



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO FORESTAL

**ISÓTOPOS ESTABLES DE ^{18}O , ^2H Y ^{13}C EN ANILLOS DE
CRECIMIENTO DE CONÍFERAS EN EL EJE NEOVOLCÁNICO
TRANSVERSAL DE MÉXICO**

MIGUEL ANGEL BARRERA REYES

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2011

La presente tesis titulada: **ISÓTOPOS ESTABLES DE ¹⁸O, ²H Y ¹³C EN ANILLOS DE CRECIMIENTO DE CONÍFERAS EN EL EJE NEVOLCÁNICO TRANSVERSAL DE MÉXICO**, realizada por el alumno: MIGUEL ANGEL BARRERA REYES, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
FORESTAL


CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



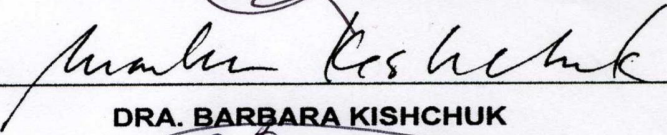
DR. ARMANDO GÓMEZ GUERRERO

ASESORA



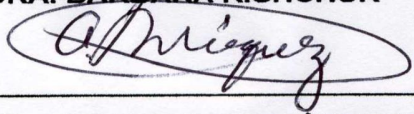
DRA. F. OFELIA PLASCENCIA ESCALANTE

ASESORA



DRA. BARBARA KISHCHUK

ASESOR



DR. ALEJANDRO VELÁZQUEZ MARTÍNEZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Mayo de 2011

ISÓTOPOS ESTABLES DE ^{18}O , ^2H Y ^{13}C EN ANILLOS DE CRECIMIENTO DE CONÍFERAS EN EL EJE NEOVOLCÁNICO TRANSVERSAL DE MÉXICO

Barrera Reyes Miguel Angel

Colegio de Postgraduados, 2011

RESUMEN

Se estudió la composición de isótopos de Carbono, Oxígeno e Hidrógeno en los anillos de crecimiento de *Abies religiosa* (Kunth Schltdl. et Cham.) y *Pinus hartwegii* (Lindl) en un transecto sobre el Eje Neo-volcánico Transversal, en México. Con la finalidad de repetir el muestreo en diferentes sitios, se eligieron rodales con condiciones ambientales similares en cuatro montañas del centro de México, donde se desarrollan las mismas especies. Las montañas seleccionadas fueron: Nevado de Colima, Nevado de Toluca, Cerro Tláloc y Pico de Orizaba. Se colectaron virutas de incremento de 20 árboles longevos de cada especie. Sin embargo, para fines este estudio se seleccionaron los cuatro arboles más representativos y se identificaron cuatro décadas (1909-1919; 1939-1949; 1969-1979; 1999-2009). El intervalo de muestreo para *A. religiosa* fue entre 3000 y 3500 msnm y para de *P. hartwegii* de 3200 a 3800 msnm. Con el propósito de conocer la estabilidad de algunos procesos relacionados con la asimilación de CO_2 y evapotranspiración se obtuvo una muestra de madera de cada década y se analizó la composición de isótopos $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$, y $\delta^2\text{H}$. Los resultados mostraron valores de $\delta^{13}\text{C}$ más altos en el Cerro Tláloc, lo que pudiera estar relacionado con la capacidad de almacenamiento de agua del perfil del suelo. Los suelo en el Cerro Tláloc, son más delgados comparados con los de otras montañas y es posible que la menor disponibilidad de agua se haya reflejado en valores de $\delta^{13}\text{C}$ más altos debido a periodos más prolongados con cierre estomático. Las dos especies estudiadas, *Pinus hartwegii* y *Abies religiosa* muestran diferencias en

$\delta^{13}\text{C}$, sin embargo, esta diferencia depende de la montaña en cuestión. En las montañas al extremo del transecto (Nevado de Colima y Pico de Orizaba) *Abies* muestra valores de $\delta^{13}\text{C}$ más diluidos que los de *Pinus*, mientras que en las montañas de la parte central (Nevado de Toluca y Cerro Tláloc) ocurre la situación inversa.

STABLE ISOTOPES OF ^{18}O , ^2H and ^{13}C IN THE TREE RING OF CONIFEROUS IN THE VOLCANIC TRANSVERSAL AXIS IN MEXICO

Barrera Reyes Miguel Angel

Colegio de Postgraduados, 2011

ABSTRACT

Carbon, Oxygen and Hydrogen isotope composition was studied in *Abies religiosa* (Kunth Schltld. et Cham.) and *Pinus hartwegii* (Lindl) tree rings on a transect along the Volcanic Transversal Axis in Mexico. To have replicated sites, natural stands with similar environmental conditions were selected from four mountains in central Mexico. The four mountains were: Nevado de Colima, Nevado de Toluca, Cerro Tláloc and Pico de Orizaba. Wood cores were collected from 20 old trees for each species. Although for the purposes of this study only the four more representative trees were studied identifying four decades (1909-1919; 1939-1949; 1969-1979; 1999-2009). *Abies religiosa* trees were sampled in altitudes from 3200 to 3500 masl and for *P. hartwegii* from 3500 to 3800 masl. With the purpose of knowing the steady of some processes relates to CO_2 assimilation and evapotranspiration, a sample of wood from each decade was analyzed for $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$, y $\delta^2\text{H}$. Results showed higher values of $\delta^{13}\text{C}$ in Cerro Tláloc, which may be related to the water storing capacity of the soil profile. Soils at the Cerro Tláloc are shallower in comparison to the soil in other mountains and possibly that with less available water the values of $\delta^{13}\text{C}$ were longer periods of stomata closing may have occurred. There were differences of ^{13}C between species, but this difference depends on the mountain. In the mountains at the extreme point of the transect (Nevado de Colima y Pico de Orizaba) *Abies* showed $\delta^{13}\text{C}$ values more depleted whereas in the mountains at the center of the transect (Nevado de Toluca y Cerro Tláloc) the opposite was seen.

DEDICATORIA

A mis padres, **Patrocinia y Guadalupe** por los consejos, enseñanzas y amor.

Para mis hermanas: **Catalina, Carmen, Emilia, Eva, Guadalupe, Emilia, Elvira, Raquel y lydia**; por estar conmigo a cada momento.

Para todos mis sobrinos y cuñados por motivarme día a día.

Para **Viviana** por el impulso y amor que me brindaste.

A **Francisco y Eduardo** por el apoyo incondicional.

A todos mis compañeros y amigos, que me acompañaron en este transitar por el Colegio de Postgraduados, gracias.

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por el financiamiento económico para la realización de mis estudios.

Al **Colegio de Postgraduados, y al Programa Forestal** que me brindaron todo el apoyo para la culminación de mis estudios.

A la Línea de Investigación número ocho (Impacto y Mitigación del Cambio Climático) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, Proyecto 91419).

Al **Dr. Armando Gómez Guerrero**, que tuvo a bien compartir su experiencia y sabiduría para el término de mis estudios.

A la **Dra. F. Ofelia Plascencia Escalante**, por sus conocimientos que me ayudaron a mejorar sustancialmente esta investigación.

A la **Dra. Barbara Kishchuk** por el apoyo incondicional para la elaboración de este trabajo.

Al **Dr. Alejandro Velázquez Martínez** por las atenciones y facilidades para el desarrollo de esta investigación.

A los profesores del Colegio de Postgraduados y del Programa Forestal que influyeron en mi formación académica.

A las secretarías del Programa Forestal, con especial agradecimiento a Maru, Bety y Lupita.

Al **Biol. José Villa Castillo** Director Ejecutivo del Parque Nacional Nevado de Colima y todo su equipo de colaboradores por las facilidades para la realización del presente trabajo.

LISTA DE CUADRO

	Pág.
Cuadro 1 Listado de los isótopos estables y sus abundancias para los elementos químicos más comúnmente utilizados en investigaciones ecofisiológicas (Squeo y Ehleringer 2004) .	5
Cuadro 2 Relación de estándares para diferentes isótopos estables (Adaptada de Dawson <i>et al.</i> 2002)	7
Cuadro 3 Significancia estadística en la composición de isótopos en anillos de crecimiento de <i>Abies religiosa</i> y <i>Pinus hartwegii</i> para diferentes décadas.	32

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 (A) Rodal de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl en el Pico de Orizaba. (B) <i>Abies religiosa</i> (Kunth Schltl. et Cham.) en el Nevado de Colima.	17
Figura 2 Distribución de los sitios de estudio.	18
Figura 3 (A) Vista panorámica del Nevado de Colima. (B) Vista aérea del Nevado de Colima (Adaptada de la página de Google Earth). Las marcas sobre la imagen corresponden a algunos sitios de muestreo.	19

Figura 4	(A) Vista panorámica del Nevado de Toluca de archivo personal. (B) Nevado de Toluca (Adaptada de la página de Google Earth). Las marcas sobre la imagen corresponden a algunos sitios de muestreo	20
Figura 5	(A) Vista típica de un rodal de <i>P. hartwegii</i> en el Cerro Tláloc. (B) Vista panorámica del Cerro Tláloc (Adaptada de la página de Google Earth)	21
Figura 6	(A) Vista panorámica del Parque Nacional Pico de Orizaba. (B) Parque Nacional Pico de Orizaba (Adaptada de la página de Google Earth). Las marcas sobre la imagen corresponden a algunos sitios de muestreo	22
Figura 7	(A) Extracción de virutas con taladro de Pressler en <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. (B) corte longitudinal de virutas.	24
Figura 8	Décadas de muestreo para el análisis de isótopos en madera	25
Figura 9	Valores medios de $\delta^{13}\text{C}$ por montaña. La barra indica el error estándar. Las diferencias estadísticas están basadas en la prueba de Duncan al 5%.....	27
Figura 10	Valores medios de $\delta^{13}\text{C}$ por década. La barra indica el error estándar. Las diferencias estadísticas están basadas en la prueba de Duncan al 5%.....	29
Figura 11	Valores medios de $\delta^{13}\text{C}$ por montaña y género. La barra indica el error estándar	31
Figura 12	Valores medios de $\delta^{18}\text{O}$ por montaña. La barra indica el error estándar. Las diferencias estadísticas están basadas en la prueba de Duncan al 5%.....	33
Figura 13	Valores medios de $\delta^{18}\text{O}$ por década. La barra indica el error estándar. Las diferencias estadísticas están basadas en la prueba de Duncan al 5%.....	33

Figura 14	Valores medios de $\delta^{18}\text{O}$ por montaña y género. La barra indica el error estándar	34
Figura 15	Valores medios de $\delta^2\text{H}$ por montaña. La barra indica el error estándar. Las diferencias estadísticas están basadas en la prueba de Duncan al 5%.....	35
Figura 16	Valores medios de $\delta^2\text{H}$ por montaña. La barra indica el error estándar. Las diferencias estadísticas están basadas en la prueba de Duncan al 5%.....	36
Figura 17	Valores medios de $\delta^2\text{H}$ por montaña y género. La barra indica el error estándar	37

CONTENIDO

RESUMEN	i
ABSTRACT	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTOS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS.....	3
III. HIPÓTESIS.....	3
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	4
4.1 Generalidades sobre los isótopos	4
4.2 Aplicación de los estudios con isótopos	7
4.3 Ventajas de las coníferas en estudios con isótopos.....	8
4.4 Carbono (^{13}C).....	9
4.5 Oxígeno (^{18}O).....	11
4.6 Hidrógeno (^2H)	13
4.7 Especies de Estudio.....	14
V. MATERIALES Y MÉTODOS	17
5.1 Ubicación del área de estudio	17
5.2 Descripción de los sitios de estudio	18
5.3 Muestreo de virutas en madera.....	23
5.4 Análisis de isótopos de H, O y C en virutas	25
5.5 Análisis estadístico.....	26
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
VII. CONCLUSIONES.....	38
VIII. LITERATURA CITADA.....	40

I. INTRODUCCIÓN

Los isótopos estables son átomos de un mismo elemento que tienen propiedades químicas similares, pero diferente masa. Esto se debe a que tienen el mismo número de protones y electrones, pero con diferente número de neutrones lo que hace que cambie su masa atómica (Reyes y Andrade, 2007). Debido a que la proporción de isótopos estables en la biomasa vegetal depende de procesos físicos como la difusión o bioquímicos como el comportamiento selectivo de algunas enzimas, es posible emplear el "marcado natural" o "huella" de la composición de isótopos como indicador de algunos procesos específicos en los ecosistemas naturales (Dwanson *et al.* 2002).

El uso de la composición de isótopos estables para el estudio de los ecosistemas se ha convertido en una herramienta útil para dos aspectos fundamentales: (i) para conocer la ruta y tasa de transferencia de nutrientes entre los reservorios de la biosfera, atmósfera y litósfera, y (ii), para deducir la intensidad de algunos procesos como absorción foliar, mineralización, acumulación de carbono orgánico y estrés hídrico (Gómez-Guerrero *et al.* 2002, García-García *et al.* 2004, Pacheco-Escalona *et al.* 2007, Luis-Mejía *et al.* 2007, Gómez-Guerrero *et al.* 2008, Martiñón-Martínez *et al.* 2011). Por su relevancia en la estructura vegetal y el proceso de evapotranspiración, los isótopos de carbono, hidrógeno y oxígeno son los más estudiados en los ecosistemas terrestres (Reyes y Andrade, 2007).

El estudio de isótopos estables en ecosistemas forestales tiene gran potencial de aplicación ya que a través de dichas tendencias se deducen algunos eventos naturales o antropogénicos. Por ejemplo, el carbono 13 (^{13}C) ayuda a deducir procesos de estrés hídrico (sequía) del pasado en la vegetación (García-García, 2004). Dado que existe una relación entre la asimilación de $^{13}\text{CO}_2$, transpiración y los periodos de apertura de estomas, la composición de isótopos de carbono

genera un registro histórico del estado hídrico en los árboles. El oxígeno 18 (^{18}O) y deuterio (^2H) proporcionan información relativa a ciclo del agua, incluyendo evapotranspiración y movimientos de agua de diferentes reservorios. La abundancia natural del isótopo ^{15}N proporciona información sobre la alteración en el ciclo del nitrógeno (Fenn *et al.* 2006; Gómez-Guerrero *et al.* 2008).

El presente estudio tiene como finalidad estudiar las tendencias en huellas de ^{13}C , ^{18}O y ^2H en los anillos de crecimiento de las coníferas de mayor distribución altitudinal *Abies religiosa* (Kunth Schltld. et Cham.) y *Pinus hartwegii* (Lindl) en el Eje Transversal Neo-volcánico de México. La información generada en este estudio ayudará a la evaluación de la intensidad de los efectos del cambio climático. De encontrarse una tendencia en las huellas de isótopos a lo largo de un transecto de bosques templados, dicha información será de utilidad para la comprensión de los efectos climáticos extremos sobre los ecosistemas forestales. Se plantea la hipótesis de que los patrones en las huellas de isótopos están cambiando en las últimas décadas como resultado de los disturbios climáticos.

II. OBJETIVOS

- Conocer la tendencia en la composición de isótopos de ^{13}C , ^{18}O , y ^2H en los anillos de crecimiento de *Pinus hartwegii* y *Abies religiosa* en las montañas de mayor altitud del Eje Neo-Volcánico Transversal de México (ENTM).
- Comparar la composición de isótopos de ^{13}C , ^{18}O , y ^2H entre especies y analizar su tendencia sobre un transecto de la región del Pacífico hacia el Golfo de México.
- Indagar si la tendencia en la composición de isótopos de ^{13}C , ^{18}O , y ^2H mantiene un patrón estable en el tiempo para cada especie y montaña.

III. HIPÓTESIS

- No existe una tendencia espacial o temporal específica de la composición de isótopos de ^{13}C , ^{18}O , y ^2H en los anillos de crecimiento de *Pinus hartwegii* y *Abies religiosa* en el Eje Neo-Volcánico Transversal de México (ENTM).
- La composición de isótopos de ^{13}C , ^{18}O , y ^2H entre especies no es diferente.
- No hay evidencias de que el patrón en la composición de isótopos esté cambiando en las últimas décadas.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Generalidades sobre los isótopos

Como en toda área del conocimiento se requieren algunas definiciones importantes para entrar en materia. A continuación se detallan algunas definiciones las cuales se han planteado en forma de preguntas. Las definiciones presentadas son de acuerdo a Gat *et al.* (2001).

¿Qué son los isótopos? Se les llama isótopos a los átomos del mismo elemento que tienen igual número de protones y electrones pero diferente número de neutrones. Debido a que la masa de un átomo se concentra principalmente en el núcleo (donde residen los neutrones y protones), la diferencia en neutrones origina que existan átomos muy similares pero con diferente masa atómica. De forma específica, los isótopos son formas de un elemento químico con una masa atómica diferente. Por tener el mismo número de protones, los isótopos tienen el mismo número atómico.

¿Cuántos tipos de isótopos hay? Existen dos tipos de isótopos en la naturaleza, los que se transforman con el tiempo (para dar lugar a otros isótopos) y durante este proceso de cambio en el estado de energía emiten radiación (alfa, beta o gama). Este tipo de isótopos se les conoce como radiactivos o inestables. El segundo tipo de isótopo es el de los estables, los cuales no se transforman en el tiempo y tienen su origen a partir de los isótopos inestables. Ambos tipos de isótopos se encuentran en la naturaleza en concentraciones muy bajas. El Cuadro 1 muestra la abundancia relativa de algunos isótopos. Porcentualmente, la proporción de isótopos es muy baja en la naturaleza, pero si ocurre un cambio estadísticamente importante en dicha proporción se debe a la dominancia de un proceso específico en la naturaleza.

Cuadro 1. Listado de los isótopos estables y sus abundancias para los elementos químicos más comúnmente utilizados en investigaciones ecofisiológicas (Squeo y Ehleringer 2004)

Elemento	Isótopo	Abundancia (%)
Hidrógeno	^1H	99.985
	^2H	0.015
Carbono	^{12}C	98.89
	^{13}C	1.11
Nitrógeno	^{14}N	99.63
	^{15}N	0.37
Oxígeno	^{16}O	99.759
	^{17}O	0.037
	^{18}O	0.204

Durante los procesos de la naturaleza como la mineralización, evaporación, respiración del suelo, y fotosíntesis, entre otros, se da lugar a transformaciones en la composición de isótopos entre un reservorio y otro. Por ejemplo, en algunos casos como la fotosíntesis la relación de isótopos ligeros y pesados de carbono se modifica porque en el proceso de difusión, los isótopos más ligeros generalmente reaccionan más rápido y quedan concentrados en la celulosa (Dawson y Brooks, 2001).

¿Cómo se representan los isótopos? Para fines de nomenclatura, los isótopos se distinguen con un exponente previo al símbolo del elemento. Por ejemplo, ^{13}C indica un isótopo de carbono con una masa de 13 en lugar de la masa más común del carbono en la naturaleza que es de 12; es decir, el isótopo más común es ^{12}C . De igual forma, el símbolo ^{18}O se usa para indicar un isótopo de oxígeno con masa 18 en lugar de la masa más común de los átomos de oxígeno que es de 16, siendo ^{16}O el isótopo más común. La mayoría de los átomos de oxígeno en la naturaleza tienen 8 electrones y 8 protones, de ahí que el peso atómico es 16; sin

embargo, si un átomo de oxígeno tiene dos neutrones más, su masa será de 18 en lugar de 16 y por tanto será más pesado que el oxígeno 16.

¿Cuáles son los isótopos importantes? La importancia depende del proceso que se va estudiar. En estudios de hidrología, por ejemplo, los isótopos estables de interés son los de hidrógeno (H), carbono (C), nitrógeno (N), oxígeno (O), azufre (S), boro (B), y litio (Li). No obstante, de importancia especial para los ecosistemas forestales son los de carbono (^{13}C), oxígeno (^{18}O), nitrógeno (^{15}N) e hidrógeno (^2H (deuterio)).

¿Cuál es la escala para medir los isótopos? Para cualquier material, la escala de medición de isótopos es similar a la concentración de un porcentaje pero siempre se hace con respecto a un estándar, sólo que este caso en lugar de ser partes por cada cien, se usan partes por cada mil (‰). La composición de isótopos de masa ligera como el hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre se reporta normalmente con el símbolo delta ‰. Este símbolo representa unidades de parte por mil (‰) y la ecuación (1) que determina los valores de ‰ es de la siguiente forma:

$$(\delta \text{ en } \text{‰}) = [(R_{\text{muestra}} / R_{\text{estándar}}) - 1] * 1000 \quad (1)$$

Donde: R es = la proporción de isótopo pesado/isótopo ligero.

El estándar para la composición de isótopos de oxígeno es el agua de mar. Por tanto, si el valor de $\delta^{18}\text{O}$ del agua de lluvia en una determinada localidad es de -20‰, esto significa que esa muestra de lluvia tiene en promedio una concentración de isótopo ^{18}O menor en 20 partes por mil con respecto al agua del mar. Es decir, las moléculas de agua en la muestra son: H_2^{16}O y H_2^{18}O , pero de ésta última la cantidad de oxígeno es muy pequeña. Posteriormente la concentración de cada isótopo se compara con su estándar. El Cuadro 2 muestra el estándar para diferentes isótopos estables.

Cuadro 2. Relación de estándares para diferentes isótopos estables
(Adaptada de Dawson *et al.* 2002)

Elemento	Standard	Relación	Valor en fracción
Carbono	V-PDB ^a	¹³ C/ ¹² C	$1.1237 \cdot 10^{-2}$
Oxígeno	V-SMOW ^b	¹⁸ O/ ¹⁶ O	$2.0672 \cdot 10^{-3}$
Hidrógeno	V-SMOW	² H/ ¹ H	$1.5575 \cdot 10^{-4}$

VPDB (Vienna Pee Dee Belemnite), V-SMOW (Vienna-Standard Mean Ocean Water) reproducido por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA).

¿Cómo se Interpretan los valores de δ ? Por notación se emplea el símbolo δ para representar la composición de isótopos. Los valores de δ son negativos cuando la concentración de un isótopo en cuestión es menor a la que se presenta en el estándar. Los valores de δ se interpretan con relación a la concentración del isótopo pesado y el orden en la escala numérica. Por ejemplo, si se tuvieran los siguientes resultados del análisis de agua de lluvia: $\delta^{18}\text{O} = -6 \text{ ‰}$ y $\delta^{18}\text{O} = -10 \text{ ‰}$; el primero corresponde a una muestra más concentrada en isótopo pesado de oxígeno que la segunda muestra. También se interpreta que el primer valor es más alto que el segundo, por ser menos negativo. Otra forma de interpretar la composición de isótopos es indicando que el primer valor es de una muestra más pesada y la segunda muestra denota un material más ligero.

4.2 Aplicación de los estudios con isótopos

La composición de isótopos está generalmente asociada a uno o varios procesos de la naturaleza. En el caso del agua de los océanos la proporción de ¹⁸O y ²H es característica, a medida que la humedad de la atmósfera viaja al interior de los continentes la evaporación diferencial de isótopos genera una ~~marca~~ marca natural en el agua que es posible utilizar como trazador para la fuente de agua (Craig, 1961).

La caracterización de isótopos de carbono en ecosistemas forestales ayuda a explicar los procesos hídricos procesos que han ocurrido en un una región geográfica (García-García, 2004) o la dinámica de la materia orgánica del suelo (Mejía-Salomón *et al.* 2007). A nivel de la celulosa en los anillos de crecimiento, el oxígeno 18 (^{18}O) y deuterio (^2H) proporcionan información relativa la fuente de agua, y procesos de evapotranspiración y estrés hídrico (Dwanson *et al.* 2002). La abundancia natural del isótopo ^{15}N proporciona información sobre la alteración en el ciclo del nitrógeno (Squeo y Ehleringer, 2004). Las variaciones de $\delta^2\text{H}$ y $\delta^{18}\text{O}$ del agua de la savia en xilema denotan las variaciones de las fuentes de agua, además de registrarse cronológicamente en la celulosa de los anillos de crecimiento (Dwanson *et al.* 2002; Roden y Ehleringer, 1999; Hartsough *et al.* 2008).

4.3 Ventajas de las coníferas en estudios con isótopos

La ventaja principal de las coníferas es la formación de anillos anuales de crecimiento en los cuales se registra la composición de isótopos de acuerdo a los insumos utilizados en el proceso de formación de la pared celular. En las coníferas se pueden distinguir anillos de crecimiento que corresponden hasta cientos o miles de años (Gutiérrez-Merino, 2008). Estos anillos pueden ser diferenciados y fechados debido a que están compuestos por células de diferente diámetro, reconocida como madera temprana la de células más grandes y tejido de color más claro (crecimiento de Primavera-Verano), y una madera tardía, con células de menor diámetro y tejido de color más oscuro (crecimiento de Otoño-Invierno).

Los estudios en coníferas de Nakatsuka *et al.* (2004) confirman el potencial que tienen los isótopos de carbono y oxígeno en la celulosa de los anillos de árboles para reconstruir el clima pasado y sugieren la importancia de los conocimientos hidrológicos en un sistema atmósfera-suelo-plantas para la utilización de anillo de crecimiento con propósitos paleo-climáticos. Los resultados de Brienen *et al.*

(2010), muestran que $\delta^{13}\text{C}$ en los anillos de crecimiento en árboles tropicales del bosque seco puede ser herramienta para evaluar las respuestas a largo plazo de los árboles para la variación del clima y el aumento de CO_2 .

Hartsough *et al.* (2008) realizaron estudios en la variación de agua disponible en especies arbóreas dominantes (*Pinus hartwegii*) que crecen a gran altitud utilizando isótopos estables de hidrógeno y oxígeno, observando condiciones climáticas darán una clara señal estacional isotópica en la celulosa de los anillos. Una ventaja de las coníferas de mayor distribución altitudinal es que la perturbación de los procesos meteorológicos es menor comparado con las zonas bajas y por lo tanto la identificación de cambios ambientales se puede identificar con mayor soporte estadístico (Gómez *et al.* 2010).

4.4 Carbono (^{13}C)

El isótopo más común del carbono es ^{12}C (98.89 %) y con menor proporción se encuentra ^{13}C (1.11 %). El carbono se integra a la planta en forma de CO_2 que luego es fijado por las plantas mediante el proceso de fotosíntesis, por lo que su composición depende de la fisiología de las plantas (Ferrio *et al.* 2005). El valor de $\delta^{13}\text{C}$ en CO_2 del aire es de alrededor de -8 ‰ VPDB ; sin embargo, este valor es cada vez más negativo debido al incremento del uso de combustibles fósiles cuya huella $\delta^{13}\text{C}$ es más diluida. Las plantas han desarrollado diferentes vías fotosintéticas para la fijación de carbono, que se traduce en grandes diferencias en la composición de isótopos de carbono, las plantas C3 presentan un valor medio de -27 ‰ VPDB mientras que en las plantas C4 el valor medio es de -14 ‰ (Ehleringer y Vogel, 1993). Estas diferencias en las rutas metabólicas mayormente utilizadas por las plantas permiten el estudio de la dinámica de carbono del suelo (Bender, 1971; Osmond, 1978).

El fraccionamiento de isótopos de carbono consiste en tomar preferentemente los isótopos más ligeros ^{12}C que los pesados ^{13}C . Estos procesos se expresan en forma de discriminación isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) en la ecuación (2) (Farquhar *et al.* 1989).

$$\delta^{13}\text{C} = \frac{{}^{13}\text{C}_{\text{aire}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{planta}}}{\left[1 + \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{planta}}}{10000} \right]} \quad (2)$$

Donde: $\delta^{13}\text{C}$ es discriminación isotópica de carbono trece, $\delta^{13}\text{C}_{\text{aire}}$ y $\delta^{13}\text{C}_{\text{planta}}$ se refieren a la composición isotópica del aire y la planta respectivamente. Los principales factores que determinan el fraccionamiento isotópico son dos físico y químico

Fraccionamiento físico

Cuando el CO_2 del aire difunde a través de los estomas, las moléculas de CO_2 de que incluyen el isótopo más ligero ($^{12}\text{CO}_2$) se difunden con mayor facilidad que los incluido el isótopo más pesado ($^{13}\text{CO}_2$). El efecto neto es que el aire interior se agota en relación con el aire ambiente de ^{13}C , lo que resulta en un fraccionamiento debido a difusión de - 4,4‰.

Fraccionamiento químico.

El segundo punto de fraccionamiento se produce cuando el CO_2 interno es utilizado por la enzima fotosintética. Los procesos biológicos tienden a usar ^{12}C en lugar de ^{13}C , el fraccionamiento debido a carboxilación que depende de la ribulosa 1,5-bifosfato carboxilasa-oxigenasa (RuBisCO).

Esta discriminación de ^{13}C durante la fijación de carbono por plantas C3 se puede expresar como (Farquhar *et al.* 1982):

$$\delta^{13}\text{C} = a + (b-a)(c_i/c_a) \quad (3)$$

Donde: a es la discriminación ^{13}C durante difusión a través de los estomas (4.4‰), b discriminación por carboxilación (27‰) y c_i , c_a son concentraciones de CO_2 intercelular y ambiental.

En ecosistemas templados se ha observado que el $\delta^{13}\text{C}$ en las plantas varía con la humedad del suelo, la humedad del ambiente, la disponibilidad de nutrientes, la temperatura, la salinidad y la concentración de CO_2 atmosférico (Dawson *et al.* 2002).

4.5 Oxígeno (^{18}O)

La fuente de agua para los árboles es la humedad del suelo, por lo que parte de la señal en los isótopos del agua (H y O) de los árboles proceden de la firma isotópica de las precipitaciones. Sin embargo, hay varios fraccionamientos potencial antes de que los isótopos del agua se fijen en la madera. La primera se produce en el suelo, donde la evaporación puede alterar la relación isotópica original. También existen variaciones estacionales en el ^{18}O de precipitación, y de acuerdo a la profundidad a la que las raíces acceden al agua (Dawson, 1993; Dawson y Pate, 1996), por lo que el tiempo medio de residencia del agua en el suelo es importante (Buhay y Edwards, 1995).

Los isótopos estables de oxígeno e hidrógeno no son fraccionados durante la absorción de agua en las raíces (White *et al.* 1985; Ehleringer y Dawson 1992).

Por lo tanto, la proporción de isótopos de hidrógeno y oxígeno en la savia del xilema es un reflejo directo de las fuentes de agua utilizadas por la planta (Farrington *et al.* 1996). Los anterior también fue corroborado por Hartsough *et al.* (2008), quienes dedujeron que los bosques de *Pinus hartwegii* en Colima utilizan en gran medida el agua del suelo superficial más que el agua de mayores profundidades y de mayor tiempo medio de residencia.

Aunque al parecer no existe fraccionamiento isotópico en cuando las raíces absorben agua, si existe fraccionamiento en las hojas donde la evaporación conduce a una pérdida de los isótopos más ligeros y un consiguiente enriquecimiento en ^{18}O , que puede ser hasta un 20‰ (Saurer *et al.* 1998, 2002).

El enriquecimiento de la hoja está dada por la siguiente expresión (Barbour *et al.* 2001, 2002):

$$^{18}\text{O}_e = \frac{e^*}{k} + \frac{e^*}{k} (^{18}\text{O}_v - k) \frac{a}{i} \quad (4)$$

Donde e^* es la depresión proporcional de la presión de vapor de agua por el H_2^{18}O más pesado, k es el fraccionamiento que el agua se difunde a través de los estomas y la capa límite de la hoja, $^{18}\text{O}_v$ es la composición isotópica del oxígeno del vapor de agua en la atmósfera (en relación con las fuentes de agua), y a, i son presiones de vapor ambiente y intercelulares, este modelo explica el enriquecimiento isotópico del agua en el sitio de la evaporación.

La señal isotópica que contiene el agua en las hojas es trasferida a las moléculas orgánicas mediante el intercambio de oxígeno (Yakir, 1992). En general se espera que la huella de isótopos del agua se transfiera a la savia de los árboles. Hartsough *et al.* (2008) encontraron que el agua de lluvia y el de la savia en el xilema de *Pinus hartwegii* en Colima, México, tienen una relación, así como también hay una relación similar entre los isótopos de hidrógeno y oxígeno en agua de lluvia, savia y celulosa.

En la celulosa del tronco la mayor parte del enriquecimiento se registra partir del el intercambio de agua del xilema que se produce en la biosíntesis de celulosa (Roden *et al.* 2000). Si todos los oxígenos fueran destinados al intercambio, la composición isotópica de la fuente agua (xilema) se quedaría grabada directamente en la celulosa de los anillos en los árboles. Si no hay intercambio, las relaciones isotópicas se reflejarían en la fuente de agua y el grado de enriquecimiento, debido a la evaporación en la hoja. Es fundamental determinar cuál es la proporción del intercambio de átomos oxígeno para interpretar las señales paleoambientales (Roden *et al.* 2000, Anderson *et al.* 2002).

El $\delta^{18}\text{O}$ en los anillos de los árboles no es una medida directa de la $\delta^{18}\text{O}$ de la fuente de agua del suelo, ya que la evaporación aumenta el $\delta^{18}\text{O}$ de agua de la hoja. La cantidad de evaporación depende de la conductancia estomática y el déficit de presión de vapor, vinculándose con la humedad relativa (HR), y el fraccionamiento resultante es moderado por el $\delta^{18}\text{O}$ de vapor de agua fuera de la hoja (Roden *et al.* 2000). En particular, el $\delta^{18}\text{O}$ de la precipitación tiene una alta correlación con la temperatura media anual y es claro que también debe haber una correlación entre los valores de $\delta^{18}\text{O}$ en la celulosa de los anillos de crecimiento de los árboles y la temperatura media anual de ciertas regiones (Burk y Stuiver, 1981). Estudios más precisos han incorporado las diferentes señales isotópicas de ^{18}O del agua foliar y del agua del suelo en la celulosa del tallo de las plantas (Roden *et al.* 2000; Sternberg *et al.* 2003), lo que incrementa la precisión en las predicciones de climas pasados.

4.6 Hidrógeno (^2H)

Las investigaciones con ^2H , también llamado deuterio (D) y ^{18}O tienen un gran potencial para entender procesos bioquímicos y fisicoquímicos que ocurren durante la transpiración, la fijación de CO_2 y las reacciones bioquímicas durante la síntesis de celulosa en tejidos no fotosintéticos (DeNiro y Epstein, 1979; Cernusak *et al.* 2003; Sternberg *et al.* 2003). Los isótopos de hidrógeno en los anillos de

árboles son difíciles de medir y los datos disponibles son muy limitados. Sin embargo, el comportamiento de hidrógeno se ha modelado, y su dinámica es común con el oxígeno (Roden *et al.* 2000). El hidrógeno en la madera proviene de agua del suelo y por lo tanto de la precipitación. El δD depende de la precipitación, temperatura de condensación y la variación espacial y estacional. Cuando el agua llega a la hoja, la evaporación conduce a una pérdida de los isótopos más ligeros, por lo que el δD de agua de la hoja se enriquece en relación con la fuente. El enriquecimiento de δD por la evaporación es controlada por los mismos factores que controlan el enriquecimiento de $\delta^{18}O$ (McCarroll y Loader, 2004).

Al igual que con los isótopos de oxígeno, existe un intercambio con agua del xilema, lo que indica que δD en anillos de árboles dependerá de la fuente de agua. (Roden *et al.* 2000), por lo tanto, los factores el medio ambiente que influyen en los isótopos de hidrógeno en madera debe ser las mismas que las del oxígeno, reflejando las condiciones de la precipitación y la humedad relativa. En general es más complicado interpretar la los valores de δD con respecto al clima debido al intercambio con entre hidrógeno de la celulosa e hidrógeno del agua. Por lo anterior, la interpretación de δD es más limitada que la de $\delta^{18}O$ y $\delta^{13}C$.

4.7 Especies de Estudio

Aunque las zonas alpinas de México sólo representan el 1% del territorio nacional, son muy importantes ya que albergan a especies endémicas. El posible escenario de calentamiento global sugiere que en estos ecosistemas las especies vegetales y animales son altamente susceptibles a ser afectadas por estar adaptadas a condiciones frías (Hernández *et al.* 2005)

El Estudio de País, presentado en la Primera Comunicación de México ante la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático en 1997 (INE-SEMARNAP, 1997), considera supuestos de un incremento de 2°C en temperatura y una disminución de 10% en la precipitación anual. Con base en

estas diferencias en los valores de temperatura y precipitación, se estima que los tipos de vegetación más afectados en México serán los bosques templados, los bosques tropicales y los bosques mesófilos de montaña (Villers y Trejo, 1998), lo que implicará un cambio en la distribución de las especies que habitan en esos ecosistemas. Se sabe que una modificación en el área de cobertura de los tipos de vegetación, ya sea una contracción o una expansión, necesariamente traerá como consecuencia una nueva distribución espacial de las especies, así como cambios en la abundancia de aquellas más susceptibles (Peterson *et al.* 2001, 2002).

El *Abies religiosa* (Kunth Schltdl. et Cham). conocido también como oyamel, es un abeto nativo de las montañas centrales y sur de México (Eje Volcánico Transversal, Sierra Madre del Sur) y, del oeste de Guatemala. Crece a altitudes de 2000 a 3600 msnm en bosques frescos y con alta precipitación, de veranos húmedos, y caída de nieve invernal. Es un árbol de tamaño grande, perennifolio, de 40 a 50 m de altura (Aunque en las montañas mexicanas se han visto ejemplares de más de 60 metros) con un tronco recto de hasta 2 m de diámetro (Figura 1). Las hojas son como agujas, chatas, de 15 a 35 mm de longitud y 1.5 mm de ancho por 0.5 mm de espesor, verde oscuro en el haz, y con dos bandas azul blancas de estomas en el envés; el extremo de la hoja es agudo. El arreglo de hojas es en espiral. Los conos tienen 8 a 16 cm de longitud y 4 a 6 cm de ancho, antes de madurar azul púrpura oscuros; las brácteas son púrpura o verdosas, de moderada longitud. Las semillas aladas se despegan cuando los conos se desintegran en la madurez, 7 a 9 meses posteriores a la polinización. (Farjon, 1990).

Los bosques de oyamel son densos; la luz que llega al suelo es poca y el sotobosque es escaso (Challenger y Caballero, 1998). La especie de abeto de mayor extensión en México es la *A. religiosa*. Sin embargo, algunas poblaciones de *Abies* se están fragmentando y reduciendo (Sánchez-Velázquez *et al.* 1993; Aguirre-Planter *et al.* 2000; Brower *et al.* 2002) por el cambio de uso del suelo. *A. religiosa* (como otras especies de *Abies*) es una especie tolerante a la sombra

(Whitmore, 1989). No obstante, algunas especies de *Abies* se pueden regenerar en los claros del dosel y en el sotobosque (Mori y Takeda, 2002).

Pinus hatwegii Lindl, es el árbol que marca el límite de la vegetación arbórea en México. Se distribuye entre los 3000 y 4000m msnm (Perry, 1991). El crecimiento de esta especie está limitado principalmente por las condiciones ambientales predominantes en dichas zonas (bajas temperaturas y escasa precipitación) (Hernández *et al.* 2005).

Pinus hatwegii Lindl puede alcanzar una altura de 20-30 m y hasta 128cm de diámetro con una corona redondeada y amplia (Figura 1). La corteza es gruesa, de marrón grisáceo oscuro, escamosa o fisurada. Las hojas son aciculares, de color verde oscuro. De a cinco (ocasionalmente cuatro) por fascículo de, 10-20 cm de largo y 1,2-1,5 mm de ancho. La vaina del fascículo persistente 1,5-2 cm de largo. Los estróbilos son ovoides, 6-13 cm de largo, negros o de un púrpura muy oscuro, abriéndose cuando maduran en primavera hasta 5-7 cm de ancho. Las semillas tienen alas, 5-6 mm de largo con un ala de 1,5-2,5 cm. La polinización ocurre al final de la primavera y de 20. 22 meses después los conos son maduros (Farjon *et al.* 1997).

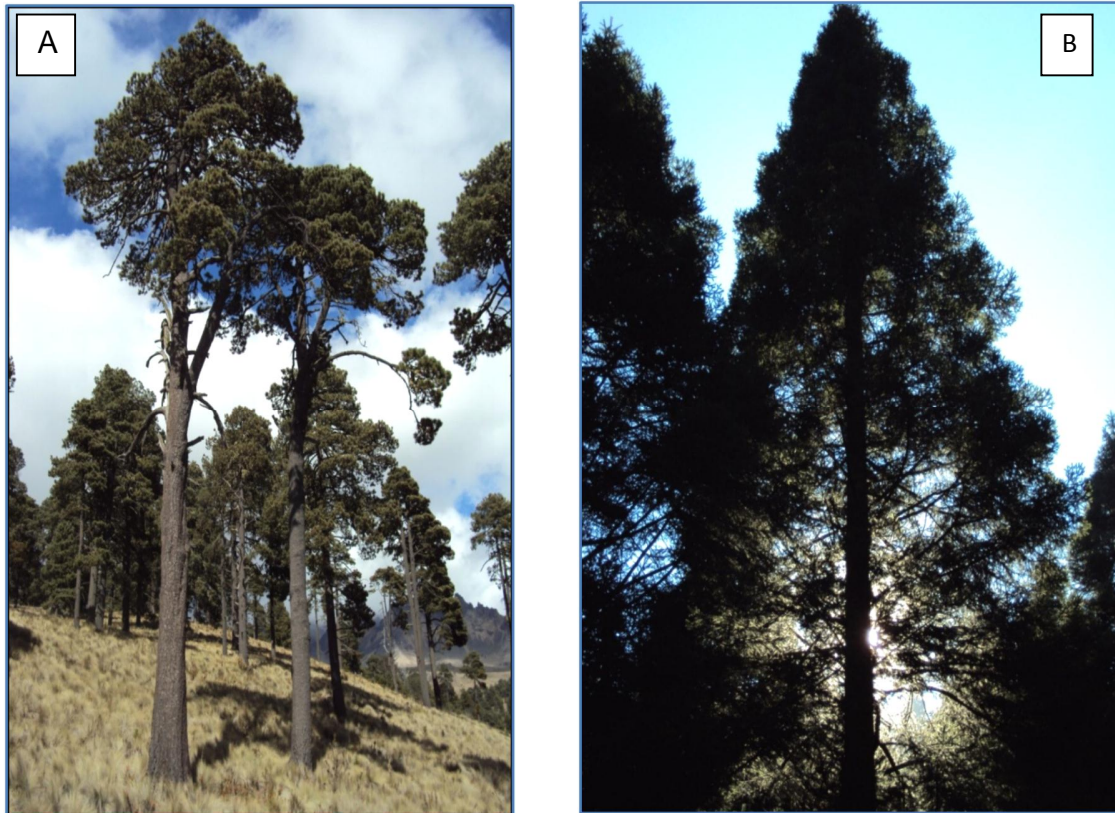


Figura 1. (A) Rodal de *Pinus hartwegii* Lindl en el Pico de Orizaba. (B) *Abies religiosa* (Kunth Schltld. et Cham.) en el Nevado de Colima.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Ubicación del área de estudio

El área de estudio se localizó en el Eje Neovolcánico Transversal de México (ENTM), donde existe poblaciones *Abies religiosa* y *Pinus hartwegii*. Las elevaciones donde se trabajó fueron: Nevado de Colima, Cerro Tláloc, Nevado de Toluca y Pico de Orizaba (Figura 2). Desde el punto de vista metodológico el ENTM ofrece la repetición de sitios con vegetación similar, variando sólo la ubicación espacial con respecto al Pacífico y el Golfo de México.

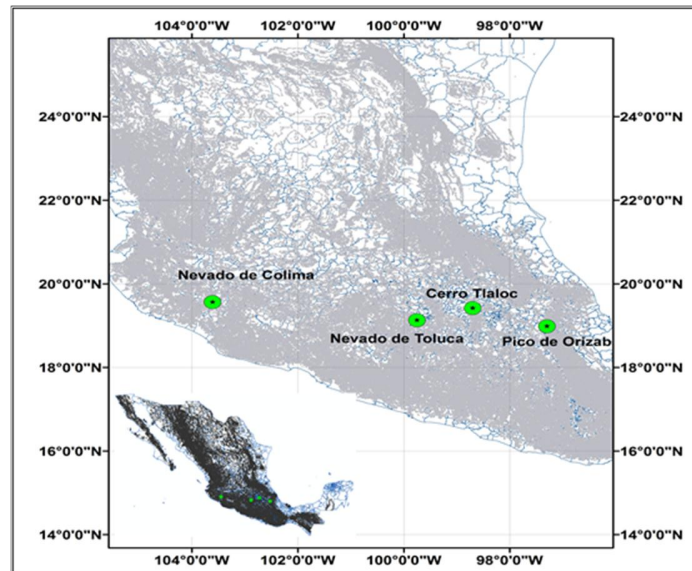


Figura 2. Distribución de los sitios de estudio.

El Eje Neovolcánico Transversal se localiza entre los 17° 30' y los 20° 25' de latitud Norte y los 96° 20' y 105° 20' de longitud Oeste, con una longitud media de 930 km de este a oeste y 120 km de norte a sur; limita a las sierras Madre Oriental, Occidental, del Sur y de Oaxaca, abarcando parte de los estados de Jalisco, Colima, Michoacán, Distrito Federal, Estado de México, Morelos, Puebla, Hidalgo, Tlaxcala y Veracruz. En el eje se sitúan las elevaciones más altas de México que son el Pico de Orizaba (5 650 m), el Popocatepetl (5 450 m), el Iztaccíhuatl (5 280 m), el Nevado de Toluca (4 560 m), la Malinche (4460 m), el Nevado de Colima (4340 m), el Tancítaro (4 160 m), el Tlaloc (4 150 m) y el Cofre de Perote (4 090 m) (Rezedowski, 1978).

5.2 Descripción de los sitios de estudio

Parque Nevado de Colima. Se encuentra en los Estados de Jalisco y abarca una superficie de 9,375 hectáreas (Figura 3). Se localiza geográficamente entre los

meridianos de coordenadas 19° 28' 07" y 19° 36' 20" de latitud Norte y entre los 103° 33' 20" y 103° 40' 40" de longitud Oeste (Vargas, 1984).

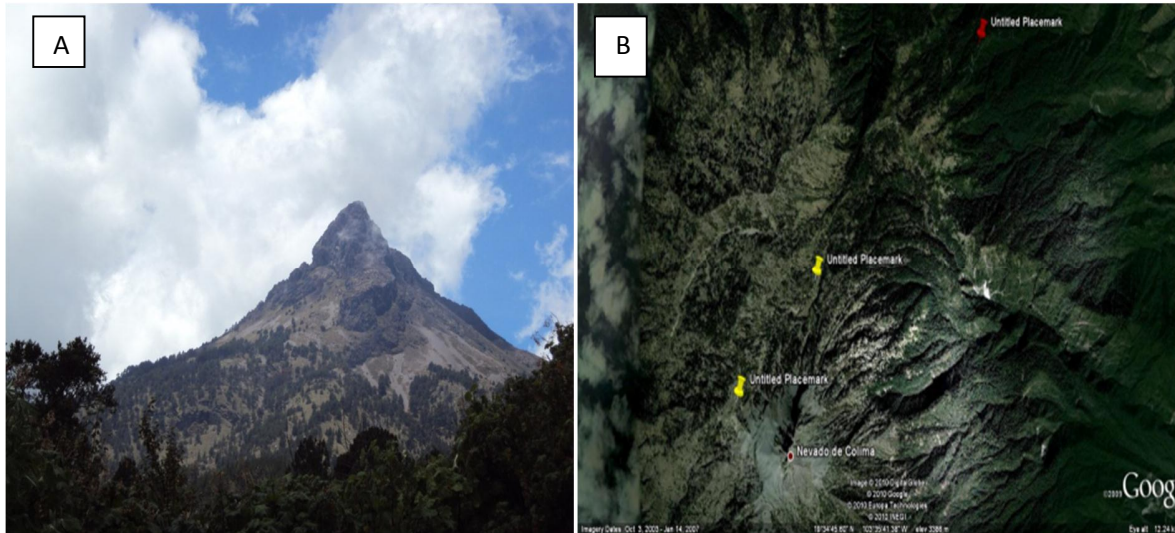


Figura 3. (A) Vista panorámica del Nevado de Colima. (B) Vista aérea del Nevado de Colima (Adaptada de la página de Google Earth). Las marcas sobre la imagen corresponden a algunos sitios de muestreo.

Cartográficamente, el parque se sitúa en las cartas topográficas a escala 1:50,000; denominadas Ciudad Guzmán E13-B25 y Cuauhtémoc E13-B35, editadas por el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.

Presenta un rango altitudinal de 2,200 a 4,330 metros sobre el nivel del mar (msnm) (Vargas, 1984). De acuerdo a la Clasificación de la FAO- UNESCO (1988), los suelos son Andosol húmico y vítrico; Cambisol eútrico y Regosol eútrico.

Presenta tres tipos de climas: frío tropical y templado, temperaturas medias en los meses de enero- febrero de 5-7°C, abril y mayo 16-34 °C y en invierno -2 y 5 °C

Los bosques de pino se representan por pino escobetón (*Pinus hartwegii*), pino negro o *Pinus. rudis Endl* , *Juniperus monticola Martinez* y otros pinos (*Pinus pseudostrobus Lindl*, *P. montezumae Lamb*, *P. tenuifolia Salisb* y *P. douglasiana*

Martínez). También existen bosques mezclados de pino, oyamel (*Abies religiosa*), encino (*Quercus* sp.) y aile (*Alnus firmifolia* Fernald).

Volcán Nevado de Toluca. Sus coordenadas son entre 99° 38' 54"q a 100° 09' 30"q del longitud Oeste y entre 18° 51' 31"q y 19° 19' 03"q de latitud Norte. Con una área de influencia de 1,517 km². Es un volcán con elevación de 4,690m y es el cuarto pico más alto de México. Se ubica a 80 kilómetros al Oeste de Ciudad de México (Figura 4).

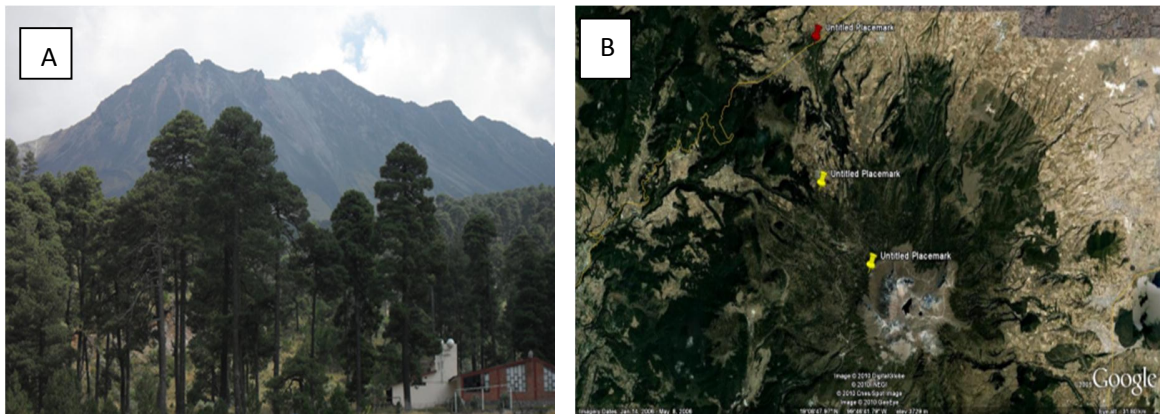


Figura 4. (A) Vista panorámica del Nevado de Toluca de archivo personal. (B) Nevado de Toluca (Adaptada de la página de Google Earth). Las marcas sobre la imagen corresponden a algunos sitios de muestreo.

La temperatura media anual es entre 2 y 12 °C. En las faldas del volcán es templado y lluvioso pero en la cumbre el clima es frío.

Se trata de una región prioritaria para la conservación debido a su diversidad biológica derivada del gradiente altitudinal, en la que predominan el bosque de pino, el de oyamel y la pradera de alta de montaña o zacatal.

Los tipos de suelo de acuerdo a la Clasificación FAO-UNESCO (1988) son El Andosol úmbrico y Feozem háplico .

Cerro Tláloc. Se denomina Sierra Nevada o Sierra de Río Frío a la cordillera que va del Popocatepetl en el sur, a los lomeríos que descienden del Monte Tláloc´ esta abarca una extensión de 70 Km. de longitud. Esta sierra está conformada por los montes Tláloc (4125), Telapón (4065), Yoloxóchitl (3,900), los Potrereros (3,600), el Papayo (3,640), el Tlamacas (3,220), el Tejolota (3,020), la Mesa (2,800) y el Tezoyo (2,660). (Sánchez-González, 2004), se localiza LN 19° 24´ 41.7+- LO 98° 42´ 44.8+con una altitud de 4125msnm (Figura 5)

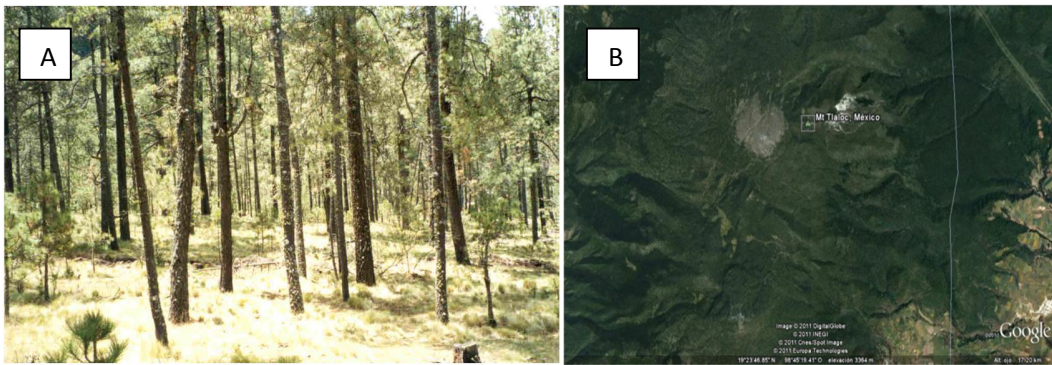


Figura 5. (A) Vista típica de un rodal de *P. hartwegii* en el Cerro Tláloc. (B) Vista panorámica del Cerro Tláloc (Adaptada de la página de Google Earth).

De acuerdo con el sistema de clasificación de Köppen, modificado por (García 1981), el clima es templado subhúmedo, con lluvias en verano (Cw(w)b(iq). La precipitación media anual es de 900 mm, con mayor precipitación en junio, julio y agosto, esporádicamente en julio alcanza 1100 mm; en febrero y en diciembre caen lluvias ocasionales.

La temperatura media anual es de 17 °C; la extrema más caliente, de 37 °C, es en mayo, y la más fría, de . 2 °C, en enero; pueden suceder heladas eventuales entre octubre y abril. La evaporación potencial, notablemente más alta que la precipitación, oscila entre 900 y 2300 mm año⁻¹; el viento sopla hacia el noreste y noroeste a una velocidad promedio de 10 km h⁻¹.

Se presentan seis tipos de vegetación natural dominante: encinar arbustivo, bosque de encino, bosque mixto, bosque oyamel, bosque de pino y zacatonal alpino. Los suelos son negros y profundos ricos en materia orgánica de un textura media, pH de 5.5-7.1 (González- Mata 2003)

Parque Nacional Pico de Orizaba. Se localiza entre los $18^{\circ} 56' 30''$ y $19^{\circ} 09' 30''$ de latitud norte y los $97^{\circ} 12' 30''$ y $97^{\circ} 22' 30''$ de longitud Oeste. El área de influencia abarca 19,7550 ha (Figura 6).

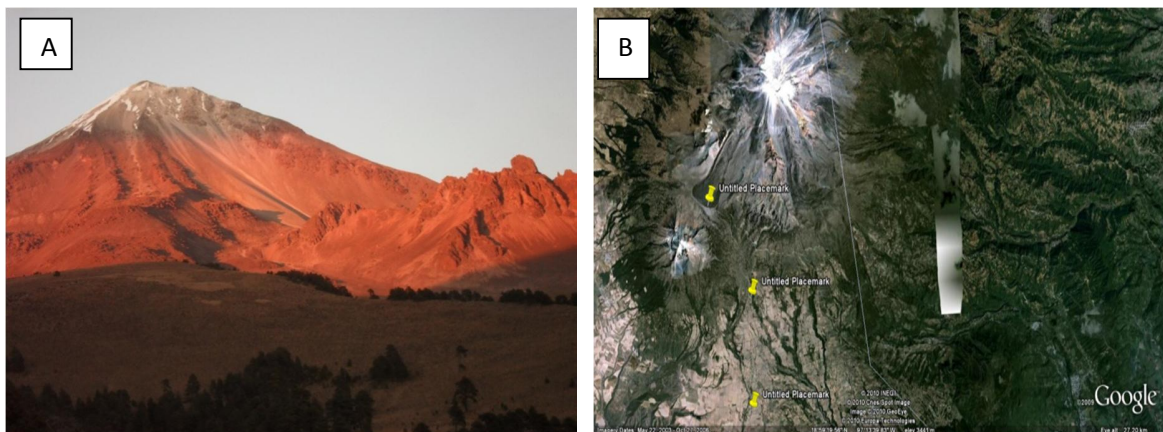


Figura 6. (A) Vista panorámica del Parque Nacional Pico de Orizaba. (B) Parque nacional Pico de Orizaba (Adaptada de la página de Google Earth). Las marcas sobre la imagen corresponden a algunos sitios de muestreo.

Se distribuye en rango altitudinal que va de los 2700 a 5760 msnm. Su estructura dominante tiene una dirección norte-sur y se conoce como Sierra del Citlaltépetl, gran estrato volcánico que ostenta una forma cónica casi perfecta, aunque presenta en su lado este, pendientes muy escarpadas. Hacia el sur le acompaña un macizo antiguo, apagado, bastante erosionado y sin vestigios de cráter, llamado Atzintli o Sierra Negra, de cerca de 5,000 metros sobre el nivel del mar (SARH, 1993).

Los suelos representativos son el Andosol, que son derivados de cenizas volcánicas, presentan alto contenido de materia orgánica; con estructura en grano fino; tiene la capacidad de retener gran cantidad de humedad y de poseer un

excelente drenaje interno (SARH, 1993). También hay suelos tipo Regosoles poco desarrollados, que provienen de materiales no consolidados o de perfiles truncados por el alto grado y persistencia de la erosión.

Presenta tres tipos de climas: El templado húmedo con lluvias todo el año predominantemente en la vertiente oriental, entre los 2200 y los 3200 msnm. La estación más seca es la primavera, donde se registran las temperaturas más altas de todo el año, generalmente en el mes de abril.

El templado subhúmedo predomina en la vertiente occidental, arriba de los 2600 msnm. Es muy parecido al anterior, pero difieren en el régimen pluviométrico: el verano es lluvioso, mientras que el invierno es seco.

El clima frío predomina entre los 3200 y los 4300 m de altitud. La temperatura media anual oscila entre los 2 y los 5 °C. Gran parte de las precipitaciones son en forma de nieve.

En la vegetación subalpina, el representante del estrato arbóreo es *Pinus hartwegii*, su rango altitudinal va de los 3000 a los 4000 msnm. . Las especies dominantes son *Abies religiosa* y *A. hickeli* Flous et Gausson, en el bosque de Oyamel que se localiza en las laderas y fondos de las Barrancas.

5.3 Muestreo de virutas en madera

En cada uno de las cuatro montañas se hizo un recorrido para conocer las condiciones del lugar y localizar los arboles a ser muestreados de dos especies de coníferas *Pinus hartwegii* y *Abies religiosa*, localizando las más longevas posibles de acuerdo a sus características fenotípicas (altura, diámetro, color de corteza) para obtener 20 muestras. Las muestras de virutas para el análisis de anillos de crecimiento se obtuvieron en 2009 -2010 utilizando un taladro de Pressler marca HAGLOF (figura 7), modelo BS009 de 12 mm. La muestra de madera se tomó a 1.30 m (DAP) sobre el nivel del suelo. Cada árbol se geo-referenció para un posterior remuestreo.

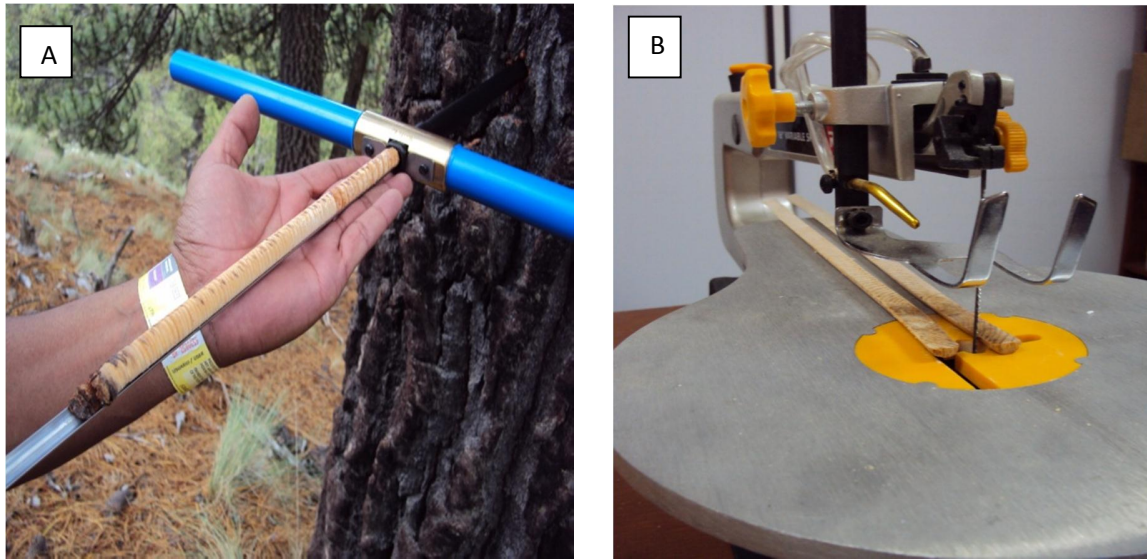


Figura 7. (A) extracción de virutas con taladro de Pressler en *Pinus hartwegii* Lindl. (B) corte longitudinal de virutas.

Hecho el muestreo de los arboles, las virutas obtenidas de cada una de las especies se etiquetaron (nombre del sitio, nombre de la especie, altitud msnm, latitud norte y latitud oeste, diámetro y fecha de colecta) y se envolvieron en papel aluminio para su protección y traslado. Posteriormente en el laboratorio las virutas se secaron a temperatura de ambiente por 5 días para ir disminuyendo la cantidad de humedad que tenían y aumentar su firmeza. Teniendo las virutas con un secado adecuado se procedió a realizar un corte longitudinal con una sierra contorneadora marca RYOBI de sierra fina 5 " para obtener dos muestras con cara limpia de los anillos (figura 7).

Las virutas obtenidas del corte longitudinal se pulieron con papel lija para obtener un mejor contraste de los anillos. La mitad de la viruta se dejó para el muestro de de isótopos en madera, que fue el objetivo de este estudio y la otra mitad para realizar un análisis de indicadores de crecimiento en anillos de crecimiento como parte de otra trabajo de tesis de maestría (Martínez-Molina, 2011, Tesis de Maestría en Proceso).

5.4 Análisis de isótopos de H, O y C en virutas

Para identificar los anillos y el año de su formación, se eligieron 5 muestras por montaña de acuerdo a sus características de crecimiento estas, se escanearon y analizaron con paquete de análisis de imágenes denominado WinDendro (Larocque, 2005), el cual realiza de una manera precisa y eficiente la datación, así como las medidas para anillos anuales de árboles, además de otros parámetros relacionados (ancho de la madera temprana y tardía, mínimos y máximos, etc.).

Las muestras se prepararon para obtener entre 1 a 3 miligramos de madera por cada una de las décadas definidas de la manera que se explica en la siguiente figura (Figura 8).

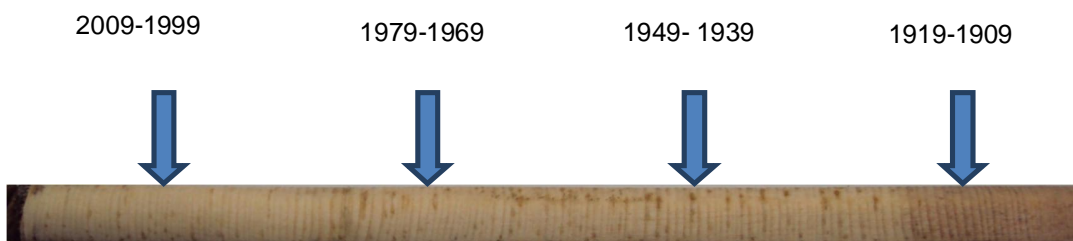


Figura 8. Décadas de muestreo para el análisis de isótopos en madera.

No se hizo un análisis continuo en el tiempo en las virutas por razones de costos y por disponibilidad de muestra, ya que en algunos casos lo estrecho de los anillos redujo y dificultó la obtención de muestra (Figura 11). De cada década se extrajo muestra de madera con un mini torno procurando que la cantidad del elemento en cuestión (carbono, oxígeno e hidrógeno) fuera suficiente de acuerdo a la precisión del espectrómetro de masas. Las muestras se pesaron en una balanza de alta precisión SARTORIUS ME5-OCE (peso 0.1mg-5.1g y una resolución de 0.001

mg), posteriormente estas se encapsularon en recipientes de estaño con una dimensión de 5X9 mm, se etiquetaron y fueron enviadas a la unidad de isótopos de la Universidad de California, campus Davis, Estados Unidos, donde se realizaron los análisis respectivos para los isótopos de carbono, hidrógeno y oxígeno. Las muestras para determinación de δD y $\delta^{18}O$ requirieron capsulas de plata de acuerdo a las especificaciones del Espectrómetro de masas. En este trabajo las muestras de madera no se trataron con nitrito para reducir el intercambio hidrógeno. Sin embargo, los datos de 2H de todas formas se procesaron asumiendo que los procesos de intercambio de H afectarían de manera similar a todas las muestras. Se debe reconocer que este procedimiento no es el más correcto pero dado que puede haber el interés de otros investigadores de conocer los datos, se consideraron y se presentaron en este documento.

5.5 Análisis estadístico

El análisis global de la información se hizo considerando las mediciones de los isótopos como mediciones repetidas en el tiempo, empleando el módulo de GLM del paquete SAS (Littell *et al.* 2002). Los factores de variación fueron el género (*Abies* o *Pinus*), la Montaña y la interacción género x Montaña. Para la década cuatro (1909-1919) no siempre se contó con muestra de madera suficiente, por lo que el análisis estadístico se realizó solamente las tres décadas más recientes. Sin embargo, para mostrar la tendencia global, siempre que fueron posibles los resultados gráficos incluyen los cuatro periodos estudiados. Para conocer la variación de todos los datos con respecto a todas las montañas y tiempos, se realizaron análisis con la información combinada de ambas especies.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Tendencias por montaña y género para ^{13}C

Considerando sólo la montaña como factor de variación y sin separar la información de las dos especies estudiadas, los resultados mostraron que la montaña con valores más altos de $\delta^{13}\text{C}$ fue Cerro Tláloc (pm0.05) (Figura 9). El Nevado de Colima es la montaña con $\delta^{13}\text{C}$ más bajos.

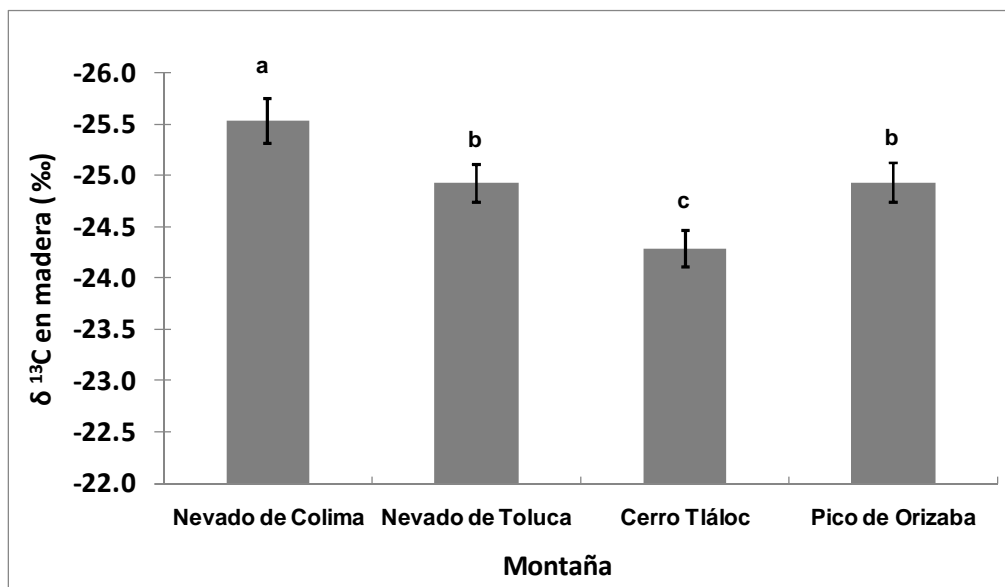


Figura 9. Valores medios de $\delta^{13}\text{C}$ por montaña. La barra indica el error estándar. Las diferencias estadísticas están basadas en la prueba de Duncan al 5%.

McCarroll y Loader, (2004) y Ferrio y *et al.* (2005) indican que las variaciones $\delta^{13}\text{C}$ podrían deberse a la relación que existe entre las condiciones ambientales, como precipitación y evapotranspiración. Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ se usan como un indicador del estado hídrico y de la eficiencia de uso del agua. Por lo tanto, los datos sugieren que los bosques de la montaña Cerro Tláloc son más eficientes en el uso de agua con respecto a las otras montañas. Los valores altos de $\delta^{13}\text{C}$ se

promueven por limitada disponibilidad de agua. El cierre estomático y una reducción de la concentración interna de CO₂ conducen al enriquecimiento de la fracción pesada. En cambio, valores bajos reflejan mejores condiciones hídricas para la planta.

En plantas C3, se ha demostrado que la eficiencia de uso de agua (EUA) y el potencial hídrico están negativamente correlacionados; es decir, aumentos en la EUA están asociados con aumentos de estrés hídrico y valores de ¹³C más altos (DeLucia y Schlesinger, 1991; Ehleringer y Dawson, 1992).

Esto permite suponer que la composición isotópica en anillos de crecimiento en Cerro Tláloc refleja una mayor EUA e intercambio de CO₂ ya que esta discriminación es menor cuando los estomas están cerrados, utilizando todo el CO₂ disponible en el interior de la hoja. Al contrario de lo que sucede en Nevado de Colima en donde las condición ambientales pueden ser más favorables y la discriminación de CO₂ es mayor teniendo $\delta^{13}\text{C}$ más negativo. Esto es corroborado por García-García *et al.* (2004) indicando que con menor disponibilidad de agua la discriminación de ¹³C se redujo.

No se tiene una explicación completa del porqué la fracción pesada de carbono es mayor en el cerro Tláloc. De hecho se hubieran esperado valores muy diluidos por la cercanía a la zona más urbanizada del país donde el consumo de hidrocarburos es alto. Sin embargo, es posible que los valores altos de $\delta^{13}\text{C}$ en el cerro Tláloc estén relacionados con el tipo de suelo en donde se encuentran dichas especies, ya que en este sitio se cuenta con suelos delgados con una menor capacidad de retención de agua, contribuyendo con esta característica a que las especies presenten estrés hídrico por periodos más prolongados que en los otros sitios. Debido a esto, la respuesta de las especies fue un cierre estomático más prolongado, con disminución en el intercambio de gases (CO₂) y posiblemente mayor eficiencia en el uso del agua en Tláloc.

Analizando la información por periodos de tiempo y sin considerar la separación de especies, los resultados indicaron que sólo la primer década 2009-1999 muestra valores más diluidos en ^{13}C ($p < 0.05$) (Figura 10)

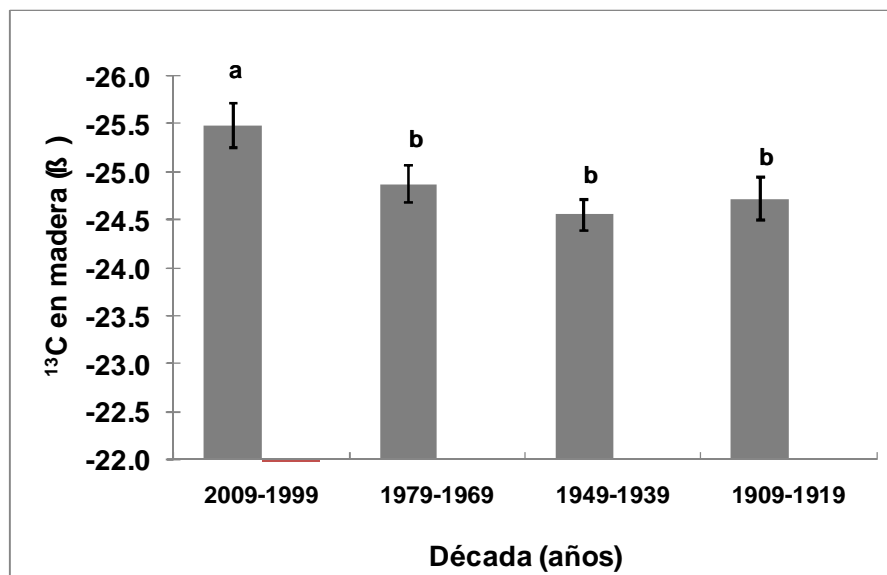


Figura 10. Valores medios de $\delta^{13}\text{C}$ por década. La barra indica el error estándar. Las diferencias estadísticas están basadas en la prueba de Duncan al 5%.

Los valores $\delta^{13}\text{C}$ por década observaron una media de -24.9‰ , teniendo una variación de -0.9‰ entre décadas, mostrando valores más enriquecidos para la década 1940-1950 de -24.8‰ y más diluidos en la década más reciente 2009-1999 con -25.4‰ (Figura 13).

El $\delta^{13}\text{C}$ en tejidos vegetales es un indicador de las condiciones ambientales existentes en el momento que ocurre la fijación de CO_2 por medio de la fotosíntesis. En las últimas décadas la concentración de CO_2 ha ido en aumento, altas concentraciones de CO_2 provocan una mayor tasa de fotosíntesis y un uso del agua más eficiente por parte de las plantas.

Debido a la quema de hidrocarburos entre 1970 y 2000, la concentración aumentó cerca de 1.5 ppm al año, esto sugiere una mayor dilución de la fracción más

pesada del ^{13}C como lo muestra Brienen *et al.* (2011) en un período de tiempo (1968 . 2007) hubo una disminución en la cantidad $\delta^{13}\text{C}$ de la atmósfera de -7.1 ‰ a -8.2‰ , aumentando la fuente de ^{13}C en el reservorio de la atmósfera. Desde esta perspectiva los resultados muestran mayor incorporación de ^{13}C en tejido vegetal en años recientes.

Con el aumento de CO_2 atmosférico cabría la posibilidad que se incremente la fijación de carbono y como consecuencia el crecimiento de la planta, sin embargo Bazzaz, (1990) dudaron acerca de que el continuo incremento de CO_2 pueda estimular la producción y el crecimiento. Tognetti *et al.* (2000) trabajando en anillos de crecimiento de cinco especies (*Arbutus unedo L.*, *Fraxinus ornus L.*, *Quercus cerrisL.*, *Quercus ilex L.* y *Quercus pubescensWilld.*), indicaron que había una falta de correlación entre los valores de producción y fotosíntesis con una mayor disponibilidad de CO_2 .

El CO_2 es el principal factor relacionado con las tendencias a largo plazo de la EUA, estas tendencias (Figura 12) coinciden con otros estudios realizados en otras regiones que reflejan un incremento en la EUA (Bert *et al.* 1997; Duquesnay *et al.* 1998; Feng, 1998; Saurer *et al.* 2004). Los cuales muestran un descenso en la respuesta (tasa de incremento de EUA) en relación al incremento de CO_2 .

Cuando la información se analizó considerando las dos especies por separado y para cada montaña, se observó que en la montañas del centro, Nevado de Toluca y Cerro Tláloc, *P. hartwegii* muestra valores más diluidos en $\delta^{13}\text{C}$, mientras que ocurre lo inverso en las montañas cercanas al Pacífico y Golfo de México, Nevado de Colima y Pico de Orizaba (Figura 11), denotando una interacción.

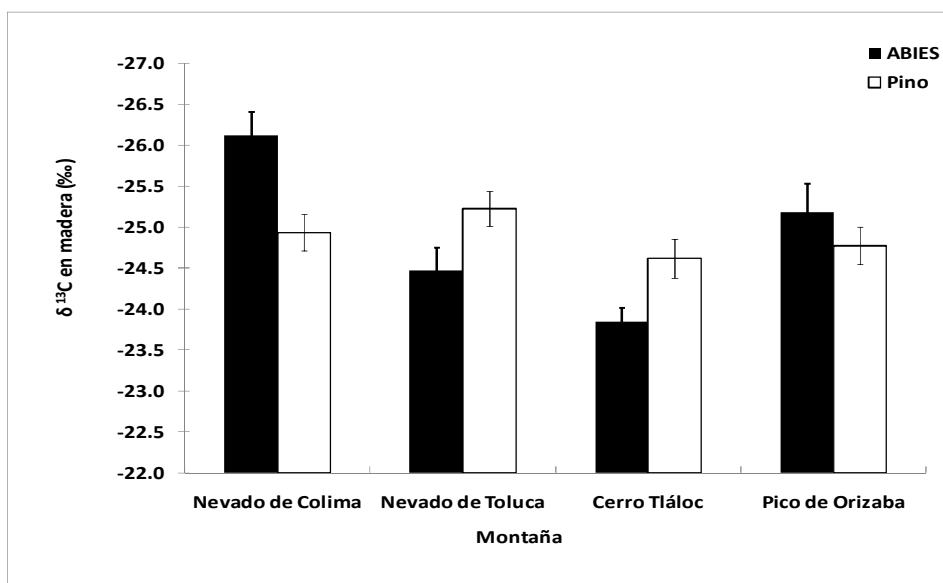


Figura 11. Valores medios de $\delta^{13}\text{C}$ por montaña y género. La barra indica el error estándar.

Los valores $\delta^{13}\text{C}$ por montaña para *Abies* tuvieron una media de -24.9‰ , con una variación de -2.2‰ entre montañas, mostrando valores más enriquecidos en el cerro Tláloc -23.8‰ y más diluidos en el Nevado de Colima -26.1‰ . En tanto que para *Pinus* tuvieron una media de -24.8‰ , teniendo una variación de -0.6‰ entre montañas, mostrando valores más enriquecidos en el cerro Tláloc -24.6‰ y más diluidos en el Nevado de Colima -25.2‰ (Figura 14). Los datos obtenidos para *Abies* sugieren una mayor EUA y un enriquecimiento en $\delta^{13}\text{C}$ para la parte central, menor EUA y una dilución $\delta^{13}\text{C}$ en la montaña cercana al Pacífico y Golfo de México, para *Abies* no hay significancia.

Sala, (2001) encontró que las proporciones de isótopos de carbono en hojas para *Pinus* (*Pinus albicaulis* Engelm.) ($\delta^{13}\text{C} = -25,5\text{‰} \pm 0.2\text{ SE}$) y *Abies* (*Abies lasiocarpa* (Hook.)) ($\delta^{13}\text{C} = -26,2\text{‰} \pm 0.2$) fueron similares. Sin embargo donde las menores tasas de transpiración de abeto subalpino dieron lugar una mayor en la eficiencia del uso del agua. Algunas veces las diferencias en $\delta^{13}\text{C}$ se explican por diferencias en el clima. McDowell *et al.* (2004) y Bowling *et al.* (2008) encontraron que los sitios con mayor precipitación tenían valores de $\delta^{13}\text{C}$ más negativos en las plantas y la materia orgánica y que la composición isotópica del

CO₂ respirado ($\delta^{13}\text{C}$) seguía las mismas tendencias. En este estudio, los climas de las montañas son similares y por ello es difícil una explicación en esos sentido.

Tomando en cuenta los resultados del análisis estadístico global del Cuadro 3, se confirma la significancia en la debida la interacción género x montaña y la diferencia significativa entre montañas.

Cuadro 3. Significancia estadística en la composición de isótopos en anillos de crecimiento de *Abies religiosa* y *Pinus hartwegii* para diferentes décadas.

Isótopo / Fuente de Variación	Década 1 2009-1999	Década 2 1979-1969	Década 3 1949-1939
^{13}C /			
Género	ns	ns	ns
Montaña	**	***	**
Género x Montaña	*	**	***
^{18}O /			
Género	**	ns	ns
Montaña	ns	***	***
Género x Montaña	ns	ns	ns
^2H /			
Género	ns	ns	ns
Montaña	ns	ns	*
Género x Montaña	ns	ns	ns
Significancia: * 10%; ** 5%; *** 1%; ns= no significativo			

6.2 Tendencias por montaña y género para ^{18}O

Los valores de $\delta^{18}\text{O}$ presentan variaciones de 0.25 partes por mil, sin embargo las diferencias entre montañas son significativas. En este caso, hay un patrón de dilución del Pacífico al Golfo de México (pm0.05) (Figura 12). El contraste más fuerte se obtuvo entre las montañas de Nevado de Colima y Pico de Orizaba.

Analizando la información por periodos de tiempo y sin considerar la separación de especies, los resultados no indicaron diferencias significativas entre décadas ($p < 0.05$) (Figura 15).

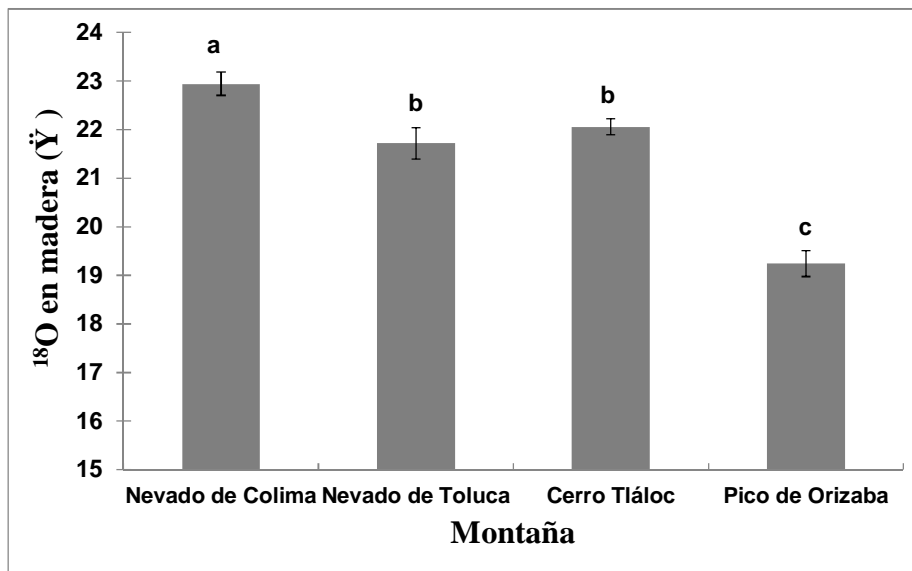


Figura 12. Valores medios de $\delta^{18}\text{O}$ por montaña. La barra indica el error estándar. Las diferencias estadísticas están basadas en la prueba de Duncan al 5%.

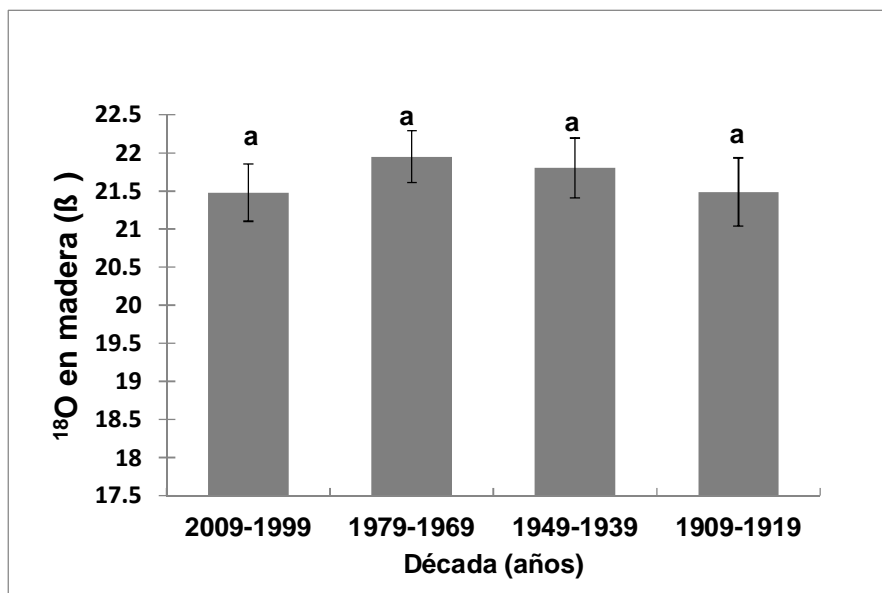


Figura 13. Valores medios de $\delta^{18}\text{O}$ por década. La barra indica el error estándar. Las diferencias estadísticas están basadas en la prueba de Duncan al 5%.

En los ecosistemas la precipitación agrega agua meteórica de una determinada composición dependiendo de la ubicación de la fuente de agua (por ejemplo, distancia al mar) y el gradiente de evaporación (Barnes y Allison, 1988). También puede influir la estación del año, las lluvias que caen durante la estación fría tienen una composición isotópica diferente de las que caen en la estación cálida y, mientras que las primeras tienden a infiltrarse en el suelo, una gran proporción de las segundas se evaporará rápidamente después de la precipitación. De acuerdo a estas tendencias, se esperaba que las montañas más al interior de la República presentaran valores más bajos en $\delta^{18}\text{O}$. Sin embargo, el patrón encontrado indica que más que la distancia al mar, deben estar influyendo otros efectos de evaporación ligados con la topografía del centro del país.

Los resultados del análisis estadístico global del Cuadro 3, no muestran significancia debida a la interacción género x montaña, lo que indica que en cuanto a $\delta^{18}\text{O}$ las montañas mostraron en general patrones similares, con valores más diluidos en el caso de *Abies* (Figura 14).

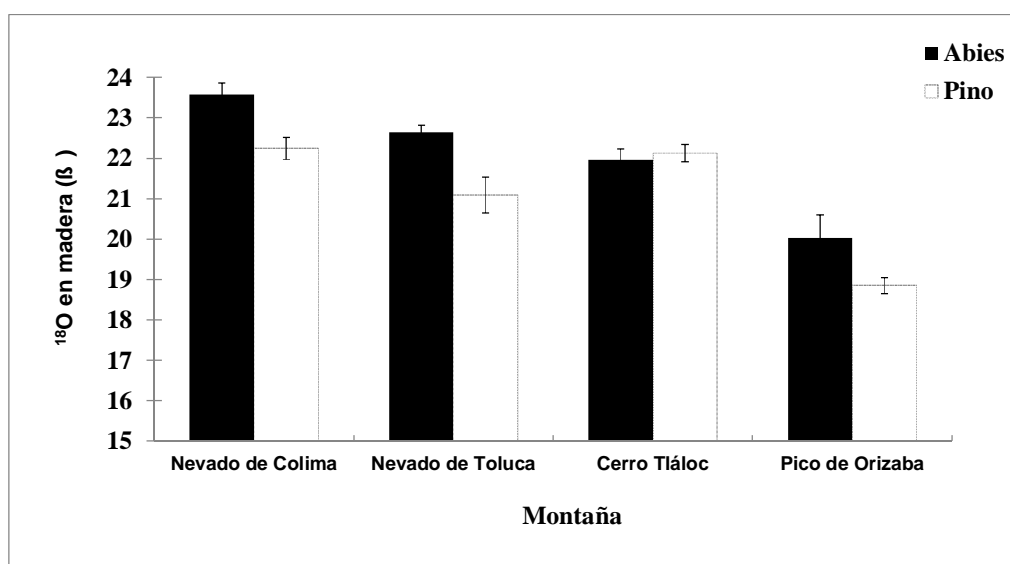


Figura 14. Valores medios de $\delta^{18}\text{O}$ por montaña y género. La barra indica el error estándar.

6.3 Tendencias por montaña y género para ^2H

En el caso de $\delta^2\text{H}$ no se observaron diferencias entre montañas (Figura 15). El deuterio es el isótopo que mostró menos resultados estadísticamente significativos

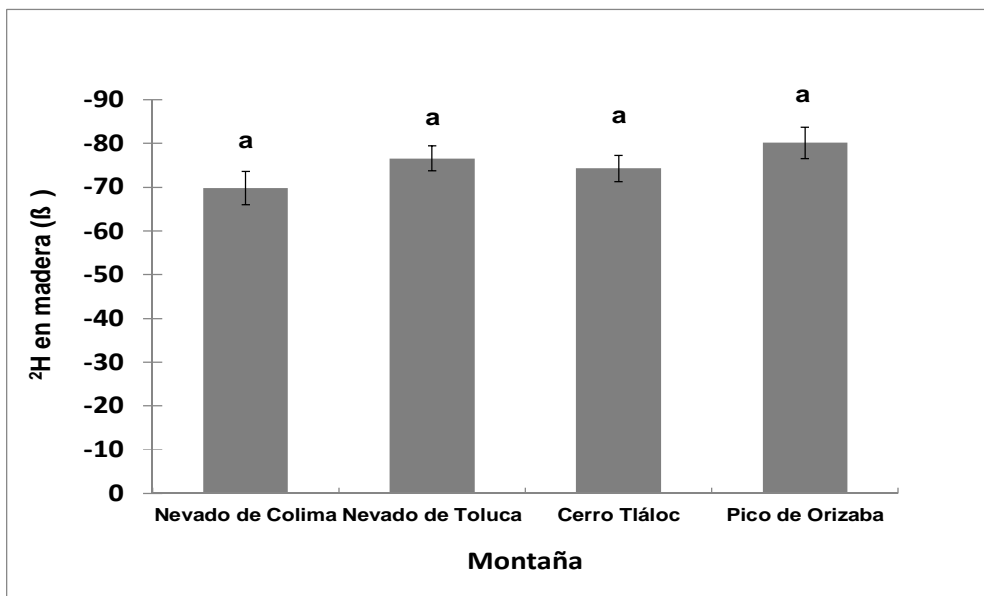


Figura 15. Valores medios de $\delta^2\text{H}$ por montaña. La barra indica el error estándar. Las diferencias estadísticas están basadas en la prueba de Duncan al 5%.

En gran medida los resultados con respecto a ^2H se afectaron por el intercambio de H que pudo haber ocurrido. Es repetir el esquema de muestreo considerando el tratamiento apropiado de las muestras. El hidrógeno en los anillos de árboles es en realidad difícil de medir y son limitados los datos disponibles. El comportamiento de hidrógeno está muy relacionado a los cambios que sufre el oxígeno (Roden *et al.* 2000). El hidrógeno en la madera proviene de agua del suelo y por lo tanto de la precipitación. El $\delta^2\text{H}$ de precipitación depende de la temperatura de condensación y varía en el espacio y estacionalmente. Cuando el agua llega a la hoja, la evaporación conduce a una pérdida preferencial de los isótopos más ligeros, por lo que el $\delta^2\text{H}$ del agua de la hoja se enriquece en relación con la fuente. El enriquecimiento de $\delta^2\text{H}$ es controlada por los mismos factores del enriquecimiento de $\delta^{18}\text{O}$.

Los resultados de deuterio por período de tiempo mostraron diferencias sólo en el caso del periodo más reciente (Figura 16). Los resultados del análisis estadístico global (Cuadro 3) son consistentes con la baja significancia de los factores de variación y su interacción. Sólo en el caso del periodo tres las montañas muestran diferencias significativas.

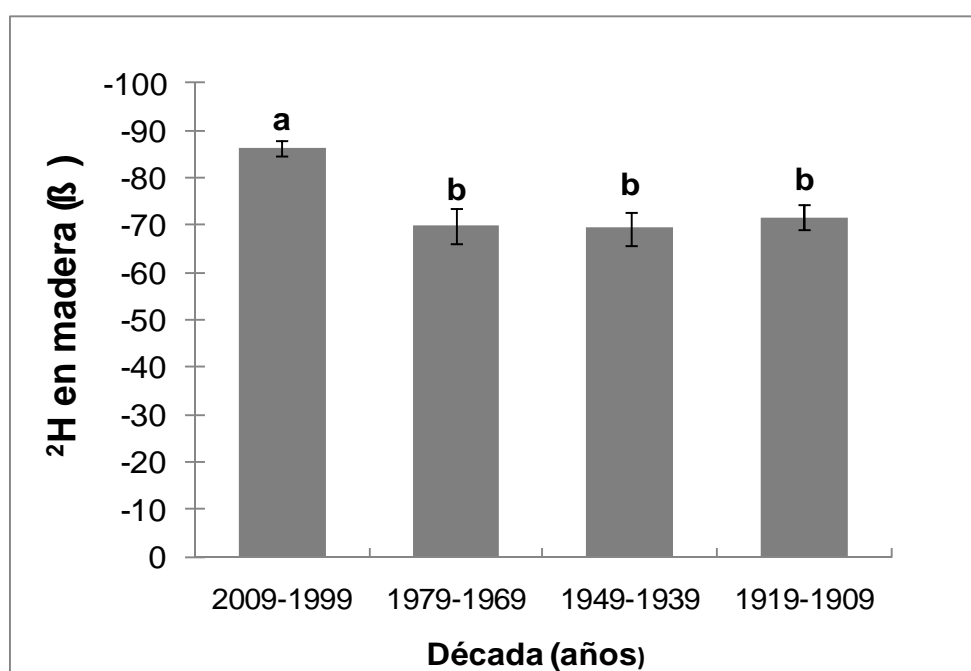


Figura 16. Valores medios de $\delta^2\text{H}$ por montaña. La barra indica el error estándar. Las diferencias estadísticas están basadas en la prueba de Duncan al 5%.

Los resultados obtenidos para $\delta^2\text{H}$ por período de tiempo mostraron diferencias sólo en el caso del período más reciente 2009-1999 con -86.4‰ (figura 16). Por la limitaciones en el control de intercambio de H en las muestras, es difícil sugerir alguna explicación relacionada con la precipitación atmosférica. Sin embargo, existen otros procesos que pueden modificar lo que ocurre dentro del árbol en la formación de celulosa. Algunos de los procesos que dan lugar a fraccionamiento

isotópico es el enriquecimiento por evaporación en la hoja dependerá de los parámetros ambientales como la humedad relativa. En efecto, existe mucha evidencia de las relaciones entre clima e hidrógeno en los anillos de árboles (Flanagan y Ehleringer 1991; Roden y Ehleringer, 1999). Una fracción de esta señal de humedad es transferido a los hidratos de carbono formado en la hoja agua y medio se conserva en el anillo de árboles (Franks y Farquhar 1999, Yakir 2000).

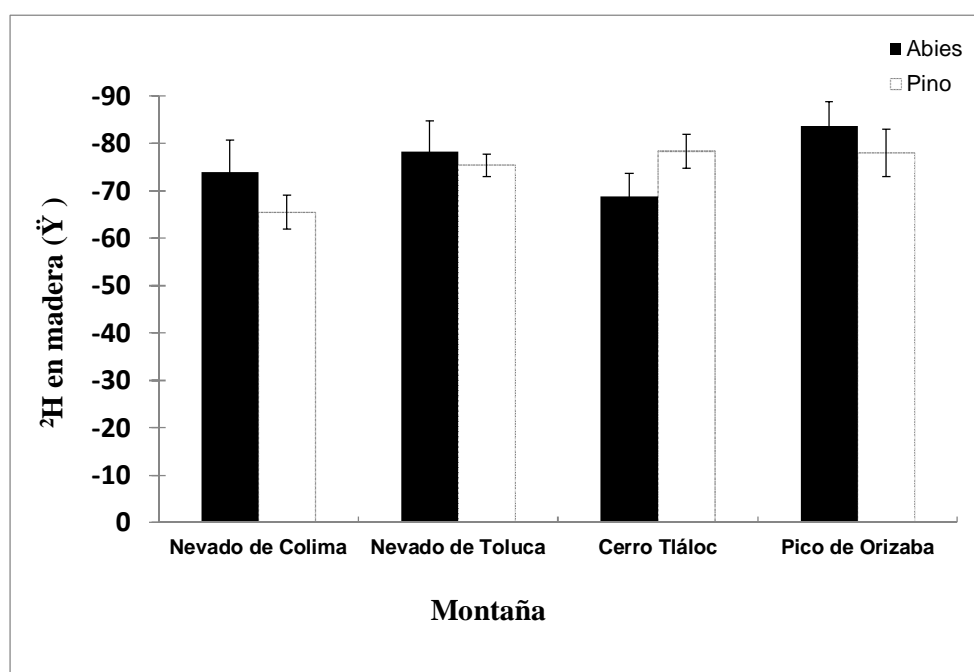


Figura 17. Valores medios de $\delta^2\text{H}$ por montaña y género. La barra indica el error estándar.

VII. CONCLUSIONES

Se encontraron tendencias específicas espacial y temporalmente en la composición isótopos en la madera de coníferas de Eje Neo-Volcánico transversal de México. También se detectan algunas diferencias entre las especies estudiadas, por lo que se rechazan las hipótesis nulas inicialmente plantadas en este trabajo.

Se encontraron valores de $\delta^{13}\text{C}$ más altos en el Cerro Tláloc, lo que pudiera estar relacionado con la capacidad de almacenamiento de agua del perfil del suelo. Los suelos en el Cerro Tláloc, según lo muestran las cartas edafológicas (INEGI) son más delgados (Leptosoles principalmente) comparados con los de otras montañas y es posible que la menor disponibilidad de agua se haya reflejado en valores de ^{13}C más altos debido a periodos más prolongados con cierre estomático.

Las dos especies estudiadas, *Pinus hartwegii* y *Abies religiosa* muestran diferencias en $\delta^{13}\text{C}$, sin embargo, esta diferencia depende de la montaña en cuestión. En las montañas al extremo del transecto (Nevado de Colima y Pico de Orizaba) *Abies* muestra valores de $\delta^{13}\text{C}$ más diluidos que los de *Pinus*, mientras que en las montañas de la parte central (Nevado de Toluca y Cerro Tláloc) ocurre la situación inversa.

Los resultados de este trabajo muestran que en especial la composición de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ en madera de coníferas son una herramienta valiosa para deducir cambios con las fuentes de carbono atmosférico y las condiciones de estrés hídrico (McCarroll y Loader, 2004; Switsur y Waterhouse, 1998). La combinación de estos procedimientos con protocolos básicos de dendrocronología permiten conocer los tiempos probables en que dichos cambios se manifestaron (Farquhar *et al*, 1982; Saurer *et al*, 1997; Berninger *et al*, 2000).

Los factores físicos y bioquímicos relacionados con la discriminación $^{13}\text{CO}_2$ y los factores climáticos y orográficos que determinan la composición de ^{18}O en el ciclo de agua se reflejarán en la madera y nos permitirán estudiar los cambios importantes que ocurran en los bosques como resultado de cambios en el patrón climático (Roden *et al*, 2000;. Anderson *et al*, 2002;. Waterhouse *et al*, 2002).

Aunque en algunos casos la interpretación de resultados no fue sencilla, se considera que es pertinente continuar con este tipo de estudios pero reforzar la resolución del análisis incrementando el número de muestras repetidas en el tiempo y reduciendo los periodos de tiempo, por ejemplo en lugar de décadas, a nivel de año y sólo para los tiempos en que muestren un patrón específico de acuerdo un proceso global, por ejemplo los años donde se manifestaron los efectos de "Niño" o la "Niña".

VIII. LITERATURA CITADA

- Aguirre-Planter, E., G. R. Furnier, and L. E. Eguiarte. 2000. Low level of genetic variation within and high level of genetic differentiation among populations of species of *Abies* from southern México and Guatemala. *American Journal of Botany* 87: 362-371.
- Anderson, W.T., S.M. Bernasconi, J.A. McKenzie, M.Saurer, and F. Schweingruber. 2002. Model evaluation for reconstructing the oxygen isotopic composition in precipitation from tree ring cellulose over the last century. *Chemical Geology* 182: 121. 137.
- Barbour, M.M., T.J Andrews, and G.D. Farquhar. 2001. Correlations between oxygen isotope ratios of wood constituents of *Quercus* and *Pinus* samples from around the world. *Australian Journal of Plant Physiology* 28: 335. 348.
- Barbour, M.M., A.S. Walcroft, and G.D Farquhar. 2002. Seasonal variation in $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ of cellulose from growth rings of *Pinus radiata*. *Plant, Cell and Environment* 25: 1483. 1499.
- Barnes, C.J. and G.B. Allison. 1988. The distribution of deuterium and oxygen-18 in dry soils: I. Theory. *Journal of Hydrology* 60: 141. 156.
- Bazzaz, F.A. 1990. The response of natural ecosystems to the rising global CO_2 levels. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21: 167- 196.
- Bender, M.M. 1971. Variation in the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of plants in relation to the pathway of photosynthetic carbon dioxide fixation *Phytochemistry* 10: 1239-1244.
- Berninger, F., E. Sonninen, T. Aalto, and J. Lloyd. 2000. Modelling ^{13}C discrimination in tree rings. *Global Biochemical Cycles* 14: 213-223.
- Bert, D., S.W. Leavitt, and J. L. Dupouey. 1997. Variations of wood ^{13}C and water-use efficiency of *Abies alba* during the last century. *Ecology* 78: 1588-1596.
- Brienen, R.J.W., W. Wanek, and P. Hietz. 2011. Stable carbon isotopes in tree rings indicate improved water use efficiency and drought responses of a tropical dry forest tree species. *Trees-Structure and Function* 25: 103-113.
- Brower, L. P., G. Castilleja, and A. Peralta. 2002. Quantitative changes in forest quality in a principal over wintering area of the monarch butterfly in Mexico, 1971-1999. *Journal Conservation Biology* 16: 346-359.

- Bowling, D. R., D. E. Pataki, and J. T. Randerson, 2008. Carbon isotopes in terrestrial ecosystem pools and CO₂ fluxes. *New Phytologist* 178: 24. 40.
- Buhay, W.M., and T.W.D., Edwards.1995. Climate in southwestern Ontario, Canada, between AD 1610 and 1885 inferred from oxygen and hydrogen isotopic measurements of wood cellulose from trees in different hydrologic settings. *Quaternary Research* 44: 438. 446.
- Burk, R.L., and M. Stuiver.1981. Oxygen isotope ratios in trees reflect mean annual temperature and humidity. *Science* 211: 1417-1419.
- Cernusak, L.A., D.J. Arthur, J.S. Pate, and G.D. Farquhar. 2003. Water relations link carbon and oxygen isotope discrimination to phloem sap sugar concentration in *Eucalyptus globulus*. *Plant Physiology* 131: 1544-1554.
- Challenger, A., and J. Caballero. 1998. Utilización y Conservación de los Ecosistemas Terrestres de México: Pasado, Presente y Futuro. CONABIO, Instituto de Biología. Sierra Madre, México, D. F. 847 p.
- Craig, H. 1961. Isotope variations in meteoric waters. *Science* 133: 1702- 1703.
- Dawson, T.E. 1993. Water sources of plants as determined from xylem-water isotopic composition: perspectives on plant competition, distribution and water relations. In: Ehleringer, J.R., Happ, A.E., Farquhar, G.D. (Eds.), *Stable Isotopes and Plant Carbon. Water Relations*. Academic Press. New York. pp. 465. 496.
- Dawson, T.E., and J.S. Pate. 1996. Seasonal water uptake and movement in root systems of Australian phraeatophytic plants of dimorphic root morphology: a stable isotope investigation. *Oecologia* 107:13. 20
- Dawson, T. E., and P. D. Brooks. 2001. Fundamentals of stable isotope chemistry and measurement. En Unkovich M, Pate J, McNeill A, Gibbs DJ (Eds.) *Stable Isotope Techniques in the Study of Biological Processes and Functioning of Ecosystems*. Kluwer. Dordrecht, Holanda. p. 1-18.
- Dawson, T.E., S. Mambelli, A.H. Plamboeck, P.H. Templer and, K.P. Tu. 2002. Stable isotopes in plant ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33: 507-559.
- De Lucia, E.H. and W.H. Schlesinger. (1991). Resource-use efficiency and drought tolerance in adjacent Great Basin and Sierran plants. *Global Change and Conservation Ecology* 72: 51-58.
- DeNiro, M.J., and S. Epstein. 1979. Relationship between oxygen isotope ratios of terrestrial plant cellulose, carbon dioxide, and water. *Science* 204: 51-53.

- Duquesnay, A., N. Breda., M. Stievenard, and J.L. Dupouey. 1998. Changes of tree-ring $\delta^{13}\text{C}$ and water-use efficiency of beech (*Fagus sylvatica* L.) in north-eastern France during the past century. *Plant, Cell and Environment* 21: 565-572.
- Ehleringer, J.R., and J.C. Vogel. 1993. Historical aspects of stable isotopes. In: Ehleringer, J.R., Hall, A.E., Farquhar, G.D. (Eds.), *Stable Isotopes and Plant Carbon. Water Relations*. Academic Press, New York. p. 9. 18.
- Ehleringer, J.R., and T.E. Dawson. 1992. Water uptake by plants: perspectives from stable isotope composition. *Plant, Cell and Environment* 15: 1073-1082.
- FAO-UNESCO. 1988. Soil Map of The World - Revised Legend. *Soils Bull.* 60. FAO, Roma.
- Farjon, A. 1990. Pinaceae: drawings and descriptions of the genera *Abies*, *Cedrus*, *Pseudolarix*, *Keteleeria*, *Nothotsuga*, *Tsuga*, *Cathaya*, *Pseudotsuga*, *Larix* and *Picea*. Königstein: Koeltz Scientific Books. pp.100-101.
- Farjon, A., and B.T. Styles. 1997. *Pinus* (Pinaceae). *Flora Neotropica Monograph* 75. New York, NY: The New York Botanical Garden 75:1. 291.
- Farquhar, G.D., J.R. Ehleringer, and K.T. Hubick. 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 40: 503-537.
- Farquhar, G.D., M.H. O'Leary, and J.A. Berry. 1982. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Australian Journal Plant Physiology* 9: 121-137.
- Farrington, P., J.V. Turner, and V. Gailitis. 1996. Tracing water uptake by jarrah (*Eucalyptus marginata*) trees using natural abundances of deuterium. *Trees* 11: 9-15.
- Ferrio, J. P., V. Resco, D. G. Williams, L. Serrano and J. Voltas., 2005. Stable isotopes in arid and semi-arid forest systems. *Investigación Agraria. Sistemas y Recursos Forestales Monográfico* 14: 371-382.
- Feng, X. 1998. Long-term C_1/C_2 responses of trees in western North America to Atmospheric CO_2 concentration derived from carbon isotope chronologies. *Oecologia* 117: 19-25.
- Fenn M. E., T. G. Huntington, S. B. McLaughlin, C. Eagar, Gómez A., and Cook R.B. 2006. Status of soil acidification in North America. *Journal of Forestry* 52: 3-13.

- Flanagan, L. B., and J. R. Ehleringer. 1991b. Effects of mild water stress and diurnal changes in temperature and humidity on the stable oxygen and hydrogen isotopic composition of leaf water in *Cornus stolonifera* L. *Plant Physiology* 97: 298 . 305.
- Franks, P. J., and G. D. Farquhar., 1999. A relationship between humidity response, growth form and photosynthetic operating point in C3 plants. *Plant, Cell and Environment* 22: 1337. 1349.
- García, E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto Nacional de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. D. F. 217 p.
- García-García, R., A. Gómez, J. López-Upton, J. J. Vargas-Hernández, and Horwath W. R. 2004. Tree growth and $\delta^{13}\text{C}$ among populations of *Pinus greggii* Engelm. at two contrasting sites in central Mexico. *Forest Ecology and Management* 198: 237-247.
- Gat, J. R., W. G. Mook, and H.A.J. Meijer. 2001. Environmental isotopes in the hydrological cycle, Principles and applications. Vol II Atmospheric water (W. G. Mook ed). IHP-V I Technical Documents in Hydrology I No. 39, Vol. II UNESCO, Paris. 113 p.
- Gómez, A., M. Barrera, G. Martinez., O. Plascencia., B. Kishchuk., A. Velázquez., T. Martínez and W. Horwath. 2010. Climate Adaptation Futures-Preparing for the unavoidable impacts of climate change. Queensland, Australia. pp 168.
- Gómez-Guerrero A., G. Chávez-Aguilar, M. E. Fenn, J. Vargas-Hernández, y W. R. Horwath., 2008. Absorción foliar de nitrógeno por depósito húmedo simulado *Abies religiosa* (H. B. K.) Schl. et Cham+ *Interciencia* 33: 429-434.
- Gómez-Guerrero, A., M.J. Singer, R.F. Powers and W.R. Horwath. 2002. Soil compaction effects on water status of ponderosa pine assessed through $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ composition. *Tree Physiology* 22: 459-467.
- Gutiérrez-Merino E., 2008. La dendrocronología: métodos y aplicaciones. *Arqueología Náutica Mediterránea*. Nieto I. M.A. Cau (eds.) pp. 303-315.
- Hernández, A.J.C., G.G. Gutiérrez, L.L. Almeida y D.J.A.B. Ordóñez. 2005. Análisis dendroclimático de *Pinus hartwegii* en el volcán nevado de Toluca. México I simposio Ecología, manejo y conservación de los ecosistemas de montaña en México. Memorias. Laboratorio de biotecnología y Ecología aplicada. LABIOTECA. Xalapa, Veracruz, México. pp. 102-103.
- Hartsough, P.C., S.R. Poulson, F. Biondi, and I. Galindo Estrada. 2008. Stable isotope characterization of the ecohydrological cycle at a tropical treeline site. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research* 40: 343. 354.

- INE- SEMARNAP (Instituto Nacional de Ecología, Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca). 1997. Primera Comunicación Nacional ante la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático. México. 149 p.
- Larocque S.J., D.J. Smith. 2005. A dendroclimatological reconstruction of climate since AD 1700 in the Mt. Waddington area, British Columbia Coast Mountains, Canada. *Dendrochronologia* 22. pp. 93-106.
- Littell, R.C., W. S. Whitney, and R.J. Freund. 2002. SAS Four lineal model. Four Edition. Institute, Inc., Cary, North Carolina, USA. pp. 170-174.
- Luis-Mejía S., A. Gómez-Guerrero, J.D. Etchevers Barra, G.A. Pérez-Pérez, M. A López-López. W. R. Horwath., 2007. Acumulación de carbono orgánico en el suelo en reforestaciones de *Pinus michoacana*. *Agrociencia* 41: 711-721.
- Martiñón-Martínez, R. J., J. Jesús Vargas-Hernández, A. Gómez-Guerrero, y J. López-Upton., 2011. Composición isotópica de carbono en follaje de *Pinus pincea* Gordon sometido a estrés hídrico y térmico. *Agrociencia* 45: 245-258
- McCarroll, D. and N. J. Loader. 2004. Stable isotopes in tree-rings. *Quaternary Science Reviews* 23: 771. 801.
- McDowell, W.H., A.H. Magill, J.A. Aitkenhead-Peterson, J.D. Aber, J. Merriam, and S. Kaushal. 2004. Effects of chronic nitrogen amendment on dissolved organic matter and inorganic nitrogen in soil solution. *Forest Ecology and Management* 196: 29. 41.
- Mori, A., and H. Takeda. 2002. Light-related competitive effects of over story trees on the understory conifer saplings in a subalpine forest. *Journal of Forest Research* 8: 163-168.
- Nakatsuka, T., O. Keiko, H. Toshihiko, S. Akihiro, M. Daisuke, K. Naoyuki, and U. Shigeru. 2004. Oxygen and carbon isotopic ratios of tree-ring cellulose in a conifer-hardwood mixed forest in northern Japan. *Geochemical Journal* 38: 77-88.
- Osmond, C.B. 1978. Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. *Annual Review of Plant Physiology* 29: 379-414.
- Pacheco-Escalona F. C., A. Gómez-Guerrero, A. Aldrete., A. M. Fierros-González, y V. M. Cetina-Alcalá. 2007. Absorción de nitrógeno y crecimiento de *Pinus greggii* Engelm. seis años después de una poda química de raíz. *Agrociencia* 41: 675-685.
- Perry, J. P., 1991. *The Pines of Mexico and Central America*. Timber Press. Portland, Oregon, USA. 231 p.

- Peterson, T., V. Sanchez-Cordero, J. Soberón, J. Bartley, R. Buddemeier y A. Sánchez-Navarro., 2001. Effects of global climate change on geographic distributions of Mexican Cracidae. *Ecological Modeling* 144: 21-30.
- Peterson, T., M. Ortega-Huerta, J. Bartley, V. Sánchez-Cordero, J. Soberón, R. Buddemeier y D. Stockwell. 2002. Future projections for Mexican faunas under global climate change scenarios. *Nature* 416: 626-628.
- Reyes, G. C. y J. L. Andrade., 2007. Los isotopos estables del hidrógeno y el oxígeno en los estudios ecofisiológicos de plantas. *Boletín de la Sociedad Botánica Mexicana* 80: 19-28.
- Roden, J.S., J.R. Ehleringer. 1999. Hydrogen and Oxygen isotope ratios of tree-ring cellulose for riparian trees growth long-term under hydroponically controlled environments. *Oecologia* 121: 467-477.
- Roden, J.S., G. Lin, and J.r., Ehleringer. 2000. A mechanistic model for interpretation of hydrogen and oxygen isotope ratios in tree-ring cellulose. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 64: 21-35.
- Rzedowski, J., 1978. *Vegetación de México*. Limusa. México, D. F. 432 p.
- Sala, A., E.V. Carey, R. E. Keane and R. M. Callaway. 2000. Water use by whitebark pine and subalpine fir: potential consequences of fire exclusion in the northern Rocky Mountains. *Tree Physiology* 2: 717. 725
- Sánchez-Velázquez, L. R., y E. García-Moya., 1993. Sucesión forestal en la Sierra de Manantlán Jal., México: Bosque mesófilo de montaña y bosque de *Pinus*. *Agrociencia* 3: 7-26.
- Sánchez-González A., 2004. Análisis sinecológico, florístico y biogeográfico de la vegetación del Norte de la Sierra Nevada. Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados. México 153 p.
- Sánchez-González A. y L. López-Mata., 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, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica* 74: 43-71.
- Saurer, M., K. Aellen, R. Siegwolf. 1997. Correlating ^{13}C and ^{18}O in cellulose of trees. *Plant, Cell and Environment* 20: 1543-1550.
- Saurer, M., I. Robertson, R. Siegwolf, and M. Leuenberger. 1998. Oxygen isotope analysis of cellulose: an interlaboratory comparison. *Analytical Chemistry* 70: 2074. 2080.

- Saurer, M., F.H. Schweingruber, E.A. Vaganov, S.G. Shiyatov, and R. Siegwolf. 2002. Spatial and temporal oxygen isotope trends at northern tree-line Eurasia. *Geophysical Research Letters* 29: 10. 14.
- Saurer, M., R. Siegwolf, and F. Schweingruber. 2004. Carbon isotope discrimination indicates improving water-use efficiency of trees in northern Eurasia over the last 100 years. *Global Change and Biology* 10: 2109-2120.
- SARH. 1993. Diagnóstico del Parque Nacional Pico de Orizaba, Ver. Subsecretaría Forestal y de Fauna Silvestre. Consultoría Multidisciplinaria, S.A. de C.V. 86 p.
- Squeo, F., y J. Ehleringer. 2004. Isótopos estables: Una herramienta común para la ecofisiología vegetal y animal. En *Fisiología Ecológica en Plantas: Mecanismos y Respuestas a Estrés en los Ecosistemas*. Marino H (ed.). Ediciones de la Universidad Católica de Valparaíso. Valparaíso, Chile. pp. 59-80.
- Sternberg, L.S.L., W.T. Anderson, and K. Morrison. 2003. Separating soil and leaf water ^{18}O isotopic signals in plant stem cellulose. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 67: 2561-2566.
- Switsur, R., J. Waterhouse. 1998. Stable isotopes in tree ring cellulose. In: *Stable isotopes, integration of biological, ecological and geochemical processes*. BIOS Scientific Publishers Ltd. pp.303-321
- Tognetti, R., P. Cherubini, J.L. Innes. 2000. Comparative stem-growth rates of Mediterranean trees under background and naturally enhanced ambient CO_2 concentrations. *New Phytologist* 146: 59-74.
- Vargas, M.F. 1984. Parques Nacionales de México y Reservas Equivalentes. Pasado, presente y futuro. Colección: Grandes Problemas Nacionales. Serie: Los Bosques de México. Instituto de Investigaciones Económicas. UNAM. México, D.F. 266 páginas, más 34 de fotografías y mapa.
- Villers, L. y I. Trejo., 1998. El impacto del cambio climático en los bosques y áreas naturales protegidas de México. *Interciencia* 23: 10-19.
- Waterhouse, J.S., V.R. Switsur, A.C. Barker, A.H.C. Carter, I. Robertson. 2002. Oxygen and hydrogen isotope ratios in tree rings: how well do models predict observed values? *Earth and Planetary Science Letters* 201: 421-430.
- White J.W, E.R. Cook, J.R. Lawrence and W.S. Broecker. 1985. The D/H ratios of sap in trees: implications for water sources and tree ring D/H ratios. *Geochimistry and Cosmochimistry Acta* 49: 237-246.

Whitmore, T. C., 1989. Canopy gaps and the two major groups of forest trees. *Ecology* 70: 536-538.

Yakir, D., 1992. Variation in the natural abundance of oxygen-18 and deuterium in plant carbohydrates. *Plant, Cell and Environment* 15:1005-1070.