiera sido más largo y complicado.

Al Dr. Marcos Jiménez Casas, por su confianza y apoyo sobre todo en los últimos meses que fueron determinantes para la conclusión de esta etapa.

Al Dr. Javier López Upton, quien su participación fue fundamental en la realización del presente trabajo y de quien me llevo grandes enseñanzas y grandes consejos.

Al Dr. Miguel Ángel López López por su valioso apoyo en la realización de este trabajo y por sus consejos siempre tan asertivos que me ayudaron a la mejora de esta estudio.

Al Dr. Víctor Manuel Cetina Alcalá, por brindarme siempre su amistad, confianza y apoyo en todo momento sobre todo en los momentos que más lo necesité.

Al Dr. Humberto Antonio López Delgado por su gran apoyo para la conclusión de esta etapa.

A los señores Luis Méndez Hidalgo y Joel García Duran por su invaluable apoyo en el trabajo de campo así como sus consejos y por siempre tener la disponibilidad para el trabajo y para compartir su experiencia.

A Lupita, Bety, America y Fanny, secretarias del Programa en Ciencias Forestales por su apoyo durante mi estancia en el Colegio.

A las personas del área de computo. Señorita Claudia, Don Toño, Señoras: Isabel, Marce y Anita; por todo su amistad y apoyo cuando éste fue necesario.

Lo imposible, es posible...

DEDICATORIA

A Ma. Elena y Jesús, mis padres. Por sus sabios consejos e inculcarme siempre los valores que me han llevado a ser quien soy hoy.

A Perla y Gabriel, mis hermanos. Por estar siempre a mi lado y ser mis compañeros y amigos incondicionales en esta vida.

A Sarita, mi abuelita. Por ser uno de mis grandes pilares y llenarme de tanto amor durante toda mi vida.

A Ana, mi querida tía. Mi gran apoyo en todo momento.

A Eduardo y Ricardo, mis primos preferidos. Por cada ocurrencia y momentos de alegría que compartimos.

A Mary y Mundo. Mis abuelitos, quienes empezaron conmigo este sueño pero que durante el camino tuvimos que despedirnos y que ahora junto con Jesús y Sebastianita viven y vivirán por siempre en mi corazón.

A Rolando e Irma, mis padrinos y segundos padres. Por ser siempre un ejemplo a seguir y hacerme sentir su apoyo.

A Alejandra Yunuen, mi amiga y hermana del corazón. Por siempre estar y por ser de las mejores personas que la vida me ha puesto en mí camino.

A Pablo Iván. Por su apoyo y enseñanzas en estos años.

A Alejandra Lozano. Por su siempre infinito apoyo y comprensión, por compartir cada idea que se me ocurre y por las tantas horas de risas y plática.

Al Ing. Luis Álvarez Manzanares. Por por cada una de sus enseñanzas.

A mi pequeño Jeremías, por cada momento que compartimos y cada alegría que me regalaste. Junto con Paty y Pichichi, siempre vivirás en mi corazón.

A Queene, Brad, Cometín, Nino, Julio, Licha y Coquín. Por su gran cariño y lealtad y por siempre hacer que yo tenga una sonrisa con cada una de sus ocurrencias aún en los momentos que parecían superarme en fuerzas. De manera especial a mi pequeño Milky, por siempre acompañarme aún en las noche de desvelo y ser una lucecita más en mi vida.

A Angie, Chayito y Vicent. Mis amigos y compañeros del cubículo de estudiantes por su apoyo, por esas tantas horas de risa y por los momentos inolvidables.

A todos ustedes, **MUCHAS GRACIAS**, porque sin ustedes esto no hubiera sido posible...

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	III
ABSTRACT	IV
AGRADECIMIENTOS	V
DEDICATORIA	VI
CONTENIDO	VII
LISTA DE CUADROS	X
LISTA DE FIGURAS	XI
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
OBJETIVOS	6
Objetivo general	6
Objetivos específicos	6
Hipótesis	6
Descripción de <i>Abies religiosa</i>	7
Ubicación del Cerro Tláloc	8
LITERATURA CITADA	9
Capítulo II. Comportamiento de tres procedencias de <i>Abies religiosa</i> dentro de un gradiente altitudinal en el cerro Tláloc	14
RESUMEN	14
INTRODUCCIÓN	15
MATERIALES Y MÉTODOS	16
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
Supervivencia y daño foliar	19
Efectos de crecimiento en altura y diámetro	24
Fenología vegetativa	28
CONCLUSIONES	32

LITERATURA CITADA	33
Capítulo III. Daño por heladas y sequía en plántulas de <i>Abies religiosa</i> (H.B.K.) Schltl. et Cham. en un transecto altitudinal	38
RESUMEN	39
INTRODUCCIÓN	39
MATERIALES Y MÉTODOS	41
Procedencia y manejo inicial del material vegetal	41
Ensayos preliminares con estrés hídrico	41
Ensayos preliminares con bajas temperaturas	42
Experimento de estrés hídrico y bajas temperaturas	42
Evaluación de variables	43
Fuga de electrolitos	43
Análisis de datos	44
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
Ensayos preliminares de mortalidad por estrés hídrico y frío	45
Sequía y bajas temperaturas	45
Estrés hídrico	46
Temperatura	48
Procedencia	50
Implicaciones del estudio	51
CONCLUSIONES	53
LITERATURA CITADA	54
Capítulo IV. Resistencia a bajas temperaturas en <i>Abies religiosa</i> sometido a diferentes tratamientos de fertilización con potasio	60
RESUMEN	60
INTRODUCCIÓN	61
MATERIALES Y MÉTODOS	63
Material vegetal	63
Diseño experimental	63
Fertilización con potasio	64

Exposición a bajas temperaturas	64
Evaluación de variables	65
Fuga de electrolitos	65
Análisis estadísticos	66
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	66
Efecto del potasio	67
Efecto altitudinal	69
CONCLUSIONES	71
LITERATURA CITADA	72
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES	76
RECOMENDACIONES	79
LITERATURA CITADA	80

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 2.1. Descripción de los sitios seleccionados para establecer las plantaciones de <i>Abies religiosa</i> en el experimento	17
Cuadro 2.2. Análisis de varianza del incremento en altura y diámetro de plantas de <i>Abies religiosa</i> por sitio y por procedencia	20
Cuadro 3.1. Análisis de varianza de la fuga de electrolitos causada por bajas temperaturas en plantas de <i>Abies religiosa</i> procedentes de tres elevaciones (PROC) y sometidas a sequía (EH) y bajas temperaturas (TEMP)	46
Cuadro 4.1. Tratamientos de potasio aplicados a plántulas de <i>Abies religiosa</i> de un año de edad de tres niveles altitudinales en el Cerro Tiáloc	64
Cuadro 4.2. Valores de P (<0.05) en el análisis de varianza para las fuentes de variación (F.V.) consideradas en el modelo. Nivel altitudinal (N), dosis de potasio (F) y grados de libertad (G. L.).	67

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 2.1. Porcentaje de supervivencia acumulada de las plantas de <i>Abies religiosa</i> de un año de edad. Sitio 1= 3,100 m.s.n.m.; 2= 3,200 m.s.n.m. y 3= 3,300 m s.n.m	21
Figura 2.2. Porcentaje de daño acumulado durante el experimento por sitio en plantas de <i>Abies religiosa</i> . Sitio 1= 3,100, 2= 3,200 y 3= 3,300 m s.n.m.	23
Figura 2.3. Alturas de plantas de <i>Abies religiosa</i> en sitios de diferentes elevaciones. Para una fecha de evaluación, barras con letras diferentes indican diferencias significativas entre procedencias ($p=0.05$).	25
Figura 2.4. Diámetro de plantas <i>Abies religiosa</i> de diferentes procedencias. Para una fecha de evaluación, barras con letras diferentes indican diferencias significativas al 0.05% entre procedencias	26
Figura 2.5. Porcentaje de daño por procedencia en planta de <i>Abies religiosa</i> . Sitios 1= 3,100; 2= 3,200 y 3= 3,300 m s.n.m. y Procedencia A= 2,850; B= 3,060 y C= 3,239 m s.n.m.	27
Figura 2.6. Porcentaje de desarrollo de la yema apical en plantas de <i>Abies religiosa</i> por procedencia y sitio de plantación. Sitios 1= 3,100; 2= 3,200 y 3= 3,300 m s.n.m. y Procedencia A= 2,850; B= 3,060 y C= 3,239 m s.n.m.	30
Figura 3.1. Porcentaje de fuga de electrolitos después de la aplicación de tratamientos de frío (31.7 y 28.0 %, respectivamente) en plantas de <i>Abies religiosa</i> con y sin estrés hídrico. Barras con letras diferentes indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$)	48

Figura 3.2. Porcentaje de electrolitos liberados en función a la exposición de plántulas de <i>Abies religiosa</i> . a bajas temperaturas (-3 y -6 °C) durante 1 h. Barras con letras diferentes indica diferencias significativas ($\alpha=0.05$)	49
Figura 3.3. Porcentaje de electrolitos liberados de acuerdo a la procedencia de las plántulas de <i>Abies religiosa</i> . Barras con letras diferentes indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) entre procedencias	51
Figura 4.1. Tratamientos de fertilización con potasio en plantas de <i>Abies religiosa</i>	68
Figura 4.2. Niveles altitudinales de las plantas de <i>Abies religiosa</i> de un año de edad. Sitio 1= 3,210 m.; 2= 3,310 m y 3= 3,410 m	69

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

La pérdida de la cubierta forestal ha incrementado la tasa de evaporación del suelo y disminuido la protección contra las heladas (Levitt, 1980; Sáenz-Romero *et al.*, 2010; Sakai y Larcher, 1987). Estos factores limitan el éxito de los programas de reforestación y restauración, e incluso el crecimiento y desarrollo de macizos forestales naturales, particularmente de especies sensibles a fluctuaciones ambientales. Por lo anterior para algunas especies, la única manera de sobrevivir es migrar hacia sitios con condiciones favorables para evitar el estrés (Rehfeldt *et al.*, 2014).

Aunado a lo anterior el cambio climático actual es determinante para las especies forestales, siendo una de sus consecuencias los periodos de sequía más prolongados, donde las plantas tienen que hacer uso de diversas estrategias para mitigar este fenómeno y así poder sobrevivir, particularmente durante las etapas tempranas de crecimiento y desarrollo (Peñuelas *et al.*, 2004; Viveros-Viveros *et al.*, 2007). Los efectos de este estrés sobre las especies vegetales están influenciados por la ubicación de las plantas dentro de un gradiente altitudinal (Barton y Teeri, 1993), por ejemplo la temperatura y la humedad dependen de la distribución altitudinal, las que influyen en el desarrollo de las plantas (Barton y Teeri, 1993), más aún cuando las diferentes poblaciones de una especie en un transecto no están debidamente adaptadas al lugar donde

se desarrollan por efectos de la competencia con otras poblaciones (genotipos) más adaptados a ese sitio (Rehfeldt, 2000; Rehfeldt *et al.*, 2014).

Otro de los efectos relevantes del cambio climático global son los inviernos con heladas más frecuentes (Peñuelas *et al.*, 2004). En las plantas, las heladas generan cambios en los procesos bioquímicos y biofísicos de las membranas celulares y modificaciones enzimáticas en mitocondrias y cloroplastos (Kratsch, y Wise, 2000), con la consecuente disminución del crecimiento y alteraciones en el desarrollo de la planta (Allen y Ort, 2001). Sin embargo, el efecto mejor caracterizado hasta el momento por este tipo de estrés es la disminución de la fluidez en las membranas y el daño foliar (Nishida y Murata, 1996).

Debido a lo anterior, se espera que el hábitat de las coníferas actuales en el eje Neovolcánico sea afectado por el incremento de temperatura, la disminución de la precipitación y la emisión de gases con efecto invernadero, repercutiendo a su vez dentro de gradientes altitudinales donde las plantas tienden a diferenciarse genéticamente; particularmente en caracteres adaptativos como el crecimiento y el patrón de elongación de la yema (Sáenz-Romero *et al.*, 2010; Rehfeldt *et al.*, 2012).

Por su parte, los cambios estructurales y fisiológicos o de resistencia al frío permiten la supervivencia de coníferas y otras especies arbóreas durante el invierno (Nielsen y Orcutt, 1996). En ocasiones las condiciones invernales de bajas temperaturas y heladas se pueden presentar en la primavera o el otoño, cuando las plantas ya no están endurecidas y se encuentran iniciando o

finalizando su crecimiento; en este estado las plantas son muy sensibles al frío y susceptibles a sufrir daño (Neuner y Beikircher, 2010).

En coníferas el daño celular causado por heladas se produce particularmente en células meristemáticas que se encuentran en procesos de expansión, durante la etapa de crecimiento. Durante el invierno los procesos de deshidratación en yemas meristemáticas evaden la formación de cristales de hielo responsables del daño, particularmente en la membrana celular; capacidad que se pierde gradualmente durante la primavera, dejando a los tejidos muy sensibles a bajas temperaturas y heladas, en caso de presentarse (Taschler *et al.*, 2004).

Se ha señalado que el potasio (K) en las plantas tiene un papel importante en la resistencia a heladas (Ahmad and Maathuis, 2014; Demidchik, 2014). Altas concentraciones de K en la célula facilitan la acumulación de solutos, lo que permite la regulación del potencial osmótico e hídrico y disminución del punto de congelamiento en el citosol; resultando en protección y mantenimiento de la fluidez e integridad de la membrana celular durante eventos de heladas o bajas temperaturas, lo cual se manifiesta en el decremento de fuga de electrolitos (Zörb *et al.*, 2014). Dicho método usualmente es expresado como la proporción de fuga de electrolitos de tejido vegetal dañado por bajas temperaturas contra la proporción de fuga de electrolitos de tejido muerto (Sutinen *et al.*, 1992).

Una manera de analizar la variación en los atributos señalados es a través del establecimiento de ensayos de procedencias, donde individuos de una misma especie provenientes de diferentes localidades son evaluados

considerando diferentes aspectos que involucran la interacción entre la planta y el clima, lo que permite evaluar la respuesta de las plantas mediante la identificación de variables climáticas que condicionan su distribución en nuevos ambientes diferentes a los suyos (Rehfeldt, 2006; Rehfeldt *et al.*, 2009; Vitasse *et al.*, 2009).

Abies religiosa (H.B.K.) Schltdl. *et* Cham., conocida como oyamel, se distribuye en México a lo largo del eje volcánico transversal entre los 2,400 y 3,600 m de altitud, dominante en sus zonas de distribución (Sáenz-Romero *et al.*, 2012). La especie ha sido señalada como altamente sensible a factores de estrés (Alvarado-Rosales y Hernández-Tejeda, 2002); lo que podría amenazarla bajo los escenarios de cambios ambientales.

Este trabajo consta de tres objetivos. El primero a evaluar es el efecto altitudinal en atributos adaptativos de plantas de tres poblaciones de *A. Religiosa*, recolectadas en tres procedencias, y establecidas en tres diferentes sitios del cerro Tláloc, dentro de un gradiente altitudinal. En este primer estudio se planteó la hipótesis de que las plantas de *Abies religiosa* procedentes de bajas altitudes presentan menor resistencia a heladas. El segundo objetivo es, determinar el daño foliar que pueden llegar a sufrir las plantas de *Abies religiosa* bajo condiciones de estrés hídrico y bajas temperaturas en plantas procedentes de diferentes altitudes en el Cerro Tláloc, Texcoco, Méx. En este caso se partió de la hipótesis de que el estrés por sequía afecta la resistencia a las bajas temperaturas de las plantas de *Abies religiosa* procedentes de diferentes altitudes y que la resistencia al frío varía como medida de adaptación al

ambiente. Finalmente el tercer objetivo consistió en determinar el efecto de la fertilización con potasio en la tolerancia a bajas temperaturas bajo condiciones controladas en plantas de *A. religiosa* de un año de edad procedentes de diferentes elevaciones dentro de un gradiente altitudinal en el Cerro Tláloc, Texcoco, Méx. Para este estudio se planteó la hipótesis de que plantas de *A. religiosa* con alta concentración de potasio en sus tejidos presentan mayor resistencia a heladas; particularmente las plantas procedentes de altitudes mayores, mejor adaptadas a bajas temperaturas.

El estudio de estos atributos es relevante para conocer el grado de variación adaptativa dentro y entre poblaciones consideradas dentro de un amplio gradiente altitudinal (Sáenz-Romero & Tapia-Olivares, 2008; Rehfeldt *et al.*, 2012), información importante para decidir el movimiento de semilla (a través de reforestaciones con plantas de diferentes orígenes), respecto a la elevación, en los programas de conservación y reforestación de la especie ante el calentamiento global.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la respuesta a bajas temperaturas en plantas de *Abies religiosa* en diferentes niveles altitudinales en el cerro Tláloc y bajo condiciones controladas cuando este factor se combina con otro tipo de estrés abiótico.

Objetivos específicos

- Analizar variación adaptativa altitudinal de tres poblaciones de *Abies religiosa* establecidas en tres elevaciones.
- Conocer el efecto del potasio sobre la tolerancia de *Abies religiosa* a bajas temperaturas.
- Analizar el efecto del estrés hídrico y las bajas temperaturas en plantas de *Abies religiosa*.

Hipótesis

- Las plantas de *Abies religiosa* procedentes de bajas altitudes presentan menor resistencia a heladas.
- Las plantas de *Abies religiosa* fertilizadas con mayores dosis de potasio presentan mayor resistencia a bajas temperaturas.
- La interacción estrés hídrico-bajas temperaturas incrementa el daño en plantas de *Abies religiosa*.

Descripción de *Abies religiosa*

Abies religiosa es una especie monoica cuyos órganos sexuales aparecen junto con las yemas vegetativas durante el mes de diciembre, alcanzando su madurez en marzo y abril, meses en los que ocurre la polinización; y continuando su desarrollo hasta agosto y septiembre. La madurez sexual en individuos de esta especie se alcanza entre los 21-25 años, y llegan a tener una altura de 13-25 m y un diámetro cerca de los 30 cm, produciendo semilla de cada dos años aproximadamente (Madrigal, 1967).

Su distribución natural en nuestro país abarca los estados de Hidalgo, Puebla, Veracruz, Michoacán, Jalisco, Morelos, Tlaxcala, Guerrero, México y la Ciudad de México en un rango altitudinal de los 2,100 a los 3,600 msnm, en ambientes con una temperatura media anual entre los 7 y 15° C, con una precipitación media anual de 1,000 mm y suelos volcánico del tipo andesitas, basaltos y riolitas (Martínez, 1963).

El principal uso que se le da al oyamel es como árbol de navidad, su follaje es utilizado para hacer adornos en ceremonias religiosas, y dado que su madera no es de muy buena calidad se recomienda para fabricar papel ya que la pulpa es de calidad superior. Además, se utiliza para la manufactura de cajas, puertas, marcos, techos interiores y de postes para la instalación de cableado eléctrico (Conabio-Pronare, 2006)

Como madera aserrada se utiliza para la fabricación de cajas, puertas, marcos, techos interiores, postes, cercas y palos de escoba, entre otros. (Mayen, 1987), además de ser utilizada para la construcción de casas, su

corteza es utilizada para hacer carbón. Los bosques de *A. religiosa* satisfacen también funciones de recreación y protección, albergando una gran diversidad biológica y sirviendo como zonas de captación de agua (Manzanilla, 1974).

Ubicación del Cerro Tláloc

El Cerro Tláloc se encuentra ubicado en la región fisiográfica conocida como Sierra Nevada, misma que separa las cuencas de México y Puebla, en las inmediaciones del Estado de México, Puebla y Tlaxcala entre los paralelos 19°26'12.5" y 19°26'27" N. y los meridianos 98° 45' 26.2" y 98° 45' 54" O. Esta sierra es volcánica contando con estratovolcanes y está orientada de norte a sur. Uno de los volcanes extintos de esta sierra es el Cerro Tláloc, presentando una altura máxima de 4,120 msnm y sus laderas presentan graves problemas de erosión (INEGI, 2001 y González, 2005).

LITERATURA CITADA

- Ahmad, I., and Maathuis, F. J. 2014. Cellular and tissue distribution of potassium: physiological relevance, mechanisms and regulation. *Journal of plant physiology*, 171(9), 708-714.
- Allen, D.J., and D.R. Ort. 2001. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. *Trends in Plant Science* 6(1): 36-42.
- Alvarado-Rosales, D., and T. Hernández-Tejeda. 2002. Decline of sacred fir in the Desierto de los Leones National Park. *In: Urban Air Pollution and Forests*. Springer, New York. Pp: 243-260.
- Barton, A. M., and J.A. Teeri. 1993. The ecology of elevational positions in plants: drought resistance in five montane pine species in southeastern Arizona. *American Journal of Botany* 80(1): 15-25.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Diversidad-Programa Nacional de Reforestación (Conabio-Pronare). 2006. Sistema de Información para la Reforestación (SIRE). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad-Programa Nacional de Reforestación. Paquetes tecnológicos. Especies varias. http://148.223.105.188:2222/gif/snif_portal/index.php?option=com_content&task=view&id=23&Itemid=24 (octubre a noviembre de 2009).
- Demidchik, V. 2014. Mechanisms and physiological roles of K⁺ efflux from root cells. *Journal of plant physiology*, 171(9), 696-707.

- González R., E. M. 2005. Caracterización espacial de la declinación forestal del oyamel *Abies religiosa* en el Desierto de los Leones. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados. 117 p.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 2001. Síntesis de Información Geográfica del Estado de México. México. 139 p.
- Kratsch, H. A., and Wise, R.R. 2000. The ultrastructure of chilling stress. *Plant, Cell & Environment* 23(4): 337-350.
- Levitt, J. 1980. *Responses of plants to environmental stresses*. Volume II. *Water, radiation, salt, and other stresses* (Ed. 2). Academic Press. New York.
- Madrigal S., X. 1967. Contribución al conocimiento de la ecología de los bosques de oyamel (*Abies religiosa* (H.B.K.) Schl. et Cham.) en el Valle de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. Boletín Técnico No. 18. México, D. F. 94 p.
- Martínez, M. 1963. Las Pináceas Mexicanas. Universidad Nacional Autónoma de México. 3ª ed. México, D.F. 400 p.
- Manzanilla, H. 1974. Investigaciones epidométricas y silvícolas en bosques mexicanos de *Abies religiosa*. Dirección General de Información y Relaciones Públicas de la SAG. México. 165 p.
- Mayen, L. 1987. Evaluación de los efectos de tres tipos de agua en el tiempo y porcentaje de germinación de semillas de oyamel (*Abies religiosa*). Tesis profesional (Ing. Agrícola). FES-Cuautitlán. UNAM. México. 62 p.

- Neuner, G., and Beikircher, B. 2010. Critically reduced frost resistance of *Picea abies* during sprouting could be linked to cytological changes. *Protoplasma*, 243(1-4), 145-152.
- Nilsen E.T., Orcutte D.M. 1996. Phytohormones and plant responses to stress, in: Nilsen E.T., Orcutte D.M. (Eds.), *Physiology of Plant under Stress: Abiotic Factors*, John Wiley and Sons, New York, pp. 183–198.
- Nishida, I., and Murata, N. 1996. Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: the crucial contribution of membrane lipids. *Annual Review of Plant Biology*, 47(1), 541-568.
- Peñuelas, J., Sabaté, S., Filella, I., y Gracia, C. 2004. *Efectos del cambio climático sobre los ecosistemas terrestres: observación, experimentación y simulación*. Ecología del Bosque Mediterráneo en un Mundo Cambiante. Naturaleza y Parques Nacionales. Ministerio de Medio Ambiente, pp: 425-460.
- Rehfeldt, G.E. 2000. *Genes, Climate and Wood*. The 2000 Leslie L. Schaffer Lectureship in Forest Science. The University of British Columbia, Vancouver, B.C. 15 p.
- Rehfeldt, G. E. 2006. A spline model of climate for the western United States. General Technical Report RMRS-GTR 165. USDA, Forest Service, Fort Collins, 21 p.
- Rehfeldt, G. E., Ferguson, D. E., and Crookston, N. L. 2009. Aspen, climate, and sudden decline in western USA. *Forest Ecology and Management*, 258(11): 2353-2364.

- Rehfeldt, G.E., Crookston, N.L., Sáenz-Romero, C., and Campbell, E. 2012. North American vegetation analysis for land use planning in a changing climate: a statistical solution to large classification problems. *Ecological Applications* 22 (1): 119–141.
- Rehfeldt, G.E, Jaquish, B.C., López-Upton, J., Sáenz-Romero, C., St Clair, J.B., Leites, L.P., and Joyce, D.G. 2014. Comparative genetic responses to climate for the varieties of *Pinus ponderosa* and *Pseudotsuga menziesii*: Realized climate niches. *Forest Ecology and Management*, 324: 126–137.
- Sáenz-Romero, C., and Tapia-Olivares, B. L. 2008. Genetic variation in frost damage and seed zone delineation within an altitudinal transect of *Pinus devoniana* (*P. michoacana*) in Mexico. *Silvae Genetica*, 57(3), 165.
- Sáenz-Romero, C., Rehfeldt, G. E., Crookston, N. L., Duval, P., St-Amant, R., Beaulieu, J., and Richardson, B. A. 2010. Spline models of contemporary, 2030, 2060 and 2090 climates for Mexico and their use in understanding climate-change impacts on the vegetation. *Climatic Change*, 102(3-4): 595-623.
- Sáenz-Romero, C., Rehfeldt, G. E., Duval, P., and Lindig-Cisneros, R. A. 2012. *Abies religiosa* habitat prediction in climatic change scenarios and implications for monarch butterfly conservation in Mexico. *Forest Ecology and Management*, 275: 98-106.
- Sakai, A., and Larcher, W. 1987. *Frost survival of plants. Responses and adaptation to freezing stress*. Ecological Studies Volume 62. Springer-Verlag. Berlin.

- Sutinen, M.L., Palta, J.P., and Reich, P.B. 1992. Seasonal differences in freezing stress resistance of needles of *Pinus nigra* and *Pinus resinosa*: evaluation of the electrolyte leakage method. *Tree Physiology*, 11(3): 241-254.
- Taschler, D., Beikircher, B., and Neuner, G. 2004. Frost resistance and ice nucleation in leaves of five woody timberline species measured in situ during shoot expansion. *Tree Physiology*, 24(3): 331-337
- Vitasse, Y., Delzon, S., Bresson, C. C., Michalet, R., and Kremer, A. 2009. Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. *Canadian Journal of Forest Research*, 39(7), 1259-1269.
- Viveros-Viveros, H., Sáenz-Romero, C., López-Upton, J., and Vargas-Hernández, J.J. 2007. Growth and frost damage variation among *Pinus pseudostrobus*, *P. montezumae* and *P. hartwegii* tested in Michoacán, México. *Forest Ecology and Management*, 253(1): 81-88.
- Zörb, C., Senbayram, M., & Peiter, E. 2014. Potassium in agriculture—status and perspectives. *Journal of Plant Physiology*, 171(9): 656-669.

Capítulo II

Comportamiento de tres procedencias de *Abies religiosa* dentro de un gradiente altitudinal en el cerro Tláloc

RESUMEN

Abies religiosa es una especie muy sensible ante los diversos factores de estrés, por lo que se espera que pueda ser amenazada por los diferentes escenarios del cambio climático dentro de los que se prevén cambios en la temperatura y el porcentaje de humedad anual. Por lo anterior es necesario realizar diversos estudios para encontrar estrategias que permitan preservar la especie y con ella los diferentes servicios que ofrecen los bosques donde se encuentra. En el presente trabajo se evaluó la supervivencia, el daño foliar ocasionado por frío, el diámetro y la altura y el desarrollo de la yema apical de tres procedencias de oyamel (2,850, 3,060 y 3,239 m) en tres sitios diferentes en altitud dentro de un transecto altitudinal en el Cerro Tláloc (3,100, 3,200 y 3,300 m). No se encontraron diferencias significativas en supervivencia y en daño en ninguno de los meses mientras duró el estudio. Sin embargo; las plantas más afectadas en estas variables fueron las del sitio más bajo. La altura tuvo efectos significativos sólo por el sitio de plantación, mientras que en el diámetro sólo se presentaron diferencias entre procedencia durante el primer año del estudio. No se encontraron efectos diferencias significativos en el desarrollo de la yema ni por procedencia ni por sitio de plantación.

Palabras clave: altura, daño foliar, diámetro, supervivencia, yema apical

INTRODUCCIÓN

Abies religiosa (H.B.K.) Schltdl. et Cham., conocida como oyamel, se distribuye en México a lo largo del eje volcánico transversal entre los 2400 y 3600 m de altitud, dominante en sus zonas de distribución (Sáenz-Romero *et al.*, 2012). Este árbol ha sido señalada como altamente sensible a factores de estrés (Alvarado-Rosales, and Hernández-Tejeda, 2002); lo que podría amenazarla bajo los escenarios de cambios ambientales. Se espera que el hábitat de las coníferas actuales en el eje Neovolcánico sea afectado por el incremento en temperatura, la disminución de la precipitación y la emisión de gases con efecto invernadero, repercutiendo a su vez dentro de gradientes altitudinales donde las plantas tienden a diferenciarse genéticamente; particularmente en caracteres adaptativos como el crecimiento y el patrón de elongación de la yema (Sáenz-Romero *et al.*, 2010; Rehfeldt *et al.*, 2012).

El estudio de estos atributos es relevante para conocer el grado de variación adaptativa dentro y entre poblaciones consideradas dentro de un amplio gradiente altitudinal (Sáenz-Romero and Tapia-Olivares, 2008; Rehfeldt *et al.*, 2012), información importante para decidir el movimiento de semilla (a través de reforestar con plantas de diferentes orígenes), respecto a la elevación, en los programas de conservación y reforestación de la especie ante el calentamiento global.

Una manera de analizar la variación en los atributos señalados es a través del establecimiento de ensayos de procedencias, donde individuos de una misma especie provenientes de diferentes localidades son plantados en una

zona que se ubica en una altitud más elevada a la de su origen o a una altitud mayor de la que presenta actualmente su distribución natural, con la intención de evaluar su capacidad de supervivencia ante el aumento de la temperatura (White *et al.*, 2007). Estos ensayos involucran la interacción entre la planta y el clima, lo que permite evaluar la respuesta de las plantas mediante la identificación de variables climáticas que condicionan su distribución en nuevos ambientes diferentes a los suyos (Rehfeldt, 2006; Rehfeldt *et al.*, 2009; Vitasse *et al.*, 2009).

Este trabajo tiene el objetivo de evaluar el efecto altitudinal en atributos adaptativos de plantas de tres poblaciones de *A. religiosa* establecidas en ensayos de procedencias, en tres diferentes sitios del cerro Tláloc, dentro de un gradiente altitudinal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio. El cerro Tláloc está ubicado en la región fisiográfica conocida como Sierra Nevada misma que separa las cuencas de México y Puebla, cuya cima se localiza en los límites del Estado de México, Puebla y Tlaxcala entre los paralelos 19°26'12.5" y 19°26'27" N. y los meridianos 98° 45' 26.2" y 98° 45' 54" O., con una altura de 4,120 m y sus laderas presentan graves problemas de erosión (Palma, 1996). Para esta zona, se han reportado seis tipos de vegetación: encinar arbustivo, bosque de encino, bosque mixto, bosque de oyamel ocurriendo a una elevación de 2,800 m, bosque de pino y pastizal alpino (Sánchez y López, 2003). Para establecer los ensayos de *A. religiosa* en este cerro, fueron seleccionados tres sitios con exposición oeste y

con tres diferentes elevaciones. Entre los sitios, la cobertura del arbolado adulto de oyamel, presencia de vegetación arbustiva, regeneración natural y condiciones ambientales varía considerablemente (Cuadro 1).

Cuadro 2.1. Descripción de los sitios seleccionados para establecer las plantaciones de *Abies religiosa* en el experimento.

Sitio	Elevación (m)	Coordenadas	R.N. (#plántulas promedio/m ²)	Temp. (° C) min.-max.	Humedad (%) min.-máx.	# Árboles (>20m)	V.A.
1	3 100	N 19° 26' 29" O 98° 45' 34"	0.25	0.1 - 27.4	7.3 – 99.8	25	Alta
2	3 200	N 19° 20' 28" O 98° 45' 24"	2.3			46	Moderada
3	3 300	N 19° 26' 23" O 98° 45' 07"	36.125	-1.3 - 24.5	4.9 – 100	37	Baja

R.N.: Regeneración natural de *Abies religiosa*; **Temp.:** Temperatura y **Humedad:** Humedad relativa (promedio anual, mínima y máxima), V. A. = Vegetación arbustiva

Material vegetal. Se utilizó planta de *A. religiosa* de 12 meses de edad donada por PROBOSQUE, procedente de tres sitios de la región oeste Estado de México con altitud variable (Procedencia A= 2850 m, B= 3060 m y C= 3239 m). Los arbolitos se mantuvieron en las instalaciones del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, en Texcoco, durante un mes y posteriormente trasladadas a los tres sitios de plantación. Previo a la plantación, a cada planta se le registró la altura y el diámetro.

Establecimiento de plantaciones. En julio de 2013, en cada sitio seleccionado, se estableció la plantación de oyamel bajo un diseño de bloques completos al azar,

cada bloque con 30 plantas por procedencia, a distancia de 3 m entre planta y planta.

Variables evaluadas. A partir del mes de octubre del 2013 y hasta octubre del 2015 se realizaron mediciones mensuales de supervivencia donde 0= planta muerta y 1= planta viva. Daño foliar causado por frío y fenología de la yema apical se evaluaron mensualmente a partir de noviembre del 2014 y hasta octubre del 2015. Para el daño foliar (presencia de tejido necrótico en acículas) se utilizó un índice en un intervalo de 0-5; donde 0= sin daño, 1= 1-25%, 2= 26-50%, 3= 51-75%, 4= 76-99% y 5= 100% (planta muerta). Se calificó la fenología en las diferentes fechas de evaluación con un índice de 0 y 1, donde 0= yema en latencia y 1= yema en desarrollo. El crecimiento en altura y diámetro (en la base del tallo) se registró al momento de realizar la plantación (tiempo cero, Julio 2013) y a los 14 y 25 meses de establecidas las plantaciones.

Durante el experimento, la temperatura y humedad ambiental de los sitios 1 y 3 se registró cada hora mediante el dispositivo HOBOware® data logger, modelo U12.

Análisis estadísticos. Se realizó análisis de varianza del crecimiento acumulado en las alturas de las tres edades (0, 14 y 25 meses), diámetro basal de las plantas, daño foliar, fenología de las yemas y supervivencia de la planta. Se utilizó el procedimiento MIXED de SAS (SAS, 2015), considerando cada sitio y cada procedencia como efecto fijo. En modelo estadístico utilizado fue:

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + B(S)_{ij} + P_k + SP_{ik} + BP_{jkl} + E_{ijkl}$$

Donde: Y_{ijkl} = es la variable de respuesta de la l -ésima planta de la k -ésima procedencia en el j -ésimo bloque en el i -ésimo sitio. μ = es la media general. S_i = efecto del i -ésimo sitio, $B(S)_{ij}$ = efecto del bloque dentro del sitio, P_k = efecto de la k -ésima procedencia, SP_{ik} = efecto del i -ésimo sitio con la k -ésima procedencia, $B(P)_{jkl}$ = efecto de la interacción de la k -ésima procedencia y del j -ésimo bloque anidado en sitio, y E_{ijkl} = error experimental. i = Sitio 1, 2 y 3; j = Bloque 1 y 2, k = Procedencia 1, 2, 3, y l = Planta 1, 2, ... 30.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Supervivencia y daño foliar

Tanto supervivencia como daño foliar tuvieron efectos significativos en todos los meses que duró el estudio. Al final del experimento la elevación afectó la supervivencia de las plantas y el daño foliar, particularmente durante la temporada de heladas. Aunque la supervivencia de la planta en las tres altitudes evaluadas se mantuvo por arriba del 80 %, ésta fue menos afectada en las plantas establecidas en altitudes superiores a los 3,200 m (sitio 2 y 3), las cuales tuvieron 6 % mayor supervivencia que las de la altitud inferior (sitio 1, 3,100 m) durante los dos años (Figura 1). Resultados con tendencias similares fueron reportados en plantas de *Pinus pseudostrobus* Lindl. establecidas a diferentes altitudes (Viveros-Viveros *et al.*, 2006).

Cuadro 2.2. Análisis de varianza del incremento en altura y diámetro de plantas de *Abies religiosa* por sitio y por procedencia.

	Efecto	Grados de libertad	Pr > F (2014)	Pr > F (2015)
Altura	Sitio	2	0.0182	0.0146
	Procedencia	2	0.1398	0.1885
	Sitio * Procedencia	4	0.4120	0.5965
Diámetro	Sitio	2	0.3603	0.3086
	Procedencia	2	0.0452	0.9774
	Sitio * Procedencia	4	0.8848	0.2442
Fenología	Sitio	2	1.26	0.3996
	Procedencia	2	1.07	0.4000
	Sitio * Procedencia	4	2.09	0.2006

En el primer año se presentaron dos momentos en el decremento de supervivencia; al inicio de la primavera (marzo-14), periodo en el que se presentó un fenómeno de nevada, y al inicio de la temporada invernal (octubre-14). Ambas fechas dentro de temporada de heladas, por lo que se considera que la exposición a heladas y la disponibilidad de agua probablemente influyeron en la supervivencia de *A. religiosa* entre los sitios, debido a que son los factores que más varían a través del gradiente altitudinal de montaña. Se sabe que en la montaña la humedad en el suelo incrementa con la altitud (Barton and Teeri, 1993), como lo reportado en un estudio con *P. devoniana* Lindl., *P. pseudostrobus* Lindl., *P. patula* Schltl. & Cham. y *P. hartwegii* Lindl. donde la humedad aumenta de los 3,100 a los 3300 m.s.n.m. (Sáenz-Romero, 2011). Aunque en este estudio no se registró la humedad del suelo, con base en el

nivel de regeneración natural observado, se podría asumir que probablemente existen diferencias de humedad en los sitios, y quizás es mayor hacia el sitio de mayor elevación (Cuadro 1). Lo anterior podría explicar en parte el mejor porcentaje de supervivencia en los sitios de mayor altitud y presencia de alta regeneración natural, en contraste con el de altitud inferior.

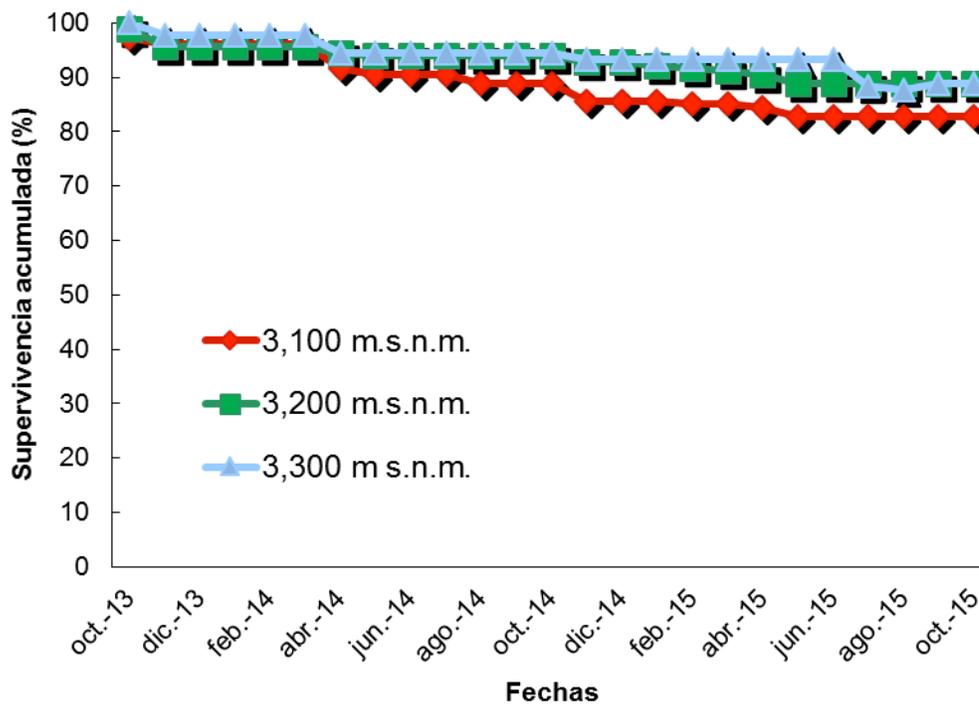


Figura 2.1. Porcentaje de supervivencia acumulada de las plantas de *Abies religiosa* de un año de edad. Sitio 1= 3,100 m.s.n.m.; 2= 3,200 m.s.n.m. y 3= 3,300 m s.n.m.

Para el daño foliar, por heladas, no se encontraron diferencias significativas y los resultados, los cuales mostraron la misma tendencia que la supervivencia. Durante el experimento el follaje con mayor daño se presentó en las plantas establecidas en el sitio 1 y para el segundo semestre del 2015 las plantas del sitio 2 alcanzaron el mismo daño; con el menor daño en el sitio 3 (Figura 2). Esto

indica la adaptación de las plantas que se presentó en las condiciones presentes en el sitio 1 si tomamos en cuenta que las plantas que se encuentran a una menor altitud tienden a tener un mayor crecimiento (Rehfeldt, 1991; Vitasse *et al.*, 2009) es de esperarse que sean más susceptibles a ser afectadas por bajas temperaturas en comparación con las plantas que crecen en elevaciones más altas las cuales disminuyen su crecimiento como una estrategia de supervivencia ante los efectos del clima.

El sitio más elevado presentó el menor porcentaje de plantas con síntomas de daño durante todo el estudio (Figura 2); estos resultados por sitio coinciden con los reportados por Saenz-Romero and Tapia-Olivares, (2008) y Castellanos-Acuña (2013) en *P. devoniana* donde las plantas de esta especie que se encuentran en una menor altitud presentaron una mayor susceptibilidad a ser dañadas por bajas temperaturas en comparación con las que se encontraban en elevaciones mayores independientemente de la procedencia a la que pertenezcan.

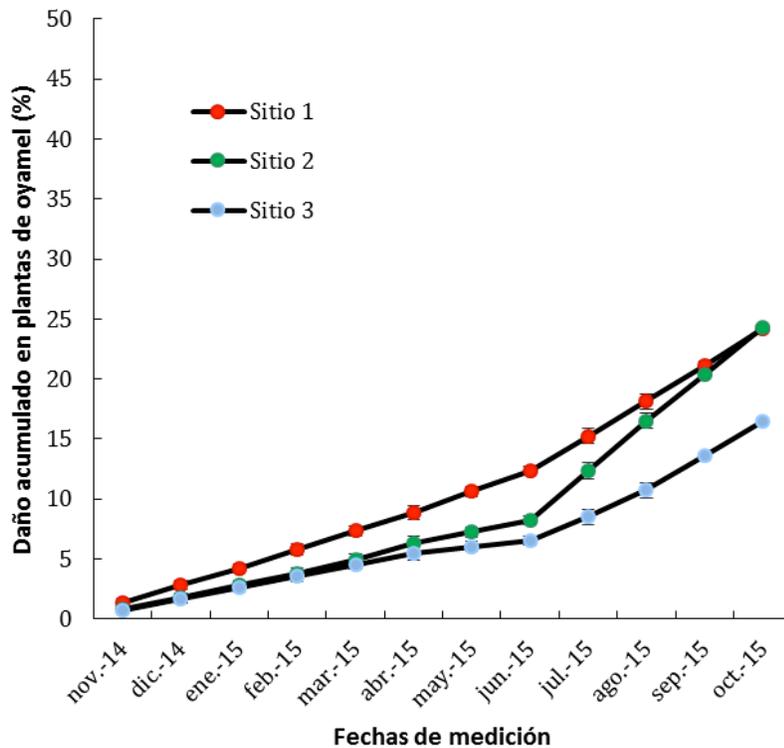


Figura 2.2. Porcentaje de daño acumulado durante el experimento por sitio en plantas de *Abies religiosa*. Sitio 1= 3,100, 2= 3,200 y 3= 3,300 m s.n.m.

Por otro lado, la procedencia no tuvo efecto sobre la supervivencia y el daño foliar (Figura 1 y 2); la similitud de los datos obtenidos por procedencia en estos dos parámetros, independientemente del sitio de plantación, puede indicar que no hay diferenciación clara en los caracteres adaptativos de los genotipos probados y plantados. Probablemente si se incrementa la diferencia altitudinal entre sitios probados en este experimento, se podrían presentar diferencias; ya que se ha reportado que en especies de amplia distribución natural, la adaptación local está presente y se refleja en la diferenciación adaptativa sobre todo cuando entre ellos hay climas contrastantes (Torang *et al.*, 2015). Así se

demuestra en estudios como el de Saenz-Romero and Tapia-Olivares (2008), donde los daños para las diferentes procedencias de *P. devoniana* fueron estructurados como un patrón clinal altitudinal observando que por un incremento de cada 100 m de las procedencias en altitud el daño por bajas temperaturas disminuía un 5.2%.

Efectos de crecimiento en altura y diámetro

El sitio tuvo un efecto significativo en el crecimiento en altura de las plantas ya que en el sitio de menor elevación las plantas de *Abies religiosa* presentaron un mayor altura tanto en el primer como el segundo año de medición independientemente de su procedencia (2014: $Pr > F=0.0182$; 2015: $Pr > F=0.0146$; $p<0.05$). La diferencia máxima entre las plantas del sitio 1 fue >8 cm en comparación con las del sitio 3 (Figura 3). En cambio, para la procedencia de las plantas no hubo diferencias significativas independientemente del sitio en el que se encontraran las plantas de oyamel (2014: $Pr > F=0.1398$; 2015: $Pr > F=0.1885$; $p<0.05$) (Cuadro 2). Tampoco se detectó una interacción significativa entre las procedencias y el sitio de plantación, esto es que las tres procedencias crecieron más en altura en el sitio de menor elevación.

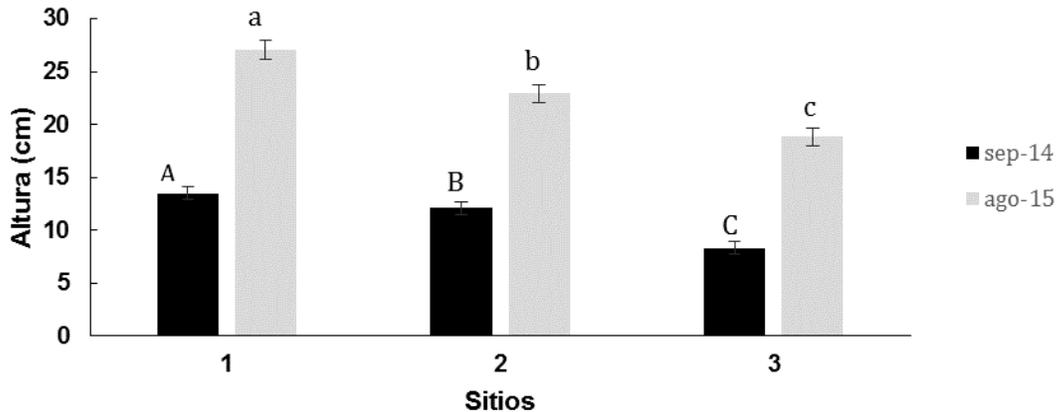


Figura 2.3. Alturas de plantas de *Abies religiosa* en sitios de diferentes elevaciones. Para una fecha de evaluación, barras con letras diferentes indican diferencias significativas entre procedencias ($p=0.05$).

En cuanto al crecimiento en diámetro durante el primer año de medición hubo diferencias significativas entre procedencias (2014: $Pr > F= 0.0452$; $p<0.05$), ya que se presentó un mayor incremento en las plantas de la procedencia de mayor altitud, sin embargo esto cambió para el segundo año de medición, donde no hubo diferencias significativas en cuanto al diámetro entre las procedencias (2015: $Pr > F= 0.9774$; $p<0.05$) (Figura 4). No se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los sitios de plantación en ninguna de las dos fechas de medición (2014: $Pr > F=0.3603$; 2015: $Pr > F=0.3086$; $p<0.05$) (Cuadro 2). Tampoco se detecta una interacción significativa entre las procedencias y el sitio de plantación, esto indica un comportamiento similar entre las procedencias en los tres sitios.

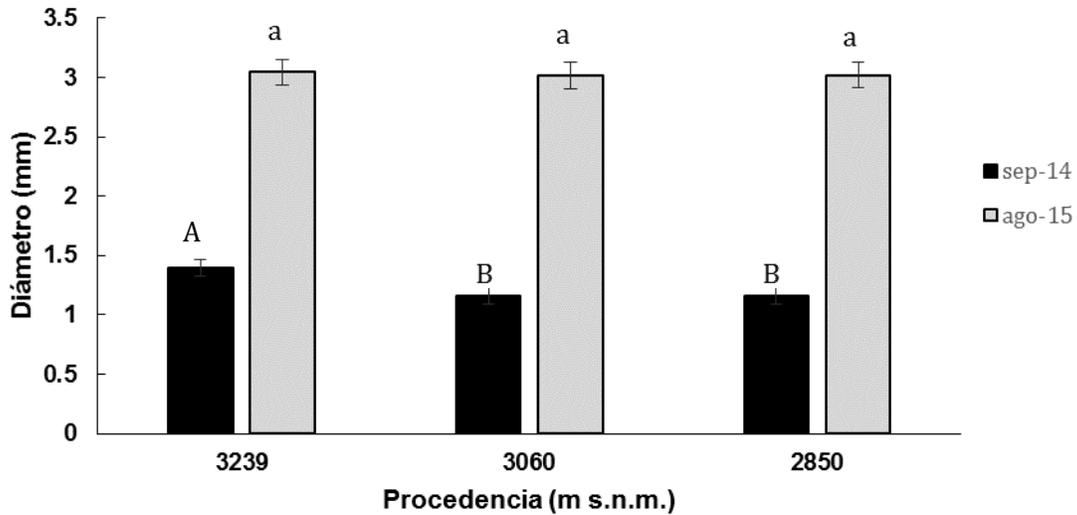
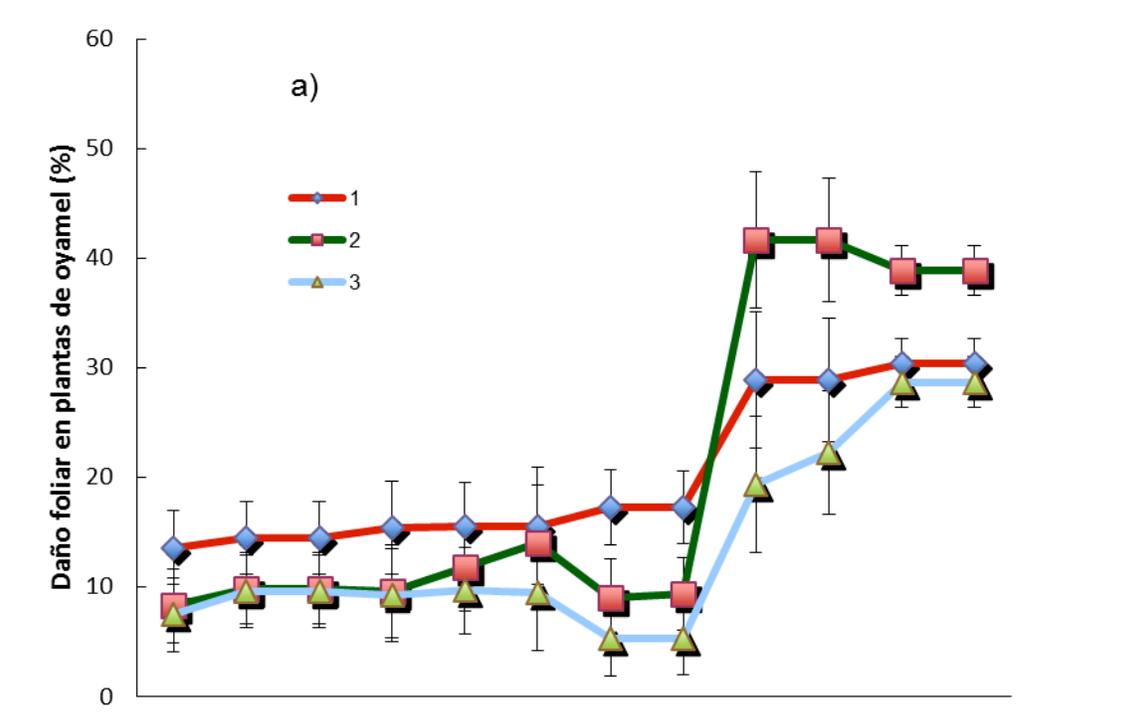


Figura 2.4. Diámetro de plantas *Abies religiosa* de diferentes procedencias. Para una fecha de evaluación, barras con letras diferentes indican diferencias significativas al 0.05% entre procedencias.

Los resultados obtenidos en el presente estudio coinciden con los obtenidos para *Pinus devoniana* en un ensayo de procedencias dentro de un gradiente altitudinal, en el que el mayor crecimiento en las plantas se obtuvo en las que se ubicaron dentro del sitio de menor altitud en comparación con las de sitios de mayor altitud (Rehfeldt, 2000; Aguilar-Aguilar, 2006; Castellanos-Acuña, 2013). Estas diferencias encontradas en cuanto al sitio de plantación se explican porque a lo largo de un gradiente altitudinal, los árboles van adaptándose a las diferentes condiciones ambientales haciendo que las poblaciones de zonas más bajas tengan un mayor potencial de crecimiento al estar genéticamente acondicionadas y así poder aprovechar al máximo las condiciones de temperatura presentes en el sitio donde habitan (Rehfeldt, 2000). En cambio las poblaciones establecidas en zonas más altas reducen su tasa de crecimiento evitando así los daños por heladas tardías o heladas tempranas como parte de

las diferentes estrategias adaptativas que tienen las especies que habitan las zonas de mayor altitud (Rehfeldt, 1991, Vitasse *et al.*, 2009). A su vez, el crecimiento puede ser un fuerte indicador de supervivencia (Stancioiu and O'hara, 2006; Coomes and Allen 2007) que mostraría que la planta tiene muchas posibilidades de establecerse y llegar a la edad adulta. Los datos indican que las diferentes procedencias crecen adecuadamente a la fecha, lo que estaría indicando que las plantas se han adaptado al ambiente presente en el sitio en cual se encuentran. Al parecer, los individuos de esta especie presentan una plasticidad fenotípica al estarse adaptando a las condiciones ambientales que presenta el sitio donde fueron establecidas (Lynn and Waldren, 2001) o presentan una alta diversidad genética que les permite desarrollar adaptaciones para el medio en el que se encuentran (Hosius *et al.*, 2006; Schaberg *et al.*, 2008).



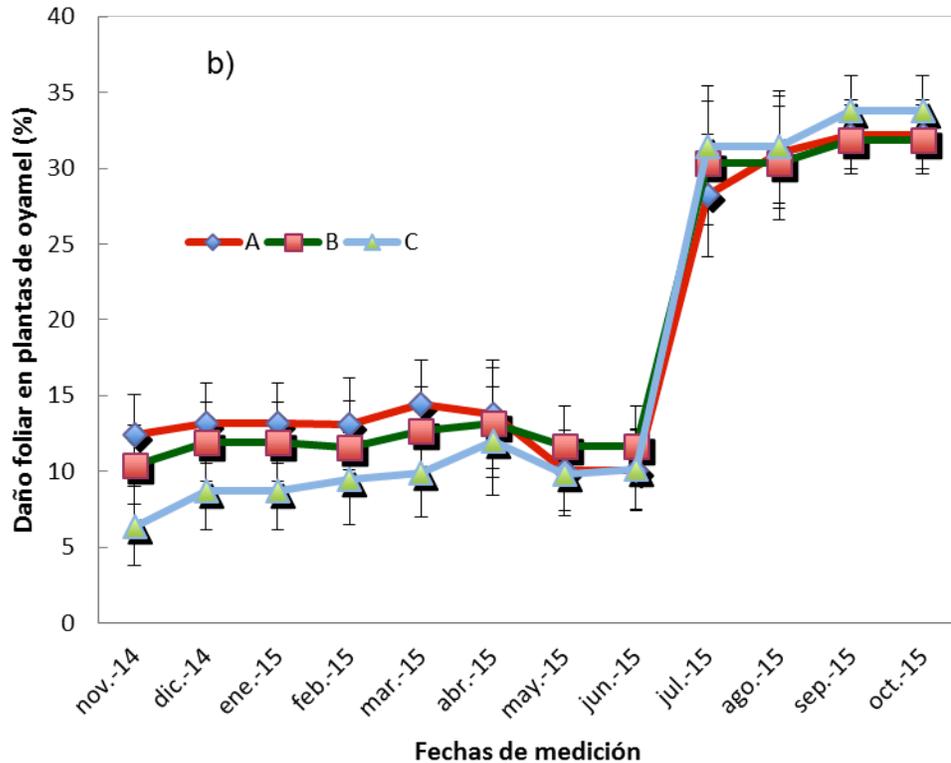


Figura 2.5. Porcentaje de daño por procedencia en planta de *Abies religiosa*. Sitios 1= 3,100; 2= 3,200 y 3= 3,300 m s.n.m. y Procedencia A= 2,850; B= 3,060 y C= 3,239 m s.n.m.

Fenología vegetativa

Las plantas procedentes de altitudes más bajas mantuvieron un mayor desarrollo en su yema apical, cosa contraria a las plantas de la procedencia más elevada donde su porcentaje de desarrollo siempre fue el más bajo fuera de la estación de crecimiento (Figura 6a). Todas las plantas alcanzaron su máximo desarrollo entre abril y septiembre independientemente de su procedencia, es decir estuvieron en crecimiento. Por otro lado, el análisis por sitio de plantación (Figura 6b) mostró que todas las plantas establecidas en el sitio más bajo mantuvieron un mayor porcentaje de desarrollo de la yema apical en el periodo de mayor frío, contrario a las establecidas en el sitio más elevado, a excepción

del mes de marzo donde se observa un ligero incremento del desarrollo lo que se atribuye a que en este mes se presentó una nevada. Este último fenómeno pudo ser la causa del incremento del porcentaje de desarrollo de las yemas ya que la fase de latencia pudo ser rota por bajas temperaturas y el subsecuente incremento de temperatura en primavera (Chuine and Beaubien, 2001). A pesar de lo antes mencionado, no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la procedencia de las plantas o al sitio de plantación dentro de un mismo mes en los cuales duró el presente estudio.

Esto reafirma, como se mencionó arriba, que las condiciones de los diferentes sitios de estudio pudieron no ser lo suficientemente diferentes como para inducir modificaciones en la fenología de la yema y detectar posible plasticidad fenotípica que funcionaría como un mecanismo de adaptación ante la heterogeneidad del medio (Franiel y Wieski, 2005; Chevin *et al.*, 2010). Se sabe que la fenología es un indicador morfológico de plasticidad ante los cambios que pueden presentarse en el ambiente y, a su vez, puede indicar que existe una amplia diferenciación genética para diferentes poblaciones de una misma especie pudiendo influir en la distribución y abundancia de la misma, así como en aspectos relacionados con la resistencia a frío lo que convierte a esta variable en un buen indicador en estudios relacionados con el cambio climático (Duchesneau *et al.*, 2001; Chuine and Beaubien, 2001).

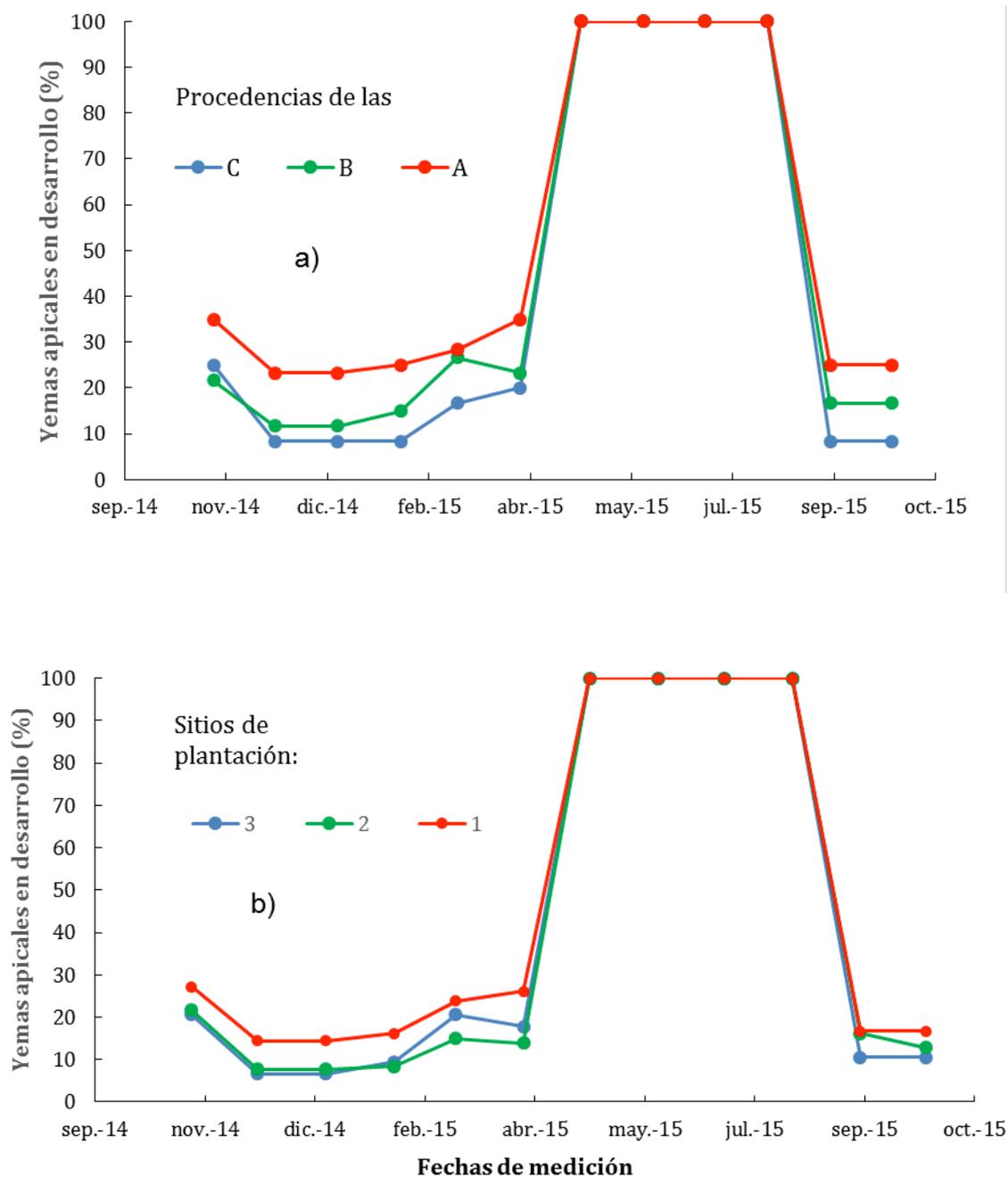


Figura 2.6. Porcentaje de desarrollo de la yema apical en plantas de *Abies religiosa* por procedencia y sitio de plantación. Sitios 1= 3,100; 2= 3,200 y 3= 3,300 m s.n.m. y Procedencia A= 2,850; B= 3,060 y C= 3,239 m s.n.m.

Aunque el presente estudio se realizó en gradientes altitudinales de 100 metros, 200 m entre los extremos, y no se encontraron diferencias significativas en fenología de yema, otros estudios realizados con pinos han encontrado variación entre sitios con diferencia de elevación entre sitios (Viveros-Viveros, 2006). Lo anterior demuestra la falta de diferenciación adaptativa de los genotipos probados a pesar de estar separadas por 389 m. Sin embargo, se concluye que es necesario realizar este experimento con mayor diferencia en elevación entre sitios para confirmar estos resultados. Además, para detectar con mayor precisión cambios en el desarrollo, crecimiento y daño de yema apical de *A. religiosa* por bajas temperatura, se sugiere acortar los intervalos de evaluación en fechas cercanas a inicio y final de crecimiento para detectar diferencias en fenología y adaptación.

Partiendo de los estudios realizados sobre cambio climático, la migración asistida o la reforestación plantando materiales entre 200 m de elevación, en este caso, de *Abies religiosa* puede ser considerada como una estrategia para preservar la especie y los procesos ecológicos que se llevan a cabo en estos bosques, además de mezclar genotipos para favorecer la recombinación genética de materiales (Richardson *et al.*; 2009; Williams and Dumroese, 2013; Ruiz-Benito *et al.*; 2014)

CONCLUSIONES

Los genotipos de las tres procedencias probadas no mostraron variación en caracteres adaptativos a daño por condiciones de elevación.

Las plantas de las tres procedencias presentaron mayor mortalidad y daño en el sitio de menor altitud, pero su crecimiento en altura y diámetro fue mayor.

La fenología de yema apical mostró un mayor desarrollo en plantas del sitio de menor elevación independientemente de la procedencia de cada una de éstas.

LITERATURA CITADA

- Aguilar-Aguilar, S. 2006. Variación genética altitudinal entre procedencias de *Pinus devoniana* Lindl., evaluadas en un ensayo de corta duración. Tesis de Maestría, Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México.
- Alvarado-Rosales, D., and Hernández-Tejeda, T. 2002. Decline of sacred fir in the Desierto de los Leones National Park. In: *Urban Air Pollution and Forests* (pp. 243-260). Springer New York.
- Barton, A. M., and Teeri, J. A. 1993. The ecology of elevational positions in plants: drought resistance in five montane pine species in southeastern Arizona. *American journal of Botany*, 15-25.
- Castellanos-Acuña, D., Sáenz-Romero, C., Lindig-Cisneros, R. A., Sánchez-Vargas, N. M., Lobbit, P., y Montero-Castro, J. C. 2013. Variación altitudinal entre especies y procedencias de *Pinus pseudostrobus*, *P. devoniana* y *P. leiophylla*. Ensayo de vivero. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 19(3): 399-411.
- Chevin, L. M., Lande, R., and Mace, G. M. 2010. Adaptation, plasticity, and extinction in a changing environment: towards a predictive theory. *PLoS Biol*, 8(4), e1000357.
- Chuine, I., and Beaubien, E. G. 2001. Phenology is a major determinant of tree species range. *Ecology Letters*, 4(5): 500-510.

- Coomes, D. A., and Allen, R. B. 2007. Effects of size, competition and altitude on tree growth. *Journal of Ecology*, 95(5): 1084-1097.
- Duchesneau, R., Lesage, I., Messier, C., and Morin, H. 2001. Effects of light and intraspecific competition on growth and crown morphology of two size classes of understory balsam fir saplings. *Forest Ecology and Management*, 140(2): 215-225.
- Franiel, I., and Więski, K. 2005. Leaf features of silver birch (*Betula pendula* Roth). Variability within and between two populations (uncontaminated vs Pb-contaminated and Zn-contaminated site). *Trees*, 19(1), 81-88.
- Hosius, B., Leinemann, L., Konnert, M., and Bergmann, F., 2006. Genetic aspects of forestry in the Central Europe. *European Journal of Forest Research* 125, 407–417.
- Lynn, D. E., and Waldren, S. 2001. Morphological variation in populations of *Ranunculus repens* from the temporary limestone lakes (turloughs) in the west of Ireland. *Annals of Botany*, 87(1): 9-17.
- Palma, T. A. 1996. Tipología del uso forestal de la tierra de la región norte de la Sierra Nevada y su cartografía. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. 103 p.
- Rehfeldt, G. E. 1991. A model of genetic variation for *Pinus ponderosa* in the Inland Northwest (USA): applications in gene resource management. *Canadian Journal of Forest Research*, 21(10): 1491-1500.

- Rehfeldt, G. E. 2000. Genes, climate and wood. *Leslie L. Schaffer lectureship in Forest Science*. The University of British Columbia Vancouver, B.C., Canada. 15 p.
- Rehfeldt, G. E. 2006. A spline model of climate for the western United States. General Technical Report RMRS-GTR 165. USDA, Forest Service, Fort Collins. 21 p.
- Rehfeldt, G. E., Ferguson, D. E., and Crookston, N. L. 2009. Aspen, climate, and sudden decline in western USA. *Forest Ecology and Management*, 258(11): 2353-2364.
- Rehfeldt, G.E., Crookston, N.L., Sáenz-Romero, C., and Campbell, E. 2012. North American vegetation analysis for land use planning in a changing climate: a statistical solution to large classification problems. *Ecological Applications* 22 (1): 119–141.
- Richardson, D. M., Hellmann, J. J., McLachlan, J. S., Sax, D. F., Schwartz, M. W., Gonzalez, P., ... and Schneider, S. H. 2009. Multidimensional evaluation of managed relocation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(24): 9721-9724.
- Ruiz-Benito, P., Herrero, A., and Zavala, M. Á. 2014. Vulnerabilidad de los bosques Ibéricos frente al Cambio Climático: evaluación mediante modelos. *Revista Ecosistemas*, 22(3): 21-28.

- Sáenz-Romero, C., and Tapia-Olivares, B. L. 2008. Genetic variation in frost damage and seed zone delineation within an altitudinal transect of *Pinus devoniana* (*P. michoacana*) in Mexico. *Silvae Genetica*, 57(3): 165.
- Sáenz-Romero, C., Rehfeldt, G. E., Crookston, N. L., Duval, P., St-Amant, R., Beaulieu, J., and Richardson, B. A. 2010. Spline models of contemporary, 2030, 2060 and 2090 climates for Mexico and their use in understanding climate-change impacts on the vegetation. *Climatic Change*, 102(3-4): 595-623.
- Sáenz Romero, C. 2011. Guía para mover altitudinalmente semillas y plantas de *Pinus oocarpa*, *P. devoniana* (= *P. michocana*), *P. pseudostrobus*, *P. patula* y *P. hartwegii* para restauración ecológica, conservación, plantaciones comerciales, y adaptación al cambio climático. Grupo de Trabajo sobre Recursos Genéticos Forestales, Comisión Forestal de América de Norte (COFAN). CONAFOR. 6 p. (<http://www.fs.fed-us/global/nafc/genetics/activities.htm>).
- Sáenz-Romero, C., Rehfeldt, G. E., Duval, P., and Lindig-Cisneros, R. A. 2012. *Abies religiosa* habitat prediction in climatic change scenarios and implications for monarch butterfly conservation in Mexico. *Forest Ecology and Management*, 275, 98-106.
- Sánchez, G. A. and L. López M. 2003. Clasificación y ordenación de la vegetación del norte de la Sierra Nevada, a lo largo de un gradiente altitudinal. *Anales del Instituto de biología, Serie Botánica*, 74:47-71

- Schaberg, P.G., DeHayes, D.H., Hawley, G.J., and Nijensohn, S.E. 2008. Anthropogenic alterations of genetic diversity within tree populations: implications for forest ecosystem resilience. *Forest Ecology and Management*. 256: 855–862.
- Stancioiu, P. T., and O'hara, K. L. 2006. Morphological plasticity of regeneration subject to different levels of canopy cover in mixed-species, multiaged forests of the Romanian Carpathians. *Trees*, 20(2): 196-209.
- Toräng, P., Wunder, J., Obeso, J. R., Herzog, M., Coupland, G., and Ågren, J. 2015. Large-scale adaptive differentiation in the alpine perennial herb *Arabis alpina*. *New Phytologist*, 206(1): 459-470.
- Vitasse, Y., Delzon, S., Bresson, C. C., Michalet, R., and Kremer, A. 2009. Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. *Canadian Journal of Forest Research*, 39(7): 1259-1269.
- Viveros-Viveros, H., Sáenz-Romero, C., Vargas-Hernández, J. J., y López-Upton, J. 2006. Variación entre procedencias de *Pinus pseudostrobus* establecidas en dos sitios en Michoacán, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 29(2): 121-126.
- White, T. L., Adams, W. T., and Neale, D. B. (2007). *Forest Genetics*. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Williams, M. I., and Dumroese, R. K. 2013. Preparing for climate change: forestry and assisted migration. *Journal of Forestry*, 111(4): 287-297.

Capítulo III

Daño por heladas y sequía en plántulas de *Abies religiosa* (H.B.K.) Schldl. et Cham. en un transecto altitudinal

RESUMEN

El estrés hídrico y las heladas son factores limitantes para especies forestales sensibles a fluctuaciones ambientales, cuyas poblaciones naturales van quedando desfasadas y necesitan migrar. El efecto de la sequía sobre las especies vegetales se encuentra influenciado por la ubicación de las plantas de una determinada especie dentro de un gradiente altitudinal. En este estudio se evaluó en laboratorio la resistencia a heladas en plantas de oyamel (*Abies religiosa*) procedentes de tres diferentes altitudes (3,210, 3,310 y 3,410 m) en un gradiente en el Cerro Tláloc, Texcoco, Méx. con presencia de estrés hídrico, para relacionar el daño causado por ambos tipos de estrés. La evaluación de daño se realizó por el método de fuga de electrolitos después de someter las plantas a dos temperaturas (-3 y -6 °C por 1 h) en una cámara de ambiente controlado. Los tratamientos de heladas tuvieron efectos significativos dañando más las plantas a -6°C. La condición de estrés hídrico provocó en las plantas de oyamel un mayor daño que en las que no presentaron este tipo de estrés. Entre las tres procedencias altitudinales de las plantas probadas no se detectaron diferencias significativas, indicando una probable resistencia similar entre ellas.

Palabras claves: estrés abiótico, fuga de electrolitos, oyamel, procedencias, variación altitudinal.

INTRODUCCIÓN

La pérdida de la cubierta forestal, por causas antropogénicas, ha incrementado la tasa de evaporación del suelo y disminuido la protección contra las heladas (Levitt, 1980; Sáenz-Romero *et al.*, 2010; Sakai and Larcher, 1987). Factores que limitan el éxito de los programas de reforestación y restauración, e incluso el crecimiento y desarrollo de macizos forestales naturales, particularmente de especies sensibles a fluctuaciones ambientales. Por lo anterior, para algunas especies, la única manera de sobrevivir es migrar hacia sitios con condiciones favorables para evitar el estrés (Rehfeldt *et al.*, 2014a).

Una consecuencia del cambio climático son los periodos de sequía más prolongados, donde las plantas tienen que hacer uso de diversas estrategias para mitigar este fenómeno y así poder sobrevivir, particularmente durante las etapas tempranas de crecimiento y desarrollo (Peñuelas, *et al.*, 2004; Viveros-Viveros *et al.*, 2007). Los efectos de este estrés sobre las especies vegetales están influenciados por la ubicación de las plantas dentro de un gradiente altitudinal (Barton and Teeri, 1993), por ejemplo la temperatura y la humedad dependen de la distribución altitudinal, las que influyen en el desarrollo de las plantas (Barton and Teeri, 1993), más aún cuando las diferentes poblaciones de una especie en un transecto no están debidamente adaptadas al lugar donde se desarrollan por efectos de la competencia con otras poblaciones (genotipos) más adaptados a ese sitio (Rehfeldt, 2000; Rehfeldt *et al.*, 2014a).

Otro de los efectos relevantes del cambio climático global son los inviernos con heladas más frecuentes (Peñuelas *et al.*, 2004). En las plantas, las heladas

generan cambios en los procesos bioquímicos y biofísicos de las membranas celulares y modificaciones enzimáticas en mitocondrias y cloroplastos (Kratsch and Wise, 2000), con la consecuente disminución del crecimiento y alteraciones en el desarrollo de la planta (Allen and Ort, 2001). Sin embargo, el efecto mejor caracterizado hasta el momento por este tipo de estrés es la disminución de la fluidez en las membranas y el daño foliar (Nishida and Murata, 1996). De manera frecuente cuando se produce estrés por frío se tiene un déficit hídrico, y las plantas sometidas a este fenómeno muestran una caída en el potencial hídrico y en el contenido relativo de agua (Villar-Salvador *et al.*, 1999, Allen and Ort, 2001).

La observación en campo de los diferentes tipos de estrés que afectan a las plantas muchas veces se dificulta y se confunden, por ello es importante simular las condiciones asociadas con las bajas temperaturas o déficit hídrico a las cuales se enfrentan las plantas en ambientes naturales (López and Muñoz, 1991, Martínez *et al.*, 2002). Uno de los métodos más utilizados para evaluar el daño causado por las bajas temperaturas es el de fuga de electrolitos (Escriche *et al.*, 1995), el cual usualmente es expresado como la proporción de fuga de electrolitos de tejido vegetal dañado por bajas temperaturas contra la proporción de fuga de electrolitos de tejido muerto (Sutinen *et al.*, 1992).

Una de las especies forestales sensibles a factores de estrés abiótico en México es *Abies religiosa* (H.B.K.) Schltdl. *et* Cham. (Sánchez-González *et al.*, 2005), la cual crece en un rango altitudinal que va de los 2,400 a los 3,600 m (Sánchez-González y López-Mata, 2003), aunque se ha encontrado que su

regeneración en las zonas más altas es más exitosa en comparación con la de zonas bajas (Flores, 2015).

Este trabajo tiene el objetivo de determinar el daño foliar que pueden llegar a sufrir las plantas de *Abies religiosa* bajo condiciones de estrés hídrico y bajas temperaturas en plantas procedentes de diferentes altitudes en el Cerro Tláloc, Texcoco, Méx. Se parte de la hipótesis de que el estrés por sequía afecta la resistencia a las bajas temperaturas de las plantas de *Abies religiosa* procedentes de diferentes altitudes y que la resistencia al frío varía como medida de adaptación al ambiente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Procedencia y manejo inicial del material vegetal

En septiembre del 2014, plántulas de *Abies religiosa* de 7 a 10 cm de altura fueron seleccionadas por su vigor y recolectadas a 3,210, 3,310 y 3,410 m de altitud en un transecto en el Cerro Tlaloc, Texcoco, Edo. de México. Las plántulas fueron trasplantadas en tubetes de 250 ml, utilizando sustrato del sitio, y trasladadas a un invernadero del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Edo. de México. El material se mantuvo durante 90 días con riegos cada tercer día.

Ensayos preliminares con estrés hídrico

Para determinar el tratamiento adecuado de sequía, se establecieron primeramente dos experimentos con diferentes tiempos de exposición de las

plantas ante este estrés: el primero, consistió en la aplicación de tres tratamientos de sequía con cinco repeticiones, donde al inicio todas las plantas recibieron un riego hasta capacidad de campo y después se sometieron a periodos de 7, 15 y 20 días sin riego. Posteriormente se volvieron a regar cada tercer día y se evaluó su capacidad de recuperación hasta observar que las plantas lograron sobrevivir. De acuerdo con los resultados, en el segundo experimento se redujo el tiempo de sequía a 7, 8, 9 y 10 días, con cinco plantas (repeticiones) por tratamiento; con el mismo procedimiento descrito anteriormente para la recuperación del material vegetal.

Ensayos preliminares con bajas temperaturas

Los tratamientos de baja temperatura se realizaron en una cámara de ambiente controlado (MIU Modelo M-1212), donde se simuló una helada, probando varias temperaturas. Grupos de cinco plántulas de *Abies religiosa* que se habían mantenido con un riego cada tercer día, fueron sometidos a tratamientos de temperatura de 0, -5, -10 y -15 °C durante 1 hora. De acuerdo al daño visual registrado en las acículas se realizó un segundo ensayo con temperaturas de -6, -7, -8 y -9 °C.

Experimento de estrés hídrico y bajas temperaturas

Con base en los resultados de los ensayos, grupos de cinco plantas de un año de edad de *A. religiosa* de entre 7 y 10 cm de altura de las tres diferentes

procedencias sujetas a estrés hídrico durante siete días fueron sometidas a condiciones de bajas temperaturas. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con un arreglo factorial 3x2x2 (12 tratamientos), derivado de tres niveles en la procedencia (3,210, 3,310 y 3,410 m s.n.m.), dos niveles en temperatura (-3 °C y -6 °C) y dos niveles de estrés hídrico (con y sin). En ambos experimentos se evaluó el tiempo que las plantas tardaron en retomar su vigor, registrando el porcentaje de acículas muertas que cada una de ellas presentó.

Evaluación de variables

Fuga de electrolitos

Concluido el tratamiento por frío, se obtuvo una muestra de 0.5 g de acículas por planta, la cual fue colocada en tubos de ensayo de 20 ml con 10 ml de agua destilada; después de 24 horas, a cada muestra se le midió la conductividad eléctrica (CE_1) usando un conductímetro (OrionStar A112). Enseguida, las muestras se sometieron a baño María, a temperatura de 100 °C, durante 15 minutos. Después, el material se dejó reposar por otras 24 h y se midió por segunda ocasión la conductividad eléctrica (CE_2). Los datos obtenidos se usaron para obtener el porcentaje de fuga de electrolitos (ecuación 1), indicador de daño causado por los tratamientos (Restrepo, *et al.*, 2013).

$$FE = (CE_1 / CE_2) \times 100 \quad (1)$$

Donde FE= porcentaje de fuga de electrolitos resultante de la exposición a bajas temperatura (t), CE₁= conductividad de las muestras expuestas a bajas, temperaturas (μs/cm) y CE₂= conductividad de las muestras expuestas a 100 °C y muertas por calor por medio de baño María (μs/cm).

Análisis de datos

Los datos obtenidos fueron procesados mediante ANOVA utilizando el software Statistical Analysis System (SAS) V 9.4 (SAS Institute Inc., 2013). De acuerdo con el diseño experimental, para el análisis se utilizó el modelo lineal siguiente (2):

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + T_j + P_k + ST_{ij} + SP_{ik} + TP_{jk} + STP_{ijk} + \epsilon_{ijkl} \quad (2)$$

Donde: Y_{ijkl} = variable respuesta del i-ésimo nivel de sequía, en el j-ésimo nivel de temperatura, con la k-ésima procedencia en la l-ésima repetición (planta); μ = media general; S_i = efecto fijo del nivel de estrés hídrico (con y sin); T_j = efecto fijo del nivel de temperatura (-3 y -6°C); P_k = efecto fijo de la procedencia (3,210, 3,310 y 3,410 m s.n.m.); ST_{ij} = efecto fijo de la interacción entre el estrés hídrico y del nivel de temperatura; SP_{ik} = efecto fijo de la interacción entre el nivel de estrés hídrico y de la procedencia; TP_{jk} = efecto fijo de la interacción entre la temperatura y de la procedencia; STP_{ijk} = efecto fijo de la triple interacción y ϵ_{ijk} = error aleatorio correspondiente a la observación Y_{ijkl} .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayos preliminares de mortalidad por estrés hídrico y frío

De los dos experimentos realizados para determinar el tiempo de exposición a sequía, las plantas del primer experimento sometidas a 15 y 20 días con estrés hídrico no se recuperaron y finalmente murieron todas. Las sometidas a 7 días sin riego recuperaron su vigor en un lapso de 15 días. De igual forma en el segundo experimento, las plantas con 7 días sin riego fueron las únicas que lograron recuperarse dentro de las siguientes dos semanas.

Por otro lado, las plantas sometidas a -10 y -15 °C mostraron el 100% de acículas muertas por necrosis al terminar estos tratamientos. Las plantas expuestas a -6 °C presentaron un daño no mayor a 25% en sus acículas y lograron recuperarse en un lapso máximo de 15 días después de ser sometidas a la temperatura mencionada.

Sequía y bajas temperaturas

El análisis de varianza mostró diferencias significativas de las fuentes de variación sobre la fuga de electrolitos. Los factores que resultaron significativos en las plantas de *Abies religiosa* fueron la sequía y la temperatura a la que se sometieron las plantas, pero no la interacción entre estos dos factores (Cuadro 1).

Cuadro 3.1. Análisis de varianza de la fuga de electrolitos causada por bajas temperaturas en plantas de *Abies religiosa* procedentes de tres elevaciones (PROC) y sometidas a sequía (EH) y bajas temperaturas (TEMP).

Efecto	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor de F	Pr > F
Estrés Hídrico (EH)	1	46	4.06	0.0499
Temperatura (TEMP)	1	46	16.33	0.0002
Procedencia (PROC)	2	46	0.68	0.5125
EH*TEMP	1	46	0.94	0.3366
EH*PROC	2	46	0.55	0.5785
TEMP*PROC	2	46	0.66	0.5198
EH*TEMP*PROC	2	46	0.46	0.6352

Estrés hídrico

Las plantas de *A. religiosa* sujetas a sequía resultaron 3% más dañadas por las bajas temperaturas, en términos de fuga de electrolitos, comparadas con las plantas no sometidas a estrés hídrico (Figura 1). Estos resultados son contrarios a lo esperado, ya que diversos estudios han reportado que la sequía moderada induce el endurecimiento o lignificación en plantas forestales (Ritchie, *et al.*, 2010), provocando que sean más resistentes a diversos factores de estrés como la helada, ya que al inducir a la planta a un estrés hídrico se reduce su crecimiento, se promueve la aparición de la yema apical y se inician mecanismos de resistencia a diferentes tipos de estrés, como el producido por condiciones de sequía (Landis, 1989; van den Driessche, 1992). El endurecimiento se provoca en prácticas de manejo de planta en vivero, para que la planta una vez en el sitio definitivo presente mayor resistencia a diversos tipos

de estrés como el ocasionado por déficit hídrico, nutricional, térmico o mecánico (Landis *et al.*, 1998, Prieto-Ruiz *et al.*, 2007, Ritchie *et al.*, 2010).

Por otro lado, se ha reportado que en algunos casos el daño ocasionado por la sequía puede ser relativamente alto, de tal forma que impide a la planta sobreponerse antes de que sea afectada por algún otro tipo de estrés como lo ocurrido en *Pinus sylvestris* L. que presentó un comportamiento de acuerdo al tiempo que duró bajo condiciones de sequía (Taeger *et al.*, 2013). Villar *et al.* (1997) reportaron que tras tres tratamientos de endurecimiento en plántulas de *P. halepensis* Mill. no se encontraron efectos significativos, relacionando esto con la disminución de la transpiración cuticular que está ligada al incremento en el espesor de las capas de la pared celular externa.

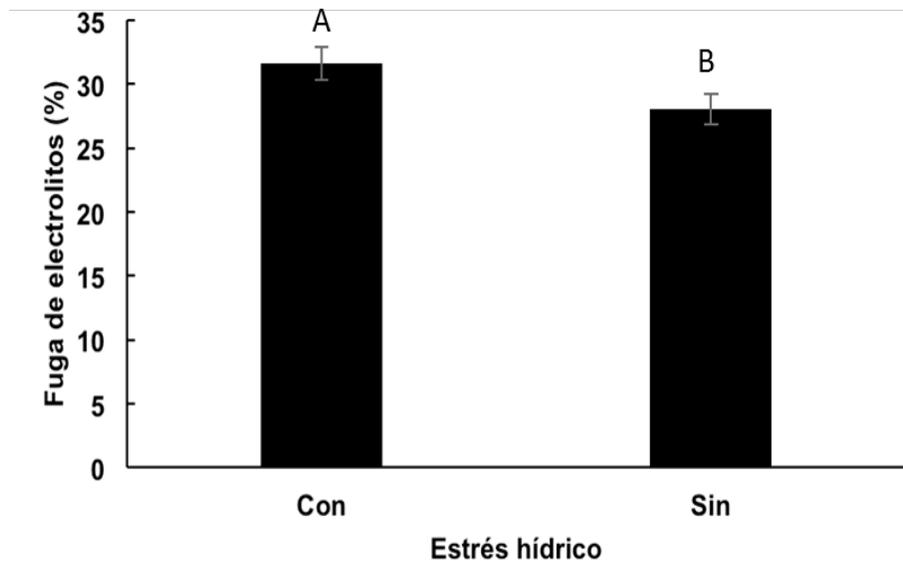


Figura 3.1. Porcentaje de fuga de electrolitos después de la aplicación de tratamientos de frío (31.7 y 28.0 %, respectivamente) en plantas de *Abies religiosa* con y sin estrés hídrico. Barras con letras diferentes indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$).

Temperatura

La temperatura tuvo un efecto significativo en el daño foliar de las plantas de *A. religiosa*. Las que fueron sometidas a -6°C presentan un daño mayor en términos de fuga de electrolitos, comparado con las plantas que lo fueron a -3°C (Figura 2). Estos resultados coinciden con los obtenidos en *Thuja plicata* Donn y en *Brassica oleracea* L. donde las plantas sometidas a temperaturas más bajas presentaron un mayor daño expresado en una mayor fuga de electrolitos (Grossnickle, 1992; Manley and Hummel, 1996).

Aunque la interacción entre el nivel hídrico y la temperatura fue no significativa, las diferencias entre niveles hídricos son más notorias a menor temperatura. Las plantas en estrés hídrico expuestas a -3°C tuvieron 20%

más fuga de electrolitos ($p= 0.0403$), que aquellas sin estrés hídrico; mientras que aquellas a -6°C fueron dañadas similarmente con y sin estrés ($p= 0.4646$)) (Figura 3). Esto puede indicar que a menor temperatura las plántulas de esta especie presentan un mayor daño, a tal grado, que las diferencias que pudiera darles el pre-acondicionamiento se vuelven imperceptibles.

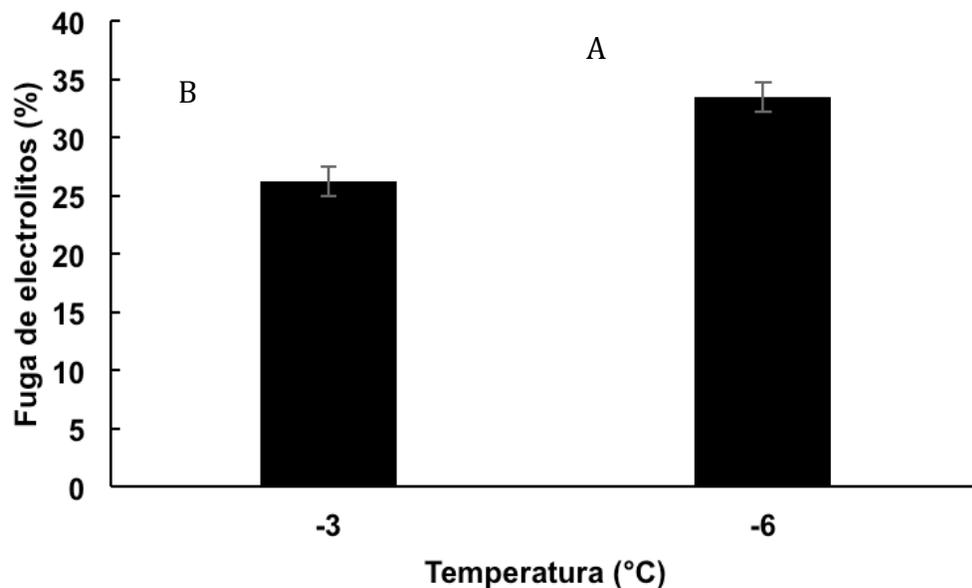


Figura 3.2. Porcentaje de electrolitos liberados en función a la exposición de plántulas de *Abies religiosa*. a bajas temperaturas (-3 y -6°C) durante 1 h. Barras con letras diferentes indica diferencias significativas ($\alpha=0.05$).

Alvarado-Rosales *et al.* (2007) mencionan que la combinación de bajas temperaturas y condiciones de sequía son factores detonantes que propician, por ejemplo, la muerte de encinos en el centro-oeste de México. Estos resultados pueden producirse debido a que la integridad de la membrana y pared celular dependen del agua, por lo que bajo condiciones de sequía su

estructura se modifica a tal grado que se puede dañar de manera irreversible (Moreno, 2009). Lo anterior explica la mayor fuga de electrolitos por alteración en la estructura de la membrana y pared celular, y si a esto se le suma un estrés por bajas temperaturas, el daño se incrementa.

Procedencia

El factor procedencia no presentó efectos significativos en la fuga de electrolitos (Figura 3), ni tampoco se determinó interacción significativa con el efecto del estrés hídrico y las bajas temperaturas en plantas de *A. religiosa* (Cuadro 1). Este resultado se contrapone con lo reportado en estudios previos pues para *Pinus pseudostrobus* Lindl. los daños por heladas se presentan con mayor porcentaje en las poblaciones procedentes de altitudes menores (Viveros-Viveros *et al.*, 2006) y para *P. nigra* Arnold se ha reportado variación entre procedencias debida posiblemente a una adaptación local de la especie (Kreyling *et al.*, 2012). La falta de significancia entre procedencias pudo deberse a que en estas poblaciones cercanas no existen diferencias genéticas o bien la presión de selección que se ejerce por la temperatura no llega a crear diferenciación genética entre los árboles de estas elevaciones, y que, además, el flujo genético es alto entre estas elevaciones; es decir, hay libre polinización entre todos los árboles de estas elevaciones. Por lo anterior, para próximos estudios se sugiere considerar plantas que provengan de elevaciones disímboles.

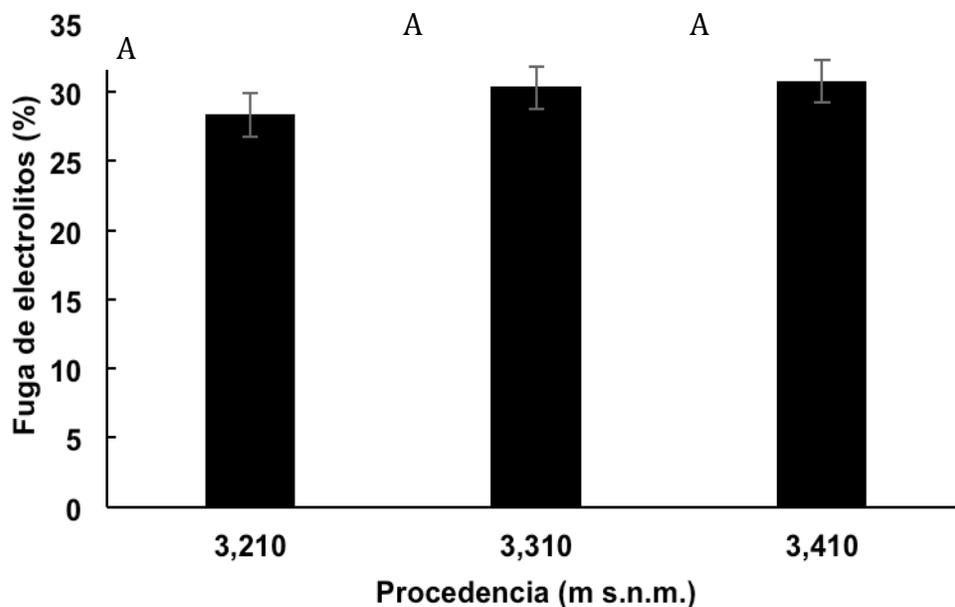


Figura 3.3. Porcentaje de electrolitos liberados de acuerdo a la procedencia de las plántulas de *Abies religiosa*. Barras con letras diferentes indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) entre procedencias.

Implicaciones del estudio

La tolerancia a estrés por bajas temperaturas y sequía es determinante en el éxito de los programas de reforestación del oyamel ante los futuros escenarios donde se prevé un cambio de clima, permitiendo asegurar el establecimiento de las plantas y un adecuado desarrollo y productividad (Cushman, 2001; Chinnusamy, Jagendorf and Zhu, 2005). Actualmente se han observado una declinación en las masas forestales de esta especie, asociados al aumento de la contaminación atmosférica (de Bauer, 1993; Saxe, 1993; López, 1997), pero igualmente ha ocurrido en lugares lejanos a las fuentes de contaminación, lo que se ha asociado al estrés hídrico (Sáenz-Romero and Lindig-Cisneros, 2012). De acuerdo a lo anterior, se recomienda en estudios futuros incluir en los experimentos las poblaciones de oyamel de zonas

altitudinales superiores a las tomadas en cuenta en el presente estudio. Ello podría dar alguna diferencia para corroborar la hipótesis planteada y establecer lineamientos en el movimiento asistido de la especie dentro de sus límites de distribución, afectados por condiciones de sequía y frecuencia de heladas. Aunque también los resultados pueden sugerir que podemos mover las plantas de menor elevación hacia mayor latitud sin tener problemas de daño por heladas, como lo sugieren otros autores para otras coníferas mexicanas (Sáenz-Romero *et al.*, 2012; Rehfeldt *et al.*, 2014b), esto es, sin hacer movimientos mayores a 200 m, como las diferencias en elevación probadas en este experimento.

CONCLUSIONES

La condición de sequía predispone a las plantas de *Abies religiosa* a un mayor daño por bajas temperaturas.

Las temperaturas de -6 °C generan mayor daño en las plantas de *Abies religiosa* que las temperaturas de -3 °C.

Entre las tres procedencias altitudinales de las plantas probadas en el presente estudio no se detectaron diferencias significativas en el daño foliar generado por sequía y bajas temperaturas.

LITERATURA CITADA

- Allen, D.J., and Ort, D.R. 2001. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. *Trends in Plant Science*, 6(1): 36-42.
- Alvarado-Rosales, D., Saavedra-Romero, L. de L.; Almaraz-Sánchez, A., Tlapal-Bolaños, B., Trejo-Ramírez, O., Davidson, J.M., ... Quiroz-Reygadas, D. 2007. Agentes asociados y su papel en la declinación y muerte de encinos (*Quercus*, Fagaceae) en el centro-oeste de México. *Polibotánica*, 23: 1-21.
- Barton, A. M., and Teeri, J.A. 1993. The ecology of elevational positions in plants: drought resistance in five montane pine species in southeastern Arizona. *American Journal of Botany*, 80(1): 15-25.
- Cushman, J. C. 2001. Osmoregulation in plants: implications for agriculture. *American Zoologist*, 41(4): 758-769.
- Chinnusamy, V., Jagendorf, A., and Zhu, J.K. 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*, 45(2): 437-448.
- De Bauer, L. I. 1993. Decline of sacred fir (*Abies religiosa*) in a forest park south of Mexico City. *Environmental pollution*, 80(2): 115-121.
- Escriche, A. 1995. Daños por frío en la conservación de naranja Valencia-Late. *Fruticultura Profesional*, 74: 34-40.
- Flores N., P. 2015. Migración de *Abies religiosa* en gradientes altitudinales en el Cerro Tláloc. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados. México. Pp: 64
- Grossnickle, S.C. 1992. Relationship between freezing tolerance and shoot water relations of western red cedar. *Tree Physiology*, 11: 229-240.

- Kratsch, H. A., and Wise, R.R. 2000. The ultrastructure of chilling stress. *Plant, Cell & Environment*, 23(4): 337-350.
- Kreyling, J., Wiesenberg, G. L., Thiel, D., Wohlfart, C., Huber, G., Walter, J., and Beierkuhnlein, C. 2012. Cold hardiness of *Pinus nigra* Arnold as influenced by geographic origin, warming, and extreme summer drought. *Environmental and Experimental Botany*, 78: 99-108.
- Landis, T. D. 1989. Mineral nutrients and fertilization. *In*: Landis, T.D., R.W. Tinus, S. E. McDonald and J.P. Barnett. The Container Tree Nursery Manual, Volume 4. Agriculture Handbook. 674. USDA, Forest Service. Washington, DC. pp:1-67.
- Landis, T.D., Tinus, R.W. & Barnett, J.P. 1998. Seedling propagation. *In*: Landis, T.D., R.W. Tinus, S.E. McDonald and J.P. Barnett. The container Tree Nursery Manual. Volume 6, Agricultural Handbook. 674. USDA Forest Service, Washington, DC. Pp: 674.
- Levitt, J. 1980. *Responses of plants to environmental stresses*. Volume II. *Water, radiation, salt, and other stresses* (Ed. 2). Academic Press. New York.
- López M., A. L. 1997. Efectos del ambiente aéreo y del suelo sobre el desarrollo de síntomas de declinación de oyamel. *Terra*, 15(3): 288.
- López U., J. & Muñoz O., A. 1991. Selección familiar por tolerancia a sequía en *Pinus greggii* Engelm. I. Evaluación en plántula. *Agrociencia serie Fitociencia*, 2 (2): 111-123.
- Manley, R.C. & Hummel, R.L. 1996. Index of injury compared to tissue ionic conductance for calculating freeze damage of cabbage tissues. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121(6): 1141-1146.

- Martínez T., T., Vargas H., J.J., Muñoz O., A., and López U., J. 2002. Respuesta al déficit hídrico en *Pinus leiophylla*: Consumo de agua y crecimiento en plántulas de diferentes poblaciones. *Agrociencia*, 36(3): 365-376.
- Moreno F., P. 2009. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 27(2): 179 -191.
- Nishida, I., & Murata, N. 1996. Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: the crucial contribution of membrane lipids. *Annual Review of Plant Biology*, 47(1): 541-568.
- Peñuelas, J., Sabaté, S., Filella, I., & Gracia, C. 2004. *Efectos del cambio climático sobre los ecosistemas terrestres: observación, experimentación y simulación*. Ecología del Bosque Mediterráneo en un Mundo Cambiante. Naturaleza y Parques Nacionales. Ministerio de Medio Ambiente, Pp: 425-460.
- Prieto-Ruiz, J. A., Domínguez-Calleros, P.A., Cornejo-Oviedo, E.H., and Nívar-Cháidez, J. de J. 2007. Efecto del envase y del riego en vivero en el establecimiento de *Pinus cooperi* Blanco en dos condiciones del sitio. *Madera y Bosques*, 13(1): 79-97.
- Rehfeldt, G.E. 2000. *Genes, Climate and Wood*. The 2000 Leslie L. Schaffer Lectureship in Forest Science. The University of British Columbia, Vancouver, B.C. 15 p.
- Rehfeldt, G.E, Jaquish, B.C., López-Upton, J., Sáenz-Romero, C., St Clair, J.B., Leites, L.P., and Joyce, D.G. 2014a. Comparative genetic responses to climate for the varieties of *Pinus ponderosa* and *Pseudotsuga menziesii*: Realized climate niches. *Forest Ecology and Management*, 324: 126–137.

- Rehfeldt, G.E., Jaquish, B.C., Saenz-Romero, C., Joyce, D.G., Leites, L.P., St Clair, J.B., and López-Upton, J. 2014b. Comparative genetic responses to climate in the varieties of *Pinus ponderosa* and *Pseudotsuga menziesii*: Reforestation. *Forest Ecology and Management*, 324: 147–157.
- Restrepo, H., Gómez, M. I., Garzón, A., Manrique, L., Alzate, F., López, J., and Rodríguez, A. 2013. Respuesta bioquímica de plántulas de maíz (*Zea mays* L.) a diferentes condiciones de temperaturas nocturnas. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 7(2): 252-262
- Ritchie, G.A., Landis, T.D., Dumroese, R.K., and Haase, D.L. 2010. Assessing plant quality. *The Container Tree Nursery Manual*, 7: 17-81
- Saxe, H. 1993. Triggering and predisposing factors in the “Red” decline syndrome of Norway spruce (*Picea abies*). *Trees*, 8(1): 39-48.
- Sánchez-González, A., y López-Mata, L. 2003. Clasificación y ordenación de la vegetación del norte de la Sierra Nevada, a lo largo de un gradiente altitudinal. In *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica* (Vol. 74, No. 1, pp. 47-71).
- Sáenz-Romero, C., Rehfeldt, G. E., Crookston, N. L., Duval, P., St-Amant, R., Beaulieu, J., and Richardson, B. A. 2010. Spline models of contemporary, 2030, 2060 and 2090 climates for Mexico and their use in understanding climate-change impacts on the vegetation. *Climatic Change*, 102(3-4): 595-623.
- Sáenz-Romero, C., and Lindig-Cisneros, R. 2012. Will the Monarch overwintering sites survive climate change? *American Butterflies*, 20(2):14-17.

- Sáenz-Romero, C., Aguilar-Aguilar, S., Silva-Farías, M. Á., Madrigal-Sánchez, X., Lara-Cabrera, S. & López-Upton, J. 2012. Variación morfológica altitudinal entre poblaciones de *Pinus devoniana* Lindl. y la variedad putativa *cornuta* Martínez en Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 3(13): 17-28
- Sakai, A., and Larcher, W. 1987. *Frost survival of plants. Responses and adaptation to freezing stress*. Ecological Studies Volume 62. Springer-Verlag. Berlin.
- Sánchez-González, A., López-Mata, L., y Granados-Sánchez, D. (2005). Semejanza florística entre los bosques de *Abies religiosa* (HBK) Cham. & Schltdl. de la Faja Volcánica Transmexicana. *Investigaciones Geográficas*, (56): 62-76.
- SAS Institute Inc. 2013. SAS/STAT Guide for personal computers, version 9.4. SAS Institute, Cary.
- Sutinen, M.L., Palta, J.P., and Reich, P.B. 1992. Seasonal differences in freezing stress resistance of needles of *Pinus nigra* and *Pinus resinosa*: evaluation of the electrolyte leakage method. *Tree Physiology*, 11(3): 241-254.
- Taeger, S., Zang, C., Liesebach, M., Schneck, V., and Menzel, A. 2013. Impact of climate and drought events on the growth of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) provenances. *Forest Ecology and Management*, 307: 30-42.
- Van den Driessche, R. 1992. Changes in drought resistance and root growth capacity of container seedlings in response to nursery drought, nitrogen, and potassium treatments. *Canadian Journal of Forest Research*, 22(5): 740-749.
- Villar S., P., Ocaña B., L., Peñuelas R., J.L., Carrasco M., I., and Domínguez L., S. 1997. *Efecto de diferentes niveles de endurecimiento por estrés hídrico en el*

contenido de nutrientes y la resistencia a la desecación de plántulas de Pinus halepensis Mill. Actas del II Congreso Forestal Español. Pp: 673-678.

Villar-Salvador, P., Ocaña, L., Peñuelas, J., and Carrasco, I. 1999. Effect of water stress conditioning on the water relations, root growth capacity, and the nitrogen and non-structural carbohydrate concentration of *Pinus halepensis* Mill. (Aleppo pine) seedlings. *Annals of Forest Science*, 56(6): 459-465,

Viveros-Viveros, H, Sáenz-Romero, C., Vargas-Hernández, H. J., y López-Upton, J. 2006. Variación entre procedencias de *Pinus pseudostrobus* establecidas en dos sitios en Michoacan, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 29(02): 121-126.

Viveros-Viveros, H., Sáenz-Romero, C., López-Upton, J., and Vargas-Hernández, J.J. 2007. Growth and frost damage variation among *Pinus pseudostrobus*, *P. montezumae* and *P. hartwegii* tested in Michoacán, México. *Forest Ecology and Management*, 253(1): 81-88.

Capítulo IV

Resistencia a bajas temperaturas en *Abies religiosa* sometido a diferentes tratamientos de fertilización con potasio

RESUMEN

El cambio climático que ocurre actualmente en nuestro planeta ha traído como consecuencias la alteración de los patrones de temperatura,. Tal es el caso de las bajas temperaturas que en las plantas pueden ocasionar daño al formar cristales a nivel intracelular siendo más sensibles las plantas en sus primeros estadios de desarrollo. El estado nutrimental de las diferentes especies vegetales ha mostrado tener influencia en la resistencia a las bajas temperaturas; el potasio uno de los macronutrientes involucrados en este aspecto. En el presente estudio se evaluó el efecto de la fertilización de cuatro dosis diferentes de potasio en plántulas de *Abies religiosa* procedentes de tres elevaciones altitudinales del Cerro Tláloc ubicados dentro de un gradiente altitudinal las cuales fueron expuestas a -6°C . Se encontraron efectos significativos en la dosis de fertilización y en la procedencia de las plantas, identificándose que las plantas de *A. religiosa* del sitio más bajo fertilizadas con una mayor concentración de potasio muestran una mayor resistencia a bajas temperaturas.

Palabras clave: *Abies religiosa*, bajas temperaturas, cerro Tláloc, gradiente altitudinal, potasio, resistencia al frío.

INTRODUCCIÓN

Los cambios estructurales y fisiológicos o endurecimiento al frío permiten la supervivencia de coníferas y otras especies arbóreas durante el invierno (Nielsen y Orcutt, 1996). En ocasiones las condiciones invernales de bajas temperaturas y heladas se pueden presentar en la primavera o el otoño, cuando las plantas ya no están endurecidas y se encuentran iniciando o finalizando su crecimiento; en este estado las plantas son muy sensibles al frío y susceptibles a sufrir daño (Neuner and Beikircher, 2010).

En especies como *Abies religiosa* el endurecimiento está controlado por factores genéticos y ambientales como longitud del día y temperatura (Jönsson, *et al.*, 2004a). Por lo que cambios en la temperatura alterarían los procesos de endurecimiento. El calentamiento global podría modificar el nivel de endurecimiento y la fenología vegetativa de las especies, dejándolas expuestas a heladas tempranas o tardías.

Poblaciones naturales de *A. religiosa* se localizan desde los 2,100 hasta los 3,600 m de altitud, donde la temperatura promedio decrece a mayor altitud (Martínez, 1963). Plantas adaptadas a tales condiciones de altitud tendrán diferente grado de tolerancia a heladas, variación en el endurecimiento (Nielsen and Rasmussen, 2009). Con el calentamiento global se espera un incremento en temperatura de varios grados centígrados a lo largo de estos gradientes altitudinales, lo cual modificara el endurecimiento y sensibilidad a heladas de *A. religiosa* a través de este gradiente (Jönsson *et al.*, 2004a).

El daño celular causado por heladas en coníferas se produce particularmente en células meristemáticas que se encuentran en procesos de expansión celular, durante la etapa de crecimiento. Durante el invierno los procesos de deshidratación en yemas meristemáticas evaden la formación de cristales de hielo responsables del daño, particularmente en la membrana celular; capacidad que se pierde gradualmente durante la primavera, dejando a los tejidos muy sensibles a bajas temperaturas y heladas, en caso de presentarse (Taschler *et al.*, 2004). En primavera o temporada de crecimiento se presentan procesos de expansión celular, incremento de agua en vacuolas y decremento en concentración de solutos (que incrementan el punto de congelación). Al parecer la reconexión de haces vasculares con células meristemáticas activas permite el paso de agua e incrementa la posibilidad para la formación de cristales de hielo durante las heladas (Neuner and Beikircher, 2010).

Se ha señalado que el potasio (K) en las plantas tiene un papel importante en la resistencia a heladas. Altas concentraciones de K en la célula facilitan la acumulación de solutos, lo que permite la regulación del potencial osmótico e hídrico y disminución del punto de congelamiento en el citosol; resultando en protección y mantenimiento de la fluidez e integridad de la membrana celular durante eventos de heladas o bajas temperaturas, observado en el decremento de fuga de electrolitos (Zörb *et al.*, 2014). En varios trabajos se ha encontrado una relación positiva entre la concentración de K en las células de las plantas y la resistencia al frío (Wang *et al.*, 2013).

En este trabajo se considera que plantas de *A. religiosa* con alta concentración de potasio en sus tejidos les proporcionará mayor resistencia a heladas; particularmente a las plantas procedentes de altitudes mayores, mejor adaptadas a bajas temperaturas. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue conocer el efecto de la fertilización con potasio en la tolerancia a bajas temperaturas bajo condiciones controladas en plantas de *A. religiosa* de un año de edad procedentes de diferentes altitudes dentro de un gradiente altitudinal en el Cerro Tláloc, Texcoco, Méx.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

En septiembre del 2014, plántulas de *Abies religiosa* de 7 a 10 cm de altura fueron seleccionadas por su vigor y recolectadas a 3,210, 3,310 y 3,410 m de altitud en un transecto en el Cerro Tláloc, Texcoco, Edo. de México. Las plántulas fueron trasplantadas a tubetes de plástico de 250 ml, utilizando sustrato del mismo sitio (suelo de monte), y trasladadas a un invernadero del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Edo. de México. Las plántulas se mantuvieron durante 90 días con riegos cada tercer día.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con un arreglo factorial 3x3x1 (9 tratamientos), derivado de tres niveles altitudinales (3,210, 3,310 y 3,410 m), cuatro tratamientos de fertilización con potasio y un nivel en

temperatura (-6 °C). Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones, por lo que en total se utilizaron 60 plantas, siendo cada planta la unidad experimental.

Fertilización con potasio

Las plántulas de los tres niveles altitudinales fueron fertilizadas dos veces por semana durante dos meses con uno de cuatro niveles de potasio (Cuadro 1), a través de una solución de sulfato de potasio (K_2SO_4); a cada planta se aplicó un volumen total de 100 ml y cada tratamiento tuvo cinco repeticiones, por lo que en total se utilizaron 60 plantas. Para evitar acumulación de sales cada 15 días se realizó un lavado del sustrato regando con agua destilada. Las plantas del grupo control se mantuvieron hidratadas sólo con agua destilada durante el tiempo que duró el tratamiento.

Cuadro 4.1. Tratamientos de potasio aplicados a plántulas de *Abies religiosa* de un año de edad de tres niveles altitudinales en el Cerro Tláloc.

Tratamiento	K [ppm]
1	0
2	122
3	224
4	366

Exposición a bajas temperaturas

Los tratamientos de baja temperatura se realizaron en una cámara de ambiente controlado (MIU Modelo M-1212), donde se simuló una helada. Las 60 plantas correspondientes a todos los tratamientos fueron introducidas a la

cámara y sometidas a -6 °C durante una hora. En la cámara, la temperatura descendió 5 °C cada hora hasta llegar a los -6 °C; posteriormente la temperatura regresó gradualmente hasta los 20 °C, y las plantas fueron sacadas de la cámara para su evaluación.

Evaluación de variables

Fuga de electrolitos

Concluido el tratamiento por frío, se obtuvo una muestra de 0.5 g de acículas por planta, la cual fue colocada en tubos de ensayo de 20 ml con 10 ml de agua destilada; después de 24 horas a cada muestra se le midió la conductividad eléctrica (CE₁) usando un conductímetro (OrionStar A112). Enseguida las muestras se sometieron a baño María, a temperatura de 100 °C, durante 15 minutos. Después, el material se dejó reposar por otras 24 h y se midió por segunda ocasión la conductividad eléctrica (CE₂). Los datos obtenidos se usaron para obtener el porcentaje de fuga de electrolitos (ecuación 1), indicador de daño causado por los tratamientos (Restrepo *et al.*, 2013).

$$FE = (CE_1 / CE_2) \times 100 \quad (1)$$

Donde FE= porcentaje de fuga de electrolitos resultante de la exposición a bajas temperatura (t), CE₁= conductividad de las muestras expuestas a bajas temperaturas (µs/cm) y CE₂= conductividad de las muestras expuestas a 100 °C y muertas por calor por medio de baño María (µs/cm).

Análisis estadísticos

Los datos obtenidos fueron procesados mediante el procedimiento MIXED utilizando el software Statistical Analysis System (SAS) V 9.4 (SAS Institute Inc., 2013). De acuerdo con el diseño experimental, para el análisis se utilizó el modelo lineal siguiente (2):

$$Y_{ijk} = \mu + F_i + N_j + FN_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad (2)$$

Dónde: Y_{ijk} = variable respuesta del i -ésimo nivel de fertilización con potasio, en la j -ésimo nivel altitudinal en la k -ésima repetición (planta); μ = media general; F_i = efecto fijo del nivel de fertilización con potasio (0, 122, 244 y 366 ppm); N_j = efecto fijo del nivel altitudinal (3,210, 3,310 y 3,410 m s.n.m.); FN_{ij} = efecto fijo de la interacción entre la fertilización con K y del nivel altitudinal; y ε_{ijk} = error aleatorio correspondiente a la observación Y_{ijk} .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El potasio y el nivel altitudinal tuvieron un efecto significativo en el daño causado, a través de la fuga de electrolitos, por la temperatura probada; mientras que la interacción de los factores no tuvo efecto (Cuadro 4.2).

Cuadro 4.2. Valores de P (<0.05) en el análisis de varianza para las fuentes de variación (F.V.) consideradas en el modelo para evaluar la resistencia a bajas temperaturas. Nivel altitudinal (N), dosis de potasio (F)

F.V.	G. L.	Pr
N	2	0.0022
F	3	0.0108
N*F	6	0.9598

Efecto del potasio

Aunque no hubo diferencias significativas en cuanto a la resistencia a bajas temperaturas entre las plantas tratadas con potasio con respecto al testigo, los resultados indican que existe una ligera tendencia a presentar una mayor resistencia a los daños por baja temperatura cuando las plantas presentan mayor concentración de K (Figura 1). Por otro lado, el daño generado por el frío y visto en el porcentaje de fuga de electrolitos fue significativamente diferente entre tratamientos, siendo 18% mayor en las plantas de *A. religiosa* no tratadas con K que en las tratadas con 366 ppm de K (Figura 1).

Estos resultados coinciden con los encontrados en *Picea abies* L. (Jönsson *et al.*, 2004b) y en *Pinus hartwegii* Lindl. (Ramírez-Cuevas y Rodríguez-Trejo, 2010) donde los árboles fertilizados con una mayor concentración de potasio fueron menos sensibles a ser dañados por bajas temperaturas.

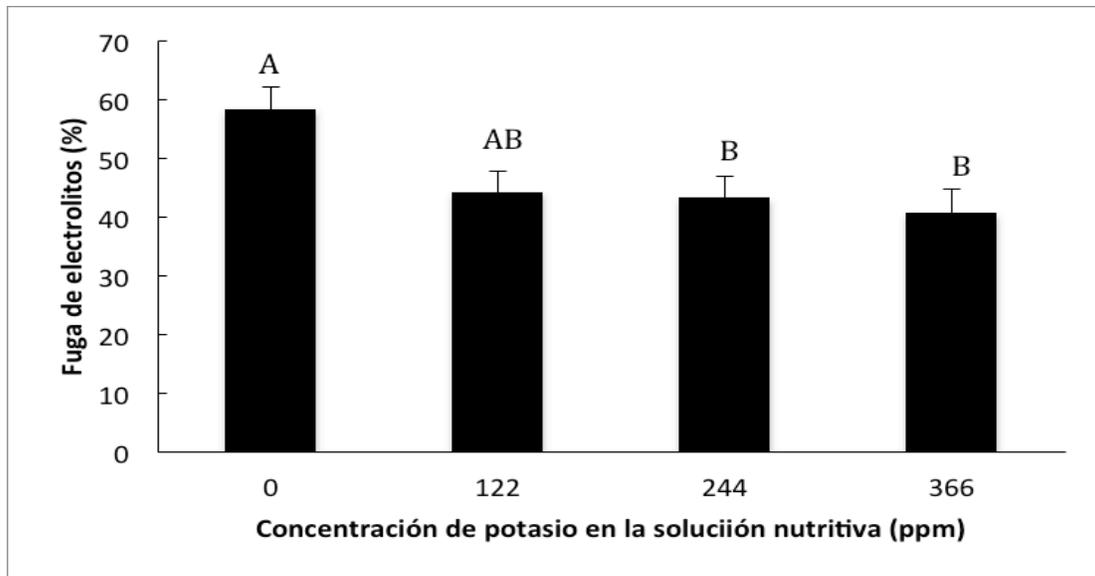


Figura 4.1. Fuga de electrolitos en función de diferentes tratamientos de fertilización con potasio en plantas de *Abies religiosa*.

El daño por frío está inversamente relacionado con la concentración de potasio; es decir, las altas concentraciones de este elemento protegen contra un déficit hídrico el cual que puede inducir la congelación y la deshidratación celular (Zhu, 2001) y a su vez bajan el punto de congelación en las soluciones intracelulares de las células vegetales (Kant *et al.*; 2002; Wang *et al.*; 2013). Más aún por la actividad de numerosas enzimas que juegan un papel en la resistencia a bajas temperaturas cuando hay una concentración adecuada de potasio en el citoplasma (Kan *et al.*, 2002), lo que reduce los daños ocasionados por bajas temperaturas en las plantas incrementando así su resistencia a este tipo de estrés (Mengel and Kirkby.; 2001; Kant *et al.*, 2002).

El aumento a la resistencia a bajas temperaturas en las plantas fertilizadas con potasio está asociado con el incremento de fosfolípidos, permeabilidad de la

membrana y una mejora en las propiedades biofísicas y bioquímicas de la célula (Hakerlerler *et al.*, 1997). Así, la fertilización con este macronutriente incrementa la resistencia al daño por frío (Römheld and Kirkby, 2010).

Efecto altitudinal

En cuanto a los niveles altitudinales de las plantas de oyamel, se encontró que las plantas provenientes de la mayor elevación fueron las que mostraron un mayor daño, 16 % más de fuga de electrolitos en comparación las de menor elevación, independientemente del tratamiento de fertilización con potasio que se les aplicó (Figura 2).

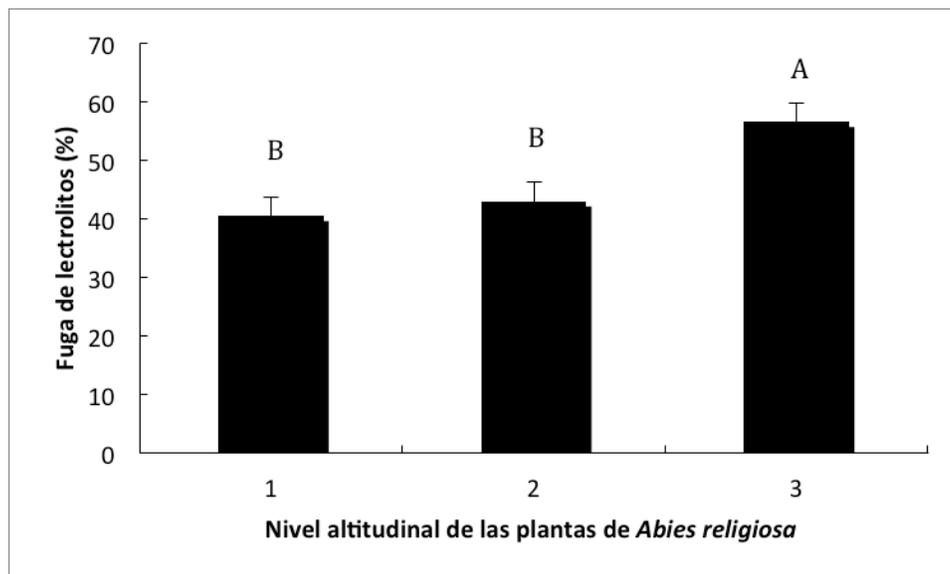


Figura 4.2. Fuga de electrolitos en función de los niveles altitudinales de las plantas de *Abies religiosa* de un año de edad. Sitio 1= 3,210 m.; 2= 3,310 m y 3= 3,410 m.

Estos resultados coinciden con los obtenidos en el capítulo 2 donde se evaluó la resistencia a frío sometiendo plantas de esta especie a condiciones de

estrés hídrico, y donde las plantas cuyo nivel altitudinal fue de una mayor elevación resultaron presentar un mayor daño ante condiciones de una menor temperatura, lo anterior se contrapone a los encontrados en plantas de *Chamaecyparis nootkatensis* (D. Don) Spach y en *Tsuga heterophylla* (Raf.) Sarg. (Schaberg, *et al.*, 2005), *Pinus greggii* Engelm. (Aldrete *et al.*, 2008) y *P. michoacana* Martínez (ahora *P. devoniana*, Saenz-Romero, and Tapia-Olivares, 2008), en donde las plántulas de latitudes mayores presentan una mejor resistencia al frío y es que se ha reportado que las plántulas de mayores latitudes o elevaciones superiores tolerarán mejor las bajas temperaturas en comparación con las plantas cuyo nivel altitudinal es menor (Kuser & Ching, 1980; Thomas & Lester, 1992). Esto puede ser explicado por una posible adaptación del oyamel en las zonas estudiadas para el presente trabajo (Li *et al.*, 2003; Lu *et al.*, 2003), ya que las plantas de menores elevaciones al presentar una menor protección por la falta de árboles adultos presentan un mayor endurecimiento, lo que las hace más resistentes a fenómenos como las bajas temperaturas, por lo cual es importante considerar en estudios posteriores con esta especie elegir poblaciones cuya distribución sea más distantes a las evaluadas en el presente trabajo.

CONCLUSIONES

Los tratamientos de potasio tuvieron efectos significativos obteniéndose mayor resistencia a bajas temperaturas cuando las concentraciones de potasio en la solución nutritiva fueron mayores.

Las plantas de un nivel altitudinal menor mostraron una mayor resistencia a las bajas temperaturas posiblemente debido a una posible adaptación local y que el movimiento no es drástico.

LITERATURA CITADA

- Aldrete, A., Mexal, J. G., and Burr, K. E. 2008. Seedling cold hardiness, bud set, and bud break in nine provenances of *Pinus greggii* Engelm. *Forest Ecology and Management*, 255(11): 3672-3676.
- Hakerlerler, H., Oktay, M., Eryüce, N., and Yagmur, B. 1997. Effect of potassium sources on the chilling tolerance of some vegetable seedlings grown in hotbeds. *Johnston, AE: Food Security in the WANA Region, The Essential Need for Balanced Fertilization. International Potash Institute, Switzerland*, p.: 317-327.
- Jönsson, A. M., Ingerslev, M., and Raulund-Rasmussen, K. 2004a. Frost sensitivity and nutrient status in a fertilized Norway spruce stand in Denmark. *Forest ecology and management*, 201(2): 199-209.
- Jönsson, A. M., Linderson, M. L., Stjernquist, I., Schlyter, P., and Barring, L. 2004b. Climate change and the effect of temperature backlashes causing frost damage in *Picea abies*. *Global and planetary change*, 44(1): 195-207.
- Kant, S., Kafkafi, U., Pasricha, N., and Bansal, S. 2002. Potassium and abiotic stresses in plants. *Potassium for sustainable crop production. Potash Institute of India, Gurgaon*, p.:233-251.

- Kuser, J. E., and Ching, K. K. 1980. Provenance variation in phenology and cold hardiness of western hemlock seedlings [*Tsuga heterophylla*]. *Forest Science*.
- Li, C., Viherä-Aarnio, A., Puhakainen, T., Junttila, O., Heino, P., and Palva, E. T. 2003. Ecotype-dependent control of growth, dormancy and freezing tolerance under seasonal changes in *Betula pendula* Roth. *Trees*, 17(2): 127-132.
- Lu, P., Joyce, D. G., and Sinclair, R. W. 2003. Geographic variation in cold hardiness among eastern white pine (*Pinus strobus* L.) provenances in Ontario. *Forest Ecology and Management*, 178(3): 329-340.
- Martínez, M. 1963. Las Pináceas Mexicanas. Universidad Nacional Autónoma de México. 3a ed. México, D.F. 400 p.
- Mengel K, and Kirkby EA. 2001. Principles of plant nutrition, 5th edn. Kluwer Acad. Publishers, Dordrecht, p. 849
- Neuner, G., and Beikircher, B. 2010. Critically reduced frost resistance of *Picea abies* during sprouting could be linked to cytological changes. *Protoplasma*, 243(1-4): 145-152.
- Nilsen E.T., Orcutte D.M. 1996. Phytohormones and plant responses to stress, in: Nilsen E.T., Orcutte D.M. (Eds.), *Physiology of Plant under Stress: Abiotic Factors*, John Wiley and Sons, New York, pp. 183–198.

- Nielsen, C. C. N., and Rasmussen, H. N. 2009. Frost hardening and dehardening in *Abies procera* and other conifers under differing temperature regimes and warm-spell treatments. *Forestry*, 82(1): 43-59.
- Ramírez-Cuevas, Y. y Rodríguez-Trejo, D. A. 2010. Resistencia a bajas temperaturas en *Pinus hartwegii* sometido a diferentes tratamientos con potasio. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 16(1), 79-85.
- Restrepo, H., Gómez, M. I., Garzón, A., Manrique, L., Alzate, F., López, J. and Rodríguez, A. (2013). Respuesta bioquímica de plántulas de maíz (*Zea mays* L.) a diferentes condiciones de temperaturas nocturnas. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 7(2): 252-262.
- Römheld, V., and Kirkby, E. A. 2010. Research on potassium in agriculture: needs and prospects. *Plant and Soil*, 335(1-2): 155-180.
- Saenz-Romero, C., and Tapia-Olivares, B. L. 2008. Genetic Variation in Frost Damage and Seed Zone Delineation within an Altitudinal Transect of *Pinus devoniana* (*P. michoacana*) in Mexico. *Silvae Genetica*, 57(3): 165.
- SAS Institute Inc. 2013. SAS/STAT Guide for personal computers, version 9.4. SAS Institute, Cary.
- Schaberg, P. G., Hennon, P. E., D'Amore, D. V., Hawley, G. J., and Borer, C. H. 2005. Seasonal differences in freezing tolerance of yellow-cedar and western hemlock trees at a site affected by yellow-cedar decline. *Canadian Journal of Forest Research*, 35(8): 2065-2070.

- Taschler, D., Beikircher, B., and Neuner, G. 2004. Frost resistance and ice nucleation in leaves of five woody timberline species measured in situ during shoot expansion. *Tree Physiology*, 24(3): 331-337.
- Thomas, B. R., and Lester, D. T. 1992. An examination of regional, provenance, and family variation in cold hardiness of *Pinus monticola*. *Canadian Journal of Forest Research*, 22(12): 1917-1921.
- Wang, M., Zheng, Q., Shen, Q., and Guo, S. 2013. The critical role of potassium in plant stress response. *International journal of molecular sciences*, 14(4): 7370-7390.
- Zörb, C., Senbayram, M., and Peiter, E. 2014. Potassium in agriculture—status and perspectives. *Journal of plant physiology*, 171(9): 656-669.
- Zhu, J. K. 2001. Plant salt tolerance. *Trends in plant science*, 6(2): 66-71.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES

Los genotipos de las tres procedencias probadas no mostraron variación en caracteres adaptativos al daño por las condiciones de elevación evaluadas.

Las plantas de diferentes procedencias plantadas a menor altitud, son más sensibles ante cambios como la temperatura, pero a su vez presentan un mayor desarrollo en cuanto a la altura y diámetro, y mayor amplitud fenológica.

Al respecto se ha reportado que las plantas que se encuentran a una menor altitud tienden a tener un mayor crecimiento, por lo que es de esperarse que sean más susceptibles a ser afectadas por bajas temperaturas en comparación con las plantas que crecen en elevaciones más altas si hay eventos anormales de bajas temperatura. Las plantas que habitan lugares de altas elevaciones disminuyen su crecimiento como una estrategia de supervivencia ante los efectos de bajas temperaturas y las sequías (Rehfeldt, 1991; Vitasse *et al.*, 2009; Viveros-Viveros *et al.*, 2007; López y Muñoz, 1991). Este problema se acentúa por el hecho de que la exposición a heladas y la disponibilidad de agua son factores que varían de acuerdo a través de un gradiente altitudinal. y que repercuten en el desarrollo de las plantas las cuales se van adaptando a las diferentes condiciones ambientales de la zona en la que se encuentran (Barton and Teeri, 1993; Rehfeldt, 2000).

Cuando las plantas de oyamel son afectadas por más de un tipo de estrés abiótico, éstas presentan una mayor susceptibilidad al daño por bajas temperaturas, donde entre más baja sea la temperatura mayor será el daño

ocasionado a estos organismos. Al respecto Alvarado-Rosales *et al.* (2007) mencionan que la combinación de bajas temperaturas y condiciones de sequía son factores detonantes que propician, por ejemplo, la muerte de encinos en el centro-oeste de México. Estos resultados pueden producirse debido a que la integridad de la membrana y pared celular dependen del agua, por lo que bajo condiciones de sequía su estructura se modifica a tal grado que se puede dañar de manera irreversible (Moreno, 2009). Lo anterior explica la mayor fuga de electrolitos por alteración en la estructura de la membrana y pared celular, y si a esto se le suma un estrés por bajas temperaturas, el daño se incrementa.

Las plantas de los tres niveles altitudinales de probadas en el presente estudio no mostraron diferencias significativas en el daño foliar generado por sequía y bajas temperaturas. Esta falta de significancia entre procedencias pudo deberse a que en estas poblaciones cercanas no existen diferencias genéticas o bien la presión de selección que se ejerce por la temperatura no llega a crear diferenciación genética entre los árboles de estas elevaciones, y que, además, el flujo genético es alto entre estas elevaciones; es decir, hay libre polinización entre todos los árboles de estas elevaciones. La densidad de *Abies religiosa* es alta en la zona, por lo que el flujo genético debe ser alto. Caso contrario pudiera esperarse en especies que naturalmente crecen en baja densidad o en microhábitats muy específicos y de baja plasticidad.

La fertilización con una mayor concentración de potasio proporcionó a las plantas una mayor resistencia a daños ocasionados por bajas temperaturas en plantas de *Abies religiosa*. Las altas concentraciones de este elemento protegen

contra un déficit hídrico, el cual puede inducir la congelación y la deshidratación celular (Zhu, 2001). El potasio a su vez bajan el punto de congelación en las soluciones intracelulares de las células vegetales (Kant *et al.*, 2002; Wang *et al.*; 2013), puesto que este nutrimento en las plantas está asociado con el incremento de fosfolípidos, permeabilidad de la membrana y una mejora en las propiedades biofísicas y bioquímicas de la célula (Hakerlerler *et al.*, 1997). Así, la fertilización con este macronutriente incrementa la resistencia al daño por frío (Römheld and Kirkby, 2010) y pudo comprobarse este efecto en *Abies religiosa* en esta investigación.

La resistencia a bajas temperaturas en plantas nativas de menores niveles altitudinales posiblemente se debe a una adaptación local. Esto puede ser explicado a una posible adaptación del oyamel en las zonas estudiadas para el presente trabajo (Li *et al.*, 2003; Lu *et al.*, 2003) ya que las plantas de menores elevaciones al presentar una menor protección por la falta de árboles adultos presentan un mayor endurecimiento lo que las hace más resistentes a fenómenos como las bajas temperaturas.

RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo se recomienda para estudios posteriores con esta especie elegir poblaciones cuya distribución sea más distanciadas en elevación a las evaluadas en el presente trabajo.

Acortar el periodo de tiempo para las fechas en la toma de datos cuando las yemas estén por entrar en su etapa de dormancia, así como cuando éstas vayan a salir de dicho estado.

LITERATURA CITADA

- Alvarado-Rosales, D., Saavedra-Romero, L. de L.; Almaraz-Sánchez, A., Tlapal-Bolaños, B., Trejo-Ramírez, O., Davidson, J.M., Quiroz-Reygadas, D. (2007). Agentes asociados y su papel en la declinación y muerte de encinos (*Quercus*, Fagaceae) en el centro-oeste de México. *Polibotánica* 23: 1-21.
- Barton, A. M., & Teeri, J.A. (1993). The ecology of elevational positions in plants: drought resistance in five montane pine species in southeastern Arizona. *American Journal of Botany* 80(1): 15-25.
- Hakerlerler, H., Oktay, M., Eryüce, N., & Yagmur, B. (1997). Effect of potassium sources on the chilling tolerance of some vegetable seedlings grown in hotbeds. *Johnston, AE: Food Security in the WANA Region, The Essential Need for Balanced Fertilization. International Potash Institute, Switzerland, 317-327.*
- Kant, S., Kafkafi, U., Pasricha, N., & Bansal, S. (2002). Potassium and abiotic stresses in plants. *Potassium for sustainable crop production. Potash Institute of India, Gurgaon, 233-251.*
- Li, C., Viherä-Aarnio, A., Puhakainen, T., Junntila, O., Heino, P., & Palva, E. T. (2003). Ecotype-dependent control of growth, dormancy and freezing tolerance under seasonal changes in *Betula pendula* Roth. *Trees* 17(2), 127-132.
- López U., J. y A. Muñoz O. 1991. Selección familiar por tolerancia a sequía en *Pinus greggii* Engelm. I. Evaluación en plántula. *Agrociencia serie Fitociencia*, 2 (2): 111-123.

- Lu, P., Joyce, D. G., & Sinclair, R. W. (2003). Geographic variation in cold hardiness among eastern white pine (*Pinus strobus* L.) provenances in Ontario. *Forest Ecology and Management* 178(3): 329-340.
- Moreno F., P. 2009. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Colombiana* 27(2): 179 -191.
- Rehfeldt, G. E. (1991). A model of genetic variation for *Pinus ponderosa* in the Inland Northwest (USA): applications in gene resource management. *Canadian Journal of Forest Research* 21(10): 1491-1500.
- Rehfeldt, G.E. (2000). *Genes, Climate and Wood*. The 2000 Leslie L. Schaffer Lectureship in Forest Science. The University of British Columbia, Vancouver, B.C. 15 p.
- Römheld, V., & Kirkby, E. A. (2010). Research on potassium in agriculture: needs and prospects. *Plant and Soil*, 335(1-2), 155-180.
- Vitasse, Y., Delzon, S., Bresson, C. C., Michalet, R., & Kremer, A. (2009). Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. *Canadian Journal of Forest Research* 39(7): 1259-1269.
- Viveros-Viveros, H., Sáenz-Romero, C., López-Upton, J., & Vargas-Hernández, J.J. (2007). Growth and frost damage variation among *Pinus pseudostrobus*, *P. montezumae* and *P. hartwegii* tested in Michoacán, México. *Forest Ecology and Management* 253(1): 81-88.
- Wang, M., Zheng, Q., Shen, Q., & Guo, S. (2013). The critical role of potassium in plant stress response. *International Journal of Molecular Sciences* 14(4): 7370-7390.

Zhu, J. K. (2001). Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science* 6(2): 66-71.