

COMPOSICIÓN ISOTÓPICA DE CARBONO EN FOLLAJE DE *Pinus pinceana* GORDON SOMETIDO A ESTRÉS HÍDRICO Y TÉRMICO

CARBON ISOTOPIC COMPOSITION IN FOLIAGE OF *Pinus pinceana* GORDON SEEDLINGS SUBJECTED TO WATER AND TEMPERATURE STRESS

R. Julián Martiñón-Martínez, J. Jesús Vargas-Hernández*, Armando Gómez-Guerrero, Javier López-Upton

Forestal. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. (vargashjcolpos.mx).

RESUMEN

Pinus pinceana Gordon crece en condiciones semiáridas en el noreste y centroeste de México. Probablemente enfrenta un riesgo alto de desaparecer debido al incremento de la temperatura y de la sequía asociadas al cambio climático que se pronostica. Con el propósito de conocer los mecanismos fisiológicos en la adaptación de esta especie a condiciones de estrés ambiental, y definir opciones de manejo para la conservación y restauración de sus poblaciones naturales, se estudió la variación en la composición de isótopos de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y en la tasa relativa de crecimiento (TRC) en plantas de seis poblaciones de *P. pinceana* sometidas a estrés hídrico y por alta temperatura en condiciones de invernadero. Las poblaciones estudiadas representaron un transecto de norte a sur de la distribución natural de la especie en México. En un experimento factorial se probaron dos ambientes de temperatura [sin modificar la temperatura (T_0) y con incremento de 2 °C (T_1) en la temperatura media] y dos niveles de humedad [contenido gravimétrico de 50 % (S_0) y 12-20 % (S_1) de humedad del suelo]. La temperatura no influyó en el valor de $\delta^{13}\text{C}$, pero el estrés hídrico ocasionó una reducción significativa en la discriminación de ^{13}C (mayor $\delta^{13}\text{C}$); el efecto fue mayor sin estrés de temperatura (T_0). Se encontró una variación significativa entre las poblaciones en los valores $\delta^{13}\text{C}$. En las dos condiciones de humedad, las poblaciones del norte presentaron mayor $\delta^{13}\text{C}$ y mayor TRC en altura, comparadas con las del sur. Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de las poblaciones se correlacionaron en forma positiva con la TRC en altura, pero no con la acumulación de biomasa. El análisis de los resultados muestra que la eficiencia en el uso del agua, estimada de manera indirecta a través del valor de $\delta^{13}\text{C}$, tiene una función importante en la capacidad de adaptación de las poblaciones de *P. pinceana* a las condiciones de sequía que enfrenta en

ABSTRACT

Pinus pinceana Gordon grows in semiarid conditions in the northeast and central east of México. Probably it is facing a high risk of disappearing due to increased temperature and drought associated with the climate change forecast. In order to understand the physiological mechanisms in the adaptation of this species to environmental stress conditions and define management options for the conservation and restoration of its natural populations, we studied the variation in carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$) and in the relative growth rate (RGR) in plants of six populations of *P. pinceana* subjected to water stress and high temperature under greenhouse conditions. The study populations represented a north-south transect of the natural distribution of the species in Mexico. In a factorial experiment, two temperature environments were tested [without changing the temperature (T_0) and with an increase of 2 °C (T_1) in average temperature] and two levels of humidity [gravimetric content of 50 % (S_0) and 12-20 % (S_1) soil moisture]. Temperature did not influence the value of $\delta^{13}\text{C}$, but water stress caused a significant reduction in ^{13}C discrimination (higher $\delta^{13}\text{C}$). The effect was greater without stress temperature (T_0). A significant variation among populations was found in $\delta^{13}\text{C}$ values. In the two moisture conditions, the northern populations exhibited greater $\delta^{13}\text{C}$ and higher RGR in height, compared to the southern. The $\delta^{13}\text{C}$ values of populations were positively correlated with the RGR in height, but not with biomass accumulation. The analysis of results shows that water use efficiency, estimated indirectly through the value of $\delta^{13}\text{C}$, has an important role in the adaptation capacity of *P. pinceana* populations to the drought conditions it faces at its natural habitat; it is also possible to identify populations of the species with the possibility to adjust to conditions of greater environmental stress associated with climate change.

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: Mayo, 2010. Aprobado: Febrero, 2011.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 45: 245-258. 2011.

Keywords: adaptation, climate change, carbon isotope discrimination, water use efficiency, water stress, relative growth rate.

su hábitat natural. Además es posible identificar poblaciones de la especie con posibilidades de ajustarse a condiciones de mayor estrés ambiental asociadas al cambio climático.

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

INTRODUCCIÓN

La composición isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) es un indicador de la proporción de los isótopos estables de carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) en un material respecto a un compuesto estándar (Boutton, 1991). La variación de $\delta^{13}\text{C}$ en tejido vegetal se usa como un estimador indirecto (substituto) de la eficiencia en el uso del agua, debido a su relación con los procesos de intercambio de CO_2 y agua que ocurren a través de los estomas (Farquhar *et al.*, 1982; Farquhar *et al.*, 1989). Esto es posible ya que la planta, como un sistema, tiende a un balance entre el nivel de pérdida de agua por transpiración y la fijación de carbono con una determinada proporción de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ en la fotosíntesis (Zhang *et al.*, 1997). La relación entre $\delta^{13}\text{C}$ y la eficiencia en el uso del agua ha sido verificada experimentalmente en diferentes especies leñosas (Correia *et al.*, 2008; Voltas *et al.*, 2008; Letts *et al.*, 2009). Un incremento en la eficiencia del uso del agua indica mayor fijación de carbono con menos agua (Nilsen y Orcutt, 1996).

El mecanismo por el que se genera una señal particular de $\delta^{13}\text{C}$ en tejido vegetal en plantas C_3 como los pinos, se explica por procesos físicos y bioquímicos. Durante el proceso físico la fracción más ligera $^{12}\text{CO}_2$ tiende a difundirse más rápido hacia el interior de la hoja que la fracción pesada $^{13}\text{CO}_2$ (Schlesinger, 1997). En el proceso bioquímico, la enzima involucrada en la fijación del carbono (ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa o RUBISCO) discrimina la fracción $^{13}\text{CO}_2$ cuando los estomas están abiertos y las plantas están hidratadas (Schlesinger, 1997). La discriminación de $^{13}\text{CO}_2$ disminuye cuando los estomas se cierran por el estrés hídrico; los cambios en $\delta^{13}\text{C}$ en el tejido vegetal reflejan el historial del estado hídrico ocasionado por las condiciones ambientales (Gómez-Guerrero *et al.*, 2002; García-García *et al.*, 2003).

Ante el escenario de cambio climático, dos factores de estrés muy importantes en las plantas son la sequía y el incremento de la temperatura (Loreto

INTRODUCTION

The carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$) is an indicator of the proportion of stable carbon isotopes ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) in a material in relation to a standard compound (Boutton, 1991). The $\delta^{13}\text{C}$ variation in plant tissue is used as an indirect estimator (surrogate) of water use efficiency due to its relationship with the processes of CO_2 and water exchange occurring through the stomata (Farquhar *et al.*, 1982, Farquhar *et al.*, 1989). This is possible because the plant as a system tends to reach a balance between the level of water loss through transpiration and carbon fixation with a certain ratio of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ in photosynthesis (Zhang *et al.*, 1997). The relationship between $\delta^{13}\text{C}$ and water use efficiency has been verified experimentally in several woody species (Correia *et al.*, 2008, Voltas *et al.*, 2008, Letts *et al.*, 2009). An increase in water use efficiency indicates higher carbon fixation with less water (Nilsen and Orcutt, 1996).

The mechanism that generates a particular signal of $\delta^{13}\text{C}$ in plant tissue of C_3 plants such as pine, can be explained by physical and biochemical processes. During the physical process, the $^{12}\text{CO}_2$ lighter fraction tends to spread more rapidly into the leaf than the heavy $^{13}\text{CO}_2$ fraction (Schlesinger, 1997). In the biochemical process, the enzyme involved in carbon fixation (ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase or RUBISCO) discriminates the $^{13}\text{CO}_2$ fraction when the stomata are open and plants are hydrated (Schlesinger, 1997). The $^{13}\text{CO}_2$ discrimination decreases when the stomata are closed by water stress; changes in $\delta^{13}\text{C}$ in plant tissue reflect the history of water status caused by environmental conditions (Gomez-Guerrero *et al.*, 2002, García-García *et al.*, 2003).

Given the climate change scenario, two very important stress factors in plants are drought and rising temperatures (Loreto and Centritto, 2008). Unfortunately, the combined effect of these two factors is rarely examined (Xu and Zhou, 2005). Some tree endemic species of Mexico, as *Pinus pinceana* Gordon growing in semiarid conditions in pure or mixed stands with *P. cembroides* Zucc. (Perry, 1991), are at high risk of disappearing due to rising temperatures and reduced precipitation, with a higher aridity index, due to climate change forecast for the northeast region of México where the species is distributed (Sáenz-Romero *et al.*, 2010).

y Centritto, 2008); desafortunadamente, en pocas ocasiones se estudia el efecto combinado de estos dos factores (Xu y Zhou, 2005). Algunas especies arbóreas endémicas de México, como *Pinus pinceana* Gordon que crece en condiciones semiáridas en rodales puros o mezclados con *P. cembroides* Zucc. (Perry, 1991), tienen un riesgo alto de desaparición debido al aumento de la temperatura y a la reducción de la precipitación, con un mayor índice de aridez, por el cambio climático pronosticado para la región noreste de México, donde se distribuye la especie (Sáenz-Romero *et al.*, 2010).

Además de su relevancia ecológica, *P. pinceana* es económicamente importante para los habitantes de las comunidades rurales cercanas, quienes obtienen ingresos por la venta de su semilla comestible. Las poblaciones remanentes de *P. pinceana* cubren pocas hectáreas y se distribuyen en forma dispersa sobre las laderas de las montañas de la Sierra Madre Oriental, desde Coahuila hasta Hidalgo (Molina *et al.*, 2001; Ramírez-Herrera *et al.*, 2008; Villarreal-Quintanilla *et al.*, 2009). Debido a lo anterior, es importante saber cómo responden algunas especies vulnerables como *P. pinceana* ante factores de estrés hídrico y térmico, para analizar si hay diversidad entre poblaciones en la forma de respuesta y planear así estrategias para su conservación.

El propósito de este estudio fue analizar la variación en $\delta^{13}\text{C}$ del follaje y en la tasa relativa de crecimiento en seis poblaciones de *P. pinceana* en condiciones de estrés hídrico y térmico. La hipótesis fue que existe una variación significativa entre poblaciones en condiciones de estrés hídrico y térmico, en la discriminación isotópica de carbono y la tasa relativa de crecimiento de las plantas, y que hay una correlación positiva entre estas dos variables. La información es importante para pronosticar la eficiencia relativa en el uso del agua de las poblaciones remanentes de *P. pinceana*, en los escenarios de sequía y aumento de la temperatura asociados al cambio climático.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico y condiciones del ensayo

Se consideraron seis poblaciones de *P. pinceana* estudiadas por Martiñón-Martínez *et al.* (2010), a lo largo de un transecto latitudinal en su área de distribución natural (Cuadro 1). Las poblaciones se eligieron con base en su localización geográfica, cuatro

Besides its ecological relevance, *P. pinceana* is economically important to the residents of nearby rural communities who derive income from the sale of its edible seed. The extant populations of *P. pinceana* cover a few hectares and are scattered on the hillsides of the Sierra Madre Oriental, from Coahuila to Hidalgo (Molina *et al.*, 2001, Ramírez-Herrera *et al.*, 2008, Villarreal-Quintanilla *et al.* 2009). Given this situation, it is important to know how some sensitive species such as *P. pinceana* respond to water and heat stress factors in order to analyze whether there are differences between populations in their response and thus develop conservation strategies.

The purpose of this study was to analyze the variation in $\delta^{13}\text{C}$ in the foliage and in the relative growth rate in six populations of *P. pinceana* in conditions of water and heat stress. The hypothesis was that there is significant variation among populations under conditions of water and heat stress in carbon isotope discrimination and in the relative growth rate of seedlings, and that there is a positive correlation between these two variables. This information is important to predict the relative water use efficiency of the remaining populations of *P. pinceana* in the scenarios of drought and rising temperatures associated with climate change.

MATERIALS AND METHODS

Biological material and test conditions

Six populations of *P. pinceana* studied by Martiñón-Martínez *et al.* (2010), along a latitudinal transect in their natural distribution area, were included in this experiment (Table 1). The populations were selected based on their geographical location, four of them in the northern region and two in the southern, as well as on the growth rate of plants shown in the study by Martiñón-Martínez *et al.* (2010). For the experiment, 25-month-old seedlings of good vigor and 30 cm high, grown in 350 cm³ containers and irrigated to field capacity each week, were used. At the beginning of the experiment, seedlings were transplanted into plastic containers (1500 cm³ capacity) with a substrate of crushed pine bark, perlite and sandy agricultural soil (25:25:50). The greenhouse was divided into two sections of 7 m² with a plastic curtain and a buffer strip of 1.5 m wide between them to generate the two temperature environments. In the first section temperature was not changed; but in the second section two domestic heaters were used to raise air temperature by 2 °C (on average) compared to the first one. The air temperature was

Cuadro 1. Localización geográfica de las poblaciones de *Pinus pinceana* Gordon incluidas en el estudio.
Table 1. Geographical location of populations of *Pinus pinceana* Gordon included in the study.

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

de ellas en la región norte y dos en la región sur, así como en el crecimiento de las plantas mostrado en el trabajo de Martiñón-Martínez *et al.* (2010). Para el experimento se usaron plantas de 25 meses de edad, de buen vigor y 30 cm de altura, crecidas en contenedores de 350 cm³ y con un riego a capacidad de campo cada semana. Al iniciar el experimento, las plantas se trasplantaron a envases de plástico (1500 cm³ de capacidad) con un sustrato de corteza de pino molida, agrolita y suelo agrícola arenoso (25:25:50). El invernadero se separó en dos secciones de 7 m² con una cortina de plástico y una franja de amortiguamiento de 1.5 m de ancho entre ellas para generar los dos ambientes de temperatura. En la primera sección no se modificó la temperatura, pero en la segunda se colocaron dos calefactores domésticos para elevar la temperatura del aire en 2 °C (en promedio), respecto a la primera sección. La temperatura del aire se registró con dos sensores electrónicos y lecturas cada 15 min. La temperatura varió de 10.3 a 39.2 °C en el ambiente sin modificación de temperatura (T_0) y de 12.7 a 41.3 °C en la sección con temperatura modificada (T_1). En cada ambiente de temperatura se evaluaron dos niveles de humedad: contenido gravimétrico de 50 % (S_0 , equivalente a capacidad de campo) y 12-20 % (S_1 , por debajo de -1.5 Mpa) de humedad del suelo durante 160 d, de acuerdo al procedimiento descrito por Martiñón-Martínez *et al.* (2010). Para mantener la cantidad de agua perdida por evapo-transpiración en S_0 , se registró el peso inicial del sistema completo (maceta, suelo, agua y planta) y cada 6 d se repuso el agua perdida. En S_1 el suelo no se regó desde el inicio del experimento hasta que se llegó a un contenido gravimétrico del 12 %, y sólo en dos ocasiones (días 85 y 135) se repuso parte del agua perdida por evapotranspiración, para llevarlo a 20 % (Martiñón-Martínez *et al.*, 2010).

Variables evaluadas

Al inicio del experimento se determinó la altura y el diámetro del tallo de todas las plantas (N= 480) y la biomasa total en una

recorded with two electronic sensors and readings every 15 min. Temperature ranged from 10.3 to 39.2 °C in the environment without temperature change (T_0) and 12.7 to 41.3 °C in the section with modified temperature (T_1). In each temperature environment two levels of moisture were assessed: gravimetric content of 50 % (S_0 , equivalent to field capacity) and 12-20 % (S_1 , below -1.5 Mpa) soil moisture for 160 d, according to the procedure described by Martiñón-Martínez *et al.* (2010). To keep the amount of water lost by evapo-transpiration in S_0 , the initial weight of the full system (container, soil, water and seedling) was recorded, and every 6 d the lost water was replaced. In S_1 the soil was not watered from the beginning of the experiment until a gravimetric content of 12 % was reached, and only twice (days 85 and 135) some of the water lost by evapo-transpiration was recovered up to 20 % (Martiñón-Martínez *et al.*, 2010).

Variables assessed

At the beginning of the experiment the stem height and diameter of all seedlings (N = 480) as well as total biomass were determined in a sample of six plants per population. At the end of the experiment, a destructive analysis of the test plants was conducted to determine stem height, diameter and total biomass. The leaves formed under stress conditions during the experiment were identified with colored thread marks placed on the stem of seedlings. Plant samples were dried at 70 °C to constant weight. With the data of diameter and biomass of seedlings sampled at the beginning of the trial an allometric relationship was determined to estimate the initial biomass of seedlings not destroyed. With the initial and final values of seedlings the relative growth rate (RGR) in height and biomass was calculated for each population and treatment, according to the following equation (Zhang *et al.*, 1996):

$$RGR = \frac{LnX_2 - LnX_1}{T_2 - T_1}$$

muestra de seis plantas por población. Al final del experimento se realizó un análisis destructivo de las plantas en el ensayo para determinar la altura, el diámetro del tallo y la biomasa total. El follaje formado en las condiciones de estrés durante el experimento se identificó con marcas de hilo de color colocadas en el tallo de las plantas. Las muestras vegetales se secaron en estufa a 70 °C hasta peso constante. Con los datos de diámetro y biomasa de las plantas muestreadas al inicio del ensayo se determinó una relación alométrica para estimar la biomasa inicial de las plantas no destruidas. Con los valores iniciales y finales de las plantas se calculó la tasa relativa de crecimiento (TRC) en altura y biomasa para cada población y tratamiento, de acuerdo con la siguiente fórmula (Zhang *et al.*, 1996):

$$TRC = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{T_2 - T_1}$$

donde, X_2 = valor de la característica al final del experimento; X_1 = valor de la característica al inicio del experimento; T_2 = tiempo al final del experimento; y T_1 = tiempo al inicio del experimento.

La composición isotópica de carbono se midió en el follaje formado durante el periodo del ensayo. Una muestra de cinco acículas por planta sirvió para hacer una muestra compuesta asociada a cada unidad experimental, con un total de 96 muestras (seis poblaciones X cuatro repeticiones X cuatro tratamientos). Las acículas se pulverizaron por 72 h continuas en un molino de balines diseñado en el Postgrado Forestal del Colegio de Postgraduados. Se colocaron 1600 mg (800 mg C aproximadamente) de muestra en cápsulas de estaño y se determinó $\delta^{13}C$ con un espectrómetro de masas (Europa Scientific ANCA-HYDRA 20-20) en la Universidad de California-Davis. Los datos se expresaron con respecto al estándar internacional PDB (Pee Dee Belemnite, roca caliza fósil de la formación cretácica Pee Dee en Carolina del Sur, EUA; Boutton, 1991).

Diseño experimental y análisis estadístico

El experimento fue un factorial en parcelas divididas anidadas en dos ambientes de temperatura, con cuatro repeticiones (bloques) dentro de cada ambiente. En cada bloque, los tratamientos de humedad se asignaron a las parcelas grandes y las poblaciones a las parcelas pequeñas. Se realizó un análisis de varianza (SAS Institute, 1998) para $\delta^{13}C$ en follaje, considerando todos los factores como efectos fijos, de acuerdo con el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + B_j(T_i) + S_k + T_i S_k + S_k^* B_j(T_i) + P_l + T_i P_l + S_k P_l + T_i S_k P_l + \varepsilon_{ijkl}$$

where X_2 = value of the trait at the end of the experiment; X_1 = value of the trait at the beginning of the experiment; T_2 = time at the end of the experiment; and T_1 = time at the start of the experiment.

The carbon isotopic composition was measured in the needles formed during the trial period. A sample of five needles per plant was used to make a composite sample associated with each experimental unit, with a total of 96 samples (six populations X four replicates X four treatments). The needles were crushed for 72 continuous hours in a pellet mill designed at the Forestry Department of the Colegio de Postgraduados; 1600 mg (800 mg C approximately) of sample were placed in tin capsules and $\delta^{13}C$ was determined with a mass spectrometer (Europa Scientific ANCA-HYDRA 20-20) at the University of California-Davis. Data were expressed with respect to the international PDB standard (Pee Dee Belemnite, a limestone fossil of the Cretaceous Pee Dee formation in South Carolina, USA; Boutton, 1991).

Experimental design and statistical analysis

The experiment was a factorial in split plots nested within two temperature environments with four replicates (blocks) within each environment. In each block, moisture treatments were assigned to large plots and populations to small plots. A variance analysis (SAS Institute, 1998) for $\delta^{13}C$ in foliage was conducted, considering all factors as fixed effects, according to the following statistical model:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + B_j(T_i) + S_k + T_i S_k + S_k^* B_j(T_i) + P_l + T_i P_l + S_k P_l + T_i S_k P_l + \varepsilon_{ijkl}$$

where Y_{ijkl} = value of observation of the l-th population in the k-th drought treatment in the j-th block of the i-th temperature environment; μ = population mean; T_i = effect of i-th temperature environment; $B_j(T_i)$ = effect of j-th block within the i-th temperature environment (error a); S_k = effect of k-th level of drought; $T_i S_k$ = interaction effect of i-th temperature environment with the k-th level of drought; $S_k^* B_j(T_i)$ = error b (main-plot error); P_l = effect of l-th population; $T_i P_l$ = interaction effect of i-th temperature environment with the l-th population; $S_k P_l$ = interaction effect of the k-th level of drought, with the l-th population; $T_i S_k P_l$ = effect of interaction of the i-th temperature environment with the k-th level of drought with the l-th population; and ε_{ijkl} = experimental error (small-plot error).

To evaluate significant differences between treatments or between populations, we compared means using the Tukey test ($p \leq 0.05$) and a test of contrasts between the populations of the two geographical regions (north *vs.* south). To understand the

donde, Y_{ijkl} = valor de la observación de la l -ésima población, en el k -ésimo tratamiento de sequía, en el j -ésimo bloque, del i -ésimo ambiente de temperatura; μ = media poblacional; T_i = efecto del i -ésimo ambiente de temperatura; $B_j(T_i)$ = efecto del j -ésimo bloque dentro del i -ésimo ambiente de temperatura (error a); S_k = efecto del k -ésimo nivel de sequía; $T_i S_k$ = efecto de la interacción del i -ésimo ambiente de temperatura con el k -ésimo nivel de sequía; $S_k * B_j(T_i)$ = error b (error de parcela grande); P_l = efecto de la l -ésima población; $T_i P_l$ = efecto de la interacción del i -ésimo ambiente de temperatura con la l -ésima población; $S_k P_l$ = efecto de la interacción del k -ésimo nivel de sequía, con la l -ésima población; $T_i S_k P_l$ = efecto de la interacción del i -ésimo ambiente de temperatura con el k -ésimo nivel de sequía con la l -ésima población; y ϵ_{ijkl} = error experimental (error de parcela chica).

Para evaluar las diferencias significativas entre tratamientos o entre poblaciones, se compararon las medias con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) y una prueba de contrastes entre las poblaciones de las dos regiones geográficas (norte vs. sur). Para conocer la relación entre el comportamiento de cada población en condiciones de estrés y su capacidad productiva, se hizo un análisis de correlación entre los valores de $\delta^{13}C$ con la TRC en altura y la biomasa total.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición isotópica de carbono en follaje de *Pinus pinceana*

El promedio de $\delta^{13}C$ en follaje de *P. pinceana* fue -24.14 ‰, con valores extremos de -25.42 a -22.70 ‰; el valor promedio de las poblaciones varió de -24.48 a -23.70 ‰ (Figura 1). El promedio de la especie es mayor a -27 ‰, valor encontrado en otras coníferas de diferentes ambientes ecológicos (Zhang *et al.*, 1997; Brodrribb y Hill, 1998; Anekonda *et al.*, 2004). Sin embargo, algunos pinos con distribución en elevaciones mayores a 1500 m presentan $\delta^{13}C$ de -24 a -23 ‰ (Warren *et al.*, 2001). En un experimento de estrés por sequía establecido en el mismo lugar donde se hizo este estudio, el valor de $\delta^{13}C$ en follaje de poblaciones de *P. greggii* Engelm. varió de -29.5 a -28.5 ‰ (García-García *et al.*, 2003); sólo la población de mayor altitud (2613 m) y ambiente más árido presentó $\delta^{13}C$ de -23.6 ‰.

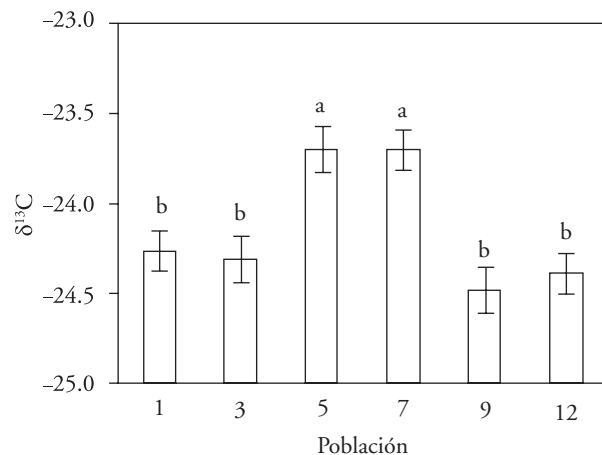
Hay cierta relación con la altitud y los resultados de *P. pinceana*, ya que las poblaciones 5 y 7 muestran los valores más altos de $\delta^{13}C$ y su distribución altitudinal es mayor; sin embargo, la relación no es consistente al considerar que la población tres es la

relationship between the performance of each population under stress conditions and their production capacity, a correlation analysis between $\delta^{13}C$ values and RGR in height and total biomass was conducted.

RESULTS AND DISCUSSION

Carbon isotopic composition in *Pinus pinceana* foliage

The mean $\delta^{13}C$ in *P. pinceana* needles was -24.14 ‰, with extreme values ranging from -25.42 to -22.70 ‰; the average value of the populations varied from -24.48 to -23.70 ‰ (Figure 1). The average of the species is higher than -27 ‰, a value found in other conifers of different ecological environments (Zhang *et al.*, 1997; Brodrribb and Hill, 1998; Anekonda *et al.*, 2004). However, some pines distributed at sites of more than 1500 m have $\delta^{13}C$ of -24 to -23 ‰ (Warren *et al.*, 2001). In an experiment of drought stress established in the



Región Norte:	Región Sur:
1 Norias, Coahuila	9 Ejido Núñez,
3 El Cinco, Coahuila	San Luis Potosí
5 Santa Elena Coahuila	12 San Cristobal, Hidalgo
7 San José Carbonerillas,	
Zacatecas	

Figura 1. Valores promedio \pm error estándar de $\delta^{13}C$ medido en el follaje de distintas poblaciones de *Pinus pinceana* Gordon (media de los cuatro tratamientos). Barras con distinta letra son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Figure 1. Mean values \pm standard error of $\delta^{13}C$ measured in the foliage of different populations of *Pinus pinceana* Gordon (average of four treatments). Bars with different letters are statistically different ($p \leq 0.05$).

segunda en altitud y su valor de $\delta^{13}\text{C}$ es más bajo. La discriminación relativamente baja de *P. pinceana* podría reflejar una estrategia de adaptación para fijar la mayor cantidad de carbono en las condiciones de sequía en que se desarrolla. Brodribb y Hill (1998) encontraron que el $\delta^{13}\text{C}$ de 13 coníferas varió de -29.0 a -24.5 ‰, aunque no se detectó una correlación significativa entre $\delta^{13}\text{C}$ y variables ambientales. Panek (1996) reportó una variación de $\delta^{13}\text{C}$ en follaje de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco de -26.53 a -19.56 ‰ en un transecto con precipitación contrastante (300 a 1640 mm). Sin embargo, se debe considerar que en ese estudio se eliminó la lignina del follaje previo al análisis de $\delta^{13}\text{C}$, lo cual tiende a enriquecer las muestras en ^{13}C (Gómez-Guerrero *et al.*, 2002). No obstante, hay una correlación alta (0.92) en la determinación de $\delta^{13}\text{C}$ con muestras procesadas y las de follaje crudo (Warren *et al.*, 2001).

Efecto del estrés sobre la composición isotópica

Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ se modificaron por el nivel de humedad y por la interacción de humedad x temperatura, pero la temperatura por sí sola no influyó en $\delta^{13}\text{C}$ (Cuadro 2). Este resultado indica cambios en $\delta^{13}\text{C}$ con el nivel de humedad pero la respuesta depende del nivel de temperatura. Cuando ésta no se modificó (T_0) las diferencias entre niveles de humedad fueron evidentes pero el efecto desaparece en

Cuadro 2. Significancia estadística de la composición isotópica de carbono en follaje de seis poblaciones de *Pinus pinceana* Gordon en respuesta a los factores de estrés hídrico y térmico.

Table 2. Statistical significance of the carbon isotopic composition of leaves of six populations of *Pinus pinceana* Gordon in response to water and heat stress.

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

** Diferencias significativas ($p \leq 0.01$); ns, no significativo ($p > 0.05$) ♦ Significant differences ($p \leq 0.01$); ns, not significant ($p > 0.05$).

same place where this study was conducted, the value of $\delta^{13}\text{C}$ in needles of *P. greggii* Engelm populations ranged from -29.5 to -28.5 ‰ (García-García *et al.*, 2003); only the population of higher altitude (2613 m) and more arid environment exhibited $\delta^{13}\text{C}$ of -23.6 ‰.

There is some relation between altitude and the results of *P. pinceana* as populations 5 and 7 show the highest values of $\delta^{13}\text{C}$ as well as higher altitude; yet the relationship is not consistent when considering that population three is the second in altitude and its $\delta^{13}\text{C}$ value is lower. The relatively low discrimination of *P. pinceana* may reflect an adaptation strategy to secure the greatest amount of carbon in the conditions of drought in which it grows. Brodribb and Hill (1998) found that the $\delta^{13}\text{C}$ of 13 conifers ranged from -29.0 to -24.5 ‰, although no significant correlation between $\delta^{13}\text{C}$ and environmental variables was detected. Panek (1996) reported a variation of $\delta^{13}\text{C}$ in *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco foliage of -26.53 to -19.56 ‰ along a transect with contrasting precipitation (300 to 1640 mm). However, it is worth noting that in that study lignin was removed from foliage before the $\delta^{13}\text{C}$ analysis, which tends to enrich the samples in ^{13}C (Gómez-Guerrero *et al.*, 2002). However, there is a high correlation (0.92) in the determination of $\delta^{13}\text{C}$ with processed and raw leaf samples (Warren *et al.*, 2001).

Effect of stress on the isotopic composition

The $\delta^{13}\text{C}$ values were modified by the moisture level and the interaction of moisture x temperature, but temperature alone had no effect on $\delta^{13}\text{C}$ (Table 2). This result indicates changes in $\delta^{13}\text{C}$ with humidity, but the response depends on the temperature level. At the control temperature (T_0) the differences between moisture levels were evident but the effect disappeared at high temperature conditions (Figure 2). In S_0 and S_1 the average $\delta^{13}\text{C}$ values were -24.42 ‰ and -23.86 ‰, with a significant difference ($p \leq 0.01$), although it was only of 0.56 ‰. Other studies have found greater differences in $\delta^{13}\text{C}$ depending upon the species and the intensity and duration of stress in plants. Zhang *et al.* (1997) report a difference of 1.5 ‰ in foliage of *P. ponderosa* Dougl. between irrigated and water stressed seedlings. In natural environments, variation

condiciones de temperatura elevada (Figura 2). En S_0 y S_1 los valores promedio de $\delta^{13}\text{C}$ fueron -24.42‰ y -23.86‰ , con diferencia significativa ($p \leq 0.01$), aunque de sólo 0.56‰ . En otros estudios se han encontrado mayores diferencias en $\delta^{13}\text{C}$ en función de la especie y de la intensidad y duración del estrés en las plantas. Zhang *et al.* (1997) reportaron una diferencia de 1.5‰ en follaje de *P. ponderosa* Dougl. entre plantas con riego y sometidas a estrés hídrico. En ambientes naturales las variaciones en precipitación, humedad relativa y déficit de presión de vapor dan lugar a diferencias en $\delta^{13}\text{C}$ en tejidos vegetales de hasta 5‰ (Panek y Waring 1995; García-García *et al.*, 2004).

El efecto del estrés hídrico sobre la composición isotópica de carbono fue evidente en condiciones favorables de temperatura (T_0). Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ aumentaron de -24.7 a -23.7‰ , por el estrés hídrico, mientras en T_1 los valores fueron -24.2 y -24.0‰ , para riego y sequía (Figura 2). Los resultados sugieren que cuando las plantas experimentaron estrés hídrico, el estrés térmico aumentó la discriminación de ^{13}C , mientras que en condiciones de riego, el estrés térmico redujo la discriminación de ^{13}C . En estudios con pastos perennes se ha observado un efecto positivo en la partición de carbono a la raíz cuando se combina un aumento en la temperatura nocturna con una sequía severa, pero un efecto opuesto si la sequía es moderada (Xu y Zhou, 2005). Posiblemente el efecto de la temperatura no fue suficiente para causar estrés en *P. piniceana*. En cambio, en un experimento con plantas de *P. edulis* Engelm. donde se aumentó la temperatura en 4.3 °C , el efecto de ésta amplificó el estrés hídrico, con una mortalidad cinco veces mayor (Adams *et al.*, 2009).

Diferencias entre poblaciones en la discriminación isotópica

Entre poblaciones se encontraron diferencias ($p \leq 0.01$) en $\delta^{13}\text{C}$; los valores promedio en las poblaciones del norte y sur fueron -23.99 y -24.43‰ , con diferencias ($p \leq 0.01$) entre las regiones según la prueba de contrastes. Además, las diferencias entre las poblaciones en $\delta^{13}\text{C}$ se mantuvieron en condiciones de estrés hídrico y térmico, pues las interacciones sequía \times población y temperatura \times población no fueron significativas (Cuadro 2). Al igual que en *P. greggii* (García-García *et al.*, 2003), los resultados

in precipitation, relative humidity and vapor pressure deficit lead to differences in $\delta^{13}\text{C}$ in plant tissues up to 5‰ (Panek and Waring 1995, García-García *et al.*, 2004).

The effect of water stress on carbon isotopic composition was evident in favorable conditions of temperature (T_0). The $\delta^{13}\text{C}$ values increased from -24.7 to -23.7‰ because of water stress, while in T_1 these values were -24.2 and -24.0‰ for irrigation and drought (Figure 2). The results suggest that when the plants experienced water stress, heat stress increased discrimination of ^{13}C , while in irrigated seedlings, heat stress reduced the ^{13}C discrimination. In studies with perennial grasses a positive effect on carbon partitioning to the root has been observed when an increase in night temperature is combined with a severe drought, but the opposite effect occurs when the drought is moderate (Xu and Zhou, 2005). Possibly, the effect of temperature was not enough to cause stress in *P. piniceana*. In contrast, in an experiment with *P. edulis* seedlings, the effect of water stress was amplified when temperature was raised by

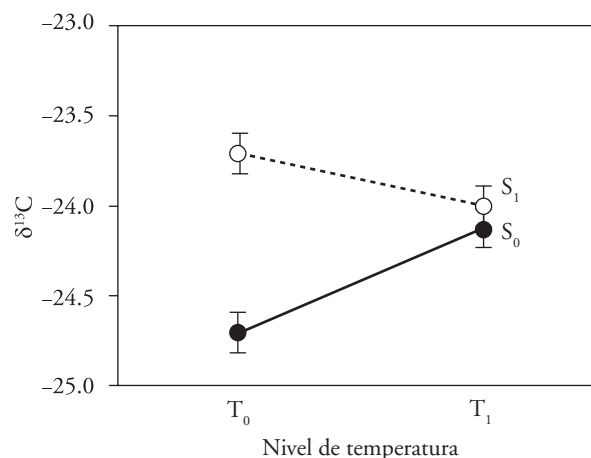


Figura 2. Interacción del estrés por sequía (S_1) y por temperatura (T_1) sobre la composición isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) en el follaje de las plantas de *Pinus piniceana* Gordon con respecto al crecimiento en condiciones favorables de humedad (S_0) y temperatura (T_0). Las barras de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

Figure 2. Interaction of drought (S_1) and temperature (T_1) stress on the carbon isotopic composition ($\delta^{13}\text{C}$) in foliage of *Pinus piniceana* Gordon compared to growth in favorable moisture (S_0) and temperature (T_0) conditions. Error bars represent \pm standard error per treatment.

indican un comportamiento distinto entre poblaciones de *P. pinceana* del norte y sur. En promedio, las poblaciones del norte parecen responder más rápido al cierre de estomas por efecto de la sequía, dando como resultado mayor enriquecimiento de ^{13}C . Se han detectado diferencias en las estrategias de adaptación a la sequía entre las plantas de estas regiones, como el mayor contenido de cera cuticular (Ramírez-Herrera, 2007), el menor tamaño y la menor relación parte aérea/raíz (Martíñón *et al.*, 2010) en las poblaciones del norte. No existen datos de precipitación en los sitios donde crece *P. pinceana*, pero generalmente se supone menor humedad en la región norte que en la región sur (Ramírez-Herrera, 2007).

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

Tasa relativa de crecimiento

La tasa relativa de crecimiento (TRC) en altura se redujo significativamente ($p \leq 0.05$) en condiciones de estrés hídrico y térmico, aunque el efecto del estrés hídrico fue mayor (Figura 3). La TRC en biomasa sólo se modificó ($p \leq 0.05$) con el estrés hídrico. De acuerdo con la prueba de contrastes, las poblaciones del norte tuvieron una TRC promedio en altura más elevada ($p \leq 0.01$) que las del sur, aunque hay una amplia variación entre ellas (Figura 4).

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

La composición isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) de las poblaciones se relacionó positivamente ($r=0.71$) con su tasa relativa de crecimiento en altura (Figura 5A); las poblaciones con menor discriminación en ^{13}C presentaron una mayor TRC en altura. Sin embargo, $\delta^{13}\text{C}$ no se correlacionó de manera significativa

4.3°C, with a mortality rate five times higher (Adams *et al.*, 2009).

Differences among populations in isotope discrimination

Differences ($p \leq 0.01$) in $\delta^{13}\text{C}$ were found among populations. The average values in the northern and southern populations were -23.99 and -24.43 ‰, with differences ($p \leq 0.01$) between the regions according to the contrasts test. Furthermore, differences between populations in $\delta^{13}\text{C}$ were maintained in conditions of water and heat stress since the interactions drought \times population and temperature \times population were not significant (Table 2). As in *P. greggii* (García-García *et al.*, 2003), the results indicate a different behavior between populations of *P. pinceana* of northern and southern regions. On average, northern populations appear to respond faster to the closure of stomata as a result of drought, resulting in greater enrichment of ^{13}C . Differences in the adaptation strategies to drought among plants in these regions have been detected in earlier studies, such as increased cuticular wax content (Ramírez-Herrera, 2007), smaller size, and lower shoot/root ratio (Martíñón *et al.*, 2010) in northern populations. There are no rainfall data at sites where *P. pinceana* grows, but it is usually assumed that there is less moisture in the northern region than in the southern (Ramírez-Herrera, 2007).

Olivas *et al.* (2000) also found significant differences between populations of *P. ponderosa* in the carbon isotopic composition in the foliage of seedlings under water stress conditions. As in the case of *P. pinceana*, the populations from drier sites had lower discrimination of the heavy isotope. In that study, neither there was a significant effect of the interaction between populations and the soil moisture level on the average value of $\delta^{13}\text{C}$, and something similar occurred in adult trees of *P. ponderosa* (Cregg *et al.*, 2000) and *Picea mariana* (Mill.) BSP (Flanagan and Johnsen, 1995) under field conditions.

Relative growth rate

The relative growth rate (RGR) in height was significantly reduced ($p \leq 0.05$) by water and heat stress, although the effect of water stress was greater (Figure 3). The RGR in biomass changed ($p \leq 0.05$) only with water stress. According to the contrasts

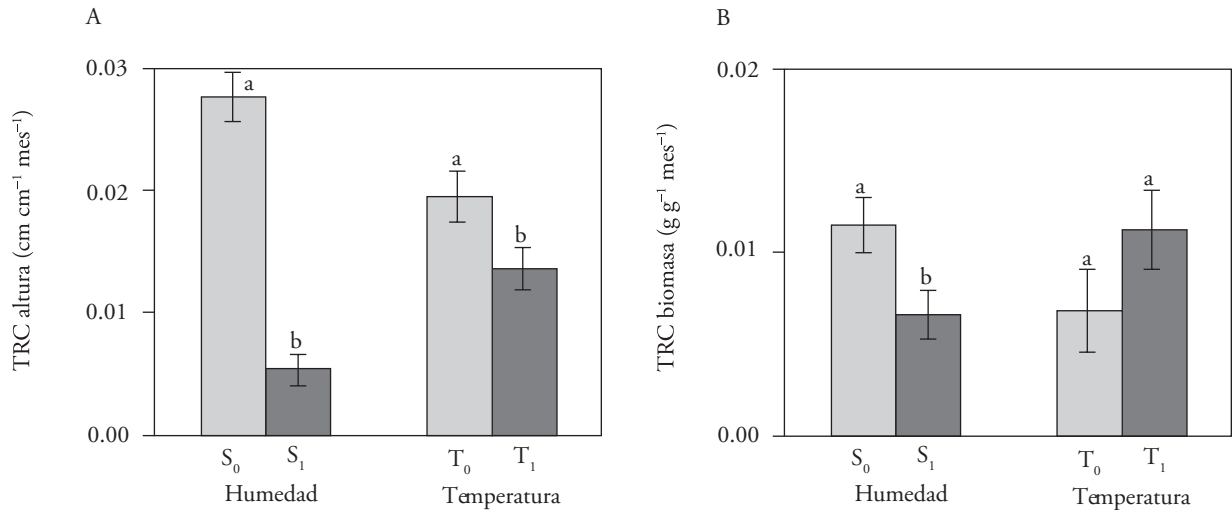


Figura 3. Tasa relativa de crecimiento (TRC) \pm error estándar en altura (A) y en biomasa (B) en plantas de *Pinus pincea* Gordon, por tratamiento de humedad del suelo (S₀ y S₁) y de temperatura (T₀ y T₁), en promedio de las seis poblaciones. Para cada factor, barras con distinta letra son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Figure 3. Relative growth rate (RGR) \pm standard error in height (A) and biomass (B) in *Pinus pincea* Gordon seedlings, per treatment of soil moisture (S₀ and S₁) and temperature (T₀ and T₁) on average of the six populations. For each factor, bars with different letters are statistically different ($p \leq 0.05$).

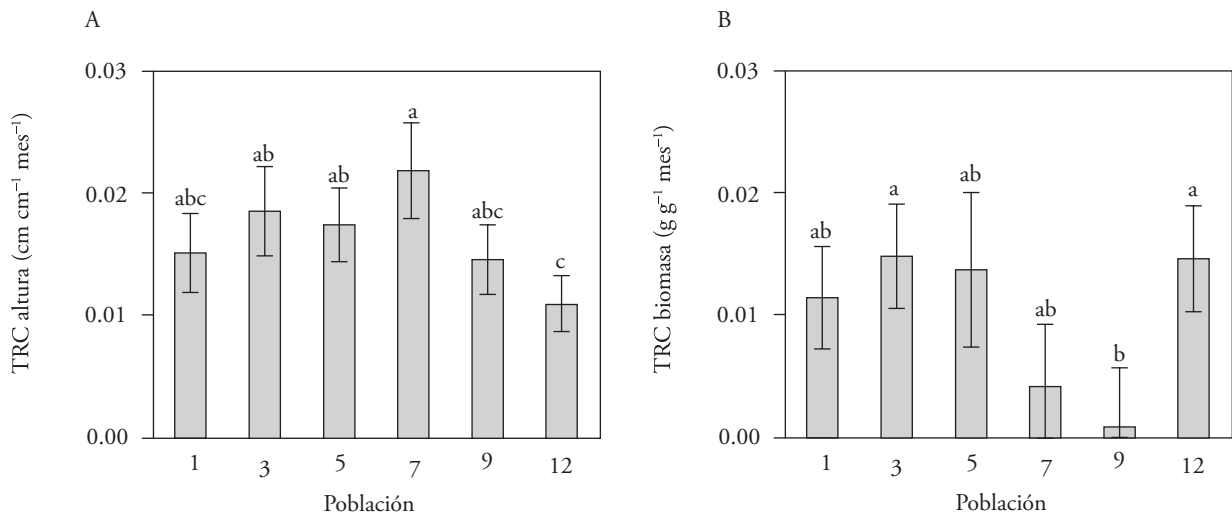


Figura 4. Tasa relativa de crecimiento (TRC) \pm error estándar en altura (A) y en biomasa (B) en plantas de diferentes poblaciones de *Pinus pincea* Gordon, promedio de dos condiciones de humedad del suelo y de temperatura; barras con distinta letra son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$). La identidad de las poblaciones se muestra en el Cuadro 1 y la Figura 1.

Figure 4. Relative growth rate (RGR) \pm standard error in height (A) and biomass (B) in seedlings of different populations of *Pinus pincea* Gordon, average of two soil moisture and temperature conditions; bars with different letters are statistically different ($p \leq 0.05$). The identity of the populations is shown in Table 1 and Figure 1.

con la TRC en biomasa. La correlación positiva entre $\delta^{13}\text{C}$ y la TRC en altura ($r = 0.86$) se mantuvo en condiciones de sequía (Figura 5B), pero desapareció en condiciones favorables de humedad. Flanagan y

test, northern populations had an average higher ($p \leq 0.01$) RGR in height than the southern ones, although there is a wide variation between them (Figure 4).

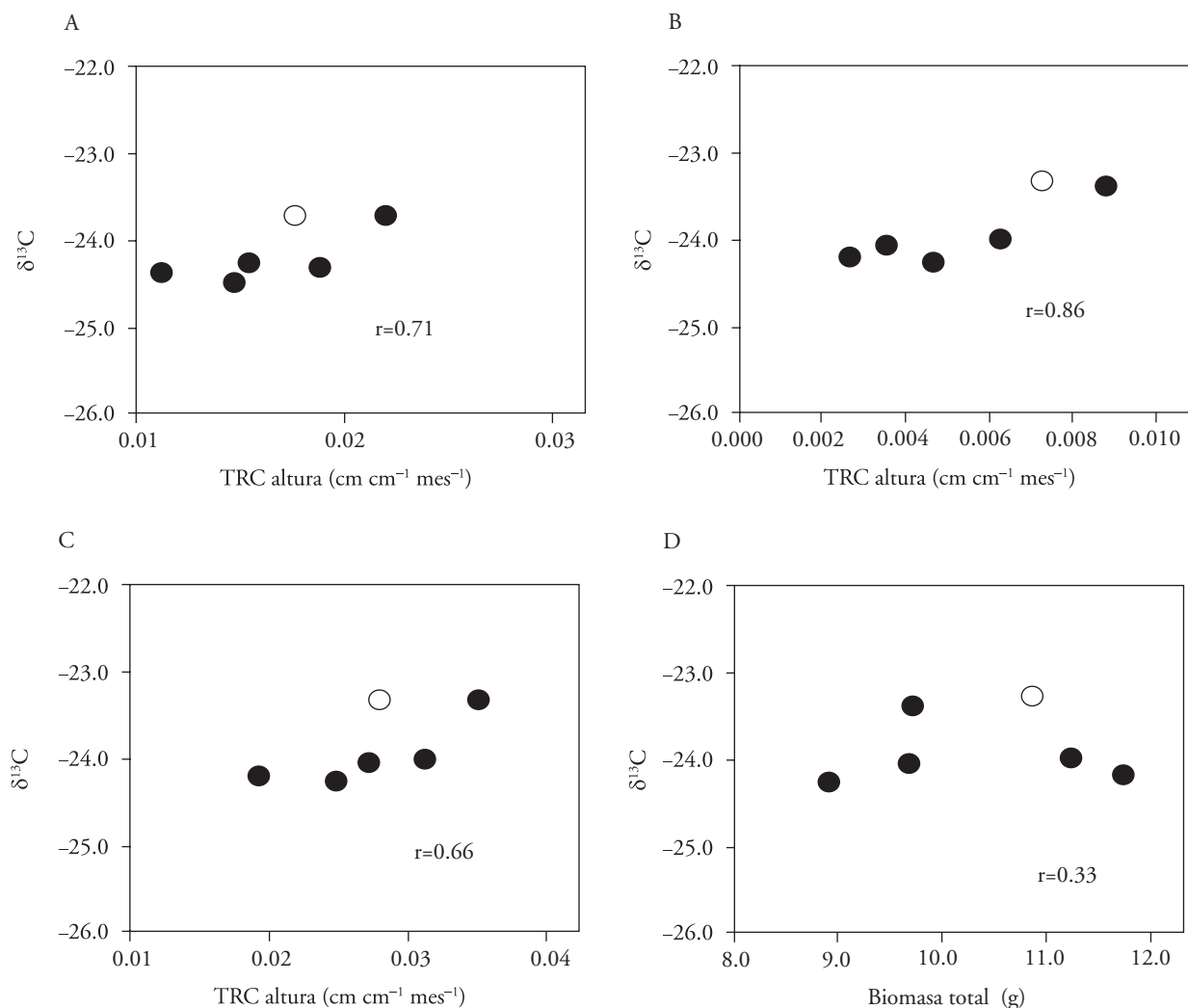


Figura 5. (A) Relación entre la composición isotópica ($\delta^{13}\text{C}$) de las poblaciones de *Pinus pinceana* Gordon y su tasa relativa de crecimiento (TRC) en altura, en promedio de las dos condiciones de humedad; (B) $\delta^{13}\text{C}$ y TRC en condiciones de sequía; (C) $\delta^{13}\text{C}$ en condiciones de sequía y TRC en condiciones favorables de humedad; y (D) $\delta^{13}\text{C}$ en condiciones de sequía y productividad potencial (biomasa en condiciones favorables de humedad y temperatura). El símbolo hueco en la Figura representa a la población de Santa Elena, Coahuila.

Figure 5. (A) Relationship between the isotopic composition ($\delta^{13}\text{C}$) of *Pinus pinceana* Gordon populations and their relative growth rate (RGR) in height on average of the two soil moisture conditions; (B) $\delta^{13}\text{C}$ and RGR in drought conditions; (C) $\delta^{13}\text{C}$ in drought conditions and RGR in favorable soil moisture conditions; and (D) $\delta^{13}\text{C}$ in drought conditions and potential productivity (biomass in favorable conditions of soil moisture and temperature). The hollow symbol in this figure represents the population of Santa Elena, Coahuila.

Johnsen (1995) también observaron una elevada correlación positiva entre $\delta^{13}\text{C}$ y la altura de los árboles en familias de *Picea mariana* (Mill) B.S.P. en un sitio de ambiente seco, pero la correlación se perdió en sitios más húmedos. La relación entre $\delta^{13}\text{C}$ y biomasa depende también de la especie; por ejemplo, Zhang *et al.* (1996) encontraron correlaciones significativas de $\delta^{13}\text{C}$ con el crecimiento en altura y biomasa en *Larix occidentalis* Nutt. y *Pseudotsuga menziesii* pero

Relationship between $\delta^{13}\text{C}$, relative growth rate and potential productivity

The carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$) of populations was positively correlated ($r=0.71$) with its RGR in height (Figure 5A). Populations with less discrimination in ^{13}C showed a higher RGR in height. However, $\delta^{13}\text{C}$ did not correlate significantly with the RGR in biomass. The positive correlation

no en *Pinus ponderosa*. Los resultados en diferentes especies de coníferas, incluyendo *P. pinceana*, parecen indicar que la eficiencia relativa en el uso del agua (estimada con $\delta^{13}\text{C}$) es importante para el crecimiento y productividad de las plantas cuando se presentan condiciones de baja humedad en el suelo, aunque los mecanismos fisiológicos responsables de la variación en el crecimiento difieren entre ellas.

El valor de $\delta^{13}\text{C}$ de las poblaciones en condiciones de sequía se correlacionó positiva ($r=0.66$) y significativamente con la TRC en altura en condiciones favorables de humedad (Figura 5C), pero no con la productividad potencial de las poblaciones, medida en términos de la acumulación de biomasa total de las plantas en condiciones ambientales favorables (Figura 5D). La productividad potencial y la eficiencia relativa en el uso del agua en condiciones de sequía (estimada con $\delta^{13}\text{C}$) se comportaron como características independientes en este estudio, por lo que las poblaciones de *P. pinceana* con mayor biomasa en condiciones favorables no necesariamente son las más eficientes en el uso del agua al enfrentar condiciones de sequía. Sin embargo, como la correlación no fue negativa, también es posible encontrar poblaciones con valores en las dos características mayores al promedio de las otras, como la de Santa Elena, Coahuila (Figura 5D).

CONCLUSIONES

Pinus pinceana mostró una variación significativa en $\delta^{13}\text{C}$ como resultado del estrés hídrico, pero no por estrés térmico. Dado que una menor discriminación en el isótopo pesado de carbono se asocia con una mayor eficiencia en el uso del agua de las plantas, esta característica tiene una gran importancia en la capacidad de adaptación de las poblaciones a las condiciones de estrés hídrico comunes en su hábitat natural. Las diferencias en $\delta^{13}\text{C}$ entre las poblaciones son consistentes con las diferencias en la tasa relativa de crecimiento y en otras características morfológicas y fisiológicas descritas en estudios anteriores, posiblemente una manifestación de la selección natural en respuesta al gradiente ambiental dentro del área de distribución natural de la especie en las zonas semiáridas de México.

Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de las poblaciones en condiciones de sequía no mostraron una correlación significativa con su productividad potencial; si estas

entre $\delta^{13}\text{C}$ and the RGR in height ($r=0.86$) remained under drought conditions (Figure 5B), but disappeared in favorable soil moisture conditions. Flanagan and Johnsen (1995) also observed a high positive correlation between $\delta^{13}\text{C}$ and the height of trees in families of *Picea mariana* (Mill) B.S.P. in a dry site, but the correlation was lost in wetter sites. The relationship between $\delta^{13}\text{C}$ and biomass also depends on the species; for example, Zhang *et al.* (1996) found significant correlations of $\delta^{13}\text{C}$ with height and biomass growth in *Larix occidentalis* Nutt. and *Pseudotsuga menziesii* but not in *Pinus ponderosa*. The results in different species of conifers, including *P. pinceana*, suggest that the relative water use efficiency (estimated with $\delta^{13}\text{C}$) is important for the growth and productivity of plants when the soil conditions are of low moisture, although the physiological mechanisms responsible.

The $\delta^{13}\text{C}$ value of populations in drought conditions was correlated positively ($r=0.66$) and significantly with the RGR in height in favorable moisture conditions (Figure 5C), but not with the potential productivity of the populations, measured in terms of the total biomass accumulation of plants in favorable environmental conditions (Figure 5D). The potential productivity and relative water use efficiency in drought conditions (estimated with $\delta^{13}\text{C}$) behaved as independent traits in this study, so the populations of *P. pinceana* with more biomass under favorable conditions are not necessarily the most efficient in the use of water when facing drought conditions. However, as the correlation was not negative, it is also possible to find populations having higher values in both traits than the average of the others, such as that of Santa Elena, Coahuila (Figure 5D).

CONCLUSIONS

Pinus pinceana showed a significant variation in $\delta^{13}\text{C}$ as a result of water stress but not from heat stress. Since less discrimination in the heavy isotope of carbon is associated with greater water use efficiency of seedlings, this trait has great importance in the adaptation capacity of populations to the water stress conditions common in their natural habitat. The $\delta^{13}\text{C}$ differences among populations are consistent with the differences in the relative growth rate and other physiological and morphological traits

características son independientes, es posible encontrar poblaciones con mayor $\delta^{13}\text{C}$ (y mayor eficiencia relativa en el uso del agua) en condiciones de estrés hídrico y al mismo tiempo aumentar o mantener la productividad de la especie. Poblaciones como la de Santa Elena, Coahuila, al combinar favorablemente estas dos características son importantes para iniciar un programa de restauración y conservación ecológica de la especie frente a las condiciones esperadas de mayor estrés ambiental debido al cambio climático.

AGRADECIMIENTOS

A SEMARNAT-CONACYT por el financiamiento recibido a través del proyecto 2002-C01-1429 "Ecología, genética de poblaciones y estrategias de conservación de poblaciones naturales de *Pinus pinceana*". Este proyecto forma parte de una de las Tareas del Grupo de Trabajo en Recursos Genéticos Forestales de la Comisión Forestal para América del Norte.

LITERATURA CITADA

- Adams, H. D., M. Guardiola-Claramonte, J. C. Villegas, C. B. Zou, P. A. Troch, and T. E. Huxman. 2009. Temperature sensitivity of drought-induced tree mortality portends increased regional die-off under global-change-type drought. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 106: 7063–7066.
- Anekonda, T., C. Jones, B. N. Smith, and L. D. Hansen. 2004. Differences in physiology and growth between coastal and inland varieties of Douglas-fir seedlings in a common garden. *Thermochimica Acta* 422: 75–79.
- Brodribb, T., and R. S. Hill. 1998. The photosynthetic drought physiology of a diverse group of southern hemisphere conifer species is correlated with minimum seasonal rainfall. *Functional Ecol.* 12: 465–471.
- Boutton, T. W. 1991. Stable carbon isotope ratios of natural materials: I. Sample preparation and mass spectrometric analysis. *In: Coleman, D. C., and B. Fry (eds). Carbon Isotope Techniques*. Academic Press, San Diego. pp: 155–171.
- Correia, I., M. H. Almeida, A. Aguiar, R. Alia, T.S. David, and J. S. Pereira. 2008. Variations in growth, survival and carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$) among *Pinus pinaster* populations of different geographic origins. *Tree Physiol.* 28: 1545–1552.
- Cregg, B. M., J. M. Olivas-García, and T. C. Hennessey. 2000. Provenance variation in carbon isotope discrimination of mature ponderosa pine trees at two locations in the Great Plains. *Can. J. For. Res.* 30: 428–439.
- Farquhar, G. D., M. H. O'Leary, and J. A. Berry. 1982. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Aust. J. Plant Physiol.* 9: 121–137.
- Farquhar, G. D., K. T. Hubick, A. G. Condon, and R. A. Richards. 1989. Carbon isotope fractionation and plant water use efficiency. *In: Rundel, P. W., J. R. Ehleringer, and K. A. Nagy (eds). Stable Isotopes in Ecological Research*. Springer-Verlag, New York. pp: 21–40.
- Flanagan, L. B., and K. H. Johnsen. 1995. Genetic variation in carbon isotope discrimination and its relationship to growth under field conditions in full-sib families of *Picea mariana*. *Can. J. For. Res.* 25: 39–47.
- García-García, R., A. Gómez-Guerrero, J. López-Upton, y J. J. Vargas-Hernández. 2003. Composición isotópica de carbono y crecimiento de *Pinus greggii* Engelm. en vivero. *Agrociencia* 37: 467–475.
- García-García, R., A. Gómez-Guerrero, J. López-Upton, J. J. Vargas-Hernández, and W. R. Horwath. 2004. Tree growth and ^{13}C among populations of *Pinus greggii* Engelm. at two contrasting sites in central Mexico. *For. Ecol. Manage.* 198: 237–247.
- 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 Physiol.* 22: 459–467.
- Letts, M. G., K. N. Nakonechny, K. E. Van Gaalen, and C. M. Smith. 2009. Physiological acclimation of *Pinus flexilis* to drought stress on contrasting slope aspects in Waterton Lakes National Park, Alberta, Canada. *Can. J. For. Res.* 39: 629–641.
- Loreto F, and M. Centritto. 2008. Leaf carbon assimilation in a water-limited world. *Plant Biosystems* 142: 154–161.
- Martíñón-Martínez, R. J., J. J. Vargas-Hernández, J. López-Upton, A. Gómez-Guerrero, y H. Vaquera-Huerta. 2010. Respuesta de *Pinus pinceana* Gordon a estrés por sequía y altas temperaturas. *Fitotecnia Mex.* 33: 239–248.
- Molina F, E., P. Delgado, D. Piñero, N. Pérez N., and E. Alvarez B. 2001. Do rare pines need different conservation strategies?

—End of the English version—



- Evidence from three Mexican species. *Can. J. Bot.* 79: 131-138.
- Nilsen, E. T., and D. M. Orcutt. 1996. *The Physiology of Plants Under Stress: Abiotic Factors*. John Wiley & Sons, New York. 689 p.
- Olivas G., J. M., B. M. Cregg, and T. C. Hennessey. 2000. Genotypic variation in carbon isotope discrimination and gas exchange of ponderosa pine seedlings under two levels of water stress. *Can. J. For. Res.* 30: 1581-1590.
- Panek, J. A. 1996. Correlations between stable carbon-isotope abundance and hydraulic conductivity in Douglas-fir across a climate gradient in Oregon, USA. *Tree Physiol.* 16: 747-755.
- Panek, J. A., and R. H. Waring. 1995. Carbon isotope variation in Douglas-fir foliage: improving the $\delta^{13}\text{C}$ -climate relationship. *Tree Physiol.* 15: 657-663.
- Perry, J. P. Jr. 1991. *The Pines of México and Central America*. Timber Press, Portland, Oregon, USA. 231 p.
- Ramírez-Herrera, C. 2007. Quantitative trait variation and allozyme diversity of *Pinus pinceana*. Ph. D. Thesis in Forestry. University of New Brunswick, Canada. 213 p.
- Ramírez-Herrera C., T. Beardmore, and J. Loo. 2008. Overcoming dormancy of *Pinus Pinceana* seeds. *Seed Sci. Tech.* 36: 1-20.
- Sáenz-Romero, C., G. E. Rehfeldt, N. L. Crookston, P. Duval, R. St-Amant, J. Beaulieu, and B. A. Richardson. 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: 595-623.
- SAS Institute. 1998. *SAS/STAT User's release 6.03*. SAS Institute, Cary, N. C. 1028 p.
- Schlesinger, W. H. 1997. *Biogeochemistry: An Analysis of Global Change*. 2nd ed. Academic Press, San Diego. 588 p.
- Villarreal-Quintanilla, J. A., O. Mares-Arreola, E. Cornejo-Oviedo, y M. A. Capó-Arteaga. 2009. Estudio florístico de los piñonares de *Pinus pinceana* Gordon. *Acta Bot. Mex.* 89: 87-124.
- Volts, J., M. R. Chambel, M. A. Prada, and J. P. Ferrio. 2008. Climate-related variability in carbon and oxygen stable isotopes among populations of Aleppo pine grown in common-garden tests. *Trees* 22: 759-769.
- Warren, C. R., J. F. McGrath, and M. A. Adams. 2001. Water availability and carbon isotope discrimination in conifers. *Oecología* 127:476-486.
- Xu, Z. Z., and G. S. Zhou. 2005. Effects of water stress and nocturnal temperature on carbon allocation in the perennial grass, *Leymus chinensis*. *Physiol. Plant.* 123: 272-280.
- Zhang, J. W., J. D. Marshall, and L. Fins. 1996. Correlated population differences in dry matter accumulation, allocation, and water-use efficiency in three sympatric conifer species. *For. Sci.* 42: 242-249.
- Zhang, J. W., Z. Feng, B. M. Cregg, and C. M. Schumann. 1997. Carbon isotopic composition, gas exchange, and growth of three populations of ponderosa pine differing in drought tolerance. *Tree Physiol.* 17: 461-466.