

240953



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"NIVELES Y PATRONES DE VARIACION QUIMICA EN RESINAS DE LAS HOJAS DEL GENERO ABIES DEL NORTE DE MEXICO"



BIBLIOTECA
INSTITUTO DE ECOLOGIA
UNAM

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

YOLANDA GREGORINA NAVA CRUZ



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

MEXICO, D. F.

1996



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:
"Niveles y patrones de variación química en resinas de las hojas
del Género Abies del Norte de México"

realizado por Nava Cruz Yolanda Guadalupe

con número de cuenta 8816177-2 , pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario Dr. Glenn Richard Furnier Whitelaw

Glenn R. Furnier

Propietario Dr. Francisco J. Espinosa García

Propietario Dr. Luis Eguiarte Fruns *Luis Eguiarte*

Suplente Biol. Eduardo Morales Guillaumin *Eduardo Morales*

Suplente Dr. A. Ken Oyama Nakagawa

FACULTAD DE CIENCIAS

Consejo Departamental de Biología

COORDINACIÓN GENERAL
DE BIOLOGÍA

AGRADECIMIENTOS

Como este es un trabajo estrictamente académico y no una novela sobre mi vida personal, pero además constituye la única sección de la tesis en la que puede escribir lo que me vino en gana, comenzaré protocolariamente citando a las personas del área que colaboraron con esta tesis, siguiendo por la familia que por supuesto en esta ocasión es imprescindible y un último párrafo un poco soñador pero bien sincero.

Es menester reiterar mi agradecimiento a los sinodales de la tesis (Dr. Luis Eguarte, M. en C. Eduardo Morales y Dr. Ken Oyama) gracias por su tiempo y consejos para mejorar; gracias a mi codirector Dr. Francisco Espinosa por tus sugerencias paciencia y ánimos que varias veces me reconfortaron; y con especial mención al Dr. Glenn Furnier quien fungió como mi director de tesis cosa que no quiero agradecer, es decir sí, pero mi agradecimiento no se concreta a la conclusión de este trabajo sino a muchas otras cosas más importantes que aún te debothank you my friend.

A mis amigos de ayer, hoy y siempre los NAVA, Yolanda y Eduardo a quien mucho debo en todos los aspectos que conforman mi vida además de Lalo y Karina que en conjunto constituyen una de las razones más importantes de este camino, gracias por su apoyo, comprensión y paciencia amigos.

A quien en el último periodo ha sido tan importante René Mtz. gracias por todo pero más aún por estar.

Hasta aquí solo me he referido a aquellas personas que por un motivo u otro han tropezado en mi camino en sentido estricto, pero muy en especial quisiera refrendar mi más sincero agradecimiento a todos aquellos trabajadores que con su diario quehacer han hecho posible mi formación académica en esta universidad pública y quienes seguramente no podrán leer mi trabajo. A ellos y a sus hijos que tal vez carezcan de la oportunidad de gozar de las bondades de una formación universitaria...

Mi más sincero agradecimiento y formal compromiso.

ÍNDICE

RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN	3
ANTECEDENTES	
MÉTODOS	14
Método de campo	
Método de laboratorio	15
Ensayos preliminares	15
Preparación de la muestra y Análisis instrumental	15
Análisis de datos	17
RESULTADOS	20
DISCUSIÓN	26
CONCLUSIONES	31
LITERATURA CITADA	32

RESUMEN

El genero *Abies* se ha caracterizado por presentar dificultades en su taxonomía dado que muchas de sus especies muestran hibridación interespecifica y altas tasas de variación intraespecifica en cuanto a sus características morfológicas. Es por esto que varias propuestas hechas hasta el momento para clasificar a las especies de *Abies* son discordantes entre sí.

En este estudio analicé por cromatografía de gases la composición terpénica de las resinas de las hojas de 11 poblaciones de 4 especies del genero *Abies* del norte de México, con el fin de esclarecer las relaciones filogéticas y los niveles de diferenciación entre las especies y poblaciones. Las especies y variedades analizadas fueron : 2 poblaciones de *A. concolor*, 3 de *A. durangensis*, 2 de *A. coahuilensis* y 4 de *A. vejari*.

Pese a que el análisis de componentes principales de la composición terpénica explica muy poca variación (alrededor del 23.4% con lo 2 primeros componentes), sus resultados coinciden con los análisis cladístico y fenético realizados con la composición de las resinas foliares, que por otra parte ninguno de estos resultados coinciden con los esquemas taxonómicos actuales. El ANDEVA evidencia mucha variación entre poblaciones dentro de los taxa (39.42 %) y poca entre estos (1.69 %), lo que corrobora la inconsistencia en la definición de las especies y variedades propuestas hasta el momento.

La poca variación entre los taxa aunada al alto nivel de diferenciación interpoblacional, y la inconsistencia de los patrones encontrados con la taxonomía actual, sugieren que las poblaciones de *Abies* analizadas posiblemente forman parte de variedades o formas intermedias aún en proceso de diferenciación de una especie que en el pasado tuvo varios eventos migratorios desde el hemisferio norte hasta mas allá del sur de México; o bien que en algún momento de su evolución lograron efectivamente diferenciarse pero un contacto genético favoreció su homogeneización.

INTRODUCCIÓN

El género *Abies* Miller (Pinaceae, Coniferophyta) cuenta con alrededor de 40 especies distribuidas en el mundo, principalmente en zonas boreales o subalpinas (Liu 1971). México, gracias a su heterogeneidad orográfica y climática, es un centro de diversidad del género (Martínez, 1948). Las poblaciones de las especies de *Abies* en México crecen aisladas entre sí, debido a que están en las partes altas de las montañas (1800-2400 msnm), a manera de islas separadas por grandes valles de climas áridos o calientes.

Taxonómicamente el género *Abies* presenta serias dificultades, pues con frecuencia existen especies bien diferenciadas de las que se encuentran formas intermedias en zonas donde se sobrelapa su geografía (Cope 1983). Por ejemplo, *Abies magnifica* Murr. de California y *A. procera* Rehd. de Oregon y de California son dos especies claramente distintas, pero entre las cuales existen muchas formas intermedias, situadas en la región simpátrica de las dos especies. *A. balsamea* (Linn.) Mill. del noreste de los E.U. y Canadá y *A. fraseri* (Pursh) Poir. de las montañas Apalaches son otros ejemplos, con sus formas intermedias comúnmente llamadas *A. balsamea* var. *phanerolepis* Fern. Se ha sugerido que esta variedad probablemente es resultado de la hibridación interespecífica en las áreas de contacto (Liu 1971). La variación entre especies es probablemente causada por diferencias en sus rangos geográficos, factores ecológicos y algunos factores internos, pero la polinización cruzada entre las poblaciones de *Abies* puede ser uno de los factores más importantes que causan dificultades en la delimitación taxonómica entre las especies (Hunt y Rudloff 1974, 1979).

Debido a que probablemente existe una tasa muy alta de hibridación intra e interespecífica en los abetos mexicanos, es común que los botánicos reconozcan problemas para identificarlos (Fady et.al. 1992). Pese a que el trabajo de Martínez (1953) ha sido de gran relevancia en nuestro entendimiento acerca de los abetos mexicanos, hay aún muchas interrogantes alrededor de éstos, que precisan trabajos de investigación (Liu 1971).

Los *Abies* del norte de México

Los *Abies* mexicanos emigraron procedentes de los que hoy es Estados Unidos y se supone que hubo varias eventos de migración con las glaciaciones recurrentes desde hace 60 millones de años (Rzedowski, 1988). En la glaciación de Wisconsin (hace 12000 años) la cota altitudinal para las especies boreales bajó al menos 1000 metros, lo que permitió una mayor oportunidad de contacto genético entre las poblaciones de *Abies* que antes habían colonizado a México. Los *Abies* del norte del país representan una unidad geográfica distribuida principalmente en las Sierra Madre Oriental y Occidental que pudieron haber experimentado flujo génico entre sí, y cuyo contacto probablemente fue más fácil entre las poblaciones ubicadas al norte del Eje Neovolcánico. Un análisis isoenzimático de poblaciones mexicanas de *Abies*, revela una gran diferencia entre las poblaciones pertenecientes al norte de México en contraste con las del sur, situándose en dos grupos bien definidos en un árbol fenético (Keiman y Furnier, comunicación personal).

Según Martínez (1948) en México existen 8 especies y 5 variedades siendo 6 de éstas especies endémicas; para el norte del país propuso 4 especies (*A. durangensis* Martínez, *A. mexicana* Martínez, *A. concolor* (Gordon) Lindley, y *A. vejari* Martínez) y 2 variedades (*A. durangensis* var. *coahuilensis* (Johnston) Martínez y *A. vejari* var. *macrocarpa* Martínez). Liu (1971) sólo reconoció a 3 especies de Martínez y redujo a *A. mexicana* como *A. vejari* var. *mexicana* (Martínez) Liu, porque según él las diferencias morfológicas no ameritan el estatus de especie. Además, eliminó a *A. vejari* var. *macrocarpa* pues no le fue posible distinguirla de *A. vejari* var. *vejari* ni de *A. vejari* var. *mexicana* (Cuadro 1a y 1b). Por otra parte Debreczy (1994) describió una nueva especie (*A. neodurangensis* Debreczy) del norte del país y notificó por primera vez la existencia en México de *A. concolor* var. *lowiana* (Gord.) Lemm; sin embargo la validez de esta variedad ha sido cuestionada por Farjon y Rushforth (1989).

Individualmente Rushforth (1987) construyó una clasificación de los abetos, donde sitúa a *A. coahuilensis* como una especie diferente de *Abies durangensis* y dos años mas tarde junto con Farjon, decidió asignarle nuevamente el estatus de variedad como en la propuesta de Martínez. Todos estos cambios y controversias hacen patente la inestabilidad de la taxonomía del género para el norte de México.

CUADRO 1.- Cuadros comparativos que muestran las diferencias en las características diagnósticas de los taxa en los que existe controversia entre las propuestas de a) Martínez, 1948 (arriba) y b) Liu, 1971 (abajo).

Cracterística diagnóstica	<i>A. vejari</i>	<i>A. vejari</i> var. <i>macrocarpa</i>	<i>A. mexicana</i>
Ramillas	glabras	algo hirsutas	algo hirsutas
Estomas	escasos en la cara superior	muy abundantes	abundantes en ambas caras
Ápice de las hojas	agudo, obtuso o redondeado	siempre obtuso o redondeado	agudo, obtuso o redondeado
Tamaño del cono	8.5 cm	de 10 a 15 cm	de 6 a 9.5 cm
Hojas	mas o menos hendidas en las cara superior		aplanadas en la cara superior o con cresta en ambas caras
Bráctea	exerta y gradualmente cuneada, no estrangulada, con punta larga y aguda	cuneada, con el ápice y borde superior denticulado y terminado en punta.	inclusa, estrangulada y con punta corta
Haces vasculares	aproximados		separados

Cracterística diagnóstica	<i>A. vejari</i>	<i>A. mexicana</i>
Ramillas	rojos, cafés o glabras	
Hojas	rigidas con ápice de obtuso a agudo	espiralmente arregladas, con ápice agudo, obtuso, redondeado u ocasionalmente convexo.
Canales resiníferos	2 canales marginales	2 marginales
Celulas epidérmicas	2 o 3 capas cubriendo la midrib bajo la epidermis inferior	celulas en una capa continua solo interrumpida por estomas
Conos	cortos, oblongos o ligeramente ovoides	cortos, oblongos u oblongos ligeramente ovoides
Bráctea	exerta	inclusa, terminada en una punta delgada.

Además de que la taxonomía de los *Abies* del norte de México aún no está resuelta, tampoco hay suficiente evidencia para esclarecer las relaciones filogenéticas de estas especies. Martínez (1948) propuso que todas las especies de *Abies* mexicanas son descendientes de *A. concolor* (Figura 1a), que se distribuye actualmente desde Oregon hasta Chihuahua, aunque nunca especificó claramente las razones para su suposición (figura 1a). Para Liu (1971), las especies del norte de México se encuentran en dos secciones del género **Secc. Grandes** que incluye *A. durangensis* var. *durangensis*, *A. durangensis* var. *coahuilensis*, *A. concolor* var. *concolor*, y *A. concolor* var. *lowiana* además de *A. grandis* (Dougl.) Lind., *A. guatemalensis* Rehd., *A. amabilis* (Dougl.) Forbes, que no se encuentran en México y **Secc. Vejarianae** que incluye *A. vejari* var. *vejari* y *A. vejari* var. *mexicana* (Figura 1b) Lo que implica que la hipótesis del origen monofilético de las especies mexicanas de Martínez no se sostendría, o bien que las secciones de Liu son artificiales.

Rushforth (1987) clasificó en dos de sus 10 grupos de *Abies* a las especies mexicanas. En el **Grupo 8** incluye, *A. concolor* var. *concolor*, *A. mexicana*, *A. durangensis* y *A. coahuilensis* Johnston (la cual supone pertenece a una clina de variación que puede ser considerada como una extensión sureña de *A. concolor* var. *lowiana*) y otras especies como *A. guatemalensis* y *A. grandis*; y el **Grupo 10** con *A. vejari* además de *A. religiosa*, *A. hickelii* y *A. oaxacana*. Dos años después, Farjon y Rushforth (1989) propusieron una nueva clasificación del género, en donde las especies del norte de México quedan incluidas en dos secciones **Secc. Grandis** que incluye *A. concolor* var. *concolor*, *A. durangensis* var. *durangensis*, *A. durangensis* var. *coahuilensis*, además de *A. grandis*, *A. guatemalensis* y *A. flinckii* Rushforth; y **Secc. Oiamel** que incluye la Subsección **Religiosae** con *A. vejari* var. *vejari* y *A. mexicana* Martínez, además de *A. religiosa* (H.B.K.) Schlencht. y Cham., y *A. colimensis* Rushforth y Narave (Figura 1c).

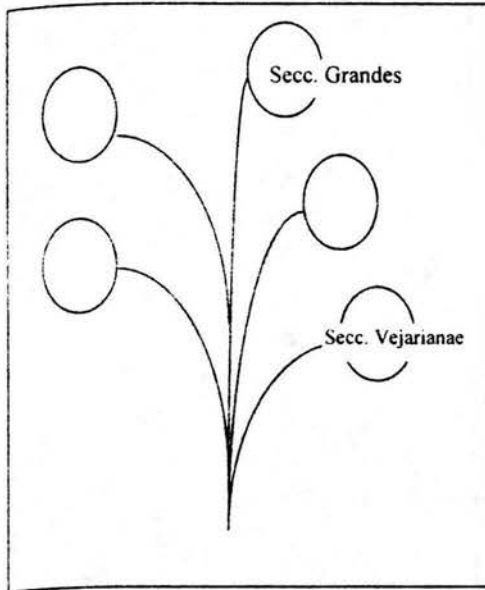


Figura 1a) Esquema que muestra las relaciones filogenéticas entre las secciones del género *Abies* que contienen especies del norte de México según Lui (1971). La sec. Grandes incluye a *A. concolor*, *A. durangensis*, *A. durangensis* var. *coahuilensis*. La sec. Vejarianae incluye *A. vejari*, y *A. vejari* var. *mexicana*. Los círculos sin rotulo pertenecen a otras sec. del género.

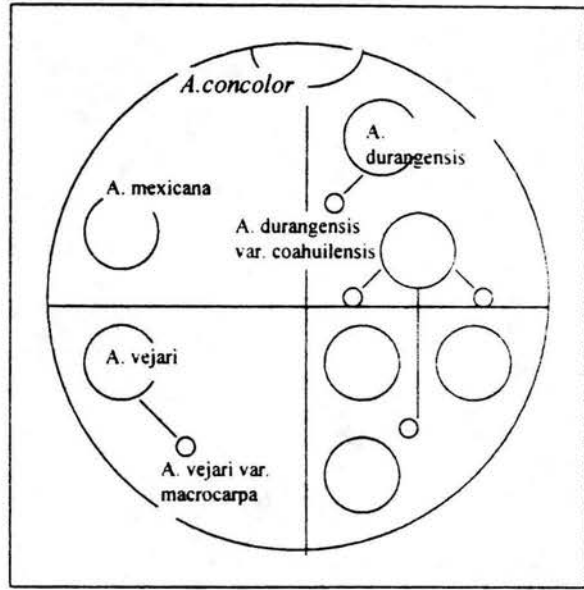


Figura 1b) Esquema que representa las supuestas relaciones filogenéticas entre las especies de *Abies* del norte de México según Martínez (1948). Los círculos sin rótulos pertenecen a otras especies (círculos grandes) y variedades (círculos pequeños) de abetos mexicanos.

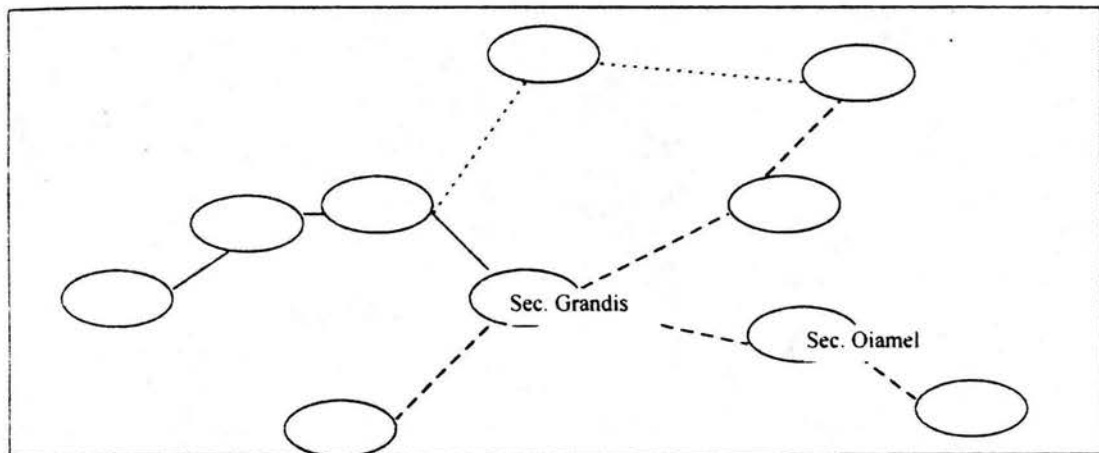


Figura 1c) Esquema que muestra las tentativas relaciones entre secciones del género *Abies* que contienen especies del norte de México, según Farjon y Rushforth (1989). La sec. Grandis incluye *A. concolor* y *A. durangensis* var. *coahuilensis*. La sec. Oiamel incluye *A. vejari* y *A. mexicana*. Los rectángulos sin rotulo corresponden a otras secciones del género. Las líneas continuas indican relaciones más estrechas entre las secciones y las discontinuas menor grado de parentesco.

Dada la falta de una filogenia confiable para los *Abies* mexicanos y dado el tamaño del grupo, este estudio está enfocado en las especies del norte de la República; aunque las poblaciones del sur del país se están trabajando dentro de un proyecto mas amplio del que forma parte también mi trabajo, para en el futuro analizar en conjunto toda la información de los abetos mexicanos dado que se analizan paralelamente con isoenzimas y marcadores de DNA las poblaciones colectadas, a fin de poder proponer un esquema sólido de clasificación que pueda esclarecer a su vez la filogenia del grupo.

Las hipótesis actuales relacionadas a la taxonomía de los abetos mexicanos están basadas principalmente en características morfológicas así como muestras poblacionales con muy pocos individuos. Por eso es necesario usar otras herramientas técnicas que nos permitan esclarecer los patrones filogenéticos entre sus poblaciones con tamaños de muestras más grandes. Las estimaciones de niveles y patrones de variación así obtenidos, serían muy útiles en el diseño de programas de aprovechamiento y conservación de los bosques de *Abies*, partiendo de la suposición de que a menor diversidad entre las poblaciones, el número de las áreas destinadas a la conservación del género será también reducido.

En este estudio usé la incidencia de terpenoides como herramienta para estimar los niveles y patrones de variación encontrados en 11 poblaciones de *Abies* del norte del país. La composición terpénica es una herramienta útil y confiable para este tipo de estudios y ha sido usada con mucha frecuencia (Smith 1967a, 1967b, 1977, 1971 y 1983; Adams 1977; Rudloff y Rehfeldt 1980; Squillace et.al. 1980,1981; Radwan et.al. 1982; Parker et.al. 1984; Pollack y Dancik 1985; Forrest y Samuel 1988; Schiller y Genizi 1993; Savage et.al. 1994). Es pertinente aclarar que en adelante me referiré a *A. coahuilensis* como una especie como propone Rushforth (1987) y no como una variedad de *A. durangensis*, con el fin de poder tratarla bajo el mismo esquema en los análisis estadísticos, y que el posible parentesco encontrado derive efectivamente de las características compartidas sin juicios de valor *a priori*.

ANTECEDENTES

Con el fin de hacer mas claro para el lector las contradicciones entre las dos clasificaciones anteriores de los *Abies* mexicanos y su inconsistencia, a continuación cito brevemente las características diagnosticas para definir las especies en las propuestas de Martínez y Liu. También se incluyen temas importantes, que sirven de marco teórico en el contexto de la quimiotaxonomía .

La clasificación de los *Abies* mexicanos según Martínez (1948) se basa en características de las hojas y de los conos. Para las hojas, es el número de canales resiníferos foliares (dos y más canales), la distribución de las hojas (de hojas más o menos dísticas o subdísticas y de hojas orientadas en todas direcciones) y la forma del ápice (con ápice emarginado o hendido y con ápice no hendido). En los conos es el tamaño de la bráctea en relación a la altura de la escama (de bráctea externa y de bráctea inclusa) (Cuadro 2). Por otro lado Liu (1971) construyó su clasificación con base en características de las hojas, como número de canales resiníferos y lenticelas, color, base, ápice, características del haz y el envés, haz vascular e hipodérmis; tamaño y forma de las yemas foliares y disposición de las hojas en las ramillas. También tomó en cuenta tamaño, color y forma de los conos así como el tamaño y la forma de sus brácteas, escamas y número de semillas producidas; y por último color de la corteza.

Quimiotaxonomía

Hasta hace pocos años la mayoría de las clasificaciones taxonómicas así como las reconstrucciones filogenéticas de los seres vivos tanto plantas como animales, eran construidas a partir del grado de diferenciación morfológica entre las especies; actualmente muchos trabajos científicos han contribuido con evidencias en otras ramas como la citología, genética, biología molecular, ecología, etc. con los mismos fines (Smith 1976). Pese a ésto, el problema sigue siendo la carencia de un análisis conjunto a

fin de poder consensar una propuesta sólida que describa y defina a las especies con todas sus características posibles (Miksche 1976).

Clave sp	especie	# canal. Resinif	Tamaño bractea	Posición de las hojas	Forma del ápice de la hoja
C	<i>A. concolor</i>	2	inclusa	dísticas o subdísticas	no hendido agudo u obtuso
D	<i>A. durangensis</i>	2	inclusa	dísticas o subdísticas	no hendido agudo u obtuso
DC	<i>A. coahuilensis</i>	2	inclusa	dísticas o subdísticas	no hendido agudo u obtuso
V	<i>A. vejari</i>	2	exerta	en todas direcciones	no hendido agudo u obtuso

Especie	Tipo de Cono	Ramas	Forma de la hoja	Canales resiníferos
<i>A. coahuilensis</i>	Casi cilíndrico y bracteas redondeadas o truncadas en el ápice	Con vellosidades evidentes	Casi pectinadas, rígidas, redondeadas y agudas en el ápice, recurvadas hacia abajo en los márgenes.	Marginales con haces vasculares contiguos
<i>A. concolor</i>	Color olivo verdoso, amarillo claro o café, con flavelo, las brácteas alargadas, eje cónico y alargado.	Lustrosas de color amarillo verdoso o verde olivo, con vellosidades color rojo, glabras.	De 4-7 cm de longitud, siempre quillados en el haz.	Marginales con células hipodérmicas sobre una capa ininterrumpida.
<i>A. durangensis</i>	De bráctea inclusa.	Ligeramente glabras o medianamente cubiertas por vellosidades	Lineares, angostas, de ápice redondeado u obtuso.	2 canales marginales en líneas discontinuas y sólo una capa de células hipodérmicas.
<i>A. vejari</i>	Cortos, oblongos o ligeramente ovoides con ejes de forma cilíndrica a cónica.	Rojo púrpura o café, glabros	Amontonadas, rígidas, con ápice obtuso o agudo.	2 canales marginales con células hipodérmicas en 2 o 3 capas.

Cuadro 2.- Muestra las características diagnósticas para las 4 especies de *Abies* colectada, -Arriba- según Martínez (1948) y -Abajo- según Liu (1971).



Los principios, métodos y resultados de las investigaciones en la variación química de las plantas han sido aplicados principalmente a dos grandes rubros en los trabajos científicos, en los referentes a las interacciones planta-animal (Sturgeon 1979; Takabayashi et.al. 1994) y en los que proporcionan características taxonómicas útiles en la evaluación de las relaciones filogenéticas y evolutivas (Smith 1967a, 1967b, 1977, 1971 y 1983; Adams 1977; Rudloff y Rehfeldt 1980; Squillace et.al. 1980,1981; Radwan et.al. 1982; Parker et.al. 1984; Pollack y Dancik 1985; Forrest y Samuel 1988; Schiller y Genizi 1993; Savage et.al. 1994).

Los terpenos pueden distinguirse de otras clases de metabolitos secundarios por compartir un origen común, el mevalonato y el isopentenil pirofosfato y son importantes en la defensa de las plantas contra insectos y patógenos (Lewinstonson 1991, Harborne 1991, Langenheim 1994, Hatcher 1994). La composición y concentración de los terpenos en las plantas varían en cada individuo y a lo largo de su desarrollo (Squillace 1976, Hanover 1992), pero dicha composición está regulada por un estricto control genético, cuyo valor de heredabilidad es muy alto (Hanover 1966, Squillace 1971, Fady 1992). Por lo anterior los terpenos han sido herramientas muy útiles para el estudio de las diferencias quimiotaxonómicas entre especies y poblaciones en las coníferas y han contribuido grandemente al entendimiento de la filogenia de las unidades taxonómicas analizadas (Arbes et al. 1974; Bernard-Dagan et.al. 1971; Fady et al. 1992; von Rudloff 1975, 1976; Schaeffer y Hanover 1986; Tobolski y Hanover 1971).

Terpenos como marcadores genéticos

Los terpenos presentes en las especies de coníferas ofrecen una relativamente inexplorada oportunidad para incrementar nuestro conocimiento acerca de la regulación a todos los niveles, desde DNA hasta respuestas particulares en las plantas (Hanover, 1966, 1971; Bernard-Dagan 1971). Los monoterpenos en particular, tienen un mayor

potencial para ser utilizados en estudios en una amplia serie de otros problemas biológicos incluyendo evolución e hibridación y rutas bioquímicas

Los monoterpenos poseen características intermedias entre DNA, isoenzimas y rasgos morfológicos en términos de su conveniencia para ser usados como marcadores genéticos (Kussuth et.al. 1983, Hanover 1992). La regulación de las concentraciones parece estar bajo la influencia de varios niveles de organización bioquímica (Steele et.al. 1995). Por ejemplo Hanover (1975), señala que existe un control sobre todas las rutas biosintéticas de los monoterpenos en contraste con el grupo de los sesqui- y diterpenos en el sistema de oleoresinas corticales.

En adición a su estrecho y diverso control genético, los monoterpenos son muy fáciles de medir cuantitativa y cualitativamente por cromatografía de gases. El número de marcadores terpénicos potenciales en árboles es muy grande, ya que existen cientos de estos derivados de la molécula básica de isopreno C_5H_8 . Incluso una sola especie muestra variaciones, que pueden ir desde 10 a cientos de posibilidades cualitativas y similares variaciones cuantitativas (Gershenzon 1994; Langenheim 1994). Aunque teóricamente son menores que el número de marcadores de DNA, los terpenos probablemente exceden los posibles marcadores morfológicos (Hanover 1992). Por otro lado la estrecha correlación entre las concentraciones de los terpenos y el número de dimensiones estadísticamente independientes que ellos proveen es substancialmente menor que el número total de quimiotipos observados, lo que complica la comparación entre los diferentes marcadores genéticos (Birks y Kanowski 1993).

La correspondencia entre la diversidad de terpenos con su escasa variabilidad en los arboles que crecen en condiciones radicalmente diferentes, dan fe de sus altos índices de heredabilidad y estrecho control genético característico de la biosíntesis de los terpenos en las coníferas (San Feliciano y López, en Harborn y Borberan 1991).

Genética y conservación

Las frecuencias génicas dentro de una población generalmente son diferentes y cambian en el tiempo, debido a procesos de selección y procesos aleatorios conocidos como deriva génica, o por inmigración o emigración a otras poblaciones, proceso llamado flujo génico. La diversidad genética del pool de una especie existe en tres niveles fundamentales: la variación genética dentro de los individuos (heterocigosidad), diferencias genéticas entre individuos dentro de poblaciones y diferencias genéticas entre poblaciones; y cada nivel es de potencial importancia para la conservación (Soulé, 1981).

El total de esta variación genética puede dividirse en sus partes componentes (Variación dentro y entre poblaciones de una o mas diferentes especies) a fin de poder determinar como está distribuida espacialmente esta diversidad y definir áreas de particular interés para la conservación, es decir identificar aquellas poblaciones que alberguen la mayor cantidad de variabilidad genética (Maffe, et al. 1994).

En este sentido los estudios en el terreno de la genética y la dinámica de las poblaciones son cruciales en el desarrollo de las políticas encaminadas a la conservación y manejo de los recursos naturales con principal énfasis en aquellas especies de animales y plantas en peligro de extinción (Dobson, et al. 1992).

En un estudio poblacional acerca de las relaciones entre los niveles de heterocigosidad de una especie de conifera de Nueva Zelanda *Halocarpus bidwillii*; se ha demostrado que los niveles cambian a lo largo del tiempo según va disminuyendo el número de individuos en la población. Así, con un tamaño poblacional de 10^6 individuos registran 4 % de heterocigosidad a diferencia de casi 0 % cuando la población se decrementa hasta 10^4 (Billington et al. 1992; en Dobson et al. 1992).

Se ha sugerido la hipótesis que supone que las actividades humanas ocurren en una escala de tiempo más corta de lo que ocurren los eventos de cambios genéticos y demográficos que determinan la habilidad que muchas poblaciones tienen para responder

y adaptarse a cambios en su medio ambiente natural. Esto hace evidente la urgencia de conocimiento básico acerca de las interacciones entre los cambios en la talla y en los niveles de heterocigosidad en las poblaciones naturales.

En el caso particular de los *Abies* es necesario diseñar programas de aprovechamiento y conservación dado que la presión sobre los bosques mexicanos va en aumento, debido a que son utilizados como leña, madera, ornato y cambio en el uso de suelo principalmente para realizar actividades agropecuarias.

OBJETIVOS

Por medio de la variación química en las resinas foliares de *Abies coahuilensis*, *A. concolor*, *A. durangensis* y *A. vejari*:

- Esclarecer las relaciones filogenéticas entre poblaciones de estas especies.
- Estimar los niveles de diferenciación entre poblaciones de estas especies.
- Estimar los niveles de variación dentro de poblaciones de estas especies.

MÉTODOS

Método de campo

Se colectaron hojas sanas (aproximadamente 1g peso seco) sin insectos parásitos o lesiones de ataques anteriores de un promedio de 20 árboles en cada una de las 11 poblaciones de *Abies*. Las hojas de cada árbol fueron colectadas en un frasco ámbar de 7 ml llenado hasta el borde con hexano, que finalmente eran guardados a 4°C hasta su procesamiento por cromatografía de gases. Para la mayoría de los individuos se hizo un ejemplar de herbario para posteriores referencias (depositados a la fecha en el

Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental del Centro de Ecología de la Universidad Nacional Autónoma de México).

Las localidades de colecta de las poblaciones de las especies seleccionadas corresponden a las indicadas por Martínez (1948): *A. concolor* en sierra San Pedro Martir, Baja California Norte y pinos altos, Chihuahua; *A. durangensis* en pinos altos; creel y cerro las iglesias, Chihuahua; *A. durangensis* var, *coahuilensis* en sierra madera y sierra la encantada, Coahuila ; y *A. vejari* en Jame; mesa de las tablas; los lirios, Coahuila y sierra Potosí, Nuevo León (Cuadro 3, Figura 2).

Método de laboratorio

Ensayos preliminares

En el análisis por cromatografía de gases es indispensable el uso de un estándar interno cuyo tiempo de retención no coincida con el de ninguno de los compuestos en los perfiles cromatográficos de cada uno de los individuos colectados. En la búsqueda del estándar interno adecuado para mi análisis ensayé (+)-limoneno, linalol, terpineol, (-)-terpineno, n-tetradecano, mirceno, (-)-trans-cariofileno, n-undecano, pineno, (-)-acetato de bornilo, (+)-campheno, (+/-)-camphor, D3-careno, mirceno y (1S)(-)-camphor. El mejor candidato fue el linalol, pues no impedía la visualización de ninguno de los picos de los componentes de las muestras de *Abies* ensayadas anteriormente. Los tiempos de retención que obtuve para (1S)(-)-a-pineno, (1S)(-)-b-pineno, (+)-limoneno, g-terpineno, b-mirceno, a-terpineno, (1S)(-)-a-pineno, (1S)(-)-b-pineno, fueron útiles para identificar tentativamente su presencia en las poblaciones de *Abies* que estudié, dado que son algunos de los compuestos terpénicos mas comunmente encontrados en pinaceas.

Preparación de la muestra y análisis instrumental

Para cada muestra, se molieron las hojas con un mortero y arena inerte con 50 ml de hexano adicionado con 1 mg de linalol como estandar interno. Este volumen se concentró con nitrógeno hasta un volumen final de 0.1 ml, del cual inyectaba 1 μ l en un cromatógrafo de gases Perkin Elmer 4010, equipado con una columna tipo DB5-30W (J & W scientific) de 30 m de largo por 1 mm de diámetro interno, con detector de

Sitios de colecta

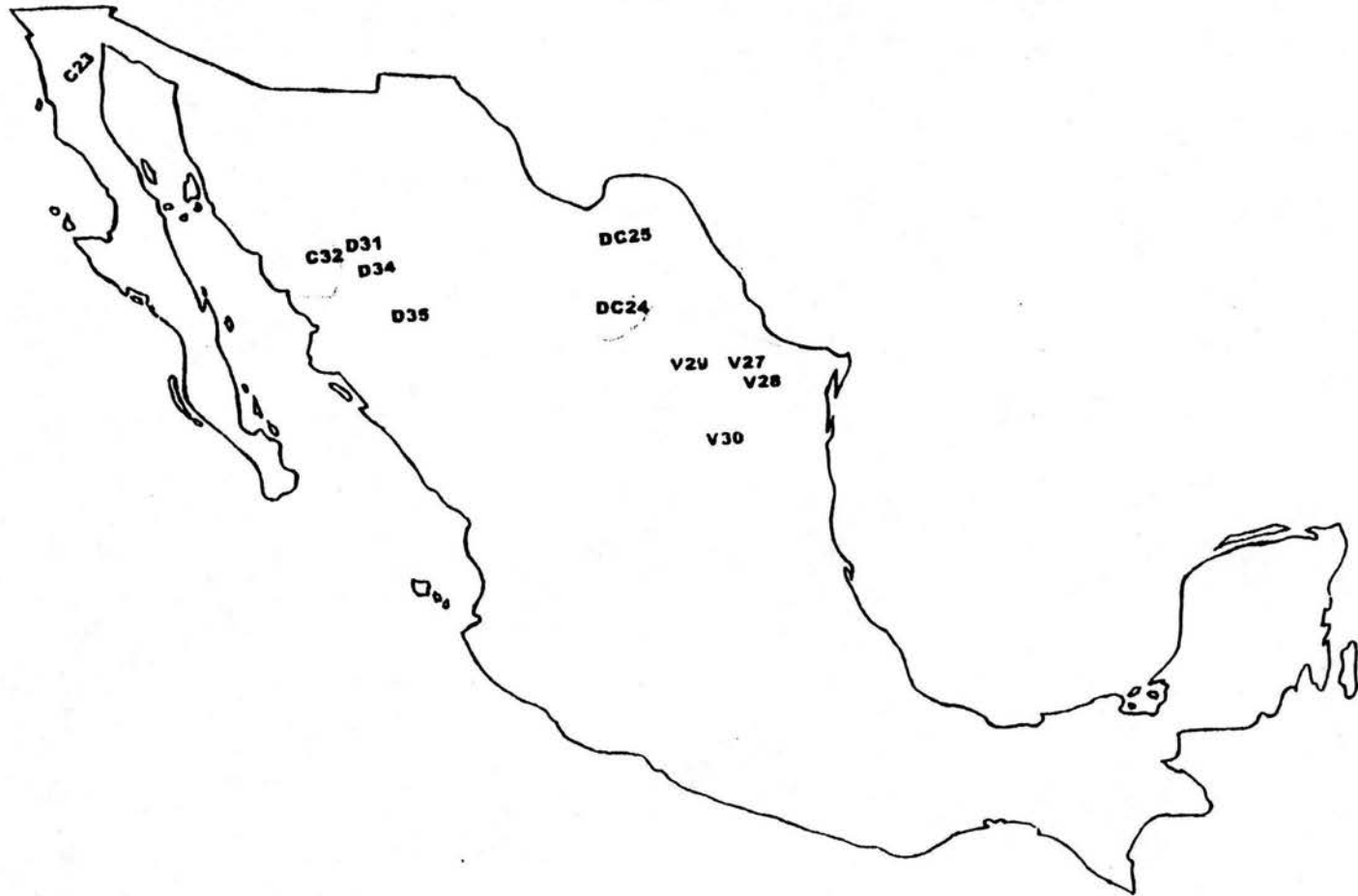


Figura 2.- Mapa de México que indica los sitios de colecta de las 11 poblaciones analizadas. C = *A. concolor* D = *A. durangensis* DC = *A. coahuilensis* V = *A. vejari*.

Especie	Clave del sitio	Fecha de colecta	Sitio de colecta	Latitud N	Longitud O	Altitud (m s n m)	Colector
<i>A. concolor</i>	C23	15/5/95	San Pedro Martir, B.C.N.	30° 58.91'	115° 34 '	2300	Y. Nava
<i>A. concolor</i>	C32	18/5/95	Pinos altos, Chihuahua	28° 15.2'	108° 18.76'	2130	G. Furnier
<i>A. coahuilensis</i>	DC24	31/3/95	Sierra madera, Coahuila	27° 6.585'	102° 30.608	2280	Y. Nava
<i>A. coahuilensis</i>	DC25	2/4/95	Sierra la encantada, Coahuila.	28° 27.59'	102° 2.951'	1710	Y. Nava
<i>A. vejari</i>	V27	5/4/95	Jame, Coahuila.	25° 19.98'	100° 33.53'	2850	Y. Nava
<i>A. vejari</i>	V28	5/4/95	Mesa de las tablas, Coahuila	25° 12.74'	100°23.636'	2880	Y. Nava
<i>A. vejari</i>	V29	6/4/95	Los lirios , Coahuila.	25° 26.90'	100°32.834'	2700	Y. Nava
<i>A. vejari</i>	V30	6/4/95	Sierra Potosi, Nuevo León.	24° 55.05'	100°12.653'	2100	Y. Nava
<i>A. durangensis</i>	D31	18/5/95	Pinos altos, Chihuahua.	28° 15.2	108° 18.76'	2130	Y. Nava
<i>A. durangensis</i>	D34	21/5/95	Creel, Chihuahua.	27° 42.65'	107° 37.114	2430	Y. Nava
<i>A. durangensis</i>	D35	22/5/95	Cerro las iglesias, Chihuahua.	26° 16.33'	106°36.398'	3030	Y. Nava

Cuadro 3.- Datos de las poblaciones colectadas.

ionización de flama y condiciones de presión de aire 1.41 kg/cm^2 , de helio 1.76 kg/cm^2 e hidrógeno 1.41 kg/cm^2 , de inyección con split y velocidad de helio de 0.786 m/seg .

Las temperaturas del inyector y detector fueron de 220°C y 350°C , respectivamente. El programa de corrida consistió en mantener inicialmente el horno a 40°C durante 3 minutos, para después aumentar a una tasa de 15°C/min hasta una temperatura de 280°C , donde permanecía por 5 min, para después aumentar a una tasa de 30°C/min , hasta alcanzar los 300°C , permaneciendo un tiempo final de 3 min en esta temperatura. Los datos fueron integrados con el programa integrador Perkin Elmer 1020.

Análisis de datos

Puesto que el número de picos obtenidos en el cromatograma de cada individuo era diferente, para poder compararlos se construyó una matriz de datos basada en el tiempo de retención de cada pico, en orden ascendente. Esto se hizo a partir de suponer que dos picos representaban el mismo compuesto, si a la vez sus tiempos de retención eran iguales o muy semejantes, resultando una matriz de 220 individuos por 108 picos. Para examinar la estructura de los datos, se realizó un análisis de componentes principales (Kendal 1980, Pia 1986).

Las relaciones entre poblaciones se examinaron mediante un análisis fenético y un análisis cladístico. Para el primero, se obtuvo una matriz de distancias Euclidianas entre cada par de poblaciones a partir de los promedios de cada compuesto en cada población (Tabla 1). Usando estas distancias y el algoritmo UPGMA (Sneath y Sokal 1973) para agrupar las poblaciones. En el caso del análisis cladístico, se construyó una matriz de presencia-ausencia de cada compuesto en cada población, considerando un compuesto como presente, si se encontraba en más que el 25 % de los individuos de la población. Esta matriz fué sometida a un análisis de parsimonia (Forey et al. 1992), usando el

programa PAUP 3.0 con una búsqueda heurística, obteniendo los 4 árboles fenéticos mas parcimoniosos (Phylogenetic Analysis Using Parsimony, Swofford, 1989).

Usé un ANDEVA anidado para estimar los componentes y las magnitudes de variación entre los taxa, entre poblaciones dentro de los taxa y dentro de poblaciones. Para este análisis consideré a *A. concolor*, *A. durangensis*, *A. vejari* y *A. coahuilensis* (Rushforth, 1987) como especies.

TABLA 1. Distancias euclidianas entre 11 poblaciones de los *Abies* del norte de México (C = *Abies concolor*, D = *A. durangensis*, DC = *A. coahuilensis*, V = *A. vejari*). Las distancias están basadas en los porcentajes del área total representados por cada pico químico de las resinas de las hojas.

DC240.368										
DC250.311	0.265									
V270.310	0.207	0.250								
V280.307	0.315	0.262	0.284							
V290.350	0.386	0.329	0.331	0.193						
V300.232	0.350	0.270	0.316	0.266	0.329					
D310.254	0.313	0.266	0.271	0.264	0.315	0.232				
C320.336	0.340	0.335	0.270	0.298	0.355	0.307	0.262			
D340.277	0.334	0.284	0.305	0.225	0.278	0.284	0.198	0.293		
D350.316	0.335	0.290	0.295	0.318	0.370	0.315	0.179	0.281	0.212	
	C23	DC24	DC25	V27	V28	V29	V30	D31	C32	D34
	Población									

Para éste análisis se realizó un ANDEVA anidado para cada compuesto incluyendo los 220 individuos en todos los casos. Dado que no hay manera de suponer que alguno de los compuestos tiene mayor peso que otro en la determinación de la variación, podemos entonces resumir el resultado tomando el promedio de las varianzas en las 3 fuentes de variación, entre especies, entre poblaciones dentro de especies y el error (Maffe et al. 1994), que en este caso corresponde a la varianza entre los individuos dentro de las poblaciones.

La esperanza para cada fuente de variación se estimó utilizando el logaritmo matemático mostrado en la tabla 2 que se deriva del despeje de la formula :

$$\text{Suma de cuadrados (pob/esp)} = X \sigma^2 (\text{p/s}) + \sigma^2 (\text{error}) \quad y$$

$$\text{Suma de cuadrados (especies)} = Y \sigma^2 (\text{esp}) + 20 \sigma^2 (\text{p/s}) + \sigma^2 (\text{error})$$

Donde :

$$X = \frac{\text{Suma de cuadrados (pob/esp)} - \sigma^2 (\text{p/s})}{\sigma^2 (\text{error})} \quad y$$

$$Y = \frac{\text{Suma de cuadrados (especies)} - 20 \sigma^2 (\text{p/s}) + \sigma^2 (\text{error})}{\sigma^2 (\text{esp})}$$

Los porcentajes de variación son simplemente el promedio del porcentaje de varianza para ambos factores de variación (entre especies y en poblaciones dentro de especie) de los 38 ANDEVAS individuales (tabla 5).

Tabla 2. Esperanzas de cuadrados medios usados para estimar los componentes de la variación química en 11 poblaciones de los *Abies* del norte de México.

Fuente de variación	Grados de libertad	Esperanza de cuadrados medios
Entre especies	3	$\sigma_{\text{error}}^2 + 20\sigma_{\text{población/especie}}^2 + 69.1\sigma_{\text{especie}}^2$
Entre poblaciones dentro de especies	10	$\sigma_{\text{error}}^2 + 20\sigma_{\text{población/especie}}^2$
Dentro de poblaciones	209	σ_{error}^2

RESULTADOS

Las 18 poblaciones analizadas mostraron 108 picos, con tiempos de retención entre 3 y 27 min. Muchos picos estaban presentes en concentraciones mínimas y se eliminaron aquellos picos que en promedio representaban menos del 1% del total en las 11 poblaciones. Se recalcularon las concentraciones (porcentajes) de cada pico en cada individuo con base en los 38 picos restantes los cuales según la literatura reportan un tiempo de retención correspondiente a 21 monoterpenos, 8 sesquiterpenos y 9 diterpenos. La clasificación en mono, sesqui y diterpenos la hice comparando el tiempo de retención de cada pico, con los tiempos de retención comúnmente reportados en la bibliografía para análisis con cromatografía de gases (Adams, 1977; Cope, 1983; Fady et al., 1992; Hunt y Rudloff, 1979). Hice todos los análisis a partir de esta matriz de porcentajes de cada pico en cada individuo. De estos 38 picos pude identificar tentativamente ocho [M2 = (+)-canfeno, M4 = α -terpineno, M5 = (1S)(-)- β -pineno, M6 = Δ^3 -careno, M7 = γ -terpineno, M8 = mirceno, M16 = terpineol, M17 = (1S)(-)-canfor] a través de comparar su tiempo de retención con el tiempo de retención de los estándares ensayados.

Los promedios de cada uno de los 38 picos por población muestran que la variación entre estos para las 11 poblaciones es diferencial, esto es, existen algunos cuyo valor no es tan diferente entre las poblaciones (picos # 5, 74...), pero otros (picos # 9, 25, 65...) en los que sus valores fluctúan mucho más (tabla 3), aunque en general las poblaciones presentan entre 22 y 28 picos (tabla 4). Algunos de los picos se encontraron solo en pocos individuos de una población por lo que aparecen con un valor promedio > 0 en la tabla 2 pero ausentes en la tabla 3, ya que en ésta solo aparecen como presentes aquellos que se encuentran en más de 25 % de los individuos. Solo los picos 11, 25 y 36 se encontraron en todas las poblaciones.



Tabla 3. Promedios del porcentaje del área total representado para cada pico de las resinas de las hojas en 11 poblaciones del género *Abies* del norte de México (C = *A. concolor*, D = *A. durangensis*, DC = *A. coahuilensis*, V = *A. vejari*) y promedios de todas las poblaciones. Los picos están ordenados por su tiempo de retención en cromatografía de gases.

Pico	Población											
	C23	DC24	DC25	V27	V28	V29	V30	D31	C32	D34	D35	
Promedio												
1	0.1	4.2	5.5	7.0	0.0	0.0	0.2	0.2	5.5	0.0	4.2	2.4
5	2.3	4.0	2.9	3.5	0.0	0.0	6.5	1.7	2.9	2.1	2.5	2.6
6	0.4	0.0	0.0	0.6	6.4	7.4	4.6	2.0	9.4	1.0	0.0	2.9
7	0.0	1.6	6.3	6.6	3.8	5.2	6.0	1.8	4.1	1.0	0.0	3.3
8	5.0	1.1	4.2	0.0	0.0	0.0	0.0	4.9	0.0	7.7	10.3	3.0
9	14.0	0.0	0.7	1.0	0.0	0.0	6.4	3.8	0.6	6.1	0.0	3.0
10	4.1	0.8	0.1	1.6	8.5	5.1	1.1	3.3	5.7	6.2	4.1	3.7
11	0.7	4.0	2.7	2.4	1.5	1.4	0.8	1.8	3.9	4.1	6.3	2.7
16	0.0	1.6	0.5	0.0	0.6	0.0	9.4	8.3	7.3	0.0	10.1	3.4
17	0.0	1.1	1.2	0.0	7.3	8.8	0.0	1.1	0.0	8.0	0.4	2.5
21	0.1	10.4	0.0	5.2	1.5	0.0	0.0	0.4	6.4	0.5	0.0	2.2
22	0.5	0.0	12.2	0.7	2.0	0.4	3.9	2.1	0.0	3.3	3.0	2.5
25	2.0	0.6	1.0	2.0	11.2	16.4	2.0	1.6	2.4	10.4	2.5	4.7
28	2.2	0.5	0.0	3.1	1.8	0.0	1.4	1.2	18.0	1.3	0.0	2.7
30	0.9	0.4	7.7	0.0	1.0	0.2	0.5	1.0	0.0	1.8	6.7	1.8
34	1.9	0.9	6.3	0.1	3.5	0.0	0.0	2.6	2.8	1.2	2.2	2.0
36	1.2	2.7	2.8	1.1	0.5	0.8	1.3	2.3	0.6	3.2	0.5	1.5
40	3.8	1.9	0.2	9.0	0.5	0.9	0.0	2.5	10.8	4.0	8.4	3.8
42	3.9	0.0	0.0	0.0	1.3	2.0	2.0	1.1	1.2	5.7	0.0	1.6
43	4.6	0.0	0.0	0.0	2.5	1.4	7.4	0.4	0.0	2.8	0.0	1.7
46	0.3	0.2	0.7	2.6	0.0	14.9	0.0	1.2	0.3	0.0	0.0	1.8
65	1.6	14.1	8.8	12.0	0.5	0.5	0.0	0.8	0.8	0.6	0.5	3.7
66	2.3	3.5	0.2	1.7	0.9	0.5	0.0	9.9	5.2	11.6	15.9	4.7
68	13.3	0.4	3.0	0.0	0.0	0.4	13.7	1.2	0.7	0.0	0.0	3.0
69	0.0	13.2	0.0	9.5	3.1	0.0	0.0	1.8	0.8	0.0	0.6	2.6
70	0.5	4.7	7.8	0.3	11.6	11.8	5.8	1.1	1.2	3.6	0.5	4.4
73	5.1	0.6	2.1	0.0	1.7	0.0	2.9	4.6	0.5	0.5	1.4	1.8
74	1.3	0.0	0.5	2.4	0.0	3.0	2.4	5.8	1.4	1.6	2.7	1.9
82	2.8	0.0	1.6	2.4	2.5	4.2	2.2	6.9	0.8	0.0	0.5	2.2
89	3.4	3.1	2.9	3.6	0.9	0.4	0.0	3.6	0.0	0.0	1.6	1.8
91	0.0	13.1	5.7	0.0	1.1	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	1.9
93	0.0	0.1	0.0	0.1	0.0	0.0	3.9	8.7	3.4	5.9	3.9	2.4
94	11.7	1.0	0.9	3.2	6.4	6.8	2.3	3.7	2.3	1.3	2.9	3.9
96	0.0	5.8	3.6	5.8	1.9	0.6	0.3	0.1	0.4	0.0	2.8	1.9
101	1.9	0.1	2.7	0.0	4.7	0.8	7.4	3.8	0.0	2.2	0.5	2.2
102	7.5	0.0	1.0	4.1	0.0	2.8	0.8	1.2	0.0	0.0	2.6	1.8
105	0.0	4.0	0.6	1.9	5.6	0.0	3.8	0.0	0.0	2.3	1.5	1.8
106	1.0	0.3	3.5	6.7	5.1	3.4	1.1	1.0	0.7	0.0	0.7	2.1

Tabla 4. Presencia (+) o ausencia de cada pico químico de las resinas de las hojas en 11 poblaciones de los *Abies* del norte de México (C = *Abies concolor*, D = *A. durangensis*, DC = *A. coahuilensis*, V = *A. vejani*), donde presencia indica que el compuesto se encuentra en > 25% de los individuos de la población. Total es el número de picos encontrado en cada población. Los picos están ordenados por su tiempo de retención.

Pico	Población										
	C23	DC24	DC25	V27	V28	V29	V30	D31	C32	D34	D35
1		+	+	+			+		+		+
5	+	+	+	+			+	+	+	+	+
6					+	+	+	+	+		
7		+	+	+	+	+	+	+	+		
8		+	+					+		+	+
9	+		+	+			+	+	+	+	
10	+			+	+	+	+	+	+	+	+
11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16		+	+				+	+	+		+
17		+	+		+	+		+		+	+
21		+		+	+				+	+	
22			+		+	+	+	+		+	+
25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28	+	+		+	+		+	+	+	+	
30	+		+		+		+			+	+
34	+	+	+		+			+	+	+	+
36	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40	+			+	+	+		+	+	+	+
42	+				+	+	+	+		+	
43	+				+	+	+			+	
46		+	+	+		+					
65		+	+	+	+	+			+	+	+
66	+	+		+	+	+		+	+	+	+
68	+		+			+	+		+		
69		+		+	+			+	+		
70	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+
73	+	+	+		+		+	+	+	+	+
74	+		+	+		+	+	+	+	+	+
82	+		+	+	+	+	+	+	+		
89	+	+	+	+	+	+		+			
91		+	+								
93							+	+	+	+	+
94	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+
96		+	+	+	+	+			+		+
101	+		+		+	+	+	+		+	
102	+		+	+		+		+			+
105		+	+	+	+		+			+	
106		+	+	+	+	+		+	+		
Total	22	24	28	23	27	24	23	28	26	25	22

# PICO	V(esp)	P(esp)	% esp	V(dentro pob)	P(pob/esp)	%pop/esp c	V(dentro pob)	%dentro pob	V(total)
1	0.000241	0.8781	-19.98%	0.0005	0.0001	77.41%	0.0005	42.57%	0.0012
5	-0.00012	0.9946	-13.77%	0.0006	0.0001	44.35%	0.0006	69.42%	0.0009
6	0.00044	0.1248	20.25%	0.0009	0.0001	38.36%	0.0009	41.39%	0.0022
7	0.00026	0.1092	10.76%	0.0018	0.0001	15.27%	0.0018	73.97%	0.2418
8	0.00026	0.1092	10.76%	0.0018	0.0001	15.27%	0.0018	73.97%	0.0024
9	0.000812	0.0449	17.41%	0.0033	0.0001	12.80%	0.0033	69.79%	0.0047
10	0.000142	0.3331	2.57%	0.0037	0.0001	30.16%	0.0037	67.26%	0.0055
11	-0.00013	0.669	-3.10%	0.0037	0.0001	14.13%	0.0037	88.98%	0.0041
16	0.000105	0.1365	11.51%	0.0006	0.0001	21.82%	0.0006	66.67%	0.0009
17	-0.00057	0.8814	-21.73%	0.001	0.0001	84.25%	0.001	37.48%	0.0026
21	-7.09E-05	0.4763	-4.07%	0.0005	0.0001	74.60%	0.0005	29.48%	0.0017
22	-0.00039	0.8958	-21.13%	0.0008	0.0001	80.11%	0.0008	41.02%	0.0018
25	0.00015	0.353	3.32%	0.0017	0.0001	58.65%	0.0017	38.03%	0.0045
28	0.001492	0.058	35.99%	0.0011	0.0001	38.18%	0.0011	25.83%	0.0041
30	0.000202	0.1777	14.52%	0.0006	0.0001	40.96%	0.0006	44.52%	0.0014
34	6.80E-07	0.4074	0.03%	0.0018	0.0003	12.59%	0.0018	87.37%	0.0021
36	5.53E-05	0.0606	14.23%	0.0003	0.0001	12.37%	0.0003	73.39%	0.0004
40	1.78E-05	0.3963	0.58%	0.0017	0.0001	15.56%	0.0017	53.86%	0.0031
42	-7.54E-05	0.7388	-6.83%	0.0008	0.0001	30.60%	0.0008	76.23%	0.0011
43	-9.32E-06	0.4279	-0.44%	0.0016	0.0001	24.19%	0.0016	76.26%	0.0021
46	3.05E-05	0.3921	1.17%	0.0007	0.0001	72.22%	0.0007	26.62%	0.0026
65	-0.00062	0.7282	-14.94%	0.0017	0.0001	75.05%	0.0017	39.89%	0.0042
66	0.001201	0.107	18.85%	0.0033	0.0001	30.10%	0.0033	51.05%	0.0064
68	-9.83E-06	0.4136	-0.23%	0.0016	0.0001	63.80%	0.0016	36.43%	0.0043
69	-0.00051	0.7774	-11.80%	0.0026	0.0001	52.07%	0.0026	59.72%	0.0043
70	0.000473	0.1907	10.68%	0.0025	0.0001	32.20%	0.0025	57.12%	0.0044
73	-4.57E-05	0.5999	-3.78%	0.001	0.0001	24.79%	0.001	79.00%	0.1206
74	-8.35E-05	0.8802	-8.26%	0.0008	0.0001	28.80%	0.0008	79.46%	0.001
82	-0.0001	0.7603	-10.11%	0.0006	0.0001	45.51%	0.0006	64.60%	0.001
89	-4.63E-05	0.6734	-4.89%	0.0008	0.0001	24.93%	0.0008	79.96%	0.0009
91	6.30E-05	0.3684	2.93%	0.0005	0.0001	74.19%	0.0005	22.88%	0.0022
93	-9.54E-06	0.4216	-0.35%	0.0019	0.0001	29.98%	0.0019	70.39%	0.0027
94	0.000346	0.1479	10.92%	0.0021	0.0001	22.69%	0.0021	66.39%	0.0032
96	-4.68E-05	0.5225	-3.70%	0.0008	0.0001	40.10%	0.0008	63.60%	0.0013
101	-5.64E-05	0.5391	-5.25%	0.0008	0.0001	51.96%	0.0008	53.29%	0.0011
102	2.20E-06	0.405	0.15%	0.001	0.0001	33.72%	0.001	66.13%	0.0015
105	5.63E-05	0.2659	4.43%	0.0009	0.0001	23.24%	0.0009	72.33%	0.0013
106	0.000257	0.0671	27.36%	0.0004	0.0001	30.95%	0.0004	42.69%	0.0009
Promed			1.69%			39.42%		58.13%	

TABLA 5.- Muestra los valores de la Variación (V), el % de variación (%) y la p entre especies (esp), entre poblaciones dentro de especies (pob/esp) y dentro de poblaciones (dentro/pob); para el ANDEVA cada uno de los 38 compuestos. Además de la variación total y los promedios de los % para cada fuente de variación.

El análisis de ANDEVA estimado para las 11 poblaciones evidencia una falta de concordancia de mis resultados con la taxonomía actual, mostrando que hay mucha variación entre poblaciones dentro de los taxa (39.42 %), pero poca entre estos (1.69 %), pero en general con valores de P significativos y no significativos respectivamente (Tabla 5).

El análisis por componentes principales indica que existe relativamente poca correlación entre los picos, dado que los primeros diez componentes principales explicaron solo el 12.8%, 10.6%, 7.9%, 6.9%, 5.9%, 5.0%, 4.7%, 3.6%, 3.4% y 3.2% de la variación total, respectivamente, y juntos explicaron el 63.9 % de la variación. En este caso particular aunque la gráfica solo resume el 23.4 % de la variación, observamos que existen algunas poblaciones cuyos individuos se agrupan muy estrechamente (V29), otras más dispersas (D35) y otras con un grupo principal pero algunos individuos dispersos (V27, D31 y C32). Por otro lado, *A.concolor* a quien Martínez propone como grupo raíz, nunca se encuentra fuera del grupo sino que se encuentra entremezclado entre los taxa (Figura 3).

Sin embargo, a pesar de la poca variación explicada en el análisis por componentes principales, lo interesante es que aún podemos ver ciertos patrones que se conservan en los diferentes análisis estadísticos utilizados (Figura 3, 4 y 5). Por ejemplo, las poblaciones V27 y V28 así como DC24, DC25, V27 y C32 en todos los análisis se conservan juntos salvo la población C32 que en el árbol fenético sale junto al grupo de V28 y V29 (Figura 4)

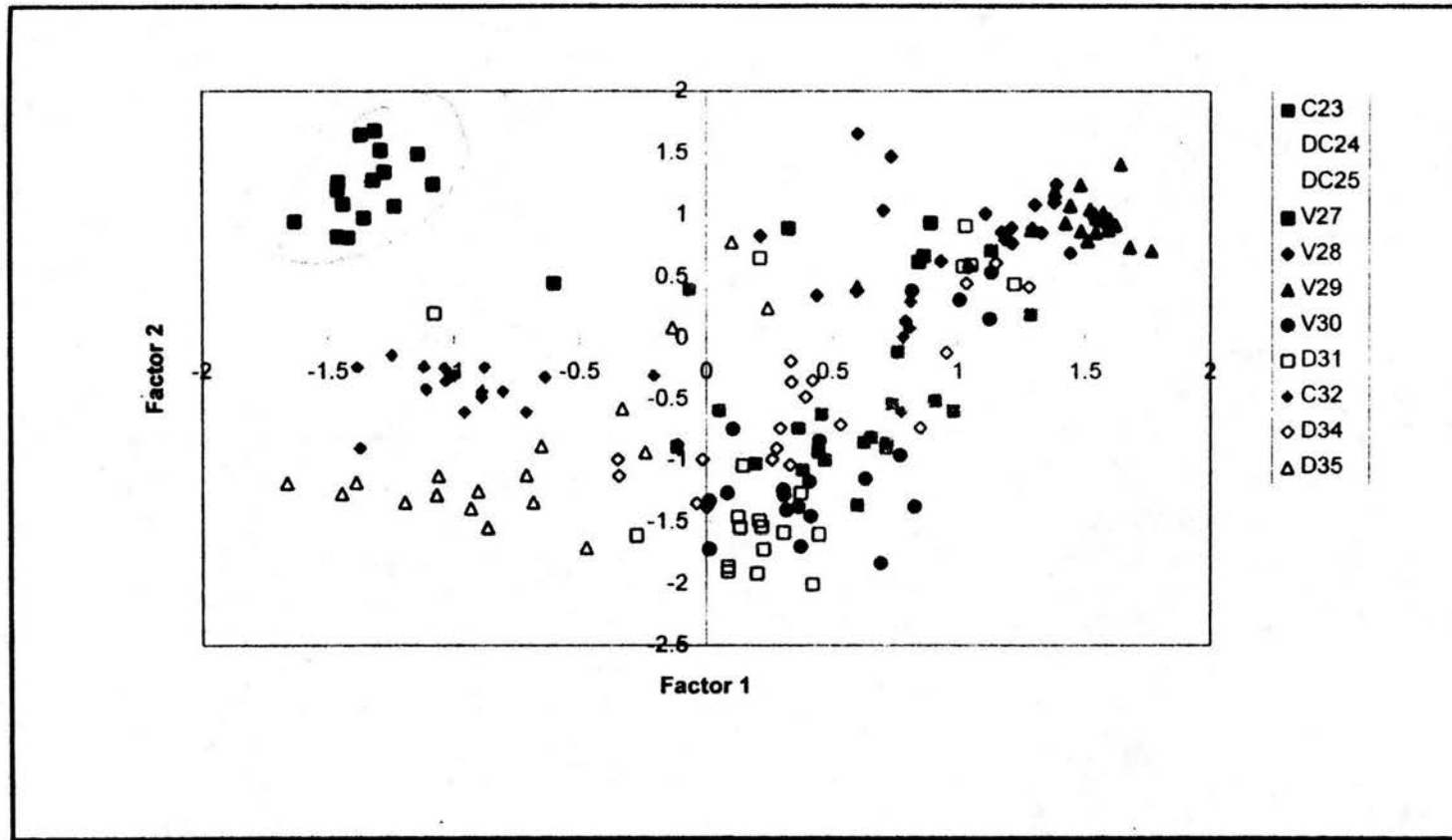


Figura 3. Gráfica de los "Factor score" de los primeros dos componentes principales que representan el 12.8% y 10.6% de la variación química en las resinas de las hojas de 20 individuos por cada una de las 11 poblaciones de *Abies* del norte de México (C=*A. concolor*, D=*A. durangensis*, DC=*A. coahuilensis*, V=*A. vejarii*). La escala representa la desviación del promedio medida en unidades de desviación estandar en cada eje.

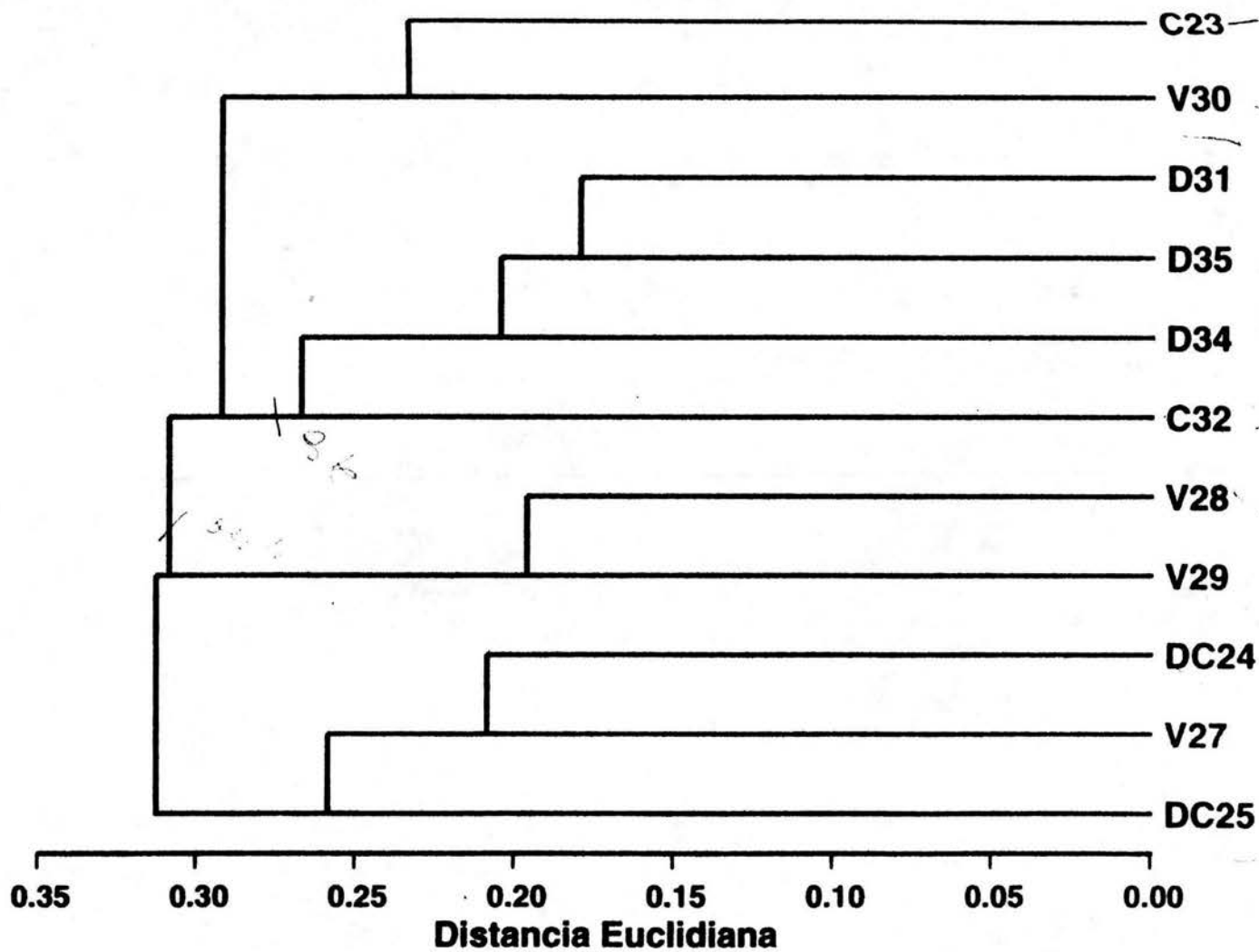


Figura 4. Árbol fenético de 11 poblaciones de *Abies* del norte de México (C = *A. concolor*, D = *A. durangensis*, DC = *A. coahuilensis* y V = *A. vejari*), hecho por el algoritmo UPGMA basado en las distancia euclidianas entre las medias poblacionales.

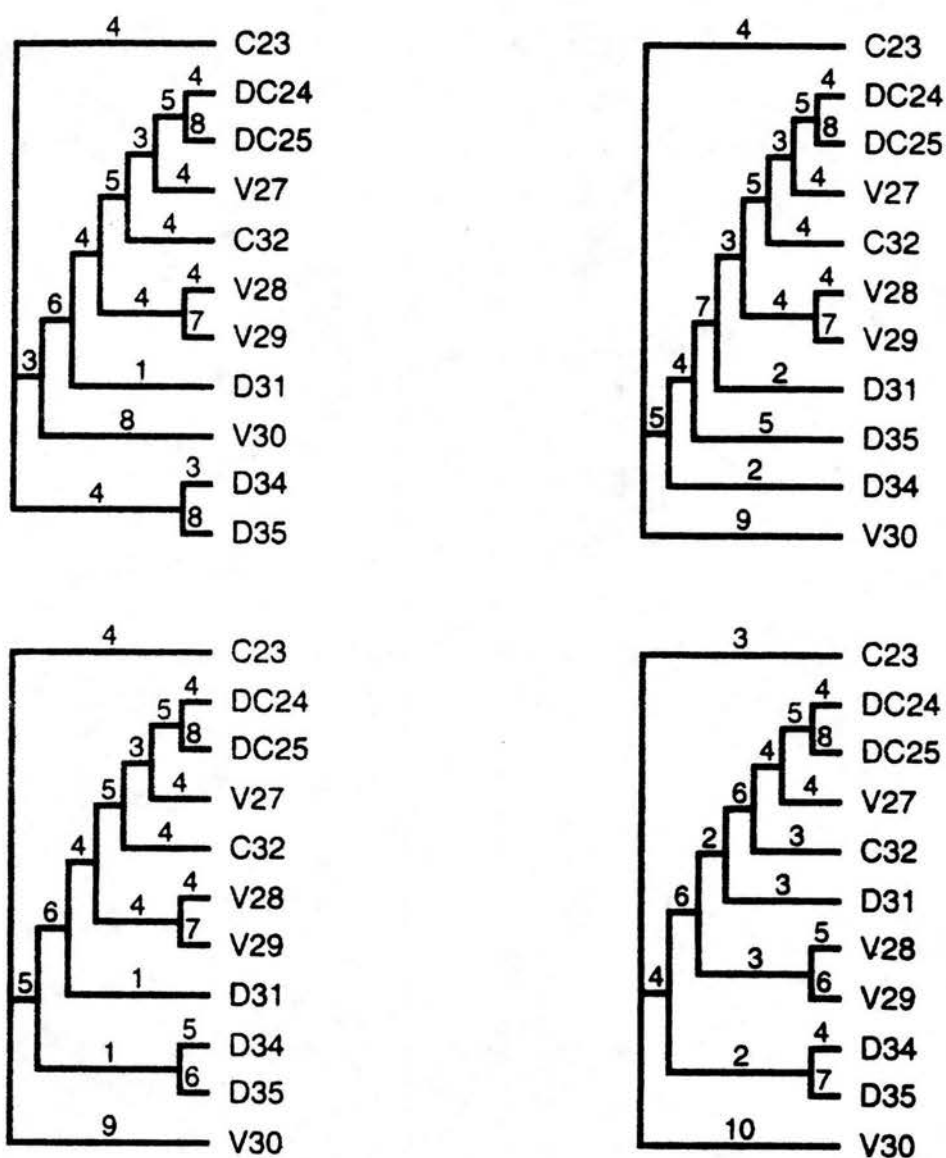


Figura 5. Muestra los cuatro árboles filogenéticos más parsimoniosos de 11 poblaciones de *Abies* del norte de México México (C = *A. concolor*, D = *A. durangensis*, DC = *A. coahuilensis* y V = *A. vejari*). Basados en la matriz de presencia o ausencia de picos en las resinas de las hojas. Los árboles son sin raíz y tienen una longitud de 89 pasos. Los números representan la longitud de las ramas.

Si bien en mis resultados existen patrones, en ninguna de las figuras hay aparentemente alguno que corresponda a la taxonomía actual. Así en el caso de los árboles fenético y cladísticos, las poblaciones de *A. vejari* quienes deberían permanecer siempre juntas, la población V27 se sitúa en otras ramas junto a *A. concolor* y *A. coahuilensis*, mientras que V30 de Cerro Potosí en la Sierra Madre oriental, siempre se agrupa con las poblaciones del oeste de México y no con las del este como se esperaba (Figura 4 y 5). *A. coahuilensis* también la encontramos junto *A. vejari* (V27) y a *A. concolor* y no con *A. durangensis* var. *durangensis* con quien según Martínez (1948), Liu (1971) y Farjon y Rushforth (1989) estaría más emparentada.

DISCUSIÓN

Estudios anteriores han demostrado que los terpenos manifiestan altos niveles de heredabilidad (White y Nilsson 1984; Kossuth et al. 1983) que corroboran su utilidad como herramienta metodológica en la elucidación de problemas taxonómicos (Smith 1967a, 1967b; Hunt y von Rudloff 1979; Cope 1983; Schönwitz et al. 1990, 1991; Fady et al. 1992; Lang 1994). Por ejemplo Smith (1967), utilizó los perfiles químicos basados en la composición de monoterpenos de las resinas de la madera de diferentes especies de pinos para estimar los patrones de variación entre *Pinus coulteri* (D. Don), *P. contorta* (Dougl.), *P. washoensis* (Mason Stockwell) y *P. jeffreyi* (Grev. Balf.), encontrando una considerable variación intraespecífica en poblaciones de California, Nevada y México con muestras de 20 a 128 árboles por especie.

La falta de correspondencia entre mis resultados y la taxonomía actual no parece tan sorprendente cuando revisamos estudios como los realizados por Hunt y von Rudloff (1979) quienes encontraron que a través de los perfiles químicos utilizando la variación cuantitativa entre diferentes terpenos, podían identificar a *A. lasiocarpa* (Hook.) Nutt. y *A. bifolia* Murray., como dos especies claramente diferentes, así como una gran variedad de

sus híbridos. A diferencia de los problemas que ocasionaba compararlos entre sí únicamente con base en sus características morfológicas, por las que sus poblaciones fueron descritas anteriormente como *A. lasiocarpa* y como una variedad de *A. balsamea* (L.) Miller (Bovin 1959 y Matzenko 1963 en Hunt y von Rudloff 1979). Existen otros estudios mas que revelan al género *Abies* como uno de los que presentan especies notables por su variación intraespecifica e hibridación interespecifica (Cope 1983; Liu 1971).

Así mismo, se puede observar que la relación entre algunas poblaciones se conserva en los diferentes análisis estadísticos, como el grupo estable de dos poblaciones geográficamente muy cercanas de *A. vejari* (V28 y V29). Sin embargo, existen otras cuyo comportamiento no es tan consistente, como V27, la cual está descrita como la misma especie de las dos anteriores y quien además se sitúa geográficamente entre ambas, pero quien según mis análisis parece estar mas relacionada con una población de *A. concolor*. La población 30 de *A. vejari* situada en la sierra madre oriental la encontramos siempre relacionada con alguna de las poblaciones del occidente. Situación que hace difícil la decisión de agrupar a las diferentes poblaciones asignándoles el estatus de variedad o especie, ya que los patrones no alcanzan a definir los taxa del todo.

Una situación similar ocurre con la definición de *A. coahuilensis*, cuyo estatus tampoco queda claro pues teóricamente debería situarse junto a *A. durangensis*, pero que en mis análisis aparece mas cerca principalmente de *A. vejari*, una especie que también está geográficamente mas cercana a *A. coahuilensis* dentro de la sierra madre oriental, seguida de *A. concolor* que se localiza en el extremo opuesto en la sierra madre oriental; por lo que podríamos suponer que posiblemente estas poblaciones pueden servir de puente de contacto entre las poblaciones de ambas sierras.

El hecho de que las relaciones filogenéticas inferidas de mis análisis no corresponden a la taxonomía actual puede deberse a varios factores. Una posible

explicación es que la taxonomía actual basada en muestras con pocos individuos no refleja bien la identidad de cada población. Otra posibilidad es que tengamos un fenómeno de convergencia debido a presiones selectivas semejantes en varios sitios. Aunque es poco probable que pueda explicar todo el patrón observado en el que las poblaciones más distantes geográficamente son también muy parecidas.

El bajo nivel de diferenciación observado entre taxa sugiere otras explicaciones. Una es que los taxa no han estado separados físicamente por muchas generaciones y no han tenido suficiente tiempo para diferenciarse [ejemplo de *A. cephalonica* con otras (Fady et.al. 1992) y el caso de diferentes provincias de *A. alba* (Lang, K. 1994)]. La otra, es que todavía exista flujo génico entre las poblaciones, incluso hibridación interespecífica, como ocurre en otras especies como *A. balsamea* y *A. lasiocarpa* (Parker et.al. 1984) y *A. lasiocarpa* y *A. bifolia* (Hunt y von Rudloff 1979) que está aplazando su diferenciación (Liu 1971). Hay distancias muy grandes entre algunos grupos de poblaciones que debe limitar el flujo de polen, pero aún pocos eventos de flujo génico pueden amortiguar la diferenciación entre los taxa (Hartl y Clark 1989).

El contar con un buen registro de datos paleobotánicos de los *Abies* del norte de México nos sería de gran utilidad, para estimar el número de generaciones que han pasado desde el último contacto físico entre los taxa. Sin embargo, hasta el momento solo se ha reportado la presencia de *Abies* en el sur de Veracruz para la mitad del plioceno (hace 7-26 millones de años) y se dice que estuvieron en el norte de México desde el cretácico (Rzedowskii 1978). Se tiene evidencia de que las poblaciones de *Abies* han migrado con los cambios en el clima global (Graham 1993; McDonald 1993). Los datos geológicos sugieren que la vegetación estuvo 1000-1300 m s n m abajo de su posición actual durante la época glacial Wisconsin hace aproximadamente 12,000 años (McDonald 1993). Una posible hipótesis podría ser que para entonces hubiera existido un bosque subalpino mucho más continuo que habría permitido posiblemente más eventos

migratorios que la distribución actual. Por otra parte, el periodo desde el fin del pleistoceno no representa tantas generaciones en las especies de *Abies* y puede ser que el tiempo a partir de entonces no haya sido suficiente para lograr una gran diferenciación entre las especies descritas en sus perfiles químicos, mientras que la selección ha actuado más fuertemente para diferenciar las poblaciones morfológicamente y fenológicamente.

Los resultados preliminares de un análisis isoenzimático de todas de las poblaciones demuestran resultados muy parecidos a los míos, con una falta de diferenciación entre especies y diferenciación significativa entre poblaciones. Varios de los patrones filogenéticos sugeridos por mis datos también ocurrieron en ese estudio, incluyendo la falta de concordancia con la taxonomía actual (A. Keiman y G. Furnier, comunicación personal). Esto corrobora mis resultados que sugieren contacto genético reciente entre los taxa.

El problema básico en la genética de la conservación, es que las pequeñas poblaciones naturales o manejadas (como es el caso de algunas poblaciones de *Abies* en peligro de extinción) tienden a perder con facilidad variación genética, que se traduce en un decremento de la potencial habilidad de los individuos para responder a los cambios medioambientales. Esta pérdida de variación puede incrementar la probabilidad de la extinción o la reducción de oportunidades a futuras adaptaciones a través de cambios evolutivos. Así mismo, la fragmentación y destrucción continua de hábitats naturales da como resultado pequeñas poblaciones de plantas y animales aisladas entre sí, cuyo futuro deviene en una situación similar (Frankel y Soulé, 1981).

Un claro ejemplo que pone de manifiesto la importancia de la estimación de la variación genética en sus partes componentes (entre especies, entre poblaciones dentro de especies y dentro de poblaciones), es el trabajo realizado por Stangel et al. (1992) quienes encuentran que *Picoides borealis* del sureste de los Estados Unidos, del total de

su diversidad genética 14% corresponde a la diferenciación entre poblaciones y la mayor diversidad (86%) a la variación dentro de poblaciones, de lo que concluyen que las poblaciones tienden a divergir genéticamente, probablemente debido a que estos pájaros habitan sitios mas específicos que otras aves encontrándose en islas poblacionales casi aisladas.

En el caso de las poblaciones de *Abies* estudiadas, algo similar al ejemplo anterior pone de manifiesto el ANDEVA, el cual indica que existe poca variación entre los taxa (1.69 %), pero altos niveles entre las poblaciones dentro de los taxa (39.42 %). En este sentido los programas de conservación y manejo de recursos deben contemplar una estrategia que garantice la permanencia de niveles similares en ambos componentes de la diversidad genética, a fin captar la máxima variación y mantenimiento de la estructura genética natural de las poblaciones.

CONCLUSIONES

Los taxa analizados mostraron poca variación, alto nivel de diferenciación interpoblacional y patrones filogenéticos inconsistentes con la taxonomía actual. Esto sugiere que las poblaciones de *Abies* analizadas, posiblemente forman parte de variedades o formas intermedias aún en proceso de diferenciación de una especie que en el pasado tuvo varios eventos migratorios desde el hemisferio norte hasta mas allá del sur de México; o bien que en algún momento de su evolución lograron efectivamente diferenciarse pero un contacto más reciente está permitiendo cierto intercambio genético que las está homogeneizando.

Dado que este problema de la falta de concordancia en las especies mexicanas en particular no es el único sino uno más en el género, podríamos suponer que *Abies* es un género cuyas especies y poblaciones evidencian una alta capacidad de dispersión que les permite a su vez presentar altos niveles de hibridación intraespecífica, o bien que se trata de una megaespecie con amplios rangos de distribución geográfica en proceso de especiación.

De esta manera, a pesar de la poca diferenciación química entre los taxa, el ANDEVA demuestra un nivel de diferenciación interpoblacional bastante alto, lo cual tendrá que ser tomado en cuenta en el diseño de programas de conservación de los *Abies* del norte de México (Frankel 1983; Frankel et al. 1995; Meffe y Carroll 1994). Aunque mis datos no apoyan ninguno de los esquemas taxonómicos anteriormente propuestos a este trabajo, nos revelan una historia aun más complicada y interesante que necesitará más estudios para resolverse.

LITERATURA CITADA

- Adams, R.P. 1977. Chemosystematics-analyses of populational differentiation and variability of ancestral and recent populations of *Juniperus ashei*. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 64: 184-209.
- Arbez, M., Bernard-Dagan, C. y Fillon, C. 1974. Variabilité intraspécifique des monoterpènes de *Pinus nigra* Arn., bilan des premiers résultats. *Annual Science Forestry* 31: 57-70.
- Bernard-Dagan, C., Fillon, C., Pauly G., Baradat, P. y Illy, G. 1971 Les terpènes du Pin maritime : aspects biologiques et génétiques. I. Variabilité de la composition monoterpénique dans un individu, entre individus et entre provenances. *Annual Science Forestry* 28:223-258.
- Birk, J.S., y Kanowski, P.J. 1993. Analysis of Resin Compositional Data. *Silvae Genetics* 42(6):340-350.
- Cope, E.A. 1983. Chemosystematic affinities of a California population of *Abies lasiocarpa*. *Madroño* 30(2): 110-114.
- Debreczy, R. 1994. News Brief. *International Dendrological Research Institute, Inc* 6: 1-8.
- Dobson, A., Mace, G. M., Pool, J. y Brett, R. 1992. Conservation Biology : The Ecology and Genetics of Endangered Species; en : Genes in Ecology. Blackwell Scientific Publications. U.S.A. pp 405-430.
- Fady, B., Arbez, M., y Marpeau, A. 1992. Geographic variability of terpene composition in *Abies cephalonica* Loudon an *Abies* species around the Aegean: Hypotheses for their possible phylogeny from the Miocene. *Trees* 6: 162-171.

- Farjon, A. y Rushforth, K.D. 1989. A classification of *Abies* Miller (Pinaceae). Notes Royal of the Botanical Garden Edinburgh 46(1): 59-79.
- Forey, P.L., Humphries, C.J., Kitching, I.L., Scotland, R.W., Siebert, D.J., y Williams, D.M. 1992. Cladistics. Oxford University. Press, Oxford.
- Forrest, G.I., y Samuel, C.J. 1988. Monoterpene Analysis of a Diallel Cross in Sitka Spruce. *Silvae Genetica* 37(3-4):100-104.
- Frankel, O. H. y Soulé, M.E. 1981. Conservation and Evolution. Cambridge University Press, Cambridge.
- Frankel, O.H. 1983. The Place of Management in Conservation. En Schonewald-Cox C.M., Chambers S.M., MacBryde B., Thomas L (eds), Genetics and conservation. Benjamin-Cummings, Menlo Park, California pp 1-14.
- Frankel, O.H., Brown, A.H.D. y Burdon, J.J. 1995. The Conservation of Plant Biodiversity. Cambridge University Press, Cambridge.
- Gershenzon, J. 1994. Metabolic costs of terpenoid accumulation in higher plants. *Journal of Chemical Ecology* 20(6): 1281-1327.
- Hanover, J.W. 1966. Gene control of monoterpene levels in *Pinus monticola* Dougl. *Heredity* 21(1):73-84.
- Hanover, J.W. 1975. Physiology of tree resistance to insects. *Annual Review of Entomology* 20:75-95.
- Hanover, J.W. 1992. Applications of terpene analysis in forest genetics. *New Forest* 6: 159-178.
- Harborne, J.C. y Borberan, T.F. 1991. Ecological Chemistry and Biochemistry of Plant Terpenoids. Clarendon Press. Oxford Great Britain 1-27 pp.

- Hartl, D.L., y Clark, A.G. 1989. Principles of population genetics, second edition. Sinauer Association. Sunderland, Massachusetts.
- Hatcher, P.E. 1994. The importance of needle terpene composition in determining the macrolepidoptera species richness of Canadian conifers. *Oikos* 71: 526-534.
- Hunt, R.S. y von Rudloff, E. 1974. Chemosystematic studies in the genus *Abies*. I. Leaf and twig oil analysis of alpine and balsam firs. *Canadian Journal of Botany* 52:477-487.
- Hunt, R.S. y von Rudloff, E. 1979. Chemosystematic studies in the genus *Abies*. IV. Introgression in *Abies lasiocarpa* and *Abies bifolia*. *Taxon* 28(4): 297-305.
- Kendall, M. 1980. Multivariate Analysis. Charles Griffin Company LTD, 2 ed. pp 13-29.
- Kossuth, S.V. y Barnard, E.L. 1983. Monoterpene content of healthy sand pine and sand pine with root disease. *Forest Science* 29(4): 791-797.
- Ladizinsky, G. y Hymowitz, T. 1979. Seed protein electrophoresis in taxonomic and evolutionary studies. *Theoretical and Applied Genetics* 54: 145-151.
- Lang, K.J. 1994. *Abies alba* Mill.: Differentiation of provenances and provenance groups by the monoterpene patterns in the cortex resin of twigs. *Biochemical Systematics and Ecology* 22(1): 53-63.
- Langenheim, J.H. 1994. Higher plant terpenoids: A phyto-centric overview of their ecological roles. *Journal of Chemical Ecology* 20(60): 1223-1280.
- Lewinsohn, E., Gijzen, M., Savage, T.J. y Croteau, R. 1991. Defence mechanisms of conifers. *Plant Physiology* 96:38-43.
- Liu, T. 1971. A Monograph of the Genus *Abies*. Department of Forestry College of Agriculture National Taiwan University Taipei, Taiwan, China. pp 608.
- Martínez, M. 1948. Las Pináceas de México. Anales del Instituto de Biología. No. 1 Tomo XIX. Instituto de Biología. México. pp 11-107.

- Martínez, M. 1953. Las Pináceas Mexicanas. Secretaría de Agricultura y Ganadería. Subsecretaría de Recursos Forestales y de Caza. México, D.F. 366 pp
- Miksche, J.P. 1976. Moder Methods in Forest Genetics. Springer-Verlag. Berlin. pp 121-157.
- Meffe, G.K., y Carroll, C.R. 1994. Principles of Conservation Biology. Sinauer Association. Sunderland, Massachusetts.
- Parker, W.H. Maze, J., Bennett, E., Cleveland, T.A. y McLachlan, G. 1984. Needle flavonoid variation in *Abies balsamea* and *Abies lasiocarpa* from western Canada. *Taxon* 33(1): 1-12.
- Pia L. 1986. Analisis Multivariado: Método de Componentes Principales. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington, D.C. pp 1-48.
- Pollack, J.C. y Dancik, B.P. 1985. Monoterpene and morphological variation and hybridization of *Pinus contorta* and *P. Banksiana* in Alberta. *Canadian Journal of Botany* 63(2): 201-210.
- Radwan, M.M., Crouch, G.L., Harrington, C.A. y Ellis, W.D. 1982. Terpenes of ponderosa pine and feeding preferences by pocket gophers. *Journal of Chemical Ecology* 8(1): 241-253.
- Rushforth, K. 1987. Conifers. Facts on File Publications. Oxford, England. .
- Rzedowski, J. 1988. Vegetación de México. Limusa. México.
- Savage, T.J., Hatch, M.W. y Croteau, R. 1994. Monoterpene Synthases of *Pinus contorta* and related conifers . *The Journal of Botanical Chemistry* 269(6): 4012-4020.
- Schiller, G., y Genizi, A. 1993. An Attempt to Identify the Origin of *Pinus brutia* Ten. Plantations in Israel by Needle Resin Composition. *Silvae Genetica* 42(2-3): 63-68.

- Smith, P.M. 1976. The Chemotaxonomy of Plants. Elsevier. New York. pp 2-15, 107-109.
- Smith, R.H. 1967a. Variations in the monoterpene composition of wood resin of Jeffrey, Whashoe, Coulter and Lodgepole Pines. *Forest Science* 13(3): 246-252.
- Smith, R.H. 1967b. Monoterpene composition on Pine species and hybrids. U.S. Forest Service Reserch Note PSW 135: 1-14.
- Smith, R.H. 1971. Xylem monoterpenes of *Pinus ponderosa*, *P. washoensis*, and *P. jeffreyi* in the warmer mountains of California. *Madroño* 21(1): 25-32.
- Smith, R.H. 1977. Monoterpenes of ponderosa pine xylem Resin in Western United States. U.S. Department of Agriculture Forest Service, technical boletin 1532: 48 p.
- Smith, R.H. 1983. Monoterpenes of lodgepole pine xylem resin: A regional study in western United States. *Forest Science* 29(2): 333-340.
- Schönwitz, R., Kloos, M., Merk, L. y Ziegler, H. 1990. Patterns of monoterpenes stored in the needles of *Picea abies* (L.) Karst. From several locations in mountainous regions of southern Germany. *Trees* 4: 27-33.
- Schönwitz, R., Kloos, M., Merk, L. y Ziegler, H. 1991. Influence of needle loss, yellowing and mineral content on monoterpenes in the needles of *Picea abies* (L.) Karst. *Trees* 5: 208-214.
- Squillace, A. E, 1971. Inheritance of monoterpene composition in cortical oleoresin of slash pine. *Forest Science* 17 :381-387.
- Squillace, A. E., Nikles, D.G. y Saylor, L.C. 1977. Monoterpene composition in cortical oleoresin of *Pinus caribea* and relation to *P. elliottii* of Florida. Third World Consultation on Forest Tree Breeding. FO-FTB-77 2/(13): 241-258.

- Squillace, A. E., Wells, O.O. y Rockwood, D.L. 1980. Inheritance of monoterpene composition in cortical oleoresin of loblolly Pine. *Silvae Genetica* 29(3-4): 141-152.
- Squillace, A. E y Wells, O.O. 1981. Geographic variation of monoterpenes in cortical oleoresin of loblolly Pine. *Silva Genetica* 30(4): 127-135.
- Steel, C.L., Lewinsohn, E., y Croteau, R. 1995. Induced oleoresin biosynthesis in grand fir as a defense against bark beetles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 16: 4164-4168.
- Sturgeon, K.B. 1979. Monoterpene variation in *ponderosa Pine* xylem resin related to western pine beetle predation. *Evolution* 33(3): 803-814.
- Takabayashi, J., Dicke, M., y Posthumus, M.A. 1994. Volatile Herbivore-induced terpenoids in plant-mite interactions: variation caused by biotic and abiotic factors. *Journal of Chemical Ecology* 20(6): 1329-1353.
- von Rudloff, E. y Rehfeldt, G.E. 1980. Chemosystematic studies in genus *Pseudotsuga*. IV. Inheritance and geographical variation in the leaf oil terpenes of Douglas-fir from the Pacific Northwest. *Canadian Journal of Botany* 58(5): 546-556.
- White, E.E. y Nilsson, J.E. 1984. Foliar terpene heretability in *Pinus contorta*. *Silva Genetica* 33(1): 16-22.