



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO DE CARACTERISTICAS FISIOLÓGICAS DE
SEIS ESPECIES DEL GENERO *Pinus* (Pinaceae) EN LA
SIERRA DE JUAREZ Y LA IMPORTANCIA DE LAS
RELACIONES ANCESTRO-DESCENDIENTE

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 :

LEV ORLANDO JARDON BARBOLLA



DIRECTOR DE TESIS: DR. DANIEL PIÑERO DALMAU



Universidad Nacional
Autónoma de México



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

DRA. MARÍA DE LOURDES ESTEVA PERALTA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:

"Estudio de características fisiológicas de seis especies del género Pinus (Pinaceae) en la Sierra de Juárez y la importancia de las relaciones ancestro-descendiente."

realizado por Lev Orlando Jardón Barbolla

con número de cuenta 09436286-4 , quién cubrió los créditos de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario

Dr. Daniel Ignacio Piñero Dalmau

Propietario

Dr. Víctor Luis Barradas Miranda

Propietario

Dr. Eduardo Morales Guillamín

Suplente

Biol. Alejandra Vázquez-Lobo Yurén

Suplente

Biol. León Patricio Martínez Castilla

Consejo Departamental de Biología

M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA
DE BIOLOGÍA

"- El infierno de los vivos no es algo por venir; hay uno, el que ya existe aquí, el infierno que habitamos todos los días, que formamos estando juntos. Hay dos maneras de no sufrirlo. La primera es fácil para muchos: aceptar el infierno y volverse parte de él hasta el punto de dejar de verlo. La segunda es arriesgada y exige atención y aprendizaje continuos: buscar y saber reconocer quién y qué, en medio del infierno, no es infierno, y hacer que dure, y dejarle espacio."

Italo Calvino, Las ciudades Invisibles

"La historia trasciende por mucho cualesquiera limitaciones estrechas que sean afirmadas, ya sea por el poder de los genes o el poder del ambiente para circunscribirnos. Como la Casa de los Loes destruyó su propio poder para limitar el desarrollo político de Gran Bretaña en las actas sucesivas de reforma que esta asentó, así los genes, al hacer posible el desarrollo de la conciencia humana, han rendido su poder para determinar al organismo y su ambiente. Ellos han sido reemplazados por un nivel enteramente nuevo de causalidad, el de la interacción social con sus propias leyes y su propia naturaleza que puede ser entendida y explorada solo mediante esa única forma de experiencia, la acción social."

Richard Lewontin, Biology as ideology: The doctrine of DNA.

"Los rebeldes caminan la noche de la historia, sí, pero para llegar al mañana. Las sombras no los inhiben de hacer algo en el ahora y en el aquí de su geografía. Los rebeldes no tratan de enmendar la plana o de rescribir la historia para que cambien las palabras y la repartición de la geografía, simplemente buscan un mapa nuevo donde haya espacio para todas las palabras."

Subcomandante Insurgente Marcos

"Y si hoy somos indígenas, después seremos todos los otros y otras, que son muertos, perseguidos y encarcelados por razón de su diferencia."

Comandante Esther

A la memoria de mi abuela Ofelia,
del compañero Valentín Campa
y del profesor Stephen J Gould,
revolucionarios todos, sujetos que
compartieron la humilde acción
transformadora, humana, *praxis*.

"6. (...)Pero la esencia humana no es algo abstracto inherente a cada individuo. Es, en su realidad, el conjunto de las relaciones sociales. (...)

8. La vida social es esencialmente práctica. Todos los misterios que descarrían la teoría hacia el misticismo encuentran solución racional en la práctica humana y en la comprensión de esta práctica. (...)

11. Los filósofos no han hecho más que interpretar de diversos modos el mundo, pero de lo que se trata es de transformarlo."

Karl Marx, Tesis sobre Feuerbach, 1845

Agradecimientos / dedicatorias.

Efectivamente, el presente, como todo trabajo humano, es un producto social y sólo así puede ser humano. Entonces, el resultado, siempre parcial e inacabado de este trabajo, es en realidad el resultado de muchísimas interacciones que contribuyeron a él, directa o indirectamente. No podemos describirlas con mucho detalle, pero para tod@s van estas dedicatorias, que son también agradecimientos, incompletos por el revoltijo mental de quien escribe y por eso también una disculpa a quien las letras y los duendes hayan extraviado en la redacción.

Vaya pues un agradecimiento a Daniel, por la plena libertad académica, de creación y de error, sin la cual, claramente, este proyecto habría resultado imposible. Gracias también por la paciencia al análisis profundo de la textura que a veces es causa de lentitud.

A quienes tuvieron la paciencia de revisar esta tesis y de corregirla, Daniel, Lalo Morales, Víctor Barradas, Alejandra Vázquez, León Martínez y Rodolfo Salas.

A todo el laboratorio de Genética y Evolución, porque su apoyo y enseñanzas me han acercado un poquito a una práctica científica. A mis maestros Jedis, Alejandra la grande, León y Rodolfo, por la evolución. Alejandra grande, te quedo a deber la estatua ecuestre para otra ocasión, por ahora sólo diré que lo poco que sé del trabajo en el laboratorio sólo lo pude aprender contigo, pues de otro modo habría resultado defenestrado. Por cierto León, eres en última instancia el culpable de mi primer encuentro con Lewontin y con toda la digresión interminable que tanta falta hacía, por tan graves conspiraciones, también gracias. Rodo, la poca síntesis que hubo y la posibilidad de darle orden al choro, tiene que ver con tus rollos y recomendaciones intergalácticas, que se agradecen también, con todo y granizo.

Por supuesto, el trabajo en el campo ha sido imprescindible y se necesita mencionar que Ale Vázquez, Ale Moreno, Rodolfo, Rubén, Karen y Odette han debido soportar las largas horas de medición. En esto la colaboración de los campesinos de UZACHI y de toda la gente de Capulalpan de Méndez, Oaxaca ha sido no solo importante, sino también, elemento que hizo más agradable el recorrido.

A mis compañeros, Ale chica (que no por chica es menos importante), a Paty, Karen, Miros, Argelia, Ana, Valentina, Erika, Manuel y Alma. Queda claro que solo en conjunto se puede hacer alguna ciencia. A Lalo Morales, quien me enseñó método comparativo. A Víctor Barradas, que me enseñó fisiología vegetal. A David Germandt, que facilitó las secuencias para la filogenia.

A mis padres, Raúl y Yeni, muchas cosas hay para agradecerse, pero para no extenderse, sobre todo, por la irreverencia cultivada (a veces también experimentada, ni modos), valor y pilar fundamental de todas las cosas. A mi carnavalesca hermana Lari, por la alegría de crecer. A los tres, por el cariño y el apoyo para llevar adelante los mengambréicos estudios.

A Sofia, compañera anaranjada, Estelí de la batalla, por todo tu amor. Por el acompañamiento en el que haciendo somos, por la pregunta que interroga, por el gusto del maravillamiento. Por tu mirada que reinventa el espacio sideral.

A mi familia, a quien tanto quiero, a todos, a mis tíos Güily, Chacho, Chucho; a mis primos Aline y Memo. A mi abuela Gloria, raíz, por tu cariño, por la cocina, que es también cultura, que es también resistencia. Ami abuela Andrea, con el sabo de su plática Solo con su apoyo salvamos los aciagos días de febrero del 2000. A todos por el cariño y alegrías.

También al agüelo Edmundo, por la genealogía, por la memoria de lucha.

A toda la banda, toda, de entrada, nomás porque los quiero un chingo.

A la Natalia, por la tierna dureza, diez años ya de ella. Vuestra amistad y crítica permanente son ya imprescindibles. Gracias por todo Kowalski. Sinapomórficamente por las largas noches de estudio que permitieron superar los más demoledores semestres, por la compañía, por la risa.

A Ale Araiza, por la capacidad de escuchar, por la esperanza de la plática, por tu feminismo, por tu cariño y amistad pues. Por echar luz y con la luz raíces exploratorias en los momentos duros.

Por supuesto a la risueña Aida, quien me ayudo a flotar, una vez descubierto que el caminar, por las puras ganas de caminar es posible y necesario aún en las calles del defectuoso.

Se agradece a Ana Álvarez, por su aguda crítica y profunda reflexión teórica que tanto impulsaron el estudio de las más disímbolas cosas. Por la plática y lo que con ella viene, gracias por recolisionarme con el Italo Calvino, el encuentro ha sido elástico. A Ana, por la ráfaga de extraños brillos que en su rareza dieron mayor intensidad a los olores de la primavera y el verano de 1999.

A la Dalia, con quien también crecí, por una amistad certera, que se remonta ya muchos kilómetros río arriba, como salmón. A la Dalia por tus horas de plática, y también por la terapia a la hipocondría.

Al Scheinvar por las mil chocoaventuras juntos, quién sabe cuantas más allá adelante. Por la oportunidad de hacer cosas, por la capacidad de organizarnos, porque en el vínculo, el rojo tomó sentido y reafirmó su vigencia. Por las tardes que a veces son madrugadas de café.

Al Troll y al Nacho, en el interminable y curvado camino de la liberación, que no es destino, es ruta. Al Troll por asumirme en tanto tal, por la reflexión, por la determinación de hacer, por no dejarse llevar, por las largas risotadas en el consejo, por tu cariño combativo. Al Nacho, por las cocinadas juntos, por el método, por una sinceridad noble, por aguantar el duro trabajo de ser físico de cabecera de un público difícil, por las conchas.

A todos los cuates que alrededor de Ciencias reconstruyen la alegría mientras se arrojan sueños. Al tal Iván, a la tal Amparo, al Rubén, Sofia, Fabián, Gaby, la Natasha (ubicua), Niza, Willis, Yazmín, Itzel, Alf, Carlitos, Sandra, Xitlali, Andrea, Charco, el Troll (¡otra vez!), Nacho (gazpacho), Alejandra, Dieter, doña Aline, Alma, Carlitos, Sofia bióloga, Carlítica, Nayelli, Doña Foco, Zibonele, el Matas, el Chino, la Aida, a Vanessa, a Yuriditzi y a Odette. Habría que agradecer pues a la hora de la comida así generada. A los seminaristas errantes, por hacer patente la posibilidad de la interdisciplina, de la superación de las paredes, de la desenajenación de la academia. Por la diversión impostergable y esas enriquecedoras reuniones. Por el placer de estudiar juntos.

Al Iván y a la Amparo, por el cariño, parsimonioso, pero seguro. Por toda la experiencia maicera. A la aguerrida y muy estimada Willis, a vuestra animosidad, con los peligros que le gustan y los otros que con forma de granadero le han tocado enfrentar; por la noble sencillez. A Vanessa por las bromelias y chistolines y a Yuriditzi por su sutil antisolemnidad. A Alma y Pavel, por su entrega en el andar.

A Xitlali, con su gusto por la genética, pero también por la filosofía de las ciencias, asuntos que se comparten; por una sensibilidad a la ciudad y al campo.

A los históricos “Apios asesinos” y al gran Scratch du Oro que fue “La leña del pirul” que le puso sabor al sudor.

Taniecita y Alejandra han sido las fuentes centrales que manifiestan prácticamente la posibilidad de desenajenar el género, de superar ahí también, las cadenas, gracias por eso.

A Taniecita, por tu optimismo combativo que es necesario para equilibrar el pesimismo estoico que a veces nos aqueja, a Taniecita, por tu calidez.

A Lizette, por las tardes de oír música, por las pláticas del mundo y de la historia, por los las líneas convergentes allí formadas.

A Yaz y a Itzel, por la compañía de lucha, por el comité surrealista, por su empuje hacia una ciencia radical, por toda la oportunidad de construir la militancia humana que necesitamos.

A la compañera Aline, pocas veces vociferó alguien tan duro en una asamblea, pero también pocas veces se vieron después esfuerzos tan grandes para vencer al sectarismo.

A Tatiana Fiordeliso, por tu amistad sincera y tu ejemplo, que como los buenos ejemplos, es ejemplo de a pie.

A África y Lizeth, la utopía indómita, con quienes aprendí en el radio, compartí el alud testimonial de un movimiento estudiantil contándose a sí mismo. Gracias por las horas compartidas en la cabina y los lazos allí formados.

Gracias Eréndira, por el documental, por la posibilidad de contribuir con un poquito a ese extraño mundo de la cinematografía, que puesta así, también lucha.

A Vero del café, por compartir sonrisa abierta que se multiplica en activismos, por la custión editorial que pone el texto donde debe estar, de mano en mano y de ojo en ojo.

A Pilar Martínez, por la aproximación al cálculo, por la amistad trabada superando diferencias, por otra conciliación del compromiso, académico y político. A Paz Alvarez, el redescubrimiento de la geometría y su contundente encanto. A Tatiana Coll y César Navarro por la voluntad sincera, para trabajar desde la izquierda. A Julio Muñoz y a Diego Méndez por el espacio para el marxismo en Biología. A Rosario, Mónica, Sara, Emiliano, Yazmín, Xitlali, Meztli y Yuri, por el seminario también.

A todos con los que compartimos la experiencia de la Uyulala, en particular a Carla.

A la banda de Filos, con todo y su club social por las discusiones, a Darío, al Troll, a Elis, a Daniel, a Arlen, al antisocial Maruchan y demás compañeros.

A Doña Thelma, Laura Diana, Natalia, Carlos y Fernando, por las tardes de historias, por el estímulo al sueño y el alimento mitológico.

Al Carlitos Sánchez, Humberto, Joaquín y Héctor Rivas, con quienes ensayamos la rebeldía primaria.

A La Hora de la Mengambrea y a quienes la han hecho posible.

A los estudiantes de mis primeras clases, por todo lo que me han enseñado.

En abril de 1989 una de las consignas que el movimiento social escribía decía algo así como "Sí puedes leer esto, es gracias a un maestro". A mi maestra Coquis, que me enseñó a leer y escribir (hago constar que mi letra la descompuse yo, después) condición de posibilidad de muchas cosas buenas que vinieron después.

A mis maestros de siempre, con todo y diferencias porque estas también enseñan. A Dora, Coquis, Yola, Rosalba, Martha, Adán, Ofelia, Yeni, Benjamín (que me lanzó a las ciencias), Beatriz, Alba, Guadalupe, Alberto, Guillermo (que me acercó a la biología), el Perro, el Wally, Amalia Leticia, Pedro, Elda, Ana Margarita, Saúl, María Guadalupe, el Pájaro Loco, el Chino, Faustino, Haruko, Leticia, Fernando, Daniel, León, Alfredo, Ernesto, Luz, Josefina, Gerardo, Ernesto, Shaday, Alicia, Octavio, Eberto, Dalila, Pilar, Patricia, Rubén, Martha, Miguel, María Luisa, Marisol la grande, Jaime, Marisa, Joaquín, Berenit, Estetoscopio, Gonsebat, Julio, Laura, Ernesto, Irene porque demostró lo importante que es no ser hipócrita, Luis, Tere, Mónica, Cristina, Palomino, Raúl, Luis, Arturo, Jorge, Lalo, Toño, Héctor, Adolfo, Livia, Archie, Paz, a los que faltan.

A todos los compañeros con los que compartimos el sueño, ensayo y baile del activismo en la Prepa 8, por la confrontación con el realismo.

A los estudiantes, juventud rebelde que luchó contra lo que el poder decía, no se podía luchar, a todos los que participaron en el movimiento estudiantil 1999-2000. La solidaridad con el futuro, el aferrarse a que este no deber de doler, la construcción de los espacios, de proyectos que hoy están, la acción de enfrentarse al proyecto del poder no con “un programa que garantice la *victoria*”, sino con una actitud que permitiese construir relaciones nuevas, los pusieron los estudiantes, los jóvenes, los rebeldes. Las historias que las clases políticas (de taxonomía diversa en la zoología del poder) escribieron nunca podrán comprender lo que pasó abajo, pues buscaran el relato en el lugar equivocado. Abajo se construyeron cosas de un mundo mejor, y a pesar de los errores, tiernos y monstruosos, que también hubieron, cada instante, abajo, valió la pena.

Al Emiliano, al Fach, a Sol y a Eduardo, por las noches en la comisión de Internet, por el movimiento juntos. Al Vick, no sólo por los técnicos controles, sino por siempre estar en la construcción de una comunicación radial distinta. A la Ke-Huelga, por ser espacio plural.

A los compañeros del colectivo FZLN-UNAM, por el ensayo y las esperanzas compartidas, por las noches de guardia, al metafórico David, a Javier, a Fernando, a Agustín que siempre mantiene la botana, al Iker con la seriedad de la alegría, al Zirahuén; a Mariana F., Mariana E., Valeria y Tencha, niñas compañeras de tiempo hace; Avril, Miriam, Ayaneli, Taniecita. Por los recorridos a las guardias más recónditas y los diagnósticos que siempre se sigue aprendiendo a hacer. A la Realidad de las tres tareas.

A las comunidades tlaxcaltecas que nos han enseñado del maíz y de muchas formas de resistencia, por su compromiso, por compartir su capacidad de luchar con quien lo necesita. A los compas del FZLN de Tlaxcala con los que se comparte otro aprender, a Luz, Malacara, Pancho, Martina, Agustín, Ricardo, a todos. A Doña Rosa Sesma, por la noche de crónicas de la explotación, pero también de la esperanza y la risa.

Muy especialmente al Ejército Zapatista de Liberación Nacional, a todas las comunidades rebeldes, que nos enseñan que no se trata de caminar mirando al piso o al horizonte, sino de caminar juntos. Al Sup, a Tacho y a Moisés, por un método que no es receta, sino sensibilidad. A la comandante Esther, así fuera sólo por el estremecimiento que su voz provoca. A todos los rebeldes, nomás por no dejarse.

El apoyo operativo y financiamiento de este proyecto provino del Instituto de Ecología de la UNAM y del Programa de Becas para Tesis de Licenciatura.

Una última insistencia para que, si ya se leyeron estas largas páginas, el lector, sobre todo aquél ávido de leer material denso y mengambreico (conste que no prometemos que sea necesariamente ameno), se aventure a leer el tabique anexo, que es lo mero principal.

ÍNDICE GENERAL

	Página
Tabla de abreviaturas	I
Resumen	II
1. Introducción	
1.1 La necesidad de un enfoque histórico en el estudio de caracteres fenotípicos	1
1.2 Los métodos comparativos filogenéticos	6
Contrastes filogenéticamente independientes	8
Métodos de análisis y evaluación de efectos filogenéticos	11
Modelos para estimar estados ancestrales	17
1.3 El método comparativo en el estudio de características fisiológicas	19
1.4 La fotosíntesis en el género <i>Pinus</i>	20
1.5 México y el estudio de la ecofisiología del género <i>Pinus</i>	26
2. Hipótesis	29
3. Objetivos	29
4. Materiales y métodos	
4.1 El sitio de estudio y las especies estudiadas	30
4.2 Elementos metodológicos para el estudio de la fotosíntesis en pinos	36
Diseño de las cámaras de intercambio gaseoso	36
Determinación de la relación peso-área acicular para las especies estudiadas	38
4.3 Diseño observacional y metodología de medición en el campo	40
Datos fisiológicos de picea abies	43
4.4 Análisis estadísticos	44
4.5 Estimación de la distancia filogenética	45
4.6 Análisis comparativos filogenéticos	46

5. Resultados	
5.1 Tasa fotosintética	48
Análisis de la variación de la fotosíntesis y variables relacionadas	49
Análisis de varianza de las variables fisiológicas	51
Análisis de varianza para la fotosíntesis y	
conductividad estomática máximas	52
En torno a los factores que explican	
la respuesta fotosintética para cada especie	53
Interacciones entre los factores relacionados con la fotosíntesis	53
Análisis de regresión múltiple	56
Estimación de la fijación total diaria de CO ₂	58
Respuesta fotosintética a la luz	58
Resumen de características fisiológicas	61
5.2 Estimación de la distancia filogenética	62
5.3 Análisis comparativos filogenéticos	64
Estimación de estados ancestrales	64
Modelo de evolución lineal	64
Modelo de evolución exponencial	66
Análisis de autocorrelación y autoregresión filogenéticas	
Autocorrelación filogenética	69
Autorregresión filogenética	71
Análisis de varianza anidado	75
6. Discusión	
6.1 La tasa fotosintética y las variables fisiológicas	78
Diferencias en la respuesta fotosintética a la luz	82
6.2 El papel de las relaciones ancestro descendiente	84
En torno a la estimación del componente filogenético de los caracteres	85
Posibles sesgos producto de la inclusión	
de longitudes de rama fraccionarias	90
Correlaciones e inercia filogenética con longitudes de rama iguales	92
Correlaciones fenotípicas al retirar el componente filogenético	95
6.2 En torno a las relaciones entre los organismos y el ambiente	96
7. Conclusiones	101

8. Referencias	102
Apéndice 1	110
Apéndice 2	113

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1 Ejemplo de contrastes filogenéticamente independientes	9
Figura 1-2 Hipótesis de labilidad evolutiva	13
Figura 4-1 Ubicación del sitio de estudio en la Sierra Norte de Oaxaca, Mex.	31
Figura 4-2 Diseño de las cámaras de intercambio gaseoso	37
Figura 4-3 Fotografía de medición de tasa fotosintética en <i>P. patula</i>	38
Figura 4-4 Regresiones lineales entre el peso húmedo y el área acicular	40
Figura 5-1 Respuesta fotosintética a la luz	59
Figura 5-2 Filograma reconstruido mediante análisis de Neighbor-Joining	63
Figura 5-3 Correlogramas filogenéticos	71
Figura 5-4 Valores de los coeficientes de correlación r con longitudes de rama equivalentes	74
Figura 5-5 Valores de los coeficientes de correlación r con longitudes de rama fraccionarias	75
Figura 6-1 Intervalos de altitud y de precipitación media anual	81

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1 Datos climáticos de las áreas de distribución de 6 especies de pinos	28
Tabla 4-1 Localización de las especies estudiadas obtenida por geoposicionamiento satelital	35
Tabla 5-1 Comparación de la tasa fotosintética máxima (F_{MAX}) y de conductividad estomática máxima (g_{sMAX})	49
Tabla 5-2 Comparación de las condiciones ambientales para cada especie	50
Tabla 5-3 Resultados de las pruebas de ANOVA para las variables fisiológicas	52
Tabla 5-4 Grupos homogéneos extraídos mediante la prueba LSD en función de F_{MAX}	53
Tabla 5-5 Factores extraídos mediante análisis de componentes principales	55
Tabla 5-6 Factores extraídos mediante análisis de componentes principales para la tasas fotosintética sin distinción de especies	56
Tabla 5-7 Factores explicativos de la F_N obtenidos por regresión lineal múltiple	57
Tabla 5-8 Respuesta de F_N a la radiación fotosintéticamente activa (RFA)	60
Tabla 5-9 Características de la respuesta fotosintética a la luz	60
Tabla 5-10 Variables fisiológicas para las 6 especies estudiadas y <i>Picea abies</i> como grupo externo	62
Tabla 5-11 Estimaciones de los estados ancestrales suponiendo evolución	

lineal y longitudes de rama estimadas mediante el análisis de Neighbor-Joining	65
Tabla 5-12 Estimaciones de los estados ancestrales suponiendo evolución	
lineal y longitudes iguales para todas las ramas	66
Tabla 5-13 Estimaciones de los estados ancestrales suponiendo evolución	
exponencial longitudes de rama obtenidas en el análisis de Neighbor-Joining	67
Tabla 5-14 Estimaciones de los estados ancestrales suponiendo divergencia	
exponencial y longitudes iguales para todas las ramas	68
Tabla 5-15 Estadísticos relevantes del modelo de autorregresión filogenética de Cheverud	73
Tabla 5-16 Resumen estadístico del análisis de varianza anidado	77
Tabla 6-1. Patrones de los correlogramas del índice <i>I</i> de Moran	
para las características fisiológicas y posibles procesos evolutivos causantes	88
Tabla 6-2. Comparación del valor de R^2 obtenido mediante el modelo	
autorregresivo de Cheverud (1985) y el análisis de varianza anidado	94

TABLA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

ANOVA	Análisis de varianza
α	Sensibilidad a la luz
F_N	Tasa Fotosintética Neta
F_{MAX}	Tasa fotosintética máxima.
g_s	Conductividad estomática
g_{sMAX}	Conductividad estomática máxima
RFA	Radiación Fotosintéticamente activa
TRP	Transpiración foliar
UPGMA	Unweighted pair-group using an arithmetic average
WUE	Eficiencia en el uso de agua

RESUMEN

Incorporar la información de las relaciones filogenéticas en el estudio de características fenotípicas de diferentes especies, permite conocer el efecto de las relaciones ancestro-descendiente en caracteres de diversos grupos. En este trabajo, se comparó la respuesta fisiológica de seis especies del género *Pinus* relacionadas distribuidas en una sola localidad y se analizó el efecto de la filogenia, en particular de la inercia filogenética, en 9 características fisiológicas y una característica morfológica. Se realizaron mediciones fisiológicas en una localidad de la Sierra de Juárez, Oaxaca y se usaron datos de *Picea abies* reportados en la literatura. Se estimó la distancia filogenética entre las especies usando *matK* como marcador molecular y *Picea abies* como grupo externo. Se utilizaron 4 métodos comparativos filogenéticos: estimación de estados ancestrales, autocorrelación filogenética, autorregresión filogenética y análisis de varianza anidado. Se encontraron diferencias significativas en las características fisiológicas de las especies estudiadas, en el caso de la tasa fotosintética (F_N) y de la tasa fotosintética máxima (F_{MAX}), las diferencias entre las especies resultaron altamente significativas ($p < 0.0005$). La variación en dos de las características está asociada significativamente a la filogenia: F_{MAX} y la temperatura ambiental a la que se registra F_{MAX} . El análisis de autorregresión filogenética reveló que varias características muestran una tendencia no significativa a diferir más entre especies más cercanas. Los diferentes métodos mostraron consistentemente poca influencia de la inercia filogenética en los estados de carácter actuales. Los datos obtenidos aportan evidencia de que cada especie integra de diferente manera las variables del medio compartido lo cual redundará en respuestas fisiológicas distintas.

ABSTRACT

Incorporating information about the phylogenetic relations in the study of phenotypic characteristics of different species allows us to know the effect of the ancestor-descendant relationships in characters of diverse groups. This work has compared the physiological response of six species of the genus *Pinus* distributed in a single locality, in addition, the effect of the phylogeny, particularly of the phylogenetic inertia, was analysed in 9

physiological and one morphological characteristics. Physiological measures were obtained in a locality of the Sierra de Juárez, Oaxaca and physiological data of *Picea abies* reported in the literature were used. The phylogenetic distance was analysed using *matK* as molecular marker and *Picea abies* as external group. Four comparative phylogenetic analysis were used: ancestral state estimation, phylogenetic autocorrelation, phylogenetic autoregression and nested analysis of variance. Significant differences were found in the physiological characteristics of the studies species, in the case of the photosynthetic rate (F_N) and the maximum photosynthetic rate (F_{MAX}), the differences between the species resulted highly significant ($p < 0.0005$). The variation in two of the characteristics is significantly associated to the phylogeny: F_{MAX} and the environmental temperature at which F_{MAX} is registered. The phylogenetic autoregression analysis revealed that several characteristics show a tendency to differ more between closer species, although this tendency is not significant. The different methods consistently showed low influence of the phylogenetic inertia in the present character states. The obtained data contribute with evidence that each specie integrates in a different way the variables of the shared medium which results in different physiological responses.

“ Podríamos atribuir falsamente a la correlación de crecimiento, estructuras que son comunes a grupos completos de especies, y que en realidad son simplemente debidas a la herencia; un progenitor ancestral podría haber adquirido por selección natural alguna modificación en estructura, y, después de miles de generaciones, alguna otra modificación independiente; y estas dos modificaciones, habiendo sido transmitidas a un grupo completo de descendientes con diversos hábitos, serían pensadas naturalmente como correlacionadas en alguna manera necesaria.”

“Al considerar la distribución de los seres orgánicos sobre la faz del globo, el primer gran hecho que nos confronta es, que ni la similitud ni la disimilitud de los habitantes de varias regiones pueden ser asociada con sus condiciones climáticas físicas.”

Charles Darwin, 1859, On the origin of the species.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. LA NECESIDAD DE UN ENFOQUE HISTÓRICO EN EL ESTUDIO DE CARACTERES FENOTÍPICOS.

Cuando Darwin escribía los fragmentos que usé como epígrafe buscaba, principalmente, llamar la atención sobre la importancia de las relaciones de ancestro-descendencia en las características y distribución de los organismos, por encima de la suposición de que a un ambiente correspondería precisamente un tipo, forma o grupo de especies *perfecta y totalmente* adaptados al mismo. Se trataba pues, de llamar la atención acerca de la dimensión histórica, encima del diseño universal, planteada por las relaciones de ancestría-descendencia, en la determinación de las características de los seres vivos.

Este trabajo incorpora la dimensión histórica de las relaciones ancestro-descendiente en el estudio de algunas características fenotípicas a partir del análisis de las diferencias fisiológicas entre organismos que comparten un mismo ambiente. Se busca conocer en que medida un grupo de organismos –seis especies de pinos- tienen una serie de características fenotípicas –fisiológicas- como consecuencia de que sus ancestros las tuvieron y en qué medida como respuesta a condiciones actuales.

El estudio de caracteres fenotípicos e interacciones ecológicas entre diferentes organismos, así como la búsqueda de sus posibles correlaciones y el establecimiento de explicaciones funcionales a partir de la documentación del estado actual de los caracteres sin considerar explícitamente las relaciones filogenéticas; llevó durante un periodo prolongado a los ecólogos y evolucionistas a desarrollar un programa reduccionista que corresponde a una de las formas del “programa adaptacionista” (Gould y Lewontin, 1979). En este contexto

todos los caracteres se suponen como soluciones adaptativas a las condiciones ambientales contemporáneas, el problema central parecería ser el demostrar escenarios selectivos para éstos (Miles y Dunham, 1993). De este modo se generó lo que Brooks y McLennan (1991) han llamado el “eclipse de la historia” en diferentes ramas de la biología en el que la ausencia de una perspectiva histórica explícita debilitaba las conclusiones en este tipo de análisis (Miles y Dunham, 1993), pues de hecho se trataba simplemente de identificar la manera en que la realidad podía compaginarse con una explicación ya construída de antemano, la adaptación (Gould y Lewontin, 1979). Sin embargo, en todo este período estuvo presente el enfoque comparativo, que analizaba las diferencias observadas en la actualidad entre las especies.

Brooks y McLennan (1991) han señalado dos de los campos en los que existe una perspectiva más integral del estudio de las especies y sus caracteres fenotípicos. En lo que respecta a los patrones de diversidad espacial observados a escala local, diversas líneas de evidencia han destacado la importancia de la diversidad regional en la estructuración de las comunidades locales. Otro campo, el de los estudios comparativos filogenéticos, se dibuja en el estudio de la secuencia en que se han dado los cambios en diversos caracteres, en relación con los eventos de especiación en los diversos grupos.

A partir de las argumentaciones presentadas por autores como Gould y Vrba (1982), se puede apreciar la trascendencia de enfocar de nuevo la atención en la historia evolutiva de los organismos; en particular de incorporar las relaciones de ancestría común, para probar hipótesis ecológicas, fisiológicas, morfológicas y conductuales. La investigación desde esta perspectiva permite, por una parte, incrementar el rigor con el que se estudian las posibles adaptaciones en los seres vivos, y, de manera no menos trascendente, permite reconocer la importancia de fenómenos como la inercia, restricciones y efectos, todos debidos a la filogenia. De aquí que la mejor manera de incorporar la dimensión histórica sea el uso de la filogenia, en la medida en que con esto se incorporan las relaciones de ancestría común entre las especies.

Haeckel acuñó la palabra filogenia a mediados del siglo XIX, justamente para referirse a la historia evolutiva por ancestría común de los organismos (Mayr, 1982). En una acepción más moderna, la filogenia es la historia de la descendencia por ancestría común, y con ella de sus relaciones de parentesco, de un grupo de taxa -por ejemplo las especies y sus

ancestros comunes-, incluyendo el orden de ramificación y en ocasiones los tiempos absolutos de divergencia (Futuyma, 1998; Weir, 1996). Este término también se ha aplicado a las genealogías de genes derivados de un gen ancestral común (Futuyma, 1998). La representación gráfica de las filogenias son los árboles filogenéticos que funcionan como estimados de parte de la historia de los organismos actuales, es decir, como hipótesis de los eventos de especiación ocurridos en el pasado.

Durante el proceso en el que la biología comparativa ha comenzado a superar lo que Brooks y Mc Lennan (1991) llamaron el eclipse de la historia (en realidad, eclipse de la perspectiva histórica), ha sido indispensable la revaloración de la pregunta: ¿Qué parte de la variación dentro de un clado puede atribuirse a eventos que ocurrieron antes del más reciente evento de especiación y qué tanto a cambios más recientes?. El no tomar en cuenta esta pregunta, puede llevar a la suposición errónea de que todos los patrones en la variación fenotípica al interior de una especie son el resultado del proceso adaptativo y como consecuencia de esto, que todo proceso de especiación lleva aparejados procesos de adaptación en diferentes niveles.

A partir de la década posterior a 1980, se retornó gradualmente a la perspectiva histórica en algunas ramas de la ecología evolutiva, la revisión realizada por Miles y Dunham (1993) documenta bien el proceso y el momento en el que se hallaba. Además de la búsqueda de un mejor planteamiento de las hipótesis adaptativas, dos fenómenos incrementan nuestro interés en el conocimiento de la secuencia de aparición de caracteres dentro de una filogenia. Por una parte, Gould y Vrba (1982) han resaltado la importancia de la exaptación en la que el origen de un carácter, que en el contexto ambiental actual parece adaptativo, podría no haber estado vinculado con procesos de selección natural a favor de su función actual. Por otra parte, los datos de Lynch (1989, en Brooks, 1991), indican que por lo menos en los procesos de especiación alopátrica, los eventos de vicarianza o de alopatria pasiva serían los más plausibles y prevalecientes en la historia. Este modo de especiación sólo se requiere de interrupción física del flujo génico y no necesariamente implica procesos o respuestas adaptativas. Esto último llama nuestra atención hacia el efecto que estos procesos de especiación vicariante podrían haber dejado en los descendientes al conservarse una parte importante de la variación fenotípica de la especie ancestral.

Las hipótesis filogenéticas, basadas en diversas metodologías, constituyen información de gran valía en la reconstrucción de la secuencia en la que distintos tipos de caracteres han aparecido. Asimismo, son un elemento central para discernir si las correlaciones observadas en la actualidad realmente reflejan un valor adaptativo, o si tienen que ver con restricciones o efectos filogenéticos. De hecho, es gracias a las reconstrucciones filogenéticas que los métodos comparativos actuales pueden proveer respuestas a preguntas que otras aproximaciones no podrían, en particular en el caso de eventos históricos no detectables en los fósiles (Stearns y Hoeckstra, 2000; Mc Kittrick, 1993). No es atrevido decir que en el momento actual la reconstrucción de relaciones filogenéticas entre especies es la mejor herramienta para estudiar los caracteres fenotípicos en el contexto de la historia evolutiva.

En el estudio de caracteres cuantitativos Miles y Dunham (1993) distinguen dos temas centrales en los análisis de ecología evolutiva que incluyen la información filogenética.

El primero consiste en remover la influencia de la filogenia de los análisis estadísticos. Este enfoque surge de la necesidad de tomar en consideración que las especies incluidas en los estudios comparativos no son muestras estadísticamente independientes y por tanto de conocer en que consiste ese sesgo o no independencia debida a la filogenia para estandarizar las muestras (Felsenstein, 1985). El objeto central de este enfoque es obtener este tipo de muestras independientes para poder establecer con mayor rigor las hipótesis adaptativas. El segundo se refiere a la descripción explícita de la porción de los caracteres actuales debida a la filogenia (Cheverud et al., 1985). A partir de que los eventos de ancestría común pueden dejar su huella en los caracteres fenotípicos de las especies, se hace necesaria la cuantificación de esta huella y su interpretación. Varias fuerzas evolutivas, como la deriva génica y la selección estabilizadora pueden subyacer generando una correlación filogenética (Martins y Hansen, 1996; Hansen y Martins, 1996).

A partir del trabajo de Cheverud y sus colaboradores (1985), en el que se propuso el primer método de desdoblamiento desarrollado para separar del fenotipo en un componente filogenético y otro específico, diversos estudios han intentado estimar la magnitud de la inercia o efecto filogenéticos (Morales, 2000b; Freckleton, 2000; Christman et al., 1997; Scott y Naeem, 1993). Aunque en muchas ocasiones no hay una distinción conceptual clara entre las

diferentes formas en que pueden influir las relaciones filogenéticas y cómo se expresan. En este trabajo emplearemos operativamente la distinción establecida por Miles y Dunham (1993) en el sentido de que la correlación en la variación de un carácter con la filogenia hipotética para un grupo es evidencia de un efecto de la filogenia, mientras que el concepto de inercia filogenética implica la restricción del rango de variación de un carácter en respuesta a fluctuaciones ambientales o cambios en el ambiente selectivo. Aunque en este marco resulta mucho más complicado probar y, en su caso, cuantificar la inercia filogenética, una de las posibles formas de analizarla es revisar el grado de efecto de la filogenia para especies relacionadas que conviven en un mismo ambiente si suponemos que estas no se han originado allí. Este último supuesto se relaciona con la necesidad de distinguir entre los procesos de divergencia de caracteres en un medio compartido (en ocasiones relacionados con la exclusión competitiva), y la huella que procesos anteriores a la llegada de los organismos a un ambiente pudiesen haber dejado en las características fenotípicas (el concepto ha sido desarrollado como “conservación filogenética del nicho por Webb et al., 2002).

Si se quiere encontrar una explicación causal a los patrones observados, es importante identificar las restricciones filogenéticas que afectan el estado actual de un carácter, ya que esto nos permite dirigir la atención hacia el nivel jerárquico (McKittrick, 1993). Así, el tomar en cuenta la influencia de las limitaciones filogenéticas sobre el cambio en las características fenotípicas de los organismos constituye una base que puede orientar estudios posteriores en campos como la genética del desarrollo, que ubiquen los mecanismos y patrones genéticos implicados en los fenómenos de inercia filogenética.

En el caso de la restricción filogenética, McKittrick (1993) la ha definido como cualquier resultado o componente de la historia filogenética de ese linaje que prevé o predetermina un curso anticipado en la evolución de un linaje. Desde esa perspectiva podríamos usar los términos restricción e inercia filogenética como sinónimos. En el mismo trabajo, se señala que la reconstrucción de los estados ancestrales en los nodos de una filogenia es una forma adecuada y precisa de estimar la variación en las tasas (velocidad) de cambio de una característica asociada a las restricciones filogenéticas. A esto último también se le ha llamado labilidad evolutiva y se ha señalado que esta se puede analizar a través de

los correlogramas que relacionan el índice I de Moran con la distancia filogenética, mismo que será explicado en la siguiente sección (Gittleman et al., 1997).

Por su parte, Blomberg y Garland (2002) han establecido una definición de consenso de restricción filogenética como la propiedad de un rasgo que, aunque posiblemente adaptativa en el ambiente en que evolucionó originalmente, en la actualidad limita la producción de nuevas variantes fenotípicas.

La idea de que la inercia filogenética y la adaptación son hipótesis alternativas se halla relativamente extendida. Sin embargo, como señalan Blomberg y Garland (2002), esta distinción no es tan clara, pues la propia inercia filogenética puede deberse a la acción de la selección estabilizadora o bien a la mera ausencia de variación que mantiene un estado de carácter a pesar de cambios ambientales. Más adelante se hablará de cómo los métodos filogenéticos comparativos no ponen a prueba la hipótesis de la adaptación. Mientras tanto, es importante no perder de vista que la detección de inercia o señal proveniente de la filogenia es sólo un paso intermedio, y que la explicación de sus causas corresponde a estudios posteriores que analicen ya sea posibles restricciones impuestas por procesos del desarrollo del organismo o bien, procesos microevolutivos que pudiesen ser la causa de los patrones observados.

1.2. LOS MÉTODOS COMPARATIVOS FILOGENÉTICOS

Diversos autores han planteado diferentes definiciones de método comparativo. Futuyma (1998) propone que el método comparativo es un procedimiento para inferir la función adaptativa de un carácter correlacionando los estados del mismo en varios taxa con una o más variables, como factores ecológicos que hipotéticamente han afectado la evolución de este. Por su parte, Stearns y Hoekstra (2000) señalan que los métodos comparativos sirven para distinguir qué tanto de un patrón de variación puede ser atribuido a la historia, es decir, a la herencia por parte de los ancestros y no a la adaptación a los ambientes. Sin embargo, como señala Morales (2000a), las metodologías comparativas no han sido diseñadas explícitamente para probar la adaptación, sino que, en todo caso, sirven para corregir el problema de la no independencia de los datos de las especies a comparar.

Los métodos comparativos filogenéticos más usados (basados en información de especies actuales) pueden corregir la significancia estadística de las correlaciones establecidas, pero para avanzar en el análisis particular de la adaptación, es necesario incluir datos de los ambientes en los que aparecieron los distintos caracteres a partir de información paleobiológica y paleoclimática. De este modo se pueden poner a prueba hipótesis que ubiquen a la selección natural como la causa de la fijación de determinadas características en los organismos (p. ej. Baum y Larson, 1991; Hansen, 1994 en Martins y Hansen, 1997; Hansen y Martins, 1996).

En términos más amplios, parece adecuado señalar que en realidad existen varios métodos comparativos filogenéticos, y lo que los une es que abordan el estudio de los caracteres de diversa relevancia ecológica desde la perspectiva de la historia filogenética. Así, dentro de las diferentes variantes y herramientas metodológicas que encontramos contenidas en estos métodos, se desarrollan las dos vertientes del estudio de caracteres cuantitativos (continuos o no) reconocidas por Miles y Dunham (1993), la eliminación de los efectos debidos a la filogenia y la cuantificación de éstos; así como el estudio de caracteres cualitativos empleando las reconstrucciones filogenéticas como elemento para incorporar la historia de los linajes.

En general, los métodos comparativos filogenéticos buscan probar hipótesis relacionadas con alguno de los siguientes temas, reconocidos como importantes por diferentes autores (McKirtick, 1993; Miles y Dunham, 1993; Morales, 2000a; Stearns y Hoekstra, 2000): (1) la estimación del efecto de las relaciones filogenéticas sobre el estado actual de un carácter, (2) la estimación de los estados ancestrales de caracteres fenotípicos, (3) la estimación de la relación de la variación dentro de un clado con eventos que ocurrieron antes de los eventos de especiación más recientes y (4) el análisis de la evolución correlacionada de caracteres.

Los procedimientos estadísticos que se han desarrollado alrededor del análisis comparativo filogenético han seguido en buena medida alguno de los dos temas centrales señalados por Miles y Dunham (1993). Sin embargo, recientemente Martins y Hansen (1997) han mostrado la notable similitud del fundamento matemático de algunos de estos

procedimientos. A continuación presento una breve reseña de algunas de estas metodologías estadísticas, en particular aquellas enfocadas en el estudio de caracteres continuos.

Contrastes filogenéticamente independientes. Esta metodología desarrollada inicialmente por Felsenstein (1985), fue la primera completamente filogenética en el sentido de poder ser aplicada en todos los casos en los que se cuente con una filogenia resuelta de los grupos a estudiar. Es en esta aproximación donde se establece en forma estadística el reconocimiento de la no independencia de los rasgos cuando se realizan comparaciones entre especies, pues estas son parte de una filogenia estructurada jerárquicamente.

El objetivo central de este procedimiento es corregir las correlaciones entre caracteres en función del sesgo introducido por las relaciones filogenéticas. Para hacerlo, se transforman series de datos no independientes en valores que son apropiados para realizar procedimientos estadísticos convencionales (Garland et al., 1999).

El método de Felsenstein (1985) parte de reconocer que el cambio fenotípico que ocurre posterior a un evento de especiación es independiente entre especies hermanas. De ahí, se deriva que la diferencia que observamos en un rasgo entre dos especies hermanas es independiente de la diferencia observada para ese mismo carácter entre otro par de especies hermanas. Estas diferencias son, justamente, los contrastes independientes.

Las diferencias entre dos especies hermanas A y B pueden usarse para calcular un valor hipotético de carácter en el nodo que las une, por ejemplo mediante la media de los valores de las especies ponderada por la longitud de las ramas. Lo mismo puede hacerse con cada par de especies hermanas para el cual se cuente con datos de características ecológicas, morfológicas, etc. A su vez, el procedimiento puede emplearse para comparar los estados ancestrales entre dos nodos hermanos, estableciendo contrastes independientes entre ellos y después se puede calcular el valor del nodo siguiente (Figura 1-1). El número de contrastes posibles para una filogenia dada es $N-1$, donde N es el número de especies en la filogenia (Morales, 2000a)

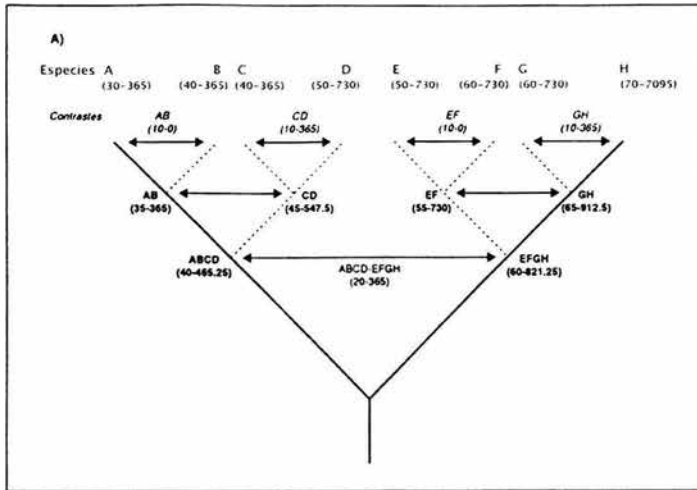


Figura 1-1 Ejemplo de análisis de contrastes filogenéticamente independientes para dos caracteres cuyos valores se incluyen entre paréntesis separados por un guión (30-365). Se muestran las relaciones filogenéticas entre las especies representadas en un árbol; en negritas se muestran los valores estimados para los estados ancestrales. Las flechas indican nodos o especies sujetos de comparación independiente, con los valores para los contrastes indicados en *itálicas* (adaptado de Morales, 2000a).

Para poder elaborar los contrastes filogenéticamente independientes se requiere de algún modelo de evolución del carácter fenotípico en cuestión. El caso de la media ponderada, descrito en el párrafo anterior, corresponde al modelo de movimiento Browniano, el cual supone que el cambio evolutivo que ocurre en los atributos fenotípicos en cualquier intervalo de tiempo se encuentra normalmente distribuido y es independiente del estado del fenotipo al inicio del intervalo (Morales, 2000a). Aunque el método fue desarrollado inicialmente siguiendo este modelo de movimiento Browniano, posteriores trabajos han permitido incorporar otros modelos para el cálculo de los estados ancestrales (por ejemplo Martins y Hansen, 1997 y Garland et al., 1999). Sin embargo, el método original de Felsenstein (1985) parece razonablemente robusto aún cuando se violan algunas de las suposiciones de este; por ejemplo, el cambio en los atributos fenotípicos no tiene que distribuirse necesariamente de forma normal, ni la divergencia en los estados de carácter ser completamente lineal (Garland et al., 1999). Hay que reiterar la importancia de contar con una filogenia lo más resuelta posible, pues la ausencia de una estimación de los tiempos de

divergencia o de algún tipo de medida relativa de divergencia entre las especies, hace imposible utilizar cualquier modelo de estimación de estados ancestrales, lo cual a su vez no permite el uso de los contrastes filogenéticamente independientes (Huey y Benett, 1987). La no resolución en parte de la inferencia de las relaciones filogenéticas entre las especies tampoco permite la estimación de los estados ancestrales de los organismos y, por supuesto, de los contrastes filogenéticamente independientes.

El método de contrastes filogenéticamente independientes es muy usado en la actualidad para responder directa o indirectamente preguntas como ¿Qué caracteres están verdaderamente relacionados entre sí y/o con el ambiente?, ¿Las correlaciones convencionales observadas entre muchos rasgos son el resultado de descendencia común o son convergencias evolutivas?. En los casos en los que los valores de uno o más rasgos están fuertemente relacionados con la filogenia, el método de contrastes independientes, que elimina los efectos filogenéticos, puede revelar que no existe correlación evolutiva entre un par o grupo de rasgos para los cuales los análisis estadísticos convencionales muestran correlación significativa (Morales, 2000a).

El uso extensivo de los contrastes filogenéticamente independientes ha sido criticado debido a la posibilidad de que se subestimase el papel de la selección estabilizadora como agente causal de la estabilidad en ciertos caracteres, lo cual -se ha argumentado- debe llevar a considerar esta estabilidad nuevamente como una evidencia de adaptación (Mazer, 1998). Desde este punto de vista, parecería que los riesgos de perder información al incorporar la filogenia en el análisis comparativo son mayores que los beneficios obtenidos. Desde otra perspectiva el carácter *ad-hoc* de los contrastes independientes (Cheverud, et al. 1985) haría ver el objetivo de este procedimiento como el de simplemente incrementar el rigor de las hipótesis adaptativas, basadas solamente en las correlaciones observadas entre dos o más caracteres.

A pesar de los posibles inconvenientes, la metodología de contrastes filogenéticamente independientes ha demostrado su utilidad, especialmente cuando es usada en una escala de comparación adecuada, sin exagerar en la “profundidad” de los contrastes dentro de la filogenia (Stearns y Hoeckstra, 2000). Particularmente, el uso de los contrastes filogenéticamente independientes en estudios intragénero permite, por un lado,

detectar más claramente, los patrones de correlación entre caracteres y, por el otro, no incurrir en la suposición de efectos entre especies muy distantes con caracteres homoplásicos (Ackerly, 1999). Esto es más claro cuando se cuenta con datos de muchas especies para ser comparados.

Por otra parte, en el estudio realizado por Grottkop et al. (2002) se revisaron diversos factores que pueden estar involucrados en la determinación de la tasa de crecimiento relativo y se usaron los resultados de las correlaciones hechas a partir de los contrastes filogenéticamente independientes para elaborar hipótesis de los mecanismos que pueden estar relacionando a las distintas especies. Por lo tanto, se ha trascendido el mero establecimiento de correlaciones entre rasgos para proponer mecanismos más claros de interacción entre diversos factores relacionados en este caso con la tasa de crecimiento relativo (índice de masa foliar, proporciones de la biomasa acumulada para distintas partes de la planta, proporciones de área transversal *vs.* peso de las hojas, etc.) de algunos pinos, demostrando desde mi punto de vista la posibilidad de hacer un uso más pleno de los contrastes independientes en un marco conceptual bien elaborado.

Métodos de análisis y evaluación de efectos filogenéticos. El objetivo general de estos métodos es cuantificar la proporción de de la varianza (R^2) de un carácter cuantitativo, que puede atribuirse al componente filogenético, así como la determinación del efecto debido a la filogenia.

- El análisis de autocorrelación filogenética, fue originalmente desarrollado para el análisis de patrones espaciales de distribución y parte de la idea de cuantificar la correlación entre dos pares de observaciones (correspondientes a dos especies) situadas a una distancia filogenética conocida para un carácter cualquiera. Nuevamente, la metodología se hace extensiva a la comparación de nodos hermanos, lo cual permite calcular el coeficiente de autocorrelación para diferentes intervalos de tiempo, analizando cómo ha variado el grado de autocorrelación filogenética a lo largo de la historia evolutiva de un clado.

El índice utilizado habitualmente en este tipo de análisis es el índice I de Morán y sus resultados pueden graficarse en un correlograma (Figura 1-2), permitiendo establecer una relación entre la varianza fenotípica y el tiempo de divergencia entre las especies. La interpretación de este índice es análoga a la de un coeficiente de correlación como la r de

Pearson (Diniz-Filho, 2000), y puede adquirir valores entre 1 y -1 . Los valores positivos del índice de Moran indican que el grado de parecido en las características fenotípicas de los linajes se incrementa conforme es menor la distancia filogenética que los separa. En sentido contrario, los valores negativos de este índice describen un mayor grado de divergencia en el fenotipo entre las especies más cercanas filogenéticamente.

Para que el cálculo del índice de Morán sea posible, es necesario conocer las relaciones filogenéticas entre las especies estudiadas, las cuales son incorporadas en la forma de una matriz de conectividad W . En la estimación de la autocorrelación filogenética se incluyen dos elementos importantes: 1) el valor del índice I es estandarizado, tal que los valores de éste son independientes de la varianza en el carácter fenotípico Y y 2) se presupone que la diferencia para un carácter Y entre dos especies o nodos se mantiene constante para un mismo intervalo de distancia hasta el siguiente nodo; en este sentido, se supone un carácter estacionario de la variación (Diniz-Filho, 2000).

Algunos de los patrones que se pueden observar al graficar los valores del índice I de Moran o el estadístico Z asociado a este con respecto a la distancia filogenética se presentan en la Figura 1-2. Estos patrones llamados correlogramas son de interés en la medida en que permiten apreciar el cambio en la correlación en los distintos niveles de la filogenia.

Finalmente, los valores positivos estadísticamente significativos de autocorrelación filogenética pueden provenir, tanto de la similitud en los valores fenotípicos para especies cercanas, como de la diferencia fenotípica entre especies filogenéticamente distantes.

Hipótesis de labilidad evolutiva

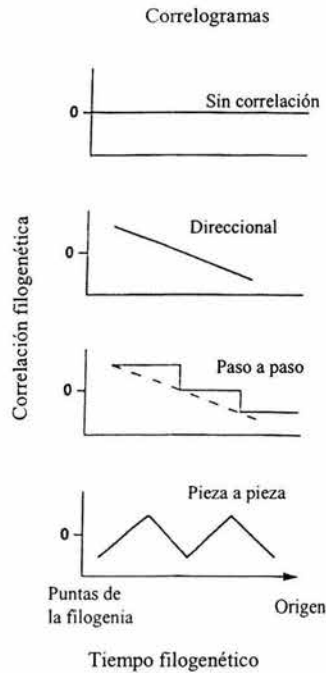


Figura 1-2. Hipótesis de labilidad evolutiva. Correlogramas mostrando diferentes patrones hipotéticos de autocorrelación filogenética (puede expresarse como el índice I de Moran o el valor de Z asociado a éste) para caracteres cuantitativos. Este tipo de análisis es usado para identificar los niveles jerárquicos de la filogenia con mayor influencia en los valores de caracteres cuantitativos así como patrones históricos de la correlación (adaptado de Gittleman, 1996).

- El modelo de autorregresión desarrollado por Cheverud (1985), puede considerarse el iniciador de un grupo de metodologías de “desdoblamiento” (Diniz-Filho, 2000), separación o partición de los valores fenotípicos observados en dos componentes, el filogenético, correspondiente a una fracción heredada de los ancestros, y el específico, o correspondiente a la evolución independiente en los organismos.

Utilizando herramientas de autocorrelación espacial, Cheverud y sus colaboradores (1985) desarrollaron un modelo de la siguiente forma general:

$$y = \rho W y + \varepsilon$$

Siendo y el vector de valores fenotípicos observados en las especies comparadas, ρ el coeficiente de autocorrelación a estimar, que describe la correlación entre los valores absolutos observados y el componente estrictamente debido a la filogenia que es el producto $W y$, donde W es una matriz de conectividad entre las especies de dimensiones $N \times N$ construida a partir de las distancias que separan a las mismas. El vector de valores residuales ε representa el componente específico de y , es decir, el valor del carácter fenotípico libre de efectos filogenéticos.

De acuerdo con Cheverud et al. (1985), el valor filogenético puede ser conceptualizado como la medida de la influencia de un conjunto hipotético de especies ancestrales en el valor actual del intervalo de las especies descendientes y , de este modo, se representa la fracción heredada del rasgo. Por su parte, sólo la covarianza alta de los valores específicos podría proveer evidencia de una relación evolutiva de tipo adaptativo entre los atributos de las especies.

El coeficiente de autocorrelación ρ se calcula empleando métodos de máxima verosimilitud y sus valores oscilan entre -1 y $+1$. A diferencia del índice de Morán, en el caso del coeficiente de correlación ρ , valores positivos cercanos a 1 de autorregresión filogenética indican constancia en un estado de carácter dentro de la evolución de un grupo de especies cercanas, es decir, la inercia filogenética. Por otro lado, valores negativos para ρ sólo se esperarían bajo condiciones de desplazamiento competitivo de carácter, resultando en una divergencia fenotípica entre las especies cuando estas son muy cercanas filogenéticamente.

Otro estadístico que forma parte de esta metodología, R^2 , representa la proporción de la varianza fenotípica observada determinada por la filogenia. Este estadístico puede calcularse de manera mucho más precisa de la siguiente manera:

$$R^2 = 1 - (\text{varianza de } \varepsilon / \text{varianza de } y)$$

La significancia estadística de R^2 y de ρ se puede evaluar mediante su transformación a un valor de Z .

En el caso de los valores positivos de ρ y de los valores cercanos a 1 de R^2 parece mejor el empleo del término inercia filogenética para nombrar al efecto filogenético observado, ya que indican constancia en los valores fenotípicos dentro de cada linaje. Por su

parte, Diniz-Filho (2000) señaló la desventaja del empleo de términos como “heredabilidad filogenética” (usado por Cheverud et al., 1985), porque no hay vínculos precisos con aspectos de herencia mendeliana asociados con el uso de este término en el contexto de la genética cuantitativa.

Aunque el modelo de autorregresión está limitado porque supone que el fenotipo de cada especie puede ser descrito como una función lineal de los fenotipos de especies relacionadas (hipótesis de movimiento Browniano), la capacidad de este modelo para separar de forma clara el componente filogenético y el específico de los valores fenotípicos, a partir del uso directo de la matriz **W**, permite distinguir los efectos de estos dos componentes corriendo un menor riesgo de sub o sobre estimación de alguno de los dos (Christman et al., 1997). Sin embargo, la autorregresión filogenética supone que la variación intraespecífica para los rasgos estudiados es inexistente o negligible, lo cual debe ser tomado en cuenta al interpretar sus resultados.

- Modelo de máxima verosimilitud o modelo mezclado (*mixed model*). Este modelo fue desarrollado por Lynch (1991), se basa en estadística multivariada y separa un fenotipo medio (z) en una constante o media filogenética (μ), un componente filogenético heredable (**A**) y un componente residual (e), expresados en una separación lineal de la siguiente forma:

$$z = \mu + \mathbf{A} + e$$

El componente residual e incluye las desviaciones causadas por la no aditividad de los efectos genéticos, debidas a efectos ambientales y a errores de muestreo, con lo que se busca construir un equivalente al componente filogenético heredable de Cheverud libre de estas fuentes de error. En este caso las relaciones filogenéticas entre las especies también son incorporadas como una matriz similar a **W**, pero como parte de **A** que es una matriz de varianza-covarianza de efectos aditivos.

En el modelo mezclado se propone que la estructura de covarianza de los efectos filogenéticos provee una descripción de procesos macroevolutivos, mientras que la estructura de covarianza de efectos residuales describiría procesos a nivel microevolutivo (Lynch, 1991). En este sentido el modelo de Lynch (1991) parece similar a la autorregresión de Cheverud y sus colaboradores (1985), ya que el componente específico es utilizado para

explorar posibles correlaciones adaptativas. Sin embargo, es importante señalar que, en el modelo mezclado, todos los miembros de la filogenia comparten una media filogenética (expresada en μ) y que las desviaciones de cada especie con respecto a esa media son posteriormente divididas en 1) el componente heredable (A), responsable de la similitud entre taxa más cercanamente relacionados y el componente específico o desviación residual (e) que no es filogenéticamente informativo.

Diniz-Filho (2000) ha señalado que aún se presentan dificultades computacionales alrededor del modelo de Lynch (1991) para obtener los parámetros de máxima verosimilitud, que limitan su uso efectivo. Por su parte, Christman et al. (1997) encontró limitaciones en este método para distinguir la porción filogenética de la varianza pues es factible que la llamada media filogenética compartida incluya una parte de dicha porción filogenética de la varianza y que por tanto esta se subestime. Sin embargo, estas limitaciones parecen deberse a que este método requiere de que la estructura filogenética de los taxa estudiados esté bien definida además de que no parece apto para realizar comparaciones a nivel intraespecífico (Diniz-Filho, 2000).

- Análisis de la varianza (ANOVA) anidado o jerarquizado. Aunque recientemente ha predominado el empleo de procedimientos estadísticos desarrollados *ex profeso* para el método comparativo, el uso del Análisis de Varianza anidado para identificar efectos de la filogenia y el nivel particular al que ésta es responsable de dichos efectos, es todavía una herramienta muy útil (Diniz-Filho, 2000; Morales 2000a).

Al emplear el análisis de varianza común es posible incorporar un nivel jerárquico de una clasificación taxonómica y revisar la variación de un carácter (p. ej., tiempo de gestación o tamaño de la semilla) entre diferentes grupos taxonómicos. En contraste, con el ANOVA anidado o jerarquizado es posible incluir diversos niveles jerárquicos para explicar la variación en un carácter Y (por ejemplo el número de semillas producidas por inflorescencia). De esta manera se distingue, dentro del componente filogenético que explica la variación de un carácter, cómo se distribuyen las fracciones de la varianza explicada en los distintos niveles jerárquicos de una taxonomía. El coeficiente de determinación general de un modelo de este tipo, R^2 , expresa la porción de la variación en un carácter fenotípico Y que

puede ser atribuida a la estructura jerárquica establecida y puede ser considerado como una medida de la inercia filogenética del carácter (Diniz-Filho, 2000).

Al usar el ANOVA anidado es muy importante tomar en cuenta la que la taxonomía usada debe sustentarse en reconstrucciones filogenéticas que permitan suponer que las agrupaciones taxonómicas con las que se trabaja son grupos naturales (Morales, 2000a; Diniz-Filho, 2000; Brooks y McLennan, 1994; Brooks y McLennan, 1991). Sin embargo, aún en los casos en los que se sabe que las categorías taxonómicas que se emplean corresponden efectivamente a grupos monofiléticos, en muchas ocasiones las jerarquías taxonómicas no alcanzan a reflejar todas las relaciones de parentesco de forma bien resuelta; por ejemplo, una misma Sección dentro de un género puede ser monofilética y contener más de dos Subsecciones y entonces las categorías usadas como niveles jerárquicos no aportan información acerca de las relaciones entre las Subsecciones, por lo que los resultados no serán exactamente los mismos que al emplear métodos filogenéticos comparativos que supongan movimiento Browniano de los caracteres. También es posible que el investigador defina los niveles de anidamiento del análisis en función de la topología del árbol.

El poder explicativo del ANOVA anidado está limitado por la disponibilidad de filogenias bien resueltas para los grupos de estudio, aspecto que comparte con el resto de los enfoques de los métodos comparativos filogenéticos. Pero de manera más importante, el hecho de que no siempre es posible resumir una filogenia, con todos sus niveles de ramificación en una estructura taxonómica jerárquica, es una limitación al uso de este procedimiento estadístico, ya que en el proceso de decidir qué categorías taxonómicas utilizar se puede perder información y en el caso de incorporar todo el patrón de ramificación se ha argumentado que el generar los muchos niveles jerárquicos que esto requiere implica la pérdida de réplicas en los niveles inferiores del anidamiento, lo cual limita el poder estadístico de la prueba (Diniz-Filho, 2000; Sokaly Rohlf, 2000; Ackerly, 1999).

Modelos para estimar estados ancestrales de caracteres. Además de ser un elemento necesario en otros análisis, como los contrastes filogenéticamente independientes y el análisis de patrones del índice de Moran, la reconstrucción de estados ancestrales constituye en sí, una herramienta importante en los métodos comparativos filogenéticos. Entre otras

cosas, las reconstrucciones de estados ancestrales permiten evaluar el grado de convergencia de caracteres discretos e incluso de caracteres cuantitativos. Recientemente se han desarrollado metodologías estadísticas para realizar las estimaciones de los estados ancestrales a partir de los valores observados en la actualidad. Se ha mencionado ya la posibilidad de reconstruir los estados ancestrales de caracteres continuos mediante el modelo de movimiento Browniano, pero existen otros modelos que permiten incorporar más suposiciones acerca de la forma en que han evolucionado los caracteres. Por ejemplo, el modelo Ornstein-Uhlenbeck, adaptado también de la física de partículas, el cual permite incorporar el supuesto de la acción de la selección estabilizadora atrayendo los valores fenotípicos alrededor de un óptimo y limitando así la estocasticidad del proceso evolutivo (Martins y Hansen, 1997; Hansen y Martins, 1996).

Dos suposiciones centrales subyacen a los diferentes modelos de estimación de estados ancestrales, 1) la probabilidad de cambio en cualquier punto de la filogenia depende únicamente del estado de carácter en ese punto y no de los valores previos del mismo, es decir se supone un funcionamiento markoviano del proceso, y 2) las transiciones en cualquier rama del árbol son independientes de cualquier otro cambio en el árbol, lo que puede arrojar resultados poco parsimoniosos en la evolución de los caracteres (Diniz-Filho, 2000).

Martins y Hansen (1997) han presentado un modelo de estimación de los estados ancestrales que permite incorporar diferentes formas de evolución fenotípica, ponderando dos diferentes formas de variación en el cambio: lineal y exponencial. Esto permite que las relaciones filogenéticas incidan de diferente forma en los algoritmos de estimación de los estados ancestrales dependiendo de las fuerzas microevolutivas y supuestos de relación entre la especiación y el cambio fenotípico que se incorporen. En este modelo de incorporación de la información filogenética en el análisis comparativo, se resalta la similitud global de diferentes aproximaciones estadísticas (por ejemplo, las de Felsenstein, 1985; Cheverud et al., 1985). Se incorporan los modelos de evolución para calcular una divergencia esperada entre las especies, la cual a su vez permite tener una medida más exacta del error en los valores estimados para cada nodo.

Aunque algunas de las suposiciones microevolutivas de las que parten los modelos podrían no ser correctas, todos los métodos de reconstrucción filogenética y de análisis comparativo de caracteres continuos hacen algunas suposiciones microevolutivas, por lo que el uso de suposiciones explícitas ha sido defendido (Martins y Hansen, 1997), con justificación, como una fortaleza más que como una debilidad.

1.3. EL MÉTODO COMPARATIVO EN EL ESTUDIO DE CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS

Aunque son muy pocos los estudios de fisiología vegetal que han incorporado una perspectiva filogenética, podemos encontrar algunos antecedentes en el estudio de características fisiológicas en animales realizados por Huey y colaboradores (1995) y Gittleman y colaboradores (1997). Al trabajar con caracteres continuos en ocasiones se ha preferido usar los valores máximos de esos caracteres, como la velocidad máxima de desplazamiento de diferentes especies de lagartijas bajo diferentes temperaturas (Huey, 1987). En este trabajo se empleó el ANOVA anidado, identificando que la explicación del 91% de la variación en la temperatura preferida se concentraba en el nivel de género. Esto quiere decir que los procesos de divergencia que posteriormente dieron origen a los géneros de lagartijas incluyeron el cambio en la temperatura preferida por cada género, mientras que eventos de especiación posteriores y anteriores a la formación de los géneros no incluyeron cambios importantes en esta característica.

En el campo de la fisiología vegetal ha predominado la visión *a priori* de que la selección natural en los ambientes actuales de las plantas ha oscurecido eventos históricos en la adquisición de caracteres por ancestros comunes a las especies actuales (Monson, 1996). En su revisión, Monson (1996) ha señalado que un programa no adaptacionista en la biología del desarrollo y fisiología vegetales, debe estudiar los papeles relativos de la selección y la restricción filogenética, así como la relación de caracteres con los ambientes actual y pasado de las especies.

Aunque en este campo, han predominado los estudios que parten de la premisa de la preponderancia de la selección natural como agente explicativo de los rasgos fisiológicos de

las plantas, a partir de los estudios realizados en animales y de los pocos realizados en plantas, se ha mostrado que la historia filogenética ha actuado como una restricción.

El objeto central del uso de la perspectiva filogenética en el estudio de características fisiológicas en plantas ha sido ubicar el origen de procesos bioquímicos y fisiológicos distribuidos en varios grupos de plantas. Ejemplos de este uso han sido el mapeo del origen de la fosfofructocinasa inducible dependiente de pirofosfato en la subtribu Brassicinae, reseñado por Monson (1996) y el estudio de la invasión de ambientes secos por parte de un grupo de especies endémicas de Hawai provenientes de ambientes húmedos (Baldwin y Robichaux 1995). Sin embargo, pocos estudios se han abocado a caracteres fisiológicos continuos y en el único caso que reporta Monson (1996) en su revisión sobre el tema, la baja resolución de la filogenia disponible limitó la reconstrucción del proceso de diversificación fisiológica.

En el caso de la fotosíntesis el tema que más atención ha recibido es el análisis de los orígenes de las grandes rutas metabólicas de la fotosíntesis, C_3 , C_4 y CAM dentro del clado de las angiospermas (Ehleringer, 1993), y prácticamente no se han estudiado caracteres continuos como la tasa fotosintética y sus relaciones con la conductividad estomática y otros procesos.

1.4. LA FOTOSÍNTESIS EN EL GÉNERO *Pinus*.

Mucho de lo que se sabe acerca de la ecofisiología de los pinos proviene de estudios en un reducido número de especies. En particular *P. ponderosa* y *P. taeda* han sido objeto de intensos estudios tanto en condiciones naturales como en condiciones de laboratorio (Rundel y Yoder, 1998). Se sabe poco al respecto al efecto de la variabilidad genética y la plasticidad fenotípica en la respuesta al estrés ambiental en pinos. En especial, en el caso de los estudios en condiciones de laboratorio, el material con el que se ha trabajado ha provenido de plantas silvestres de bosques con un grado de heterogeneidad genética desconocido (Rundel y Yoder, 1998). Dada la poca información ecofisiológica, proveniente tanto de pinos silvestres como de pinos cultivados que se posee en la actualidad, resulta complicado poder discernir qué parte de las características fisiológicas de los pinos son producto de adaptaciones a ambientes particulares y qué parte de ellas es debida a las relaciones de ancestría común entre las distintas especies.

Los componentes ecofisiológicos de adaptaciones a condiciones ambientales específicas están relativamente bien entendidos en las especies de pinos que se han estudiado en climas nórdicos, montañosos y para algunas de climas templados, pero no así para otros ambientes. En el caso de los pinos de ambientes mediterráneos casi toda la información que se posee proviene de plantaciones de *P. radiata* y en el caso de los pinos de ambientes tropicales prácticamente no se posee información, aunque hay estudios del subtropical *P. elliotii* y de las poblaciones subtropicales de *P. taeda* (Rundel y Yoder, 1998). Las mejores oportunidades para estudios de campo se dan en México, donde la diversificación ha producido agudos gradientes en la distribución de los pinos, desde ambientes tropicales y subtropicales hasta ecosistemas de alta montaña y subalpinos (Rundel y Yoder, 1998).

Existen relativamente pocos trabajos que exploren la correlación en la variación de las distintas características fisiológicas de las especies de pinos con la distribución en gradientes ambientales. En un estudio realizado en una zona semiárida, Lajtha y Getz (1993) examinaron algunos de los factores que podrían afectar la productividad en respuesta a cambios en la disponibilidad de recursos abióticos a lo largo de un gradiente altitudinal en comunidades de pinos piñoneros-juníferos del norte de Nuevo México. En este estudio se encontró que si bien la eficiencia en el uso del agua es mayor en las zonas más bajas y áridas, la disponibilidad de nitrógeno juega un papel muy importante al determinar la capacidad fotosintética de los pinos independientemente de la aridez del ambiente.

Otra de las líneas que han seguido este tipo de investigaciones ha sido la del estudio de algunas especies de pinos a lo largo de gradientes de concentración de contaminantes (Kume et al., 2000; Teskey, 1995a). A partir de estos trabajos también se ha hecho evidente la importancia de la conductividad estomática como factor determinante de la tasa fotosintética, característica esta última que sólo se mide indirectamente, a través de la asimilación neta de CO₂ por parte de las plantas. La conductividad estomática es el inverso de la resistencia de los estomas al paso de gases, incluyendo al CO₂; la conductividad estomática (g_s) se mide como un flujo en $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Salisbury y Ross, 1992). Se sabe que la

Caja 1-1. La tasa fotosintética y características fisiológicas relacionadas

Tasa fotosintética: este término se refiere a la cantidad de CO_2 que es fijada por las plantas por unidad de área por unidad de tiempo. Se trata entonces de un flujo de CO_2 hacia el interior de la planta que se expresa en términos de $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La tasa fotosintética neta (F_N) es el resultado del balance entre el CO_2 liberado por las plantas producto de la respiración y el que es incorporado al proceso de fotosíntesis.

Conductividad estomática: es el inverso de la resistencia ofrecida por los estomas a la difusión de los gases. Este parámetro mide la facilidad con la que se da el intercambio gaseoso en las hojas de las plantas. Conforme los estomas se cierran, la conductividad estomática (g_s) se reduce. Entre las causas del cierre de los estomas en plantas C3 y C4 están la temperatura excesiva, el déficit de agua en el suelo. Las unidades de g_s son $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Se ha generalizado una relación más o menos lineal entre g_s y F_N en las coníferas (Teskey, et al. 1995), en parte debido a la retroalimentación entre ambas (Figura C1-1).

Transpiración foliar: se refiere a la pérdida de agua de las plantas, principalmente a través de los estomas, pero también a través de otras estructuras como las lenticelas o de la cutícula (aunque en menor medida). Se mide como un flujo en términos de $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Respuesta fotosintética a la luz: claramente, la luz es un factor necesario para que la fotosíntesis se pueda realizar. Sin embargo, la tasa fotosintética (F) no se incrementa linealmente en función de la intensidad de la radiación fotosintéticamente activa (RFA) sino de forma hiperbólica. En esta función hiperbólica se pueden observar características importantes como: el punto de compensación, el punto de saturación, F_N en saturación y la sensibilidad a la luz (α).

Conforme se incrementa la intensidad de RFA, la Rubisco va alcanzando su máxima actividad y al mismo tiempo, el incremento en RFA suele ir asociado a un incremento en la temperatura que incrementa la pérdida de agua por transpiración. A partir de una cierta intensidad de RFA, la F_N ya no se incrementa significativamente y la respuesta se asintotiza, este es el **punto de saturación**. Se ha

encontrado que muchas plantas que tienen puntos de saturación muy altos tienen mecanismos que compensan la pérdida de agua o altas capacidades de carboxilación. Dependiendo de la capacidad fotosintética de las plantas, la F_N en el punto de saturación varía entre las distintas especies.

Entre la oscuridad total y la saturación, existen intensidades de RFA en las que la tasa de fijación de CO_2 sólo compensa la tasa de liberación producto de la respiración, por lo que F_N es igual a 0, este es el **punto de compensación**. En general, inmediatamente después del punto de compensación se presenta un incremento lineal (asintótico) de F_N , la pendiente de este incremento, α , es una medida de que tan sensibles son las plantas al incremento de la RFA. Las plantas con pendientes más altas, alcanzan valores de F_N más altos con menores intensidades lumínicas.

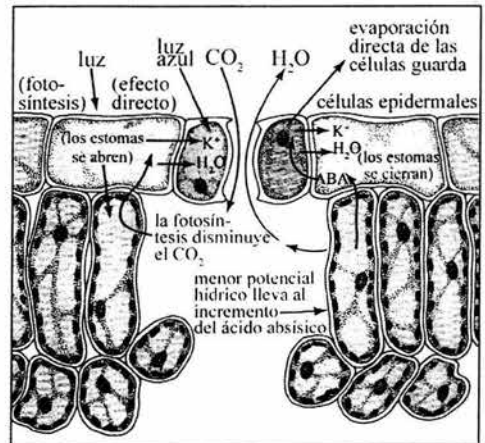


Figura C1- 1. En las plantas C3 y C4 la incidencia de luz dispara la fijación de CO_2 . Esto disminuye su concentración subestomática, lo cual dispara el transporte activo de K^+ a las células guarda; esto incrementa el paso de agua hacia éstas células por osmosis y los estomas se abren permitiendo la entrada de CO_2 y la salida de H_2O . La luz también puede producir la apertura estomática por arriba de un cierto umbral.

F_N y la temperatura: en las coníferas, F_N suele incrementarse junto con la temperatura hasta alcanzar una tasa máxima a partir de la cual la fijación de CO_2 comienza a descender. Las causas particulares de esta relación, es decir los procesos asociados a la fijación de CO_2 (transpiración, conductividad, eficiencia de la Rubisco, etc.) que se

alteran, varían de una especie a otra (Teskey et al., 1995).

El resultado de la interacción entre el conjunto de estas variables fisiológicas así como del medio físico puede alterar la relación particular de la F_N con cada una de estas variables. La respuesta de F_N a estas variables puede ser entonces muy compleja y la importancia relativa de cada una de estas en la fotosíntesis observada varía entre las distintas especies.

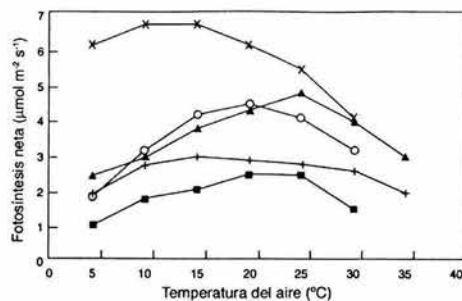


Figura C1- 2. Respuesta de F_N a la temperatura del aire (X) *Pinus ponderosa*, (+) *Pinus sylvestris*, (▲) *Pinus taeda*, (○) *Pinus strobus* y (■) *Picea engelmannii*. Adaptada de Teskey et al., 1995.

conductividad estomática determina la concentración de CO_2 en las cámaras subestomáticas, limitando la tasa a la que las células de la hoja lo absorben; entonces la conductividad estomática limita indirectamente la concentración de uno de los compuestos que reaccionan en la fotosíntesis y por lo tanto limita la velocidad de la reacción. Sin embargo, la importancia relativa de la conductividad estomática en la determinación de la asimilación de CO_2 de los pinos, en comparación con otros factores como la disponibilidad de agua o la incidencia de radiación fotosintéticamente activa solo se ha comenzado estudiar recientemente en trabajos como el de Kume et al. (2000) y el de Teskey (1995).

En el caso de *P. densiflora* se ha sugerido que la restricción estomática a la concentración intercelular de CO_2 podría ser responsable del declive en la fotosíntesis neta como consecuencia del incremento en la concentración de contaminantes como dióxido de azufre y dióxido de nitrógeno (Kume et al., 2000).

Por su parte, James (1994) estudió las características de crecimiento y tasa fotosintética para *P. sylvestris* en su límite altitudinal en Escocia. Esta investigación resulta importante pues se encontró que, probablemente debido a la falta de disponibilidad de agua, resultado de la baja temperatura, la eficiencia en el uso de la luz para la fijación de CO_2 resultó menor en este límite altitudinal que en las zonas más bajas hasta la parte final de la primavera. También se estableció una correlación entre la temperatura ambiental y la producción anual de follaje para esta especie de pino.

En un trabajo realizado en una zona de clima mediterráneo, Manes y colaboradores (1997) reportaron una tasa fotosintética máxima (A_{max}) para *P. pinea* de $14.5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, la cual resulta relativamente alta en comparación con las tasas que se midieron para especies latifoliadas en esa misma zona (*Quercus ilex* y *Pistacia lentiscus*). Este estudio y otros como el de Panek y Goldstein (2001) muestran la importancia de la disponibilidad de agua como factor determinante de la capacidad fotosintética de los pinos. Por otro lado, en *P. ponderosa* se ha encontrado que el 81% de la variación en la tasa fotosintética se explica por la conductividad estomática, la temperatura y la disponibilidad de agua en el suelo (Panek et al., 2001). En el caso de *P. sylvestris* la conductividad estomática es insuficiente para explicar la variación en la tasa fotosintética conforme se incrementa la altura de los árboles (Ninemets, 2002) y los procesos relacionados con los cambios en la actividad máxima de la RUBISCO y la interceptación de luz solar inciden en el declive en la fotosíntesis.

Otras investigaciones se han dedicado a abordar la también escasamente comprendida variación genética de las características fisiológicas, estudiándose sobre todo la variación intraespecífica en la capacidad fotosintética (Cregg, 1994; Grulke y Reztalf 1993; Monson y Grant, 1989) pero los resultados de estos estudios han sido contradictorios.

Por ejemplo, en uno de los múltiples trabajos realizados con especies nórdicas, Cregg (1994) estudió la variación de algunas características, entre plántulas de *P. ponderosa* provenientes de diversos lugares con distintas condiciones climáticas. Cregg encontró diferencias en la capacidad para sobrevivir a la sequía impuesta, no obstante, al comparar el intercambio gaseoso de las plántulas provenientes de los distintos lugares, no se encontró ninguna diferencia significativa, a pesar de que existían fuertes diferencias en su habilidad para sobrevivir y crecer en condiciones de sequía.

Así mismo, se han encontrado diferencias significativas en las tasas fotosintéticas de distintas cruas de variedades de *P. ponderosa*, las cuales provenían de lugares con condiciones climáticas muy diferentes. Esto se ha señalado como un elemento para fortalecer la idea de una correlación entre el ambiente y el componente heredable de la capacidad de intercambio gaseoso. Sin embargo, al tratarse de una comparación entre híbridos distintos, se podría hipotetizar que en este caso fueron las diferencias genotípicas las causantes de las diferencias en las tasas fotosintéticas (Monson y Grant, 1989). En el caso de plantas

latifoliadas se han encontrado diferencias significativas en el intercambio gaseoso entre plantas de la misma especie que crecen en diferentes localidades (Cregg, 1994).

En uno de los estudios más minuciosos realizados para caracterizar fisiológicamente a una especie de pino en condiciones de campo, Grulke y Reztalf (2001) encontraron que *P. ponderosa*, no presenta diferencias significativas entre las diferentes categorías de edad cuando las condiciones de hidratación son similares, en la máxima conductividad estomática. La discriminación de isótopos de carbono que estos autores encontraron, sugiere que las plántulas y juveniles tienen una menor eficiencia en el uso de agua que los árboles más viejos, cuando se comparan las temporadas de crecimiento completas. Sin embargo, las máximas y mínimas estacionales en la eficiencia en el uso de agua mostraron ser similares entre las categorías de edad (Grulke y Reztalf, 2001).

El hecho de que en esa investigación Grulke y Reztalf (2001) hayan encontrado que árboles de una especie, creciendo en condiciones similares tampoco presentan diferencias significativas en la conductividad estomática entre las diferentes categorías de edad excepto en dos meses del año, sugiere que es posible estimar la conductividad estomática de una especie en un sitio determinado, aunque solo sea accesible a la medición un grupo de individuos de edades relativamente restringidas.

Sin embargo, en otras especies relacionadas filogenéticamente, como las pináceas *Pinus sylvestris* y *Picea abies*, se ha encontrado que existe efectivamente una declinación en la tasa fotosintética y la conductividad estomática (g_s) al incrementarse la altura de los árboles, y en el caso de g_s se ha encontrado un efecto adicional de la edad (Ninemets, 2002). Dado que los procesos de cambio morfofisiológico que se han propuesto como explicaciones a esta correlación ocurren en una escala temporal de décadas y en una escala de tamaño de decenas de metros, parece adecuado que las comparaciones interespecíficas que se hagan respecto a estas características fisiológicas sólo se hagan a partir de individuos de alturas similares.

En el caso de los pinos, solamente el estudio de Grottkop y sus colaboradores (2002) incorporan el método comparativo filogenético en el análisis de características ecológicas de especies del género. En este trabajo los componentes fisiológicos se incorporaron de manera más bien indirecta, como la tasa de asimilación diaria (que incluye el resultado de la

fotosíntesis, la respiración y la asimilación y pérdida de minerales) y la tasa relativa de crecimiento ($\text{mg/g}_{\text{planta}}/\text{día}$). Aunque el sentido de las correlaciones entre caracteres generadas a partir de los datos crudos no se modificó con los contrastes filogenéticamente independientes, los autores no especifican si la intensidad de la interacción se mantuvo. Monson (1996) ha insistido en la necesidad de que la influencia ambiental en las características fisiológicas se estandarice de alguna forma en los estudios comparativos con plantas y en este rubro aún no se han realizado trabajos que realicen dicha estandarización en el género *Pinus*.

Farjon (1996), señala que en las zonas tropicales, los dos factores que limitan más el crecimiento exitoso de las coníferas son la sequía y la competencia con árboles latifoliados. Sin embargo, como se puede apreciar a partir de su amplio intervalo de distribución latitudinal y altitudinal, *Pinus* posee una amplitud de hábitats mayor que la de cualquier otro miembro de la familia Pinaceae. Farjon (1996) también señala que de acuerdo a su distribución *P. montezumae* y *P. pseudostrobus* parecen ser más tolerantes a la sequía, que algunas otras especies de pinos que crecen en asociación con especies latifoliadas. Esta diversidad ambiental en el género, hace que la estandarización de la influencia ambiental y el estudio de las propias correlaciones carácter-ambiente adquiera una trascendencia mayor.

Para poder estudiar la historia evolutiva y la posible variación ambiental de las características ecofisiológicas, es necesario subsanar la carencia de datos y aumentar el número de especies estudiadas. En ninguno de los estudios realizados hasta ahora se ha revisado la relación entre las características fisiológicas de los pinos y las relaciones filogenéticas entre estos. Para poder distinguir si las relaciones filogenéticas influyen en las características fisiológicas de las especies de este género, es necesario estudiarlas en un ambiente compartido por varias especies y en el contexto de la filogenia.

1.5 MÉXICO Y EL ESTUDIO DE LA ECOFISIOLOGÍA DEL GÉNERO *Pinus*.

En la actualidad prácticamente no se posee información acerca de la fisiología de las especies de pinos mexicanos. La poca que se tiene proviene fundamentalmente de especies cuyos rangos de distribución abarcan también parte de los E.U.A., entre las que destacan *P. radiata* y *P. ponderosa*.

En México se encuentran dos centros principales de diversidad y evolución del género *Pinus*. Por un lado el Eje Volcánico Transversal, con extensiones al noroeste y sudeste a lo largo de la Sierra Madre Occidental y la Sierra Madre del Sur, y por otro lado, el Noroeste de México (Farjon, 1996). En estos centros se encuentran representados los dos subgéneros de pinos, *Strobus*, comúnmente llamados pinos blandos; y *Pinus*, llamados pinos duros. En particular, en una zona cercana a Ixtlán, poblado ubicado en la Sierra de Juárez, al noreste de Oaxaca se encuentra reportada la presencia de entre 6 y 9 especies de pinos en un área geográfica relativamente pequeña (Tabla 1.1; Perry, 1991). El estudio de las especies de pinos mexicanos en esta área constituye una aproximación inicial al conocimiento de las características fisiológicas de este género en México.

Estudiar el comportamiento fotosintético de especies de pinos en un ambiente natural compartido de manera no artificial, abre la posibilidad de analizar el posible vínculo entre las relaciones evolutivas de estos árboles y sus características fotosintéticas; pues, al crecer en un área muy reducida a casi la misma altitud y con un régimen de lluvias compartido, se puede suponer que, de encontrarse diferencias en estas características, estas no se deberían a que estas especies enfrenten factores ambientales radicalmente distintos.

Un trabajo de este tipo también podría desarrollarse en una plantación, incluso con un mayor número de especies, pero se correría el riesgo de que los fenómenos allí observados fuesen solamente producto de la respuesta excepcional de los árboles correspondientes más bien a condiciones de estrés fisiológico o bien de una exagerada disponibilidad de recursos inexistente en las condiciones naturales en las que estas especies han vivido, colonizado nuevos hábitats, divergido y convergido en su distribución espacial.

La importancia de estudiar a las especies en condiciones del medio compartidas es particularmente notoria en el caso de la estimación y cuantificación de la inercia filogenética, así como en la evaluación de la contribución relativa de cada nivel jerárquico de las relaciones de parentesco entre las especies. Efectivamente, las diferentes relaciones de cada organismo con su medio podrían tener efectos no controlados en la inercia o señal filogenética detectada (Blomberg y Garland, 2002). Los procesos de divergencia anteriores a la colonización del medio compartido podrían verse reflejados en divergencias en las

características fisiológicas, la cuales se mantendrían a pesar de que las especies compartan dicho medio.

Tabla 1.1 Datos climáticos de las áreas de distribución de 6 especies de pinos que se encuentran en el área de las Sierra de Juárez cercana a Capulalpan de Méndez (Eguiluz, 1982; Perry, 1991)

Especies	Altitud			Precipitación			Temperatura anual (°C)		
	mínima	Mejores rodales	Máxima	Mínima	Media. buenos rodales	Máxima	Mínima	Media.	Máxima
<i>P. ayacahuite</i>	2000	2700	3200	700	950	1200	-5	15.3	35
<i>P. chiapensis</i>	500	1700	2250	700	1550	2400	5.5	17.5	35
<i>P. patula</i>	1500		3100	600	1200	1600	-12	12.8	35
<i>P. pringlei</i>	1500	1850	2500	600	1100	1700	-4	16.7	45
<i>P. pseudostrobus</i>	1600	2500	3250	500	1200	2000	-9.0	14.7	40
<i>P. oaxacana</i>	1500	2200	2630	550	1100	2000	-7.0	14.9	45

En la Sierra de Juárez, Oaxaca -en un bosque en las cercanías de Capulalpan de Méndez- dentro de una reserva forestal manejada por la Unión Zapoteco Chinanteca (UZACHI), se encuentran 6 especies de pinos coexistiendo, con individuos de la diferentes especies en porciones de terreno de menos de 2 ha y con una diferencia altitudinal de menos de 20 metros).

La oportunidad que representa la diversidad de especies de pinos de México; la ausencia de datos provenientes de este centro de especiación; la diversidad de hábitats en los que se han desarrollado en distintos momentos de la historia; el amplio intervalo que han mostrado las características fisiológicas del grupo, sobre todo si se considera el número pequeño de especies estudiadas; así como los avances en la reconstrucción de las relaciones filogenéticas al interior del género *Pinus*; y finalmente, la posibilidad, producto de los elementos anteriores, de generar información que permita analizar la relación entre los pinos y su ambiente, así como el papel de la labilidad fenotípica entre las especies en esta relación; constituyen motivaciones más que suficientes para analizar las características.

2. HIPÓTESIS

Hipótesis de trabajo

1. Las características fisiológicas de especies de pinos que coexisten en un área reducida, con condiciones ambientales similares, mostrarán diferencias significativas estadísticamente entre sí.
2. Si se analizan las diferencias en las respuestas fisiológicas dentro de una filogenia, se encontrará que una parte de la variación estará explicada por las relaciones filogenéticas que guardan entre sí las especies.

Hipótesis nula

1. Las características fisiológicas de los pinos que coexisten en una misma área, con condiciones ambientales similares, no mostrarán diferencias significativas entre sí.
2. Aún habiendo diferencias en la fisiología de las especies, no habrá correlación con la filogenia de éstas; la variación en la fisiología se distribuirá azarosamente entre las especies.

3. OBJETIVOS

GENERALES

Discernir que parte de la variación en características fisiológicas es explicada por las relaciones filogenéticas y si existe algún patrón en la distribución de esta variación dentro de la filogenia.

PARTICULARES

Obtener datos de características ecofisiológicas de un grupo de pinos mexicanos. En particular resulta de interés obtener datos correspondientes de la tasa fotosintética máxima, la conductividad estomática, la transpiración, la eficiencia en el uso de agua, la respuesta fotosintética a la luz (punto de compensación, F_n en saturación, Punto de Saturación y sensibilidad) y a la temperatura. También calcular el índice de área foliar específica (AFE) para las especies estudiadas.

Analizar si existen diferencias significativas en estas características ecofisiológicas de un grupo de especies de pinos que coexisten en un bosque cercano a Capulalpan.

Obtener una estimación de la distancia filogenética entre las especies estudiadas a partir de un marcador neutro.

Utilizar las características fisiológicas y las distancias filogenéticas en análisis de métodos comparativos filogenéticos.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 EL SITIO DE ESTUDIO Y LAS ESPECIES ESTUDIADAS

El sitio de estudio se ubica en la Sierra Norte de Oaxaca, dentro de una reserva forestal perteneciente a la Unión Zapoteco Chinanteca. Esta reserva forestal se halla dentro del territorio de la comunidad de Capulapan, en el municipio del mismo nombre (Figura 4-1) a 2100 msnmm.

El tipo de vegetación dominante en el sitio de estudio es un bosque de pino-encino que se extiende a lo largo de una cañada. El clima del lugar se ha establecido como Templado-subhúmedo $C_{(w'i)(w) b'}$ (SPP-INEGI, 1980), y de acuerdo al análisis de las isoyectas la precipitación total anual es de 1200-1500 mm. Aunque no se dispone de datos específicos de precipitación y temperatura medias anuales del sitio de estudio, a partir de los datos presentados en las cartas de clima y precipitación media anual en las que se incluyen mediciones de la estación de Santiago Xiacuá se puede suponer que la precipitación media anual es similar a la de la mencionada isoyecta.

En el sitio de estudio se trabajó con las siguientes especies.

Pinus ayacahuite Ehren. Pertenece a la Sección Cembrae dentro del subgénero Strobilus. Es una especie arbórea que alcanza 40 metros de altura y diámetro de hasta 2 m. Presenta corteza grisácea y rugosa. La vaina no es persistente y los fascículos agrupan 5 acículas de 10 a 18 cm de largo, con bordes serrados de dientes muy espaciados. Los estomas sólo están presentes en la superficie ventral, y presenta de 2 a 4 canales resiníferos externos. Los conos son casi cilíndricos pero se angostan hacia la punta; son pendientes, ligeramente curvados, de 10 a 40 cm de largo, de color café-amarillento cuando maduran y son muy resinosos. El pedúnculo, de 1 a 3 cm cae con el cono. Las escamas son delgadas y flexibles de 5 a 7 cm de largo, con apófisis alargadas con el ápice de redondeado a obtuso, el umbo es terminal sin espina y casi siempre resinoso.

Se distribuye mezclado con otros pinos y abetos en la zona montañosa del sureste de México y hasta Guatemala, Honduras y El Salvador. Las poblaciones puras son muy pequeñas y es mucho más común encontrarlo asociado a otros pinos como *P. rudis*, *P. patula*, *P. montezumae* y *P. chiapensis*. El intervalo de distribución altitudinal va de 2000 a 3200 msnmm, se le halla en diversos suelos bajo condiciones frescas y húmedas (Perry, 1991).

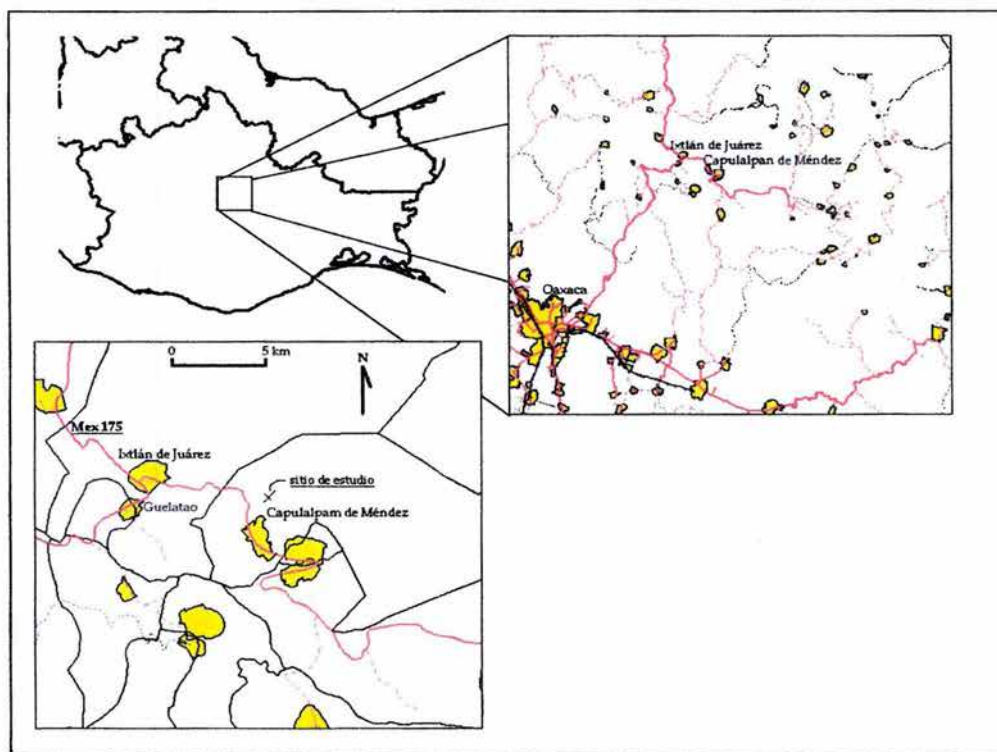


Figura 4-1. Ubicación del sitio de estudio en la Sierra Norte de Oaxaca, Mex. (INEGI, 2002). En amarillo se muestran las zonas pobladas, en líneas rojas los caminos y en líneas negras las fronteras municipales.

Pinus chiapensis (Mart.) Andersen. Pertenece a la Sección Cembrae en el Subgénero *Strobus*. Los árboles alcanzan 40 metros de alto con diámetros de hasta 1 m. La corteza es gris verdosa, lisa en las partes altas y rugosa poligonal hacia la base del tronco. Las vainas no son persistentes y los fascículos agrupan 5 acículas de 6 a 12 cm de largo, 8 cm en promedio. Los márgenes de las acículas son serrados con dientes muy pequeños y los estomas están presentes solamente en la parte ventral. Cada acícula presenta de 2 a 3 canales

resiníferos externos y un solo haz vascular. Los conos femeninos son amarillo-cafés, de 10 a 15 cm de largo con pedúnculos delgados de 25 a 35 mm de longitud; son casi cilíndricos con adelgazamiento hacia la punta y prácticamente rectos. Son rápidamente caducifolios y el pedúnculo permanece adherido al cono después de que éste cae. Las escamas son largas y delgadas con umbo terminal.

Se distribuye en el este y sudeste de México y en el noreste de Guatemala. En el límite norte de su distribución se le localiza a unos kilómetros del Golfo de México, a altitudes tan bajas como 500 msnmm. Su intervalo de distribución altitudinal va de 500 a 2250 msnmm. Se desarrolla en montañas con pendientes pronunciadas, en general en las laderas expuestas a corrientes de aire húmedo, formando pocas veces masas puras y más comúnmente se hallan individuos esparcidos creciendo junto a *P. maximinoi*, *P. pseudostrobus*, *P. oaxacana*, *P. patula* var. *longepedunculata*, *P. oaxacana*, *Liquidambar styraciflua*, *Quercus* spp., *Fagus mexicana*, y otras especies latifoliadas con las que coexiste de climas semitropicales a templado-húmedos, con precipitaciones de entre 1500 y 3000 mm anuales.

Pinus oaxacana Mirov. Pertenece a la sección *Pseudostrobus*, dentro del subgénero *Pinus*. Son árboles de entre 25 y 40 m de altura y 1 m de diámetro con ramificación predominantemente horizontal. La corteza es gris-café, profundamente fisurada en los árboles viejos, lisa en lo jóvenes. Las acículas son de 20 a 30 cm de largo, flexibles y en fascículos de 5, ocasionalmente 6, con vaina persistente que mide 25 mm o más. Los márgenes de las acículas son finamente serrados, los estomas se presentan en las superficies ventral y dorsal, los canales resiníferos son 3, ocasionalmente 4, en disposición media y cada acícula tiene dos haces vasculares. Los conos femeninos son duros, de 12 a 14 cm de largo, de ovoides a ovoides-alargados, asimétricos, con un pedúnculo de 5 a 10 mm, que permanece unido al cono cuando éste cae. Las escamas son duras y gruesas, de 12 a 20 mm de ancho, las apófisis presentan proyecciones pronunciadas desiguales, el umbo es largo y erecto, con una pequeña espina decídua. Al reconocer esta especie seguimos el criterio de Perry (1991), pues otros autores como Farjon y Styles (1997) ubican a esta especie como sinónima de *P. pseudostrobus* var. *apulcencis* Mart.

Esta especie se distribuye del centro y sudeste de México hasta las montañas de Honduras y El Salvador. En el caso de México se le ha reportado en Puebla, Veracruz,

Guerrero, Oaxaca y Chiapas. Crece de 1500 a 3200 msnmm, de climas templados a cálidos, con precipitaciones pluviales promedio de 1500 mm. Suele estar asociado con otros pinos como *P. maximinoi*, *P. pseudostrobus*, *P. patula*, *P. rudis*, *P. douglasiana*, *P. nubicola* y *P. ayacahuite*.

Pinus pseudostrobus Lindl. Esta especie pertenece a la sección Pseudostrobus en el subgénero Pinus. Estos árboles alcanzan 30-40 metros de altura. La corteza es café obscura y profundamente fisurada en los árboles maduros. Las acículas son flexibles, de aproximadamente 0.7 a 0.9 mm de grosor y de 20 a 25 cm de largo, en fascículos de 5, con vainas persistentes de 12 a 15 mm de largo. Los estomas están presentes en las superficies dorsal y ventral de las agujas, las células del endodermo se presentan engrosadas. Las acículas tienen mayormente 3 canales resiníferos medios y dos haces vasculares, contiguos, pero distinguibles. Los conos son ovoides u ovoides-alargados, casi simétricos, de 8 a 10 cm de largo y de 5 a 7 cm de ancho cuando están abiertos; son duros, color café claro, crecen solos, en pares y en tríos, presentan un pedúnculo corto que permanece adherido al árbol cuando el cono cae. Las escamas ovulíferas son delgadas y medianamente duras, la apófisis es de ligeramente elevada a plana; el umbo es dorsal, pequeño, ocasionalmente deprimido, nunca prominente y presenta una pequeña espina decidua.

Aunque su distribución abarca incluso las montañas del oeste de Guatemala, se trata de una especie predominantemente mexicana, que se encuentra en los estados de Jalisco, Colima, Michoacán, México, Morelos, Distrito Federal, Puebla, Hidalgo, Veracruz, Guerrero, Oaxaca y Chiapas. Se distribuye en las montañas, entre 1600 y 3200 msnmm, con precipitaciones pluviales de 800 a 1500 mm. En el área de distribución de *P. pseudostrobus* son comunes las heladas de diciembre a enero en las partes más altas. En muchas localidades de México, *P. pseudostrobus* aparece asociado con *Abies* spp., *P. montezumae*, *P. douglasiana*, *P. michoacana*, *P. maximinoi*, y *P. pringlei*.

Pinus patula var. *longepedunculata* Loock. Pertenece a la sección Serotinae del subgénero Pinus. Es una especie arbórea de 20 a 35 m de altura con una copa irregularmente redondeada, la corteza es profundamente fisurada, grisácea en la base y rojiza a partir de 3 o 4 metros de altura. Las acículas son de 15 a 20 cm de largo, en fascículos de 3-4, ocasionalmente 5, con vaina persistente de 10 a 15 mm de largo. Los márgenes de las

acículas son finamente serrados, los estomas están en la superficie ventral y dorsal de las agujas, éstas presentan 2 o 3 canales resiníferos medios, con uno de ellos ocasionalmente interno; las paredes externas de las células endodérmicas están sólo ligeramente engrosadas. Los conos femeninos son de largos ovalados a largos-cónicos, de 5 a 8 cm de largo, de 2 a 3 cm de ancho, ligeramente curvados, oblicuos, y de color café lustroso. Lo que distingue a la variedad *longepedunculata* es que presenta un pedúnculo de 6 a 12 mm de largo que permanece unido al cono una vez que este cae, tiempo después de que las semillas han caído. Las escamas ovulíferas son de unos 10 mm de ancho, con apófisis generalmente planas, aunque en ocasiones tienen ligeras elevaciones, sobre todo en las escamas basales; el umbo es dorsal, deprimido o ligeramente elevado y con una pequeña espina tempranamente decídua.

Aunque las colectas que se tienen de esta variedad provienen solamente de Oaxaca y Chiapas, su rango de distribución no está aún claramente definido; Perry (1991) ha planteado que podría extenderse hasta Guatemala. La variedad *longepedunculata* crece de 1800 a 2800 msnmm y la precipitación anual en la mayor parte de su distribución va de 100 a 2000 mm, ocurriendo heladas invernales en las partes más altas. Crece mejor en suelos profundos con buen drenaje. Se le suele encontrar junto *P. patula*, *P. pseudostrobus*, *P. douglasiana*, *P. rudis*, *P. ayacahuite*, *P. oocarpa* var. *ochoterenai* y, ocasionalmente, con *Liquidambar styraciflua*.

Pinus pringlei Shaw. Esta especie se encuentra dentro de la sección Serotiane del Subgénero Pinus. Son árboles de hasta 25 m de altura con ramas de horizontales a inclinadas, con corteza gruesa y dividida, color café grisáceo en la base y rojiza en las partes altas del tronco. Las acículas son de 18 a 25 cm de largo y de 1 a 1.5 mm de ancho, en fascículos de 3 ó 4 con vaina persistente y resinosa de 10 a 20 mm de largo; los márgenes de las acículas están finamente serrados y los estomas se presentan en las superficies ventral y dorsal. Presenta de 4 a 8 canales resiníferos, la mayoría internos, con 1 ó 2 medios o 1 ó 2 septales, las paredes externas de las células endodérmicas no están engrosadas y, como todos los miembros del subgénero Pinus, tiene dos haces fibrovasculares. Los conos femeninos son de largos-ovalados a largos-cónicos, de 5 a 8 cm de longitud, son asimétricos, recurvados sobre un pedúnculo duro y persistente; estos conos son de color verde-

amarillento, persistentes, y se abren muy lentamente. Las escamas ovulíferas son duras y aplanadas, con la apófisis generalmente plana, aunque a veces es ligeramente elevada y piramidal; el umbo es dorsal, cercano al centro, de aplanado a deprimido, con una pequeña espina decidua.

La distribución de *P. pringlei* se restringe a los estados de Michoacán, México, Morelos, D.F., Puebla, Guerrero y Oaxaca. Aunque Perry (1991) no reporta la presencia de esta especie en la Sierra Norte de Oaxaca, al analizar detalladamente la posición y número de los canales resiníferos, las características del endodermo y de las escamas de los conos, se constató que se trata de esta especie y no de *P. lawsoni*, con la que a veces se confunde. La precipitación pluvial anual en su intervalo de distribución va de 100 a 1500 mm, con una temperatura media de 20 a 25 ° C de las épocas frías al verano, respectivamente. La altitud a la que se distribuye va de 1500 a 2500 msnmm. Crece tanto en poblaciones monoespecíficas como mezclado con *P. pseudostrobis*, *P. michoacana*, *P. douglasiana*, *P. maximinoi*, *P. oocarpa*, *P. lawsoni*, *P. montezumae* y *P. patula* var. *longepedunculata*.

Ya se ha dicho que las especies descritas se hallan en un área reducida. En la tabla 4-1 se incluyen los datos de localización geográfica de las especies y la localidad en la que se encuentran.

Tabla 4-1. Localización de las especies estudiadas obtenida por geoposicionamiento satelital.

Especies estudiadas	Localización geográfica	Sitio de estudio
<i>P. oaxacana</i>	17° 19' 25.8'' latitud norte	El Polvorín
<i>P. pseudostrobis</i>	96° 26' 20.9'' longitud oeste	
<i>P. ayacahuite</i>	17° 19' 28.4'' latitud norte 96° 26' 20.1'' longitud oeste	El Polvorín
<i>P. chiapensis</i>	17° 19' 25.8'' latitud norte. 96° 26' 20.9'' longitud oeste	El Polvorín
<i>P. pringlei</i>	17° 19' 20.9'' latitud norte 96° 26' 23.76'' longitud oeste	El Polvorín
<i>P. patula</i> <i>P. pringlei</i>	17° 18' 47.2'' latitud norte, 96° 26' 24.5'' longitud oeste	Camino al Polvorín

4.2 ELEMENTOS METODOLÓGICOS PARA EL ESTUDIO DE LA FOTOSÍNTESIS EN PINOS

La morfología de las acículas de las coníferas genera una serie de necesidades especiales para el estudio de la fotosíntesis y procesos de intercambio gaseoso asociados a esta, diferentes de las que se presentan alrededor de los mismos procesos en las plantas latifoliadas. Los problemas fundamentales a resolver radican en el método para la estimación del área foliar involucrada en las mediciones, ya que esta no puede ser medida directamente debido a la estructura de tres caras de las propias acículas. Por otra parte, es indispensable las cámaras que se empleen en el proceso permitan calcular con precisión el área involucrada, preferentemente sin alterar la disposición de las acículas.

Diseño de las cámaras de intercambio gaseoso

Se diseñó un modelo de cámara de intercambio gaseoso (Figura 4-2) en dos versiones que buscan adecuarse a las necesidades específicas que plantea la forma de las acículas para la medición, así como para facilitar la realización de las mediciones en condiciones de campo, que son menos previsible que las de una plantación.

Se tomaron en cuenta varios factores en el diseño de las cámaras. Por un lado, es necesario que las acículas conserven su forma natural y que la disposición general de los fascículos se modifique lo menos posible para no alterar artificialmente las tasas fotosintéticas (Víctor L. Barradas, comunicación personal; Carter y Smith, 1985; Linder y Troeng, 1980). Por otro lado, se tomó en cuenta, para la duración de cada medición el tiempo que se lleva la sustitución del aire contenido dentro de la cámara, que ocurre en función del flujo creado por un analizador de gases por rayos infrarrojos (en este caso, marca CID modelo CI-301 PS) al cual se conectó la cámara. El analizador de gases que se empleó posee una capacidad de flujo de aproximadamente 800 ml por minuto.

Para que las mediciones sean comparables entre sí, es necesario que éstas se realicen dentro de un intervalo de tiempo reducido. Por ello el tamaño de las cámaras se limitó de modo tal que, procurando evitar alterar la disposición de las acículas, se lograra mantener una capacidad interna que permitiera realizar las mediciones en un tiempo razonable.

El diseño (Figura 4-2) consiste básicamente en un cilindro con dimensiones internas de 5 centímetros de diámetro por 28 de largo, fabricado de acrílico de 5 mm de espesor y

dividido longitudinalmente por la mitad de tal suerte que es posible abrirlo para introducir las hojas. Esta cámara sirve para realizar las mediciones en las especies que presentan las acículas más largas, como *P. oaxacana* y *P. pseudostrobus*. La capacidad interna de este cilindro es de 549 ml, lo cual permite al analizador de gases el recambio del aire contenido después de un ciclo de medición diferencial de un minuto (30 segundos de análisis del aire de fuera de la cámara y 30 segundos de análisis del aire que sale de la cámara). Se diseñó un cilindro similar pero con una longitud de 14 centímetros para realizar las mediciones en las especies de acículas más cortas como *P. chiapensis* y *P. ayacahuite*.

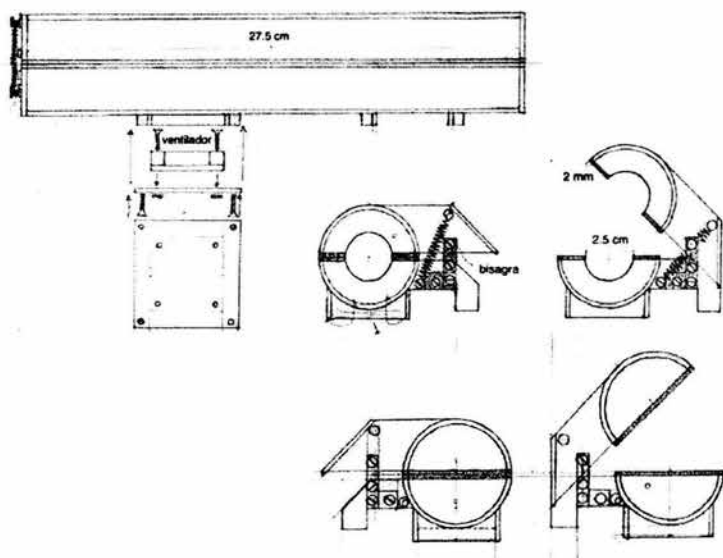


Figura 4-2. Diseño de las cámaras de intercambio gaseoso. Las entradas en las que se colocaron los ventiladores fueron selladas con pegamento par acrílico.

En ambos casos, en uno de los extremos de la cámara se encuentra una perforación de 2.5 cm. de diámetro para permitir que los fascículos se introduzcan en la cámara sin necesidad de colocar las acículas en un solo plano. Para reducir la posibilidad de que el aire externo influyese las mediciones, se añadió a ambas mitades de cada cámara una capa de espuma de poliuretano que permite amoldar las dimensiones de la entrada a las de un fascículo. En el caso de la cámara de mayor tamaño se adaptaron dos ventiladores de

procesadores de computadora para generar un flujo turbulento al interior de la cámara que garantice la confiabilidad de las mediciones. En el caso de la cámara pequeña, se instaló un solo ventilador con el mismo fin. Los ventiladores eléctricos que se instalaron no liberan ozono, con lo que se evita alterar las mediciones.

Ambas cámaras cuentan con un sistema de bisagras y resortes que permite abrirlas y cerrarlas herméticamente con la ayuda de un recubrimiento de tesamol que se colocó en los bordes. Estas cámaras fueron construidas en el Taller de Mecánica del Centro de Instrumentos de la UNAM.



Figura 4-3 Fotografía de medición de tasa fotosintética en *P. patula*

Determinación de la relación peso-área acicular para las especies estudiadas.

Se obtuvieron muestras del follaje de las especies a estudiar del *Pinetum Maximino Martínez* de la Universidad Autónoma de Chapingo, exceptuando *Pinus chiapensis* y *Pinus pringlei*. De estas dos últimas especies se obtuvieron muestras de follaje en la propia localidad de Capulalpan, determinándose la relación peso-área acicular después de la realización de las mediciones en campo siguiendo el mismo procedimiento que para el resto de las especies, el cual se describe a continuación.

Tras observar cortes transversales de las acículas se constató que la base de los fascículos describe una forma prácticamente circular y que la base de cada acícula es definida por tres lados: dos lados rectos, cada uno equivalente al radio del círculo definido por el fascículo; y un lado curvo, equivalente a una fracción del perímetro del círculo.

Para establecer un mecanismo sencillo de estimación del área de las acículas contenidas dentro de las cámaras de intercambio gaseoso, se utilizó un método que combina el presentado por Drew y Running (1975), que toma en cuenta la curvatura de uno de los lados de las agujas; y el método de Sandrino y Hernández (1986) en lo referente a establecer una correlación peso-área, aspecto muy empleado en estudios relacionados con la explotación forestal y considerado como válido en estudios de ecofisiología básica (Víctor Barradas, com. pers.).

El tamaño de la muestra de acículas necesarias para establecer la relación entre el peso y el área se determinó mediante el análisis de la variación en la media acumulada de la longitud de las acículas, al ser esta última un factor determinante en el área de las mismas.

Para todas las especies se encontró que la media acumulada se estabilizaba con una variación menor a 5% a partir de tamaños de muestra de alrededor de 10 acículas.

Para cada especie, se midió la longitud total y el peso de diferentes grupos de acículas progresivamente más grandes (1, 2, 3, ..., 20). De cada grupo de acículas, se seleccionó una al azar. De cada una de estas agujas se obtuvo un corte transversal del punto medio, lo suficientemente delgado como para ser visto en el microscopio y calcular su perímetro con precisión a partir de la medición de los lados rectos equivalentes al radio del fascículo. De este modo se calculó el área total de cada agrupación.

Por último se ajustó un modelo de regresión lineal simple peso-área acicular para cada especie, resultando en todos los casos valores de r superiores a 0.9 (Figura 4-3, A-E).

Esta correlación lineal fue útil para calcular el área foliar incluida en las mediciones, pero adicionalmente, la pendiente de estas regresiones constituye un índice llamado Proporción de Área Foliar (LAR por sus siglas en inglés) el cual ha sido empleado en comparaciones interespecíficas y ha demostrado ser útil al realizar inferencias de las características ecológicas de las especies (Grottkop, Rejmánek y Rost 2002).

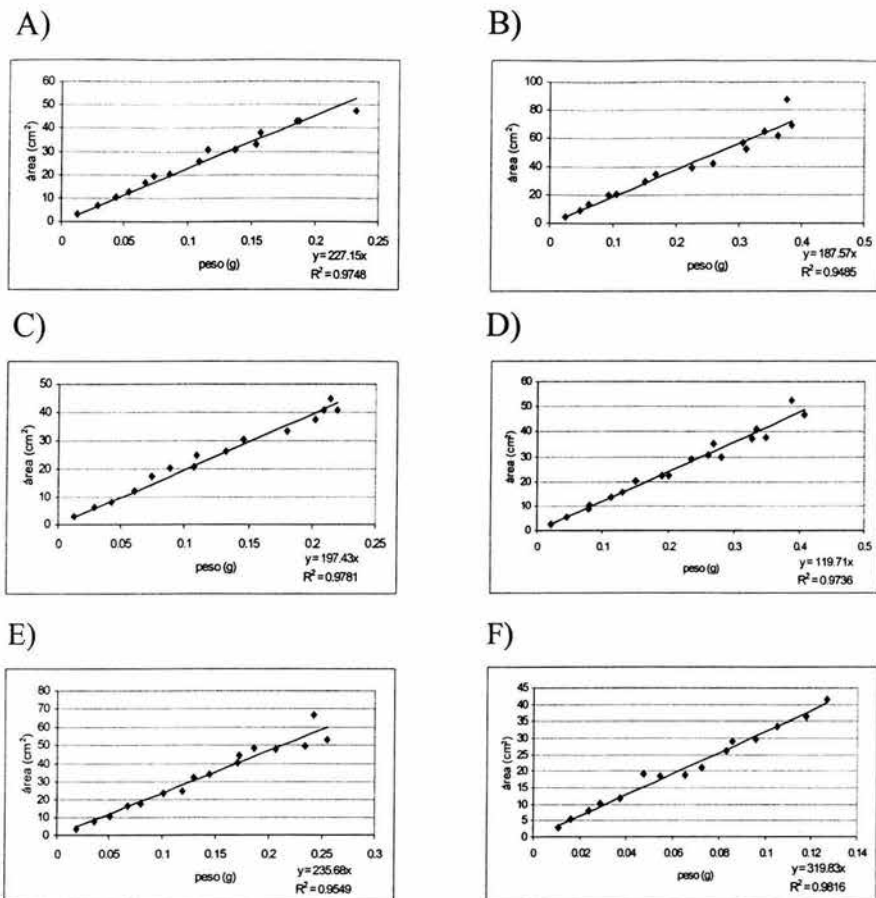


Figura 4-3. Regresiones lineales entre el peso húmedo y el área acicular; (A) *P. oaxacana*, (B) *P. pseudostrobus*, (C) *P. pringlei*, (D) *P. patula*, (E) *P. ayacahuite*, (F) *P. chiapensis*. $g_l = 13$ p < 0.025.

4.3 DISEÑO OBSERVACIONAL Y METODOLOGÍA DE CAMPO

Los estudios ecofisiológicos básicos en torno a las tasas fotosintéticas suelen incluir tamaños muestrales de 3 ó 4 plantas por especie, buscando sobre todo que las mediciones se puedan realizar en un periodo breve de tiempo y sean comparables (Barradas, com. pers.). Por ejemplo Reich y sus colaboradores (1995), emplearon entre 2 y 5 por especie en un estudio en el que compararon las pendientes de las rectas describen la correlación entre la capacidad

fotosintética (Amax) y el nitrógeno foliar en distintas especies de coníferas y de angiospermas.

En este trabajo el tamaño muestral ha quedado limitado, más que por la separación entre los individuos, por la dificultad para encontrar árboles juveniles o con las ramas lo suficientemente bajas para permitir su manipulación. Se estudió a dos individuos de cada especie, salvo en el caso de *P. ayacahuite* en el que sólo se localizó a un individuo con ramas bajas en el área de estudio. Cada árbol incluido, se halla separado por una distancia no mayor a 120 metros del árbol más lejano incluido en el estudio; asimismo la diferencia altitudinal entre los individuos es de 20 metros. Se realizaron dos colectas de datos en el mismo sitio de estudio.

Las primeras mediciones se realizaron el 3 y 4 de febrero de 2001 y proporcionaron datos de la tasa de asimilación de CO₂ y de la respuesta fotosintética a la luz de individuos de *P. chiapensis*, *P. ayacahuite*, *P. oaxacana*, *P. pseudostrobus* y *P. pringlei*. En este caso no se tomaron datos de humedad relativa y la falta de una cámara volumétrica para el porómetro de estado estable que se empleó no permitió obtener datos confiables de la transpiración foliar ni de la conductividad estomática por lo que estos datos no se presentan en la sección de resultados. La metodología usada para medir la tasa de asimilación de CO₂ es la que se describe más adelante.

Entre el 23 y el 26 de mayo de 2002 se realizó otra serie de mediciones siguiendo el patrón descrito a continuación, incorporando mediciones de dos individuos de *P. patula*, y midiendo la humedad relativa del aire junto con las demás variables. También se realizaron mediciones de un individuo adicional de *P. pseudostrobus* y de *P. oaxacana*.

Se tomaron los datos correspondientes a la asimilación de CO₂ en partes por millón, temperatura ambiental (Ta), intensidad de la radiación fotosintéticamente activa (RFA), humedad relativa del aire (HR), resistencia estomática (inverso de la conductividad) y transpiración foliar (TRP), para dos ramas de cada individuo, cada dos horas hasta completar cuatro mediciones por día; a partir de estos datos se calcularon las variables señaladas en la sección de objetivos. De cada rama se empleó una porción de follaje para la medición de la asimilación de CO₂ y, simultáneamente, otra porción proporcionó el resto de los datos. Algunos días las mediciones se iniciaron hasta después de las 11 del día debido a



las lluvias, pues la humedad afectaría los datos recabados, particularmente los referentes a conductividad y a transpiración.

En cada individuo se señaló la porción de follaje involucrada en la medición de la asimilación de CO₂, de modo que la cantidad de acículas involucradas se mantuviese constante. Al final del día, las acículas empleadas fueron cortadas y guardadas para el posterior cálculo del área foliar contenida en la cámara de intercambio gaseoso. Estas mediciones fueron realizadas empleando un analizador de gases por rayos infrarrojos marca CID modelo CI-301 PS, para el cual se diseñó y construyó la cámara de intercambio gaseoso.

Los datos del resto de las variables fueron tomados utilizando un porómetro de estado estable LI-COR mod LI-1600. En esta segunda serie de mediciones, se llevó una cámara volumétrica al campo, que permite conocer el área involucrada en las mediciones de cada especie. Estos datos fueron empleados en los análisis posteriores y son los que se presentan en la sección de resultados.

El cálculo de la tasa fotosintética (F_N) se realizó siguiendo la ecuación contenida en el manual del analizador de gases CID modelo CI-301 PS:

$$F_N (\mu\text{mol CO}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}) = (\text{ml correspondientes al flujo de aire}/60) * (273/(273 + \text{Temperatura ambiental } ^\circ\text{C})) * (0.735/\text{Presión atmosférica Ba}) * (1/22.41) * (10000/\text{área foliar cm}^2)$$

Caja 4-1. La tasa fotosintética neta y la asimilación neta de CO₂.

La tasa fotosintética sólo es medible de manera indirecta, a través de la tasa de asimilación neta de CO₂ por parte de las plantas. Los analizadores de gases por rayos infrarrojos miden el cambio en la concentración de CO₂ en el aire como resultado de la absorción de este gas por las hojas. En sentido estricto, en tanto que no se cuente con datos acerca de la actividad de la Rubisco, lo que se mide no es la tasa fotosintética como tal, sino el resultado del balance entre el CO₂ liberado y el CO₂ absorbido por la planta.

Se puede suponer que el CO₂ absorbido por las hojas es finalmente destinado a la fotosíntesis, por lo que en sentido amplio, la medición de la tasa de asimilación de CO₂ es equivalente a la tasa fotosintética neta (F_N) salvo en casos en los que contaminantes como el dióxido de azufre o el ozono afectan el funcionamiento de las enzimas relacionadas con el proceso de carboxilación.

Tanto la tasa fotosintética como la tasa de asimilación de CO₂ se pueden expresar como un flujo en $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Los datos de tasa fotosintética neta en pinos que se han reportado se han basado en la medición de la tasa de asimilación neta de CO₂ pero se reportan como F_N (Niinemets, 2002; Roberntz y Stockfors, 1998; Tselniker, Malinka y Korzhukin, 1998; Rundel y Yoder, 1998; Reich et al., 1995; James, Grace y Hoad, 1994; Lajtha y Getz, 1993; Carter y Smith, 1985; Linder y Troeng, 1980). En este trabajo se emplean los términos tasa fotosintética neta (F_N) y tasa fotosintética máxima (F_{max}) para resaltar su homología con los datos reportados en la literatura, pero no debe perderse de vista que las mediciones realizadas en el campo abarcaron solamente la tasa de asimilación neta de CO₂.

El inverso de la resistencia estomática es igual conductividad estomática (g_s), y a partir de las mediciones hechas en el campo se obtuvo en términos de un flujo en $\text{mg cm}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Se calculó la conductividad estomática g_s en términos de $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ a partir de los datos en $\text{mg cm}^{-2}\text{s}^{-1}$, de acuerdo con la ecuación presentada por Barradas (1994):

$$g_s (\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}) = (g_s \text{ mg cm}^{-2}\text{s}^{-1}) * (273/T_a + 273) * (P/101.3) * 0.446$$

Donde T_a es la temperatura ambiental en $^{\circ}\text{C}$ y P es la presión atmosférica en kPa. Esta conversión es necesaria para tener la conductividad estomática en una medida de cantidad de moléculas de gas por unidad de área por unidad de tiempo que sea comparable con otros flujos como la tasa de asimilación de CO_2 .

Datos fisiológicos de Picea abies

Los métodos comparativos filogenéticos requieren de contar con una reconstrucción de las relaciones filogenéticas del grupo estudiado. La reconstrucción de dichas relaciones requiere de un grupo externo. La confiabilidad de los resultados de los métodos comparativos se incrementa si se cuenta con información acerca de las características fenotípicas de uno o más grupos externos relacionados con las OTU's estudiadas.

Algunas de las características fisiológicas se reportan en la literatura de forma vaga y en ocasiones las diferencias en las condiciones previas de autosombreado y otros factores pueden hacer variar de manera importante los valores medidos y calculados para características como el punto de compensación (Niinemets, comunicación personal). Se utilizaron datos de las características fisiológicas de *Picea abies* obtenidas en diferentes referencias (Sellin, 2001a, 2001b; Roberntz, 1998; Tselniker, 1998; Niinemets, 1997; Falge, 1996; Niinemets y Kull, 1998), aunque se trata de una especie geográficamente distante y que se desenvuelve en un entorno diferente al de la localidad estudiada, se eligió como grupo externo para realizar los análisis de método comparativo, por la disponibilidad de secuencias comparables entre las especies de pinos estudiadas y esta. De manera más trascendente, *P. abies*, es una especie filogenéticamente más cercana al género *Pinus* que cualquiera de las especies de coníferas que encontramos en Capulalpan de Méndez.

4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Con el objeto de distinguir hasta que nivel (rama, individuo o especie) las mediciones obtenidas en el campo pueden ser consideradas como pertenecientes a una misma muestra, se realizaron pruebas de T de Student o de Mann-Wittney, dependiendo de la homogeneidad de las varianzas. Estas pruebas se aplicaron para todas las variables medidas. También se efectuó un análisis de varianza de la temperatura y la intensidad de la radiación fotosintéticamente activa (RFA) para verificar que las condiciones ambientales en las que se desarrollaron las observaciones eran, en términos generales, las mismas. De este modo se puso a prueba el supuesto de homogeneidad ambiental

Se efectuó una prueba de rango múltiple de diferencias mínimas significativas (LSD por sus siglas en inglés) para distinguir entre que especies se presentan diferencias significativas y reconocer los grupos de especies que presentan tasas fotosintéticas homogéneas. El mismo procedimiento se aplicó para comparar las tasas fotosintéticas máximas entre las diferentes especies, buscando incrementar el grado de detalle del análisis y aumentar en la medida de lo posible la claridad con la que se distinguen las diferencias entre las especies, pues dada la enorme variación que presentó la fotosíntesis durante el día, comparar solamente las medias de la tasa fotosintética podría ocultar las diferencias entre algunas especies.

Con el objetivo de conseguir un nivel de comparación más detallado, se trató de generar, hasta donde fue posible, un modelo para describir la variación de la tasa fotosintética de cada especie a lo largo del día. Se realizaron análisis de ajuste de modelos de curvas mediante el programa Table Curve 2d v3.0 (Jandel Scientific), facilitado por el laboratorio de Ecofisiología de la UNAM, con 300 ensayos de ajuste.

En este marco se efectuaron análisis de factores por extracción de componentes principales para agrupar las variables relacionadas con las fotosíntesis, en grupos ortogonales de determinantes de la respuesta fotosintética en cada especie mediante la aproximación de rotación maximizante de la varianza (*varimax*); la aproximación de rotación por *varimax* busca maximizar la varianza en las columnas de datos al extraer los factores ortogonales para incrementar el rigor estadístico del proceso de extracción (Sokal y Rohlf, 2000). Hecho esto, se emplearon análisis de regresión múltiple con el objeto distinguir el

factor explicativo de la mayor de la variación de la tasa fotosintética para cada especie. El mismo análisis se realizó para distinguir el factor explicativo de la mayor parte de la variación para todas las especies.

Se ajustó un modelo hiperbólico para describir la variación de la tasa fotosintética en función de la intensidad de la radiación fotosintéticamente activa (RFA) para cada especie, empleando el programa Table Curve 2d v.30. La ecuación de hipérbola, para cada especie, a partir de la cual el modelo en el programa fue de la forma:

$$y = (a x + b) / (c + x)$$

A partir de este modelo se calculó el punto de compensación (I_{min}), el punto de saturación (I_{max}), la tasa fotosintética en el punto de saturación (F_{sat}), y la eficiencia en la asimilación de fotones (α).

4.5 ESTIMACIÓN DE LA DISTANCIA FILOGENÉTICA ENTRE LAS ESPECIES

Se utilizaron secuencias de DNA de la *Madurasa K* (matK) de cloroplasto de las especies estudiadas obtenidas y proporcionadas por el Dr. David Gernandt (Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo; datos no publicados). Adicionalmente se obtuvo del Gene Bank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) la secuencia correspondiente a este mismo segmento de *Picea abies* (número de acceso: ABO-19862).

Las secuencias se alinearon utilizando el programa Se-Al v2.0a4 (Rambaut, 2002), identificándose un fragmento comparable de 1600 pb del intrón II comparables entre las especies estudiadas. Resultaron invariables 1502 sitios, mientras que 43 sitios fueron variables pero no informativos para la parsimonia y 55 sitios son informativos para métodos de parsimonia. Se decidió continuar trabajando con este marcador pues resultó el más variable de los marcadores interespecíficos disponibles para pinos (David Gernandt, comunicación personal), con la excepción del gene *Rbcl* (que codifica para la Ribulosa 1, 5-bisfosfato carboxilasa-oxigenasa), el que se descartó debido al riesgo de que se encuentre directamente relacionado con los caracteres funcionales que se analizaron dentro de la filogenia es mayor.

El criterio de máxima verosimilitud (LRT) fue usado para seleccionar el modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajusta a las secuencias de matK, mediante el programa Model Test 3.06 (Posada y Crandall, 1998). Las reconstrucciones filogenéticas se hicieron mediante dos métodos de distancia (UPGMA y N-J) y una construcción inicial que agrupa a *P. pseudostrobus* y *P. oaxacana*. Esta construcción está sustentada en otra reconstrucción realizada mediante análisis de parsimonia en la que se incluyeron 43 especies del género *Pinus* representantes de todas las subsecciones del género (datos no mostrados). Del mismo modo, Farjon (1997) ha insistido en considerar a *P. oaxacana* como una variedad de *P. pseudostrobus* llamada var. *apulcensis*. El soporte estadístico de las ramas se obtuvo mediante análisis de bootstrap (1000 réplicas) y se obtuvieron estimados de distancia de acuerdo con el modelo F81+ γ . Estos resultados fueron usados en los posteriores análisis comparativos.

4.6 ANÁLISIS COMPARATIVOS FILOGENÉTICOS

Se buscó tener en primer lugar, una reconstrucción de los posibles estados ancestrales de los caracteres estudiados para entonces poder evaluar los cambios en dichos caracteres y el componente filogenético de la variación fenotípica observada.

Se realizó una serie de análisis comparativos utilizando el programa COMPARE 4.4 (Martins, 2001). También se estimaron los estados ancestrales de las variables medidas empleando el modelo lineal generalizado desarrollado por Martins (1996) e incluido en el programa. Esta reconstrucción de estados ancestrales fue realizada bajo dos modelos de evolución fenotípica, el lineal o por movimiento Browniano y el exponencial. En el modelo de evolución exponencial se supone una restricción inicial al cambio en las características fenotípicas, a través de un parámetro que se incorpora en el modelo modificando la media ponderada en la que se basa el modelo de evolución lineal, dicho parámetro va de 0 a 1. Mientras el parámetro sea más cercano a 0, el estimado diferirá menos del modelo de evolución lineal (Martins, 2001; Martins, 1996), para el cual el valor de este parámetro, llamado de "intensidad de la fuerza restrictiva" es igual a cero. En sentido amplio, este parámetro es una forma de incorporar el efecto de fenómenos como la selección estabilizadora o restricciones filogenéticas a la variación, que podrían restringir el intervalo en el que pueden cambiar los valores fenotípicos en los nodos más basales.

Asimismo, se estimó la inercia filogenética en los caracteres utilizando el Modelo de Autocorrelación Espacial (Cheverud et al., 1985). Finalmente se obtuvo contrastes filogenéticamente independientes utilizando un modelo de movimiento Browniano y por otra parte utilizando el modelo lineal generalizado (Martins, 1997). Se descartó la estimación del componente filogenético de los valores fenotípicos mediante el modelo mezclado de Lynch (1991) debido a que existen varios problemas para implementar su cálculo correcto y el software mejor optimizado hasta el momento para calcular los estadísticos de máxima verosimilitud del modelo, COMPARE, comienza a presentar errores en este cálculo a partir de la inclusión de menos de 10 especies (Emilia Martins, com. pers.).

“... en la historia natural es necesario excavar los archivos del mundo, extraer viejos monumentos de las entrañas de la tierra, recolectar sus restos y reunir en un único cuerpo de prueba todos los indicios de los cambios físicos que nos permiten retroceder hasta las diferentes épocas de la naturaleza. Ésta es la única manera de fijar puntos en la inmensidad del espacio, y de colocar un determinado número de hitos en la ruta eterna del tiempo.”

Louis Leclerc Conde de Buffon. “Des époques de la nature”

5. RESULTADOS

5.1. TASA FOTOSINTÉTICA

A partir del cálculo de la tasa fotosintética neta para cada medición realizada, fue posible obtener un estimado de la tasa fotosintética máxima (F_{MAX}) al promediarse las tasas fotosintéticas más altas para cada especie. Lo mismo se hizo en el caso conductividad estomática máxima (g_{sMAX}), cuyos valores se incluyen junto a los de F_{MAX} en la Tabla 5-1 para facilitar su comparación. Los datos precisos de la variación de la tasa fotosintética a lo largo del día se incluyen en el Apéndice 1.

Exceptuando a *P. pseudostrobus*, se observaron menores fotosíntesis máximas en la serie de mediciones realizada en mayo de 2002 (temporada seca), aunque no se encontraron diferencias significativas entre ambas series de mediciones salvo para *P. pringlei* (Mann-Wittney *U*, Apéndice 2-2). Esto permitió incluir los datos de la tasa fotosintética en una sola muestra y adicionalmente la consistencia en la respuesta fotosintética a la luz en ambas series de mediciones permitió ajustar una sola curva de respuesta para cada especie como se explicará posteriormente.

Las variables ambientales medidas no mostraron diferencias significativas de un día de medición a otro, pero la temperatura ambiental registrada fue significativamente más alta en 2003 que en 2002 (*T* de Student y Mann-Wittney *U*, Apéndice 2-2) Aunque no se tienen datos de humedad relativa para febrero de 2001, se observó un grado de sequía mayor para mayo de 2002, por tratarse del final de la temporada seca en el bosque cercano a Capulalpan.

Los valores de F_N y de g_s que se obtuvieron en este trabajo y que se presentan en la Tabla 5-1 abarcan todo el rango de tasas reportadas en la literatura para el género *Pinus*.

Tabla 5-1 Comparación de la tasa fotosintética máxima (F_{MAX}) y de conductividad estomática máxima (g_{sMAX}). Los datos provienen corresponden a (1) Rundel y Yoder, 1998; (2) Atsushi et al., 2000; (3) Grulke y Reztalf, 2001; (4) James, Grace y Hoad, 1994; (5) Laitinen et al., 2000; (6) Manes, 1997; (7) Obtenidos en este trabajo.

Especie	F_{MAX} ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	g_{sMAX} ($\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)
<i>Pinus aristata</i> (1)	4.8	127.9
<i>P. densiflora</i> (2)	16	130
<i>P. ponderosa</i> (1)	12.8	188
<i>P. ponderosa</i> (3)	7-8	98
<i>P. ponderosa</i> (1)	3-4	-
<i>P. radiata</i> (1)	14.2	378
<i>P. strobus</i> (1)	8	80
<i>P. sylvestris</i> (4)	24.4	-
<i>P. sylvestris</i> (5)	17	-
<i>P. sylvestris</i> (1)	10.3	228
<i>P. sylvestris</i> (1)	7.7	159
<i>P. taeda</i> (1)	14.2	420
<i>P. pinea</i> (6)	14.5	-
<i>P. patula</i> (7, mayo 2002)	-6.4059	66.90
<i>P. pseudostrobus</i> (7, febrero 2001)	1.2	-
<i>P. pseudostrobus</i> (7, mayo 2002)	6.66	25.185
<i>P. ayacahuite</i> (7, febrero 2001)	5.9	-
<i>P. ayacahuite</i> (7, mayo 2002)	1.03	15.9
<i>P. pringlei</i> (7, febrero 2001)	6.6	-
<i>P. pringlei</i> (7, mayo 2002)	1.67	66.89
<i>P. oaxacana</i> (7, febrero 2001)	10.7	-
<i>P. oaxacana</i> (7, mayo 2002)	7.244	41.98
<i>P. chiapensis</i> (7, febrero 2001)	18.8	-
<i>P. chiapensis</i> (7, mayo 2002)	17.536	4.178

Análisis de la variación para la fotosíntesis y variables relacionadas.

Como ya se ha señalado, las mediciones de la conductividad estomática y de transpiración foliar realizadas en Febrero de 2001 se hicieron con una cámara para hojas planas. Al mismo tiempo, en esa primera serie no se incluyeron árboles de *P. patula* ni mediciones de la humedad relativa del aire. Por estas razones, todos los datos que se presentan corresponden a las mediciones realizadas en mayo de 2002.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en las variables de respuesta exhibidas por las ramas de un mismo individuo, con la excepción de la tasa fotosintética (F_N) para uno de los individuos de *P. pseudostrobus*. Para esta variable las ramas de *P. pseudostrobus* difirieron significativamente entre sí ($T = 4.845940609$, $p = 0.00469$). En el resto de las variables, la prueba de Mann-Wittney no reveló diferencias significativas entre

las medianas de cada muestra; a pesar de que se encontraron en algunos casos varianzas fuertemente heterogéneas de una rama a otra (Apéndice 2-1).

Al comparar las variables al nivel de individuos de una misma especie se repitió la misma tendencia general. Es decir, las variables de respuesta mostradas por los individuos de una misma especie no presentaron diferencias significativas entre sí en casi todos los casos. Sin embargo, en el caso de la transpiración y de la conductividad estomática de *P. patula* se encontraron diferencias significativas entre los dos individuos incluidos en el estudio ($T= 3.816, p= 0.0024$ y $T= 3.571, p= 0.0038$, respectivamente). En los casos en los que se hallaron diferencias significativas, entre individuos o entre ramas, se calcularon los promedios de las variables fisiológicas para esas especies, a partir de los promedios de los individuos y ramas. En el resto de los casos, las medias muestrales se calcularon incorporando todas las mediciones realizadas sin promediar.

No se registraron diferencias estadísticamente significativas en la humedad relativa del aire circundante entre las diferentes especies. Los intervalos de temperatura y de intensidad de la radiación fotosintéticamente activa (RFA) registrados mostraron diferencias significativas entre las especies incluidas en el estudio como se muestra en la Tabla 5-2. Ambas variables fueron incluidas en los análisis comparativos filogenéticos para evaluar la posible correlación de éstas con los rasgos fisiológicos.

Tabla 5-2. Comparación de las condiciones ambientales de temperatura (Ta), radiación fotosintéticamente activa (RFA) y humedad relativa del aire (HR) para cada especie. Se indica el nivel de significancia de las diferencias encontradas entre las variables ambientales medidas para cada especie. Los grupos homogéneos indicados corresponden a los grupos de especies que no mostraron diferencias significativas para cada variable en un nivel de significancia de 0.05. En el caso de la humedad relativa del aire no se encontraron diferencias significativas por lo que las especies no se agrupan por separado.

	Ta			RFA			HR
$F_{5,89}$	2.9760077			3.029603243			1.21880579
Nivel de significancia	0.0157			0.0143			0.307
Grupos homogéneos	1	2	3	1	2	3	
<i>P. oaxacana</i>		X	X	X	X		
<i>P. pseudostrobus</i>	X	X			X	X	
<i>P. pringlei</i>			X			X	
<i>P. patula</i>		X	X	X			
<i>P. ayacahuite</i>	X	X			X	X	
<i>P. chiapensis</i>	X			X	X	X	

Análisis de varianza de las variables fisiológicas

Mediante el ANOVA se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las variables fisiológicas medidas en las diferentes especies a excepción de la evapotranspiración (TRP). Las pruebas de rango múltiple (*Least Significant Differences*; Sokal y Rohlf, 2000) permitieron distinguir los grupos de especies entre los que hay diferencias significativas (ver Tabla 5-3).

Se encontraron diferencias altamente significativas ($p = 0.00001$) en la variación de la tasa fotosintética (F_N) a lo largo del día de las especies estudiadas resultando formados tres grupos homogéneos (Tabla 5-3 A). En estos grupos, *P. patula* y *P. pringlei* forman un par con F_N estadísticamente iguales; *P. pseudostrobus*, *P. oaxacana* y *P. ayacahuite* forman un grupo homogéneo en cuanto a sus F_N medias; por último, *P. ayacahuite* y *P. chiapensis*, conforman otro cuyas tasas fotosintéticas no muestran diferencias estadísticamente significativas.

La variación en la conductividad estomática (g_s) también mostró diferencias estadísticamente significativas, aunque estas se agruparon en tres grupos diferentes (Tabla 5-3 B). El resultado del cociente de F_N y TRP es la eficiencia en el uso de agua (WUE), donde se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las especies, aunque sólo se distinguen dos posibles grupos diferentes con un grado de significancia menor ($p = 0.015$) que en el caso de F_N .

Los grupos de especies que muestran diferencias estadísticamente significativas varían de una variable fisiológica a otra. La conductividad estomática es una variable que incide en la F_N debido a que incide entre otras cosas en la concentración intracelular de CO_2 (Niinemets, 2000; Niinemets, 1997), sin embargo, aunque las especies difirieron tanto en la tasa fotosintética como en la conductividad estomática, los grupos de especies que se diferencian entre sí no son los mismos.

Tabla 5-3. Resultados de las pruebas de ANOVA para las variables fisiológicas. Se observa que las diferencias existen entre diferentes especies dependiendo de las variables analizadas; tasa fotosintética neta (F_N), conductividad estomática (g_s) transpiración foliar (TRP) y eficiencia en el uso de agua (WUE). En este análisis se incorporó todos los valores registrados para cada característica fisiológica.

A) F_N				
$F_{5,89} = 10.142$ $p = 0.00001$	Grupos homogéneos			
		1	2	3
	<i>P. patula</i>	X		
	<i>P. pringlei</i>	X		
	<i>P. pseudostrobus</i>		X	
	<i>P. oaxacana</i>		X	
	<i>P. ayacahuite</i>		X	X
	<i>P. chiapensis</i>			X
B) g_s				
$F_{5,89} = 2.403$ $p = 0.043$	Grupos homogéneos			
		1	2	3
	<i>P. ayacahuite</i>	X		
	<i>P. chiapensis</i>	X	X	
	<i>P. patula</i>	X	X	X
	<i>P. oaxacana</i>		X	X
	<i>P. pseudostrobus</i>		X	X
	<i>P. pringlei</i>			X
C) TRP				
$F_{5,89} = 1.421$ $p = 0.2243$	Grupos homogéneos			
		1		
	<i>P. ayacahuite</i>	X		
	<i>P. chiapensis</i>	X		
	<i>P. patula</i>	X		
	<i>P. oaxacana</i>	X		
	<i>P. pseudostrobus</i>	X		
	<i>P. pringlei</i>	X		
D) WUE				
$F_{5,89} = 2.967$ $p = 0.0159$	Grupos homogéneos			
		1	2	
	<i>P. pringlei</i>	X		
	<i>P. patula</i>	X	X	
	<i>P. pseudostrobus</i>		X	
	<i>P. oaxacana</i>		X	
	<i>P. chiapensis</i>		X	
	<i>P. ayacahuite</i>		X	

Análisis de la varianza para fotosíntesis y conductividad estomática máximas

Al analizar la fotosíntesis máxima (F_{MAX}) también se encontraron diferencias altamente significativas entre las distintas especies ($F_{5,85} = 7.94, p < 0.00005$). Sin embargo, la prueba de

LSD para F_{MAX} no arrojó un mayor detalle en los grupos homogéneos (Tabla 5-4), en comparación con el análisis de los datos de la fotosíntesis a lo largo del día. Los grupos homogéneos que se formaron son diferentes de los formados al analizar el intervalo de variación de F_N durante el día.

Cabe señalar que *P. chiapensis* presenta una F_{MAX} completamente diferente del resto de las especies y que *P. pringlei* y *P. ayacahuite* formaron grupos homogéneos tanto con *P. patula* como con *P. oaxacana* y *P. pseudostrobis*.

Tabla 5-4. Grupos homogéneos extraídos mediante la prueba LSD conformados en función de la tasa fotosintética máxima mostrada por cada especie.

	F_{MAX} media	1	2	3
<i>P. patula</i>	-6.406	X		
<i>P. pringlei</i>	1.034	X	X	
<i>P. ayacahuite</i>	1.670	X	X	
<i>P. pseudostrobis</i>	6.660		X	
<i>P. oaxacana</i>	7.244		X	
<i>P. chiapensis</i>	17.536			X

En el caso de la conductividad estomática máxima, contrariamente a lo que se esperaba, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes especies ($F_{5,18} = 1.905$, $p = 0.143$), por lo que no se realizaron pruebas de rango múltiple para esta variable.

Es importante señalar que la temperatura asociada a F_{MAX} para cada especie, fue más baja que la temperatura máxima registrada durante las mediciones y mayor que la temperatura más baja. Esto hace suponer que F_{MAX} no habría estado limitada por los intervalos de temperatura en los que se tomaron los datos.

En torno a los factores que explican la respuesta fotosintética para cada especie

Interacciones entre los factores relacionados con la fotosíntesis

Los análisis de factores para cada especie permitieron identificar las variables medidas que presentan interacciones. La extracción de los factores se realizó usando el método de componentes principales con rotación varimax (Sokal y Rohlf, 2000) con el objeto de maximizar las varianzas e incrementar así la rigurosidad con la que se estableció la significancia de las interacciones entre los factores. En estos análisis se incorporó la hora del

día en la que se realizó la medición y la intensidad de la RFA por separado para tratar de controlar posibles efectos de la ubicación de los árboles, pues el ángulo de incidencia de la luz varía con la hora del día. Se encontró una gran heterogeneidad en la interacción entre variables para cada especie, aunque se detectó una interacción entre g_s y TRP para las 6 especies (ver Tabla 5-5), lo cual es razonable, pues la mayor parte de la transpiración foliar se da a través de los estomas (Palladry, et al., 1995). En este análisis no se sometió a evaluación de significancia estadística los porcentajes de la varianza explicada por cada grupo de interacción.

Mediante este análisis se identificó para el caso de *P. oaxacana* dos factores ortogonales, uno agrupando F_N , la temperatura y WUE y otra interacción en la variación de g_s y TRP. Para *P. pseudostrobus*, especie cercanamente emparentada con *P. oaxacana*, se identificaron 4 grupos de interacción: i) humedad relativa, temperatura y hora de la medición; ii) g_s y TRP; iii) F_N y WUE; iv) la intensidad de RFA fue extraída como un factor por separado.

En el caso de *P. pringlei*, además del componente TRP- g_s , se identificó otro factor en el que quedaron incluidos F_N , la hora de la medición, la temperatura y la humedad relativa del aire. En *P. patula* la hora de la realización de las mediciones, la intensidad de RFA, la temperatura y WUE fueron agrupables en un factor ortogonal; por otra parte, TRP y g_s volvieron a conformar un componente.

En *P. ayacahuite*, la interacción entre g_s , TRP y RFA resultó significativa, otro factor fue conformado por la tasa fotosintética y WUE, el tercer factor extraído fue la interacción de la temperatura y la humedad relativa del aire (HR). En el otro pino blando incluido en el estudio, *P. chiapensis* se detectaron varios grupos de interacción significativa; el primer factor extraído es el de la temperatura, la humedad relativa del aire y la RFA; TRP y g_s ; WUE y F_N son otro componente y, por último, se extrajo la hora de las mediciones como un componente ortogonal más.

Tabla 5-5. Factores extraídos mediante análisis de componentes principales. Se revisó la posible interacción incluyendo todas las variables ambientales y fisiológicas medidas. hora a la que se realizó la medición (Hora), tasa fotosintética neta (F_N), T °C, humedad relativa del aire (HR), radiación fotosintéticamente activa (RFA), evapotranspiración (TRP) y eficiencia en el uso de agua (WUE). Los porcentajes de la varianza explicada no son sometidos aquí a la evaluación de su significancia estadística (ver Tabla 5-7). Los factores extraídos para cada especie se distinguen con números sobre sus respectivas columnas.

	<i>P. oaxacana</i>		<i>P. pseudostrobus</i>				<i>P. pringlei</i>		<i>P. patula</i>		<i>P. ayacahuite</i>			<i>P. chiapensis</i>				
	1	2	1	2	3	4	1	2	1	2	1	2	3	1	2	3	4	
Hora			X				X		X									X
F_N	X				X		X					X					X	
T °C	X		X				X		X				X	X				
HR			X				X						X	X				
RFA						X			X		X			X				
TRP		X		X				X		X	X					X		
g_s		X		X				X		X	X				X			
WUE	X				X		X		X			X					X	
Varianza explicada (%)	39	30	29	27	20	15	48	27	47	31	41	29	24	29	25	23	15	

El hecho de que para cada especie se encuentren diferentes cantidades de factores que agrupan a las variables fisiológicas y del medio está relacionado con que el grado de interacción entre estos varía para las diferentes especies.

Se realizó también el análisis de factores incluyendo todas las mediciones sin tomar en cuenta la especie de la que provenían, con el objetivo de posteriormente revisar que parte de la variación en la tasa fotosintética es explicada por las diferentes variables. Estas variables ambientales y de intercambio gaseoso fueron agrupadas por el análisis de factores en tres grupos (Tabla 5-6). En este nivel de análisis, g_s y TRP también mostraron una interacción significativa y conformaron un solo factor; los otros dos componentes extraídos incluyeron F_N , la humedad relativa del aire y WUE; y por otra parte la RFA.

Tabla 5-6. Factores extraídos mediante análisis de componentes principales para la tasas fotosintética sin distinción de especies.

Variables	Factores		
	1	2	3
Hora			
F_N	X		
T° C			
HR	X		
RFA			X
TRP		X	
g_s		X	
WUE	X		
Varianza explicada (%)	30	25	20

Análisis de regresión múltiple

Ubicados los grupos de variables ortogonales, se tomó una variable de cada grupo para cada especie y se realizaron análisis de regresión múltiple con F_N como variable dependiente. Éstos permitieron evaluar el porcentaje de la variación en la tasa fotosintética explicado por cada uno de esos grupos ortogonales. Con el fin de evitar redundancia en el análisis, WUE no se incluyó en la regresión múltiple cuando F_N se había agrupado ésta en un solo factor ortogonal.

Sólo se encontró significancia estadística en los porcentajes de la variación explicados en 3 de las 6 especies analizadas. Para estas tres especies (*P. oaxacana*, *P. pringlei* y *P. patula*) se encontró que el factor que incluye a la temperatura explica alrededor de la mitad de la varianza diaria en la tasa fotosintética (Tabla 5-7).

En el caso de *P. patula*, la regresión lineal múltiple dio un valor significativo de coeficiente beta para el grupo de variables que incluye la evapotranspiración (TRP) y la conductividad estomática (g_s). En esta última especie la temperatura explica el 52% de la variación en la tasa fotosintética, mientras que el conjunto TRP- g_s explicaría el 53% de la variación, pero la pendiente de la regresión es negativa.

En *P. pringlei* el factor que incluye a la temperatura explicó la mayor parte de la variación en F_N , con un coeficiente beta de 0.66. Este grupo de variables incluye, además de la temperatura, a la humedad relativa y la hora del día a la que se tomó la medición.

Tabla 5-7. Factores explicativos de la F_N obtenidos por regresión lineal múltiple.

En la columna de los factores explicativos se incluyen los grupos de variables para los que el análisis de factores detectó una interacción significativa, se indica en primer término la variable del grupo en la que se basó el análisis de regresión múltiple. En cada caso se incluye la significancia estadística p de cada factor explicativo de F_N .

	Factores explicativos de F_N	Coefficiente Beta	$T(^*)$	P
<i>P. oaxacana</i>	T °C	0.528	2.541	0.018
	TRP- g_s	0.025	0.119	0.906
<i>P. pringlei</i>	T °C-HR-hora	0.665	2.993	0.013
	TRP- g_s	0.212	0.953	0.363
<i>P. patula</i>	T °C-RFA-hora	0.528	2.647	0.023
	TRP-g_s	-0.532	-2.668	0.022
<i>P. pseudostrobos</i>	T °C-HR-hora	-0.156	-0.577	0.574
	TRP- g_s	-0.024	-0.090	0.930
	RFA	-0.250	-0.933	0.368
<i>P. ayacahuite</i>	T °C-HR	-0.062	-0.124	0.907
	TRP- g_s	-0.486	-0.974	0.385
<i>P. chiapensis</i>	Hora	-0.273	-0.962	0.355
	T°C-HR-RFA	-0.096	-0.328	0.749
	TRP- g_s	-0.143	-0.496	0.629

(*) Los grados de libertad para el estadístico T para cada especie son: *P. oaxacana* $gl=24$, *P. patula* $gl=9$, *P. pringlei* $gl=9$, *P. pseudostrobos* $gl=13$, *P. ayacahuite* $gl=5$, *P. chiapensis* $gl=12$.

En el resto de las especies ninguno de los grupos de variables incluidos en el análisis resultó estadísticamente significativo para la explicación lineal de la varianza en F_N . Tampoco resultó estadísticamente significativa la reducción conjunta en la variación total de la variable dependiente debida a las variables independientes.

Al realizarse el análisis de regresión múltiple general, incluyendo todas las mediciones realizadas independientemente la especie de la que provenían, la humedad relativa del aire (HR) resultó ser el único factor que explicó significativamente un porcentaje de la variación total en F_N , el coeficiente beta fue de -0.52 ($T_{(91)} = -5.733$, $p = 1.27 \times 10^{-7}$). Los otros dos componentes extraídos de todas las mediciones, RFA y TRP- g_s , no mostraron significancia estadística como factores explicativos de la variación de F_N .

Estimación de la fijación total diaria de CO₂

No se logró ajustar un modelo de forma estadísticamente significativa para ninguna de las especies estudiadas ni siquiera incluyendo los datos de las dos salidas al campo. Esto se debió, en parte al escaso número de réplicas para las mediciones de cada hora del día, de cada día, y al amplio intervalo de variación en las condiciones ambientales de una hora de medición a otra. Adicionalmente los datos de este estudio se realizaron en apenas 5 días, es decir, el número de réplicas por día es muy pequeño.

Respuesta fotosintética a la luz

La respuesta de la tasa fotosintética a la intensidad de la radiación fotosintéticamente activa (RFA), se ajustó a un modelo hiperbólico de forma estadísticamente significativa para todas las especies estudiadas, con la excepción de *P. ayacahuite*, especie para la que esta relación no resultó no significativa ($p= 0.08$, ver Tabla 5-8). Todas las ecuaciones ajustadas incluyeron los datos de las dos salidas al campo pues al realizarse los análisis se observó que las curvas de respuesta a la luz de las dos fechas de medición fueron similares, por lo que analizarlas juntas incrementó la significancia de las ecuaciones.

Se eliminaron algunas mediciones anómalas que se alejaban de las ecuaciones obtenidas mediante el programa Table Curve 2d v3.0 (Jandel Scientific; Figura 5-1), lo cual se penalizó con la pérdida de grados de libertad y un incremento en el error estándar de cada uno de los parámetros de la ecuación. Los grados de libertad correspondientes a cada especie variaron debido a que la cantidad total de datos acumulados y de datos anómalos excluidos del ajuste para cada especie fue diferente.

El ajuste de estas ecuaciones permitió obtener estimaciones de características fisiológicas importantes. Los valores estimados para el punto de compensación variaron de una RFA de $25.7 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ estimada para *P. chiapensis* hasta una RFA de $3743 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ calculados para *P. patula*, especie para la que no se registraron tasas fotosintéticas positivas en las mediciones realizadas. Además en el caso de *P. patula*, la solución de la ecuación en el punto de compensación corresponde a la parte gemela de la hipérbola y, aunque se puede considerar que, a partir de los datos con que se cuenta, no existe un punto de compensación real; se incluyó este dato para poder realizar ulteriores comparaciones. Por su parte, 5 de las 6 especies estudiadas resultaron con valores de punto de compensación inferiores a 200

$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Estos valores de punto de compensación indican que para la mayor parte de las especies estudiadas hay una actividad fotosintética importante aún a bajas intensidades de luz.

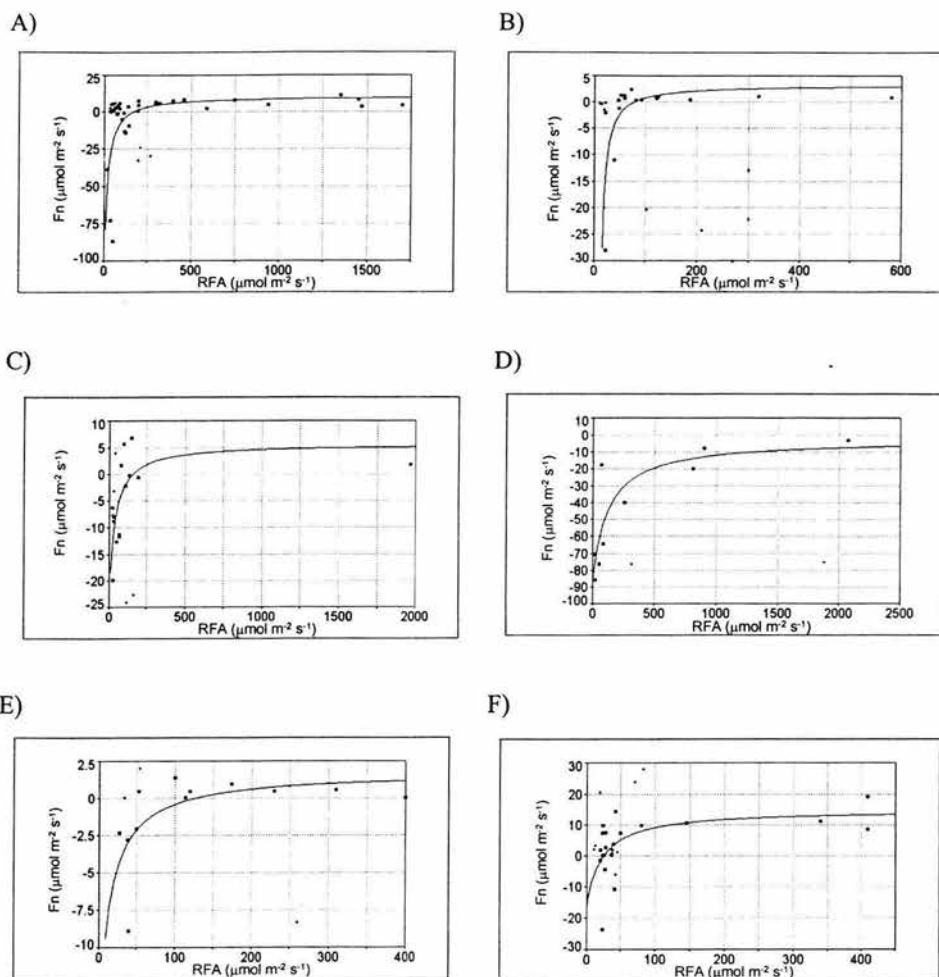


Figura 5-1. Respuesta fotosintética a la luz. A) *P. oaxacana*, B) *P. pseudostrobilus*, C) *P. pringlei*, D) *P. patula*, E) *P. ayacahuite*, F) *P. chiapensis*. Las mediciones anómalas no consideradas en el ajuste de la hipérbola se indican con [+]. Nótese que las escalas varían de un gráfico a otro.

Tabla 5-8. Respuesta de F_N a la radiación fotosintéticamente activa (RFA). Las ecuaciones, así como los estadísticos de significancia que se presentan corresponden a los modelos graficados en la figura 5-1.

	Parámetros de la ecuación $F_N = (aRFA + b) / (c + RFA)$			Estadísticos de la ecuación ajustada		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>C</i>	grados de libertad	Estadístico <i>F</i>	nivel de significancia
<i>P. oaxacana</i>	10.26	-1832.38	12.12	2, 29	8.23321	0.00147
<i>P. pseudostrobis</i>	3.20	-259.43	-9.25	2, 13	5.4568	0.01903
<i>P. pringlei</i>	5.59	-908.19	34.85	2, 11	5.16423	0.02620
<i>P. patula</i>	-2.91	-10884	123.24	2, 6	8.03057	0.02012
<i>P. ayacahuite</i>	1.75	-225.05	13.23	2, 9	3.21734	0.08828
<i>P. chiapensis</i>	14.77	-380.87	23.28	2, 17	3.70414	0.04621

Los puntos de intensidad lumínica de saturación variaron de 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ calculados nuevamente para *P. chiapensis*, hasta alrededor de 2000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ estimados para *P. pringlei* y *P. patula*. Puntos de saturación relativamente bajos han sido considerados indicadores de alta eficiencia en el uso de la RFA incidente, sobretodo cuando van asociados a F_N altas (Teskey et al., 1995; Salisbury y Ross, 1992; Jones, 1992).

Dado que son resultado de una estimación hecha a partir de una ecuación, los valores calculados de la tasa fotosintética en el punto de saturación (F_{SAT}) para cada especie, no coinciden con los valores registrados de tasa fotosintética máxima (F_{MAX}), aunque se dentro del intervalo de ± 2 la varianza de la F_{MAX} . La sensibilidad a la luz α , entendida como la cantidad de $\mu\text{mol CO}_2$ fijadas por cada μmol de cuantos asimilada antes de que se asintótica la respuesta fotosintética a la luz, también fue calculada (Tabla 5-9).

Tabla 5-9. Características de la respuesta fotosintética a la luz. Fueron calculadas para cada especie de acuerdo con las ecuaciones ajustadas.

	Punto de compensación	Punto de saturación	F_N en punto de saturación	α
<i>P. oaxacana</i>	178.512	1700	9.122	0.0083
<i>P. pseudostrobis</i>	81.104	580	2.796	0.0099
<i>P. pringlei</i>	162.566	1970	5.036	0.0104
<i>P. patula</i>	3743.651	2070	-7.706	-0.0003
<i>P. ayacahuite</i>	128.865	410	1.146	0.0075
<i>P. chiapensis</i>	25.789	400	13.096	0.1529

Es importante señalar que aunque el ajuste del modelo de respuesta de F_N a RFA resultó estadísticamente significativo, en el caso de *P. patula* fue el que se basó en menos datos. Además, para el resto de las especies se incluyeron datos de dos años distintos, lo cual hace suponer que los ajustes son más representativos de la respuesta fotosintética a la luz de estas últimas.

Resumen de características fisiológicas

Los análisis estadísticos presentados en esta sección permitieron seleccionar las características fisiológicas que se incluyeron en los análisis comparativos posteriores (Tabla 5-10). Se excluyó de la comparación la humedad relativa del aire asociada a las variables fisiológicas, pues no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los intervalos de esta variable en los que vive cada especie. Se incluyeron las otras dos variables físicas medidas, T, AC y RFA. Ya se ha señalado que se encontraron diferencias significativas en los intervalos de temperatura en los que se midieron las variables fisiológicas de las diferentes especies, la forma en la que se incluyó esta variable fue la temperatura asociada a F_{MAX} (T, AC y F_{MAX}) en aras de verificar la posible correlación entre esta temperatura y algún componente de la respuesta fotosintética.

Se seleccionó la tasa fotosintética máxima (F_{MAX}) para realizar los análisis filogenéticos comparativos posteriores porque la varianza de la tasa fotosintética a lo largo del día es demasiado grande para cada especie y heterogénea entre los individuos de una misma especie. Siguiendo el mismo criterio se seleccionó la conductividad estomática máxima (g_{sMAX}) para efectuar comparaciones posteriores. Adicionalmente, en la literatura es más frecuente que se reporten F_{MAX} y g_{sMAX} , lo cual posibilitó la comparación con los datos publicados de *Picea abies* como grupo externo.

Se prefirió incorporar las características fisiológicas de la respuesta fotosintética a la luz en lugar de los parámetros de la ecuación que la describen, pues las primeras tienen un significado biológico más directo al dar información acerca de la intensidad de RFA mínima para una tasa fotosintética neta positiva (punto de compensación), la intensidad de RFA a partir de la cual se asintotiza el incremento en F_N (Punto de saturación), la tasa fotosintética en el punto de saturación y la sensibilidad al incremento en la intensidad de la luz (α). La característica, morfológica que se incluyó en el análisis fue la pendiente de la relación lineal

entre el peso y el área foliar, la cual es equivalente al Área Foliar Específica (AFE) expresado en $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$, que se reporta en la literatura por Grottkop (2002).

Tabla 5-10. Variables fisiológicas para las seis especies estudiadas y *Picea abies* como grupo externo. Las variables se expresan en las siguientes unidades: F_{MAX} y F_{N} en saturación ($\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), g_{SMAX} ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), TRP media ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), WUE media (mmol CO_2 fijadas/ $\text{mmol H}_2\text{O}$ transpiradas), índice de área foliar específica (AFE, $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$) punto de compensación y Punto de saturación (RFA en μmol de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), sensibilidad a la luz α ($\mu\text{mol CO}_2$ fijadas/ μmol fotones asimilados).

Especie	F_{MAX}	g_{SMAX}	TRP media	WUE media	AFE	T°C (F_{MAX})	Punto de compens.	F_{N} en saturación	Punto de saturación	α
<i>P. oaxacana</i>	7.24	41.98	4.82	-0.13	63.02	20.95	178.51	9.12	1700	0.0083
<i>P. pseudostrabus</i>	6.66	25.18	4.84	-0.14	72.87	23.93	81.10	2.79	580	0.0099
<i>P. pringlei</i>	1.67	66.90	7.32	-0.58	64.46	26	162.56	5.03	1970	0.0104
<i>P. patula</i>	-6.40	26.71	2.89	-0.29	47.91	19.2	3743.65	-7.71	2070	-0.00031
<i>P. chiapensis</i>	17.53	10.70	2.99	0.04	103.54	20.87	25.79	13.09	400	0.15291
<i>P. ayacahuite</i>	1.03	15.90	1.36	-0.02	97.5	24.45	128.86	1.146	410	0.00746
<i>Picea abies</i>	5.7	64.9	0.93	6.14	190.28	17	8.83	4.1	1200	0.04126

“En aras de estimar las tasas y direcciones del cambio heredable entre las especies en el tiempo, así como identificar características conservadas, debe ser posible reconstruir las cadenas de ancestría común que conectan a las especies vivientes.”

Richard Lewontin (2002).

5.2 ESTIMACIÓN DE LA DISTANCIA FILOGENÉTICA ENTRE LAS ESPECIES.

Mediante Model Test 3.06 (Posada y Crandall, 1998) se encontró que el modelo de sustitución de nucleótidos con verosimilitud más alta para el gen *matK* fue el de Felsenstein-81 con una corrección de distribución gama = 1.6296. Este modelo de sustitución se empleó en las reconstrucciones de distancia filogenética realizadas posteriormente.

Las reconstrucciones filogenéticas mediante UPGMA y Neighbor-Joining produjeron la misma topología (Figura 5-2) y coincide con las relaciones entre las secciones presentadas por Price (1997). El soporte de las ramas en el análisis de bootstrap (1000 réplicas), fue de 100 para todo el árbol. Es importante recordar que la constrictión para mantener el clado *P. pseudostrobus* y *P. oaxacana* limita las topologías posibles.

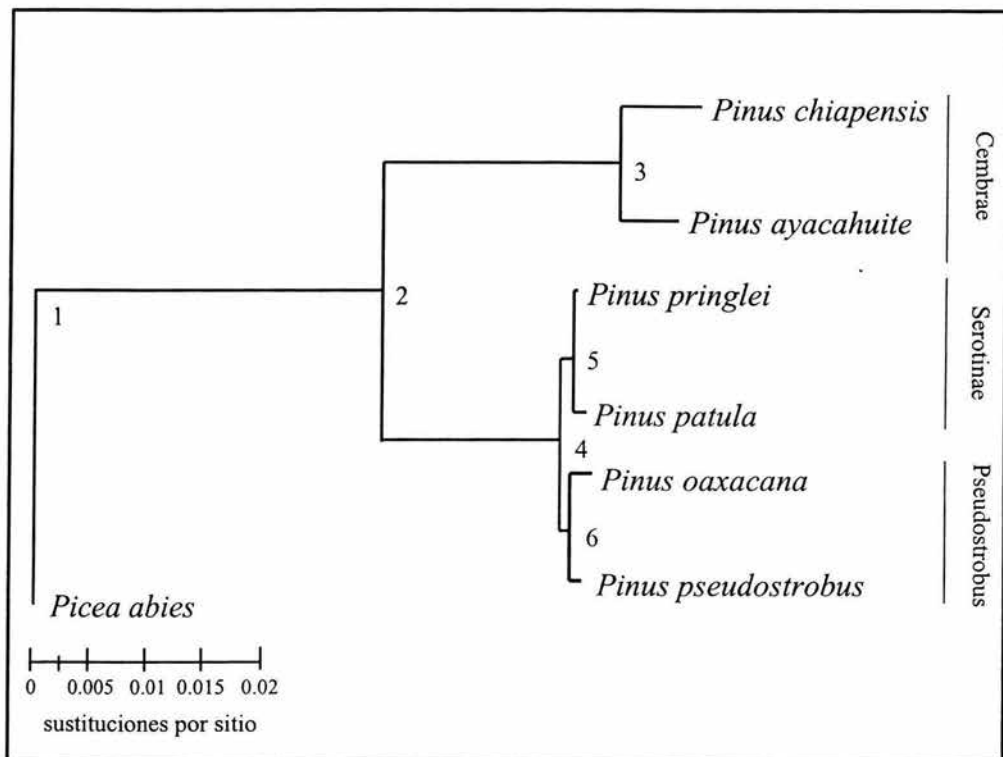


Figura 5-2. Filograma reconstruido mediante análisis de Neighbor-Joining. La topología obtenida mediante UPGMA es la misma. Los números denotan los nodos las Secciones a las que pertenecen las especies se indican del lado derecho. La reconstrucción se baso en un fragmento de 1600 pb del intrón de *matK*. El soporte de cada una de las ramas en un análisis de bootstrap con 1000 réplicas dio soporte de 100 a cada una de las ramas.

"...dado que el ambiente cambia (y con él el régimen selectivo), la adaptación de ayer puede ser la restricción de mañana."

S. P. Blomberg y T. Garland, Jr. 2002.

5.3 ANÁLISIS COMPARATIVOS FILOGENÉTICOS

En los análisis comparativos filogenéticos se utilizaron los datos fisiológicos presentados en la Tabla 5-10 y la reconstrucción de las relaciones y distancias entre las especies presentadas en la Figura 5-2. Los resultados de los distintos análisis se presentan a continuación, así como los resultados para los mismos análisis utilizando la topología de árbol antes obtenido, pero igualando la longitud de todas las ramas a uno. La única excepción fue el cálculo del índice *I* de Moran, pues los programas de los que se dispuso solo pueden realizar su cálculo con longitudes de rama fraccionarias.

Estimación de estados ancestrales

Se trata de uno de los análisis que mayor polémica ha despertado (Symonds y Elgar, 2002; Stearns y Hoekstra, 2000; Garland, et al., 1999; Martins y Hansen, 1997, 1996), por las dificultades para construir criterios claros en la elección de los modelos de evolución de los caracteres así como para estimar el error estándar y la significancia estadística de las diferencias en los caracteres reconstruidos para los nodos ancestrales. Estas limitaciones son mayores en este trabajo, tanto por tratarse de mayormente de caracteres fisiológicos afectados por el medio físico, como por la cantidad de especies incluida.

Modelo de evolución lineal

Se estimaron los estados ancestrales de cada una de las variables fisiológicas bajo un modelo de divergencia lineal entre los estados de carácter de las variables estudiadas conforme se incrementa la distancia filogenética entre los distintos nodos. Se incluyeron los errores estándar de las variables para las que se calculó directamente (Tablas 5-11 a 5-14).

Las estimaciones de σ^2 (varianza acumulada en cada nodo) variaron dependiendo de las longitudes de rama consideradas en el análisis. Cuando estas estimaciones desde diferentes ramas del árbol no convergieron, se considera que los valores de error estándar incluidos en el análisis son cuestionables, por lo que no se puede afirmar o rechazar la existencia de diferencias estadísticamente significativas en las características fenotípicas

estimadas para los nodos (Martins y Hansen, 1997; Martins, 1996). Se presentó una mayor inconsistencia en este estimado cuando se incluyeron las longitudes de rama fraccionarias (distancias entre las especies calculadas mediante NJ).

Al reconstruirse los estados ancestrales de las características fisiológicas suponiendo la evolución lineal de éstas (supuesto de movimiento browniano), el tamaño del error estándar en el nodo raíz del árbol fue alrededor de dos veces mayor en el caso de la filogenia con ramas de longitud igual a uno. Sin embargo a excepción de TRP y el punto de compensación, los estimados de σ^2 convergieron (Tabla 5-11). Debido a un error de programación (Martins, com. pers.), al incluir ramas de igual longitud, el programa COMPARE sólo estimó el error estándar para el nodo basal de la filogenia.

Tabla 5-11. Estimaciones de los estados ancestrales suponiendo evolución lineal de las variables fisiológicas para cada uno de los nodos de la filogenia incluida en la Figura 5-2 considerando las longitudes de cada rama estimadas mediante el análisis de Neighbor-Joining. Se presenta el estado ancestral y el error estándar calculado para el nodo basal <EE>, COMPARE no puede estimar en esta combinación modelo-longitud de rama los estados ancestrales del resto de los nodos.

Nodo	F _{MAX}	g _s max	TRP media	WUE media	AFE	T°C (F _{MAX})	Punto de compens	F _N en saturación	Punto de saturación	α
1	5.70 <2.04>	64.9 <24.5>	0.93 <0.95>	6.14 <2.24>	190.28 <71.9>	17.00 <6.42>	8.83 <3.31>	4.10 <0.99>	1200.00 <453.5>	0.040 <0.6>
2	8.70	37.25	0.95	-7.36	100.01	20.89	141.76	8.07	1158.84	0.052
3	13.52	12.22	0.95	2.67	100.58	21.81	107.18	10.25	441.47	0.116
4	6.29	45.28	5.15	-19.83	65.63	21.67	217.24	7.95	1671.55	0.009
5	1.39	62.32	6.83	-52.98	63.29	25.18	437.81	4.28	1956.41	0.009
6	6.88	41.88	4.92	-15.22	63.69	21.40	185.96	8.42	1636.42	0.008

En el caso de la tasa fotosintética máxima, el estado ancestral estimado para el nodo más basal de la filogenia no difirió con la longitud de las ramas, pero los estados de carácter reconstruidos para los nodos interiores resultaron diferentes de un tipo de longitud de rama a otra. Aunque en la Tabla 5-12 a partir de los errores estándar no se aprecian diferencias significativas entre los nodos, se observa una cierta estasis en F_{MAX} al seguir los estados ancestrales del nodo basal a los pinos del Subgénero *Strobus* (nodos 1, 2 y 3), mientras que

los nodos de la rama del Subgénero *Pinus* muestran valores más cambiantes, lo cual puede ser indicativo de una mayor labilidad evolutiva.

En el caso del índice de área foliar específica (AFE) al seguir los estados ancestrales del nodo basal a los representantes del Subgénero *Strobus* se observa una tendencia –no significativa– a presentar valores más altos (acículas menos densas), más parecidos a los del nodo basal y al valor de AFE de *Picea abies*. Aunque entre las coníferas se ha observado una mayor conductividad estomática entre especies con hojas más densas (Teskey, et al., 1995; Salisbury y Ross, 1992; Carter y Smith, 1985) al aplicar el modelo de evolución lineal para la reconstrucción de caracteres ancestrales, los nodos con valores de AFE más altos presentan g_s relativamente baja. Estudios más detallados serán necesarios para poder discernir el papel de otros factores como la disponibilidad de agua en el suelo y la TRP en este patrón.

Tabla 5-12. Estimaciones de los estados ancestrales suponiendo evolución lineal de las variables fisiológicas medidas para cada uno de los nodos de la filogenia incluida en la Figura 5-2 considerando longitudes iguales para todas las ramas. Se presenta el estado ancestral y el error estándar calculado para cada uno <EE>. Se indican con cursivas los caracteres para los que las estimaciones de σ^2 no convergieron y por tanto la estimación de los errores estándar y de la suma de cuadrados residuales podría ser errónea.

Nodo	F _{MAX}	g _S MAX	TRP media	WUE media	AFE	T°C (F _{MAX})	Punto de compens	F _N en saturación	Punto de saturación	α
1	5.03 <4.89>	50.94 <23.13>	1.70 <0.92>	-0.40 <10.2>	151.99 <61.18>	18.99 <7.46>	191.71 <856.03>	4.38 <4.57>	1110.00 <546.87>	0.043 <0.619>
2	4.36 <3.98>	36.99 <19.27>	2.048 <0.79>	-6.95 <8.5>	113.70 <50.97>	20.98 <6.21>	374.60 <713.12>	4.67 <3.81>	1020 <455.58>	0.044 <0.515>
3	4.48 <3.75>	21.19 <17.84>	2.24 <0.82>	-1.40 <7.8>	104.91 <47.19>	22.10 <5.75>	176.41 <660.22>	6.30 <3.53>	610.00 <421.78>	0.068 <0.477>
4	3.51 <4.27>	38.82 <20.60>	3.50 <0.88>	-19.05 <9.1>	84.19 <54.49>	21.86 <6.64>	755.66 <762.36>	3.32 <4.07>	1340.00 <487.03>	0.023 <0.551>
5	1.06 <3.83>	44.14 <18.01>	3.84 <0.91>	-33.95 <7.9>	65.52 <47.62>	22.35 <5.80>	1553.96 <666.31>	0.218 <3.56>	1793.33 <425.67>	0.011 <0.482>
6	5.29 <3.76>	35.33 <18.01>	4.18 <0.87>	-16.26 <8.0>	73.36 <47.62>	22.24 <5.80>	338.43 <666.31>	5.08 <3.56>	1206.67 <425.67>	0.014 <0.482>
Sum (x ²)	5.72	2.15	6.79	6.97	0.83	0.5221	6.95	6.08	2.88	0.020
σ^2	35.11	831.50	1.30	161.66	5814.25	86.44	1138184. 54	32.49	464517.22	0.595

Modelo de evolución exponencial

Al realizarse dos reconstrucciones de estados ancestrales suponiendo divergencia exponencial de los caracteres, en un caso empleando longitudes de rama fraccionarias y en

otro iguales a 1, se obtuvieron valores diferentes a los del modelo lineal para los estados de los nodos ancestrales. Usando longitudes de rama iguales a 1 en la filogenia se obtuvo una mayor consistencia en las estimaciones de σ^2 y el tamaño del error estándar fue mucho menor. Considerando longitudes de rama fraccionarias en la rama de las especies del subgénero *Pinus*, los estados ancestrales para los tres nodos (4, 5 y 6) son iguales para varios de los caracteres estudiados y sin diferencias con respecto a los valores de carácter actuales (F_{MAX} , $g_{S_{MAX}}$, TRP media, T °C asociada a F_{MAX}). Además, al usar ramas de longitud fraccionaria, el tamaño de los errores estándar de los estimados de los estados ancestrales para los nodos más basales es hasta dos órdenes de magnitud más grande que el estado ancestral estimado (Tabla 5-13).

Tabla 5-13. Estimaciones de los estados ancestrales suponiendo evolución exponencial de las variables fisiológicas medidas para cada uno de los nodos de la filogenia incluida en la Figura 5-2 considerando las longitudes de rama obtenidas en el análisis de Neighbor-Joining. La intensidad de la fuerza de restricción supuesta para el cambio en los caracteres fue de 0.1. Se presenta el estado ancestral y el error estándar calculado para cada uno <EE>. Se indican con cursivas los caracteres para los que las estimaciones de σ^2 no convergieron y por tanto se podría tener una estimación errónea de los errores estándar y de la suma de cuadrados residuales.

Nodo	F_{MAX}	$g_{S_{MAX}}$	TRP media	WUE media	AFE	T°C (F_{MAX})	Punto de compens	F_N en saturación	Punto de saturación	α
1	5.63 <351.56>	26.83 <1500>	1.02 <21.24>	2.64 <1456>	123.41 <760.42>	20.70 <262.2>	1614.36 <110874>	-5.64 <480.4>	733.67 <36894>	0.016 <1.8>
2	5.61 <13.19>	37.12 <56.3>	1.05 <0.85>	1.22 <54.64>	99.72 <28.54>	20.92 <9.84>	140.68 <4162.0>	8.07 <18.03>	1159.45 <1384.98>	0.052 <0.069>
3	5.58 <4.84>	12.95 <19.64>	1.06 <0.63>	1.09 <19.05>	102.06 <9.96>	21.65 <3.43>	106.96 <1451.7>	10.30 <6.29>	439.74 <483.07>	0.117 <0.024>
4	5.60 <1.89>	44.45 <7.63>	1.09 <0.48>	-0.53 <7.70>	63.95 <3.87>	21.86 <1.33>	217.26 <564.01>	7.90 <2.44>	1673.50 <187.68>	0.009 <0.009>
5	5.60 <1.97>	62.26 <4.87>	1.09 <0.49>	-0.59 <4.75>	63.17 <2.47>	25.19 <0.85>	437.80 <360.36>	4.27 <1.56>	1956.56 <119.92>	0.009 <0.005>
6	5.60 <1.23>	41.93 <4.57>	1.09 <0.48>	-0.53 <5.05>	63.80 <2.32>	21.38 <0.80>	185.94 <338.22>	8.42 <1.46>	1636.31 <112.55>	0.008 <0.005>
Sum (x^2)	6.90	6.99	11.21	2.03	6.97	6.99	6.99	6.99	6.99	6.9137
σ^2	123614	2258191	451.45	21.25	580305	69009	1.23×10^{10}	231663	1.36×10^9	3.4167

Al estimarse los estados ancestrales con un modelo de divergencia exponencial e igual longitud para todas las ramas de la filogenia las estimaciones de σ^2 convergieron para la mayoría de los caracteres, lo cual puede indicar que este modelo se ajusta mejor para la

evolución de los caracteres, al menos al utilizar esta longitud de ramas. El tamaño del error estándar para los nodos más basales de la filogenia disminuyó considerablemente, siendo de uno a dos órdenes de magnitud menor que en la reconstrucción con diferentes longitudes para cada rama, sin embargo para algunos caracteres la magnitud relativa del error estándar fue ligeramente mayor en los nodos más derivados (Tabla 5-13). Los estados ancestrales de los nodos correspondientes a la rama de los pinos duros son diferentes a los de la reconstrucción anterior, y a pesar de la magnitud de los errores estándar, en algunas de las características fisiológicas, como la evapotranspiración media (TRP_{MEDIA}), la reconstrucción con longitudes iguales para las ramas aportó estados ancestrales significativamente distintos a los de la reconstrucción con ramas de tamaño diferente.

Las diferencias observadas en la reconstrucción mediante el modelo lineal en los índices de área foliar específica en los nodos de las ramas de los subgéneros (nodo 3 y valores actuales vs. Nodos 4, 5, 6 y valores actuales), también fueron claras en esta reconstrucción.

Tabla 5-14. Estimaciones de los estados ancestrales suponiendo divergencia exponencial de las variables fisiológicas medidas para cada uno de los nodos de la filogenia incluida en la Figura 5-2 considerando longitudes iguales para todas las ramas. La intensidad de la fuerza de restricción supuesta para el cambio en los caracteres fue de 0.1. Se presenta el estado ancestral y el error estándar calculado para cada uno <EE>. Se indican con cursivas los caracteres para los que las estimaciones de σ^2 no convergieron y por tanto se podría tener a una estimación errónea de los errores estándar y de la suma de cuadrados residuales.

Nodo	F_{MAX}	g_{SMAX}	TRP media	WUE media	AFE	T°C (F_{MAX})	Punto de compens	F_N en saturación	Punto de saturación	α
1	4.49 <11.28>	37.72 <35.35>	2.48 <2.64>	-11.32 <27.21>	98.27 <66.73>	21.45 <9.57>	569.52 <2135.0>	3.99 <10.67>	1180.34 <1003.68>	0.0340 <0.62>
2	4.58 <4.48>	36.67 <14.80>	2.13 <1.10>	-5.77 <11.27>	113.66 <27.95>	21.00 <4.01>	368.93 <894.11>	4.71 <4.47>	1010.47 <420.32>	0.0455 <0.260>
3	4.22 <3.76>	20.60 <12.17>	2.08 <0.99>	-1.05 <9.26>	105.09 <22.97>	22.29 <3.29>	162.99 <734.80>	6.38 <3.67>	590.07 <420.32>	0.0696 <0.213>
4	4.39 <4.34>	38.77 <14.28>	2.83 <1.10>	-16.87 <10.88>	82.89 <26.96>	21.91 <3.86>	770.10 <862.58>	3.28 <4.32>	1350.21 <405.49>	0.0226 <0.250>
5	3.53 <3.78>	44.31 <12.09>	3.02 <1.06>	-28.93 <9.21>	64.12 <22.83>	22.40 <3.27>	1587.67 <730.35>	0.09 <3.65>	1814.74 <343.33>	0.0102 <0.212>
6	5.06 <3.70>	35.24 <12.09>	3.28 <1.01>	-15.43 <9.27>	72.18 <22.83>	22.28 <3.27>	336.63 <730.35>	5.09 <3.65>	1210.94 <343.33>	0.0130 <0.212>
Sum (x^2)	7.02	5.86	6.33	6.73	4.83	1.97	6.92	6.86	5.61	0.1275
σ^2	160.55	1778.41	9.025	1029.96	6338.44	130.25	6486914	162.1	1433545.2	0.5468

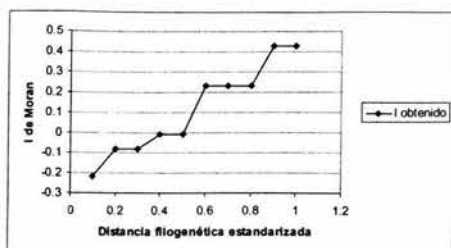
Análisis de autocorrelación y autorregresión filogenéticas.

Autocorrelación filogenética

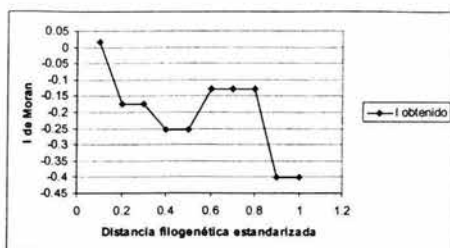
La longitud de la filogenia se dividió en diez intervalos iguales para el cálculo del índice I de Moran ("cortes" para el cálculo del índice), se eligió este número de intervalos pues la distancia genética estandarizada entre las especies cuatro especies del subgénero *Pinus* incluidas es menor a 0.2, por lo que al dividirla en menos intervalos se perdería la información al interior de este grupo. En el caso del de la relación lineal entre el peso seco y el área foliar de las acículas (AFE) los valores de autocorrelación filogenética resultaron estadísticamente significativos ($z > 1.96$) solamente para algunos cortes en la filogenia. Por su parte, algunas características fisiológicas, TRP_{MEDIA} , $T^{\circ}C$ para F_{MAX} y F_N en saturación, los coeficientes de autocorrelación filogenética resultaron marginalmente significativos ($z > 1.645$, $p = 0.10$). En la mayoría de los casos los valores significativos de autocorrelación se dieron en los primeros cortes de la filogenia, es decir a distancias filogenéticas más pequeñas, lo cual puede indicar que buena parte del efecto de la estructura filogenética está dado por eventos más recientes.

Las tendencias que muestra la variación del índice I de Moran a lo largo de la filogenia difieren entre las distintas características analizadas (Figura 5-3). Para F_{MAX} y WUE la relación de los valores de I con la distancia filogenética estandarizada se aproxima a una relación lineal monotónica, que corresponde a la evolución de estos caracteres siguiendo un movimiento Browniano. El nivel de autocorrelación filogenética para g_{sMAX} , el punto de compensación, F_N en saturación y el punto de saturación tiene un patrón similar al patrón de labilidad evolutiva "pieza a pieza" en el que el sentido de la correlación filogenética varía en el tiempo. TRP_{MEDIA} y la Temperatura ($^{\circ}C$) para F_{MAX} mostraron un patrón de autocorrelación en el que los valores de I asociados a la distancia filogenética disminuyen para estas características, pero de manera puntual, es decir, solamente en distancias filogenéticas particulares (de 0.8 a 0.9 en TRP_{MEDIA} y de 0.6 a 0.7 en $T^{\circ}C$ para F_{MAX} , Figura 5-3 C y F). En el caso del único carácter morfológico incluido, el área foliar específica (AFE) y de la sensibilidad fotosintética a RFA el valor del coeficiente de autocorrelación se mantiene casi constante a lo largo de la filogenia, es decir que la distancia filogenética no tiende a incrementar el parecido o la disimilitud entre las especies.

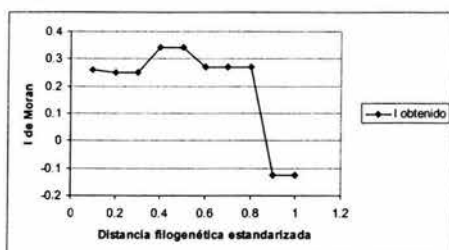
A)



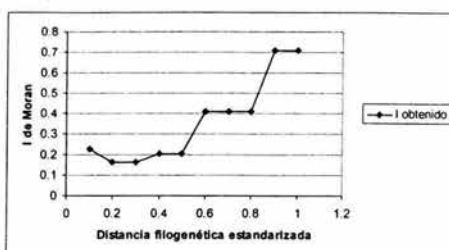
B)



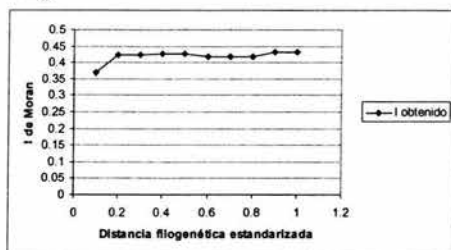
C)



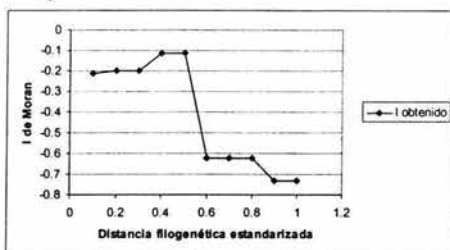
D)



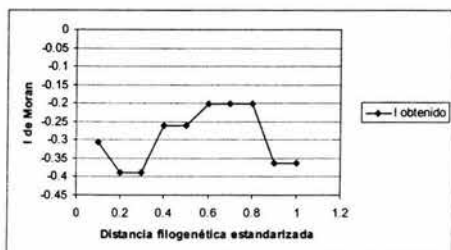
E)



F)



G)



H)

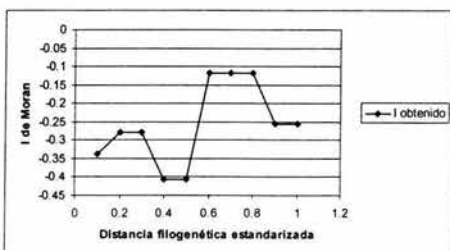


Figura 5-3. Correlogramas filogenéticos para las siguientes características fisiológicas: A) F_{max} , B) G_{smax} , C) E_{tmedia} ; D) WUE_{media} ; E) Área foliar específica (AFE); F) $T^{\circ}C F_{max}$; G) Punto de compensación; H) F_n saturación.

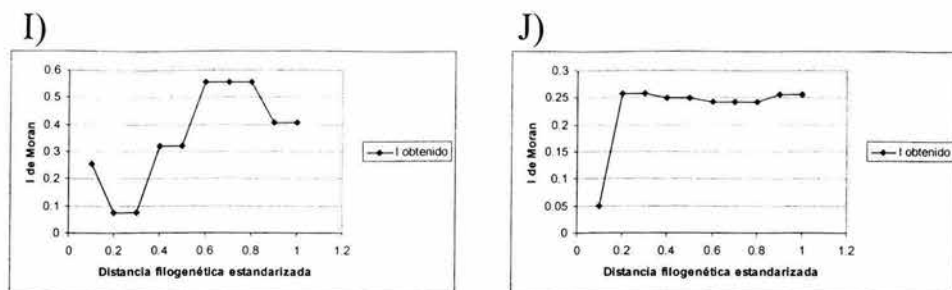


Figura 5-3 (Continuación). Correlogramas filogenéticos para I) Punto de saturación y J) Sensibilidad a RFA (α). Los valores de I cercanos a +1 indican un mayor parecido entre especies crecenas, valores cercanos a -1 indican mayor divergencia fenotípica entre especies cercanas y valores de I cercanos a 0 indican distribución al azar con respecto a la filogenia (ausencia de autocorrelación filogenética).

Análisis de autorregresión filogenética

Los valores del coeficiente de autocorrelación filogenética resultaron más altos al emplearse la filogenia con ramas de longitud igual a 1. En este caso, ρ indicó un sentido negativo en la correlación, lo cual nos habla de que la diferencia en los caracteres fenotípicos se acentúa en las especies filogenéticamente más cercanas, lo cual implica que el efecto de la filogenia no es de inercia.

Los valores de ρ resultaron estadísticamente significativos para g_{sMAX} , temperatura para F_{MAX} y F_N en saturación. El punto de compensación también mostró una correlación filogenética alta, pero no significativa ($p=0.1$). Las demás características presentaron coeficientes de autocorrelación pequeños y no significativos, aunque el sentido de la correlación se mantuvo para todas las características.

La magnitud más alta para R^2 , que funciona como un estimado de la proporción de la varianza fenotípica observada determinada por la filogenia, se presentó para la temperatura promedio asociada a F_{MAX} , para la que casi el 40% del valor fenotípico de los carácter para las diferentes especies estaría asociado con un componente filogenético. En general los caracteres fenotípicos directamente asociados con la tasa fotosintética tienen valores de R^2 altos, aunque no necesariamente significativos. La conductividad estomática máxima presenta un componente filogenético de más del 20 % de acuerdo al análisis. F_N en saturación presentó un componente filogenético mayor que la tasa fotosintética medida

directamente, lo cual no se debe a un efecto del error estándar de estos caracteres, pues el modelo autorregresivo de Cheverud no toma en cuenta este error, ya que incorpora el supuesto de que la variación intraespecífica es despreciable. El único carácter morfológico incluido en el estudio, presenta una autocorrelación filogenética no significativa y una magnitud de la inercia filogenética baja (0.08).

Al emplear la filogenia con longitudes de rama fraccionarias los valores de correlación filogenética para la mayoría de las características fisiológicas resultaron estadísticamente no significativos aunque el tamaño del componente filogenético estimado para las características de algunas especies resultó mayor que el componente específico. La temperatura para F_{MAX} mostró los valores de correlación filogenética más alta ($\rho=-0.6600$), aunque la intensidad de la correlación lineal entre esta característica y el resto fue relativamente poco alterada al retirar el componente filogenético de los valores fenotípicos (Figuras 5-4 y 5-5).

Al usarse ramas de longitud igual a 1, el signo del coeficiente de autorregresión ρ no varió entre las diferentes características fisiológicas, siempre fue negativo. Cuando se usaron longitudes de rama fraccionarias, en casi todas las características asociadas o derivadas de la tasa fotosintética de las especies el sentido de la correlación fue negativo, es decir, la divergencia en el carácter fenotípico es mayor entre las especies filogenéticamente más cercanas (Tabla 5-15).

Al realizarse la regresión filogenética usando longitudes de rama fraccionarias, para las características relacionadas directamente con la apertura estomática, g_s , TRP y WUE, así como el AFE y el punto de saturación, se registraron valores de ρ positivos, aunque no significativos.

En todos los casos, los valores del error asociado al coeficiente autorregresivo son bastante altos, probablemente debido al tamaño muestral, ya que sólo se incluyeron 7 especies y en general, para el modelo de Cheverud se requieren muestras grandes ($n>20$; Diniz-Fihlo, 2000). La magnitud del efecto filogenético en los caracteres fenotípicos resultó menor al incorporarse el estimado de las longitudes de las ramas obtenido mediante Neighbor-Joining salvo para TRP_{MEDIA} y WUE_{MEDIA} .

Tabla 5-15. Estadísticos relevantes del modelo de autorregresión filogenética de Cheverud. El valor de R^2 se ha estimado a partir de la varianza total (V_t) en el carácter y la varianza residual (V_r) mediante la resta: $R^2=1-(V_r/V_t)$

Carácter fenotípico	Regresión filogenética con longitudes de rama iguales			Regresión filogenética con longitudes de rama fraccionarias		
	ρ	EE del modelo	R^2	ρ	EE del modelo	R^2
F_{MAX}	-0.57	0.7874	0.1443	-0.280	0.4871	0.0799
g_{SMAX}	-0.72	0.8097	0.2119	0.010	0.4591	0.0001
E_{tMEDIA}	-0.39	0.7480	0.0646	0.120	0.4363	0.0167
WUE_{MEDIA}	-0.03	0.6277	0.0003	0.300	0.3843	0.0957
AFE	-0.49	0.7716	0.0804	0.270	0.3943	0.0500
T para F_{MAX}	-0.95	0.8259	0.4078	-0.660	0.4561	0.3289
Punto de compensación	-0.64	0.7990	0.1826	-0.380	0.4863	0.1132
F_N saturación	-0.73	0.8109	0.2499	-0.520	0.4763	0.2396
Punto de saturación	-0.07	0.6439	0.0018	0.440	0.3304	0.2077
α	-0.54	0.7818	0.1394	-0.150	0.4802	0.0271

Al comparar los valores de r de Pearson para las correlaciones entre los valores fenotípicos crudos y los valores de r de Pearson para las correlaciones establecidas entre los valores fenotípicos residuales (Figuras 5-4 y 5-5), se observa que la magnitud de las correlaciones tiende a ser ligeramente menor cuando se utilizan los valores residuales (sin el componente filogenético de los caracteres). Si la contribución filogenética a los valores fenotípicos observados en las especies fuese cero, se esperaría que la pendiente de la gráfica presentada en las Figuras 5-4 y 5-5 fuese 1, sin embargo la ecuación de la recta ajustada para los valores residuales asociados a los valores fenotípicos crudos es ligeramente menor cuando se toman en cuenta longitudes fraccionarias para las ramas de la filogenia, lo cual indica un decrecimiento de la correlación lineal entre las características ($r_{g,142} = 0.8691$, $p < 0.01$).

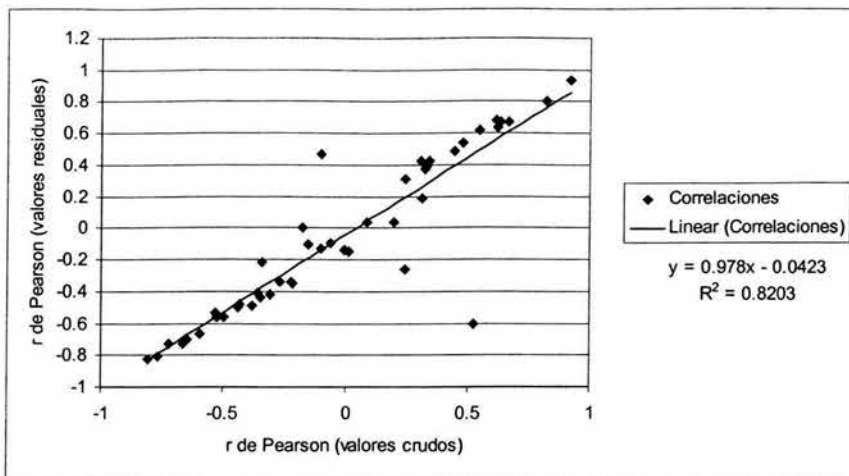


Figura 5-4. Valores del coeficiente de correlación r para las regresiones establecidas a partir de los datos crudos vs. regresiones a partir de los valores residuales (sin el componente filogenético de la interacción) tomando longitudes iguales para todas las ramas. Obsérvese que la pendiente de la recta es menor que 1.

Algunas de las correlaciones lineales mostraron diferencias importantes en magnitud y sentido al retirarse el componente filogenético estimado. Así, en el caso de la correlación lineal entre la temperatura asociada a la F_{MAX} y la sensibilidad a la intensidad de RFA (α), se presentó una alteración completa del sentido de la relación (de $r = 0.244$ a $r = -0.2589$ con longitudes iguales y $r = -0.2032$ con longitudes de rama fraccionarias); lo cual indica que la estructura de relaciones filogenéticas incide fuertemente en la relación que observamos entre estas dos variables. Esta relación es importante pues ambas características tienen una relación biológica clara, en la medida en que se espera que las especies que presentan sensibilidades a RFA mayores alcancen F_{MAX} o F_N en saturación más rápido, cuando la intensidad de RFA es aún baja y por lo tanto cuando la temperatura ambiental es también baja en comparación con las especies que alcanzan F_N sólo cuando las intensidades lumínicas y las temperaturas asociadas a estas son mayores. Esta es la clase de relación que denota el valor de r a partir de los valores residuales del carácter. Otras correlaciones que mostraron cambios fueron la de T °C para F_{MAX} con el índice de AFE (de $r = -0.532$ a $r = 0.6924$).

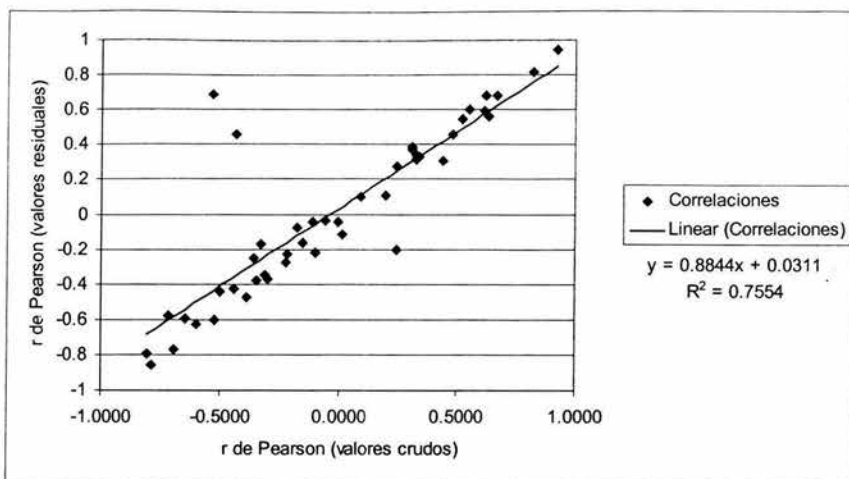


Figura 5-5. Valores del coeficiente de correlación r para las regresiones establecidas a partir de los datos crudos vs. regresiones a partir de los valores residuales (sin el componente filogenético de la interacción) tomando longitudes fraccionarias para las ramas. Obsérvese que la pendiente de la recta es menor que 1.

Se observó la misma tendencia de cambio en las correlaciones lineales, entre los caracteres al realizar el análisis de contrastes filogenéticamente independientes (Felsenstein, 1985), aunque la pendiente de la recta es ligeramente distinta y el valor de R^2 es menor (datos no presentados).

Análisis de varianza anidado

Los resultados de este análisis variaron entre las diferentes características fisiológicas para las que se realizó (5-16). Este análisis sólo se implementó para F_{MAX} , g_s , TRP y WUE, pues para las variables fisiológicas relacionadas con la respuesta fotosintética a la luz no se cuenta con réplicas por especie, ya que solo se realizó un ajuste del modelo hiperbólico por especie con todos los datos de la misma. El reducido número de especies incluido en el análisis permitió resumir la filogenia completa de las especies en las categorías taxonómicas que se anidaron en el análisis. Sin embargo, el número de réplicas para cada categoría taxonómica es pequeño y eso se vio reflejado en los resultados del análisis por característica fotosintética. La Tabla 5-16 presenta un resumen de los resultados de estos análisis.

En el caso de la F_{MAX} , la regresión lineal entre los diferentes niveles de anidamiento detectó una explicación alrededor del 30 % de la varianza en esta variable debida al total de la estructura taxonómica ($R^2=0.318$, $F_{5,85}= 7.9448$, $p<0.0001$). En el caso de la evapotranspiración media (TRP_{MEDIA}), el 18 % de la varianza en este carácter podría ser explicado por la estructura de relaciones filogenéticas reflejadas en la taxonomía empleada, pero este resultado solo resultó marginalmente significativo ($R^2=0.181539$, $F_{11,83}= 1.6736$, $p<0.0939$).

En el caso de WUE y g_s el análisis de varianza anidada no detectó significancia estadística en la regresión lineal entre los diferentes niveles de anidamiento (Tabla 5-16).

La diferencia entre los Subgéneros *Pinus* y *Strobus* resultó significativamente explicativa para el 4% de la varianza ($F_{5,85}=6.0648$, $p <0.0158$) en F_{MAX} . Este mismo nivel jerárquico explicó poco más del 5% ($F_{11,83}=5.73489$, $p <0.0189$) de la varianza para la TRP_{MEDIA} de forma estadísticamente significativa. Para otras características fisiológicas como g_{sMAX} y WUE_{MEDIA} este nivel fue marginalmente significativo ($p<0.0686$ y $p< 0.739$, respectivamente). A partir de lo anterior se puede apreciar la constancia de este nivel de anidamiento como estadísticamente explicativo de la variación en las características fisiológicas.

El nivel taxonómico de Secciones explicó significativamente parte de la variación para F_{MAX} ($R^2=0.0467$, $F_{5, 85}=5.8346$, $p<0.0179$). En el caso de las demás variables los resultados fueron heterogéneos, al resultar marginalmente significativo para WUE ($F_{5, 18}= 3.9658$, $p<0.0618$), y claramente no significativo para g_{sMAX} y TRP_{MEDIA} .

Las diferencias entre las Subsecciones no resultaron explicativas de las diferencias observadas en ninguna de las variables fisiológicas, aún en el caso de la conductividad estomática, el nivel de significancia fue de 0.0975.

A nivel de las especies, se concentró la mayor parte de la variación en F_{MAX} explicada por la estructura taxonómica, con un grado muy alto de significancia estadística ($R^2= 0.125$, $F_{5, 85}= 15.6807$, $p< 0.0002$). Sin embargo, este nivel de anidamiento no resultó estadísticamente significativo para la explicación de la variación en las otras variables fisiológicas analizadas, ni siquiera marginalmente (Tabla 5-16).

Tabla 5-16. Resumen estadístico del análisis de varianza anidado para cuatro de las características fisiológicas estudiadas. Se incluyen los valores de la proporción de la suma de cuadrados totales explicada por la regresión (R^2), del estadístico ($F_{g.l.}$) y de significancia estadística (p). Se indican con negritas los estadísticos correspondientes a los niveles jerárquicos que resultaron significativamente explicativos de la variación en cada una de las características, con cursivas se señalan los resultados marginalmente significativos ($p < 0.10$).

	F_{MAX}			g_{SMAX}			TRP_{MEDIA}			WUE_{MEDIA}		
	R^2	$F_{5,85}$	p	R^2	$F_{5,18}$	p	R^2	$F_{11,83}$	p	R^2	$F_{5,18}$	p
Modelo completo	0.3185	7.944	0.0001	0.3460	1.905	0.1435	<i>0.1815</i>	<i>1.674</i>	<i>0.0939</i>	0.3388	1.845	0.1547
Subgénero	0.0486	6.064	0.0158	<i>0.1363</i>	<i>3.753</i>	<i>0.0686</i>	0.0565	5.734	0.0189	<i>0.1322</i>	<i>3.600</i>	<i>0.0739</i>
Sección	0.0467	5.834	0.0179	0.0183	0.5050	0.4864	0.0026	0.266	0.6072	<i>0.1457</i>	<i>3.966</i>	<i>0.0618</i>
Subsección	0.0156	0.973	0.3821	<i>0.2084</i>	<i>2.657</i>	<i>0.0975</i>	0.0463	2.351	0.1016	0.0497	0.676	0.5211
Especie	0.1257	15.68	0.0002	0.0182	0.502	0.4873	0.0058	0.5925	0.4437	0.0018	0.050	0.8248

“Una teoría completa de la evolución debe reconocer la existencia de un equilibrio entre las fuerzas ‘exteriores’ del ambiente que imponen una selección a favor de la adaptación local y las fuerzas ‘internas’ que representan las constricciones de la herencia y el desarrollo”.

Stephen J. Gould, 1983, Una audiencia para Vavilov.

6. DISCUSIÓN

6.1 LA TASA FOTOSINTÉTICA Y LAS VARIABLES FISIOLÓGICAS

Los resultados obtenidos para las diferentes características fisiológicas deben ser considerados con precaución. Aunque los tamaños muestrales (número de individuos por especie) de este trabajo son similares a los de muchos estudios fisiológicos de campo (Reich et al., 1995; Manes et al., 1997), es necesario tomar en cuenta que los datos se obtuvieron en menos de diez días de mediciones y por ello no se pueden considerar como representativos de las medias anuales. A las limitaciones inherentes a la cantidad de salidas al campo que habrían sido necesarias, se suma el que con el instrumental con que se contó para la realización de las mediciones resulta muy difícil no sobreestimar g_s y TRP en condiciones de lluvia e incluso con las acículas mojadas, lo cual limitó el número de datos diarios obtenidos, pues no se podía medir en estas condiciones.

La tasa fotosintética es una característica que se halla condicionada fisiológicamente a muchos factores del medio físico en el que se desarrollan las plantas, como la intensidad de RFA, la concentración de CO_2 , la disponibilidad de agua en el suelo, la humedad relativa del aire, la temperatura y su fluctuación diaria, entre otras (Grulke y Retzalf, 2001; Hubbard, 2001; Falge et al., 1996; Palladry et al., 1995; Teskey et al., 1995; Jones, 1992; Salisbury y Ross, 1992;). Este condicionamiento mecánico ha sido un elemento importante para predecir que las características fisiológicas, y en general los caracteres no estructurales, o no vinculados con propiedades morfológicas, mostrarán una inercia o señal filogenética menor (Blomberg y Garland, 2002; Morales, 2000b). Concomitantemente, estos mismo vínculos mecánicos del proceso fotosintético con las condiciones del medio externo podrían llevar a esperar una gran semejanza en las respuestas fisiológicas de las distintas especies de pinos que comparten un mismo ambiente.

Como se aprecia en la Tabla 5-1, el intervalo de los valores encontrados para F_{MAX} y g_{SMAX} en las especies de pinos estudiadas es muy amplio. En el caso de *P. chiapensis* la tasa

fotosintética máxima que se encontró fue la más alta de las reportadas hasta ahora para alguna especie del género. En contraste, para *P. patula* no se registraron valores positivos de F_N , por lo que la máxima tasa fotosintética es negativa, sin embargo, hay que insistir en que las mediciones realizadas no reflejan la tasa fotosintética media anual, y sin duda, *P. patula* en el bosque de Capulalpan debe presentar tasas fotosintéticas positivas en alguna época del año. Se observó también un hecho interesante, ya que las tasas fotosintéticas máximas más grandes se presentaron asociadas a conductividades estomáticas máximas relativamente bajas. De hecho entre las diferentes especies se observó una correlación negativa -aunque no significativa- entre la F_{MAX} y g_{SMAX} ($r = -0.2198$ g.l.= 4) que persistió en los valores residuales del modelo autorregresivo ($r = -0.279$ g.l.= 4; Cheverud, 1985).

La existencia de diferencias estadísticamente significativas en varias de las características fisiológicas entre las diferentes especies, a pesar de encontrarse en condiciones de medio físico similares (las diferencias en temperatura y RFA se tratarán más adelante), permiten rechazar en principio la primera hipótesis nula, es decir que no hubiesen diferencias en la tasa fotosintética y algunas otras características entre las especies por coexistir en el mismo medio físico. Esto no confirma la presencia de una señal o impronta de la filogenia en las especies estudiadas (aunque el patrón observado en la tabla 5-3A parecería reflejar hasta cierto punto las relaciones filogenéticas entre las especies), pero hace explícita la presencia de diferentes relaciones entre cada especie de pino y el medio físico compartido. Alrededor de esto es importante señalar que la altitud a la que se encuentra el bosque de Capulalpan de Méndez (2100 msnmm), se halla en distintas posiciones relativas con respecto al rango altitudinal de cada especie. Del mismo modo, la precipitación media anual compartida por todas las especies en el bosque de Capulalpan (1200-1500 mm) representa por un lado el límite superior de la precipitación pluvial media para *P. ayacahuite* mientras que es una precipitación relativamente baja dentro del intervalo de precipitación en el que se distribuye *P. chiapensis* (Figura 6-1 A-B).

Debido a las diferencias encontradas en las condiciones ambientales, se podría cuestionar hasta que punto éstas son la causa de las diferencias observadas en las variables fisiológicas como F_N y g_s . Los grupos homogéneos de las variables ambientales que mostraron diferencias, no coinciden, a excepción de un par de especies, con los grupos de

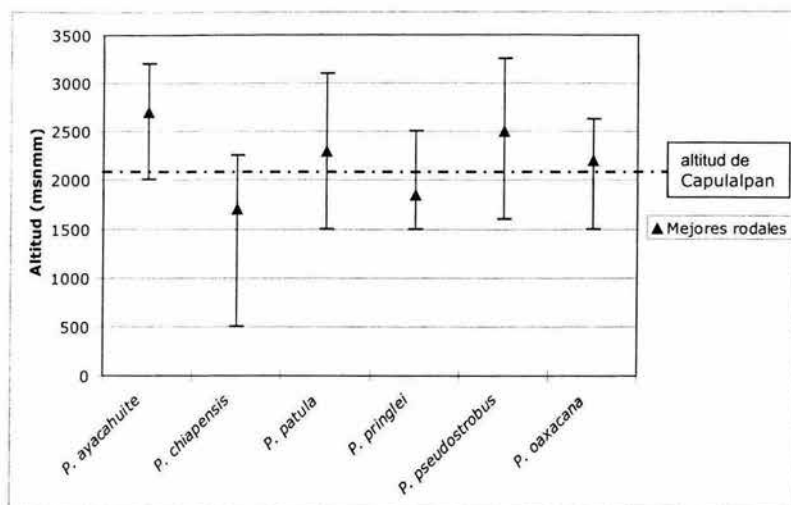
especies que muestran diferencias en los valores medios de las características fisiológicas estudiadas. En el caso de F_{MAX} , las especies que fueron estudiadas en los mismos intervalos de temperatura de acuerdo con la prueba de LSD, mostraron diferencias significativas en el su valor de esta característica (Tabla 5-4). Adicionalmente, las especies que coincidieron en el intervalo de temperatura en el cual se realizaron las mediciones, difirieron en la temperatura asociada a la tasa fotosintética máxima ($T^{\circ}C$ para F_{MAX}). Finalmente, las curvas ajustadas de la relación RFA- F_N son distintas para cada especie.

En el caso de *P. oaxacana* las diferencias en el intervalo de temperatura sí podrían explicar alguna porción de las diferencias observadas en su tasa fotosintética con respecto a las de otras especies, pues la regresión lineal múltiple detectó que el 52% de la variación intraespecífica de F_N estaría significativamente explicado por el cambio en la temperatura.

Los elementos anteriores hacen suponer que las variaciones en las condiciones de temperatura y RFA (presentadas en la Tabla 5-2) en las que se realizaron las mediciones de las variables fisiológicas, no intervinieron linealmente en la determinación de las diferencias observadas en las características fisiológicas entre las especies estudiadas. No obstante, no se puede descartar que existan efectos no lineales de las diferencias en temperatura y RFA que no se detectarían en el análisis de varianza y la posterior prueba de comparación múltiple (Least Significant Differences).

El efecto de los intervalos de distribución parece ser más importante. El hecho de que la F_{MAX} de *P. chiapensis* haya resultado claramente diferente de la del resto de las especies, puede relacionarse con que su intervalo de distribución sea radicalmente diferente del de las demás especies de pinos de Capulalpan. Mientras que para las otras especies el bosque se encuentra en la mitad inferior de su intervalo de distribución altitudinal y en todos los casos, excepto para *P. pringlei*, se hallan por debajo de la altitud en que los estudios forestales reportan el mejor crecimiento de estas especies (Eguiluz, 1982), en el caso de *P. chiapensis* los 2100 msnmm del sitio de estudio se hallan muy cerca del límite superior (2250 msnmm) de su distribución (Figura 6-1).

A)



B)

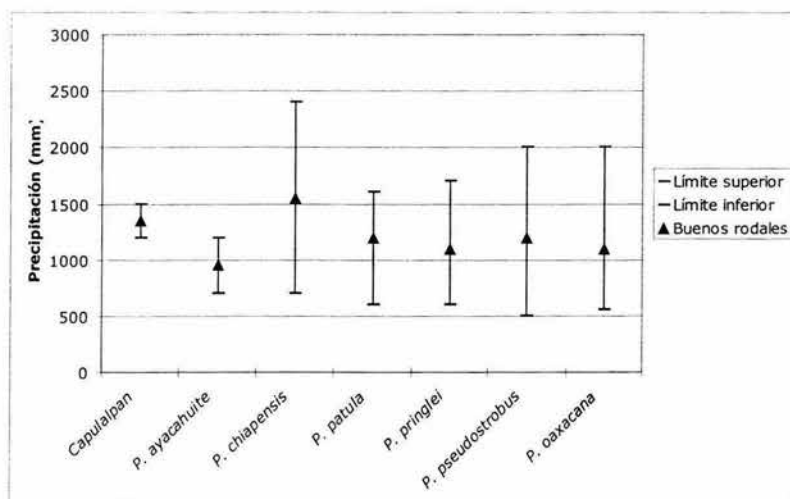


Figura 6-1. Intervalos de altitud A), y de precipitación media anual B), en los que se distribuyen las especies estudiadas. La altitud a la que se encuentra el bosque de Capulalpan (2100 msnmm) y la precipitación media anual del lugar (1200-1500 mm), se ubica en diferentes posiciones relativas en el intervalo de distribución de las especies estudiadas.

Para *P. sylvestris* se ha reportado una correlación positiva entre el descenso en la temperatura, asociado al incremento en la altitud, y el descenso en la tasa de producción de follaje (James, 1994). Por lo anterior, necesario realizar estudios para constatar si existen correlaciones similares en el caso de *P. chiapensis* y si existen cambios en F_{MAX} asociados a la altitud para esta especie.

En el caso de *P. ayacahuite*, los 2100 msnmm de Capulalpan se hallan en la parte más baja de su intervalo de distribución altitudinal. Este tipo de relación extrema observada en el caso de los pinos blandos es contrastante con lo que se observa en los pinos duros, para los cuales la altitud media de Capulalpan se encuentra en la parte media de su distribución.

Diferencias en la respuesta fotosintética a la luz

Las diferencias en las curvas de respuesta de F_N a RFA permiten, por una parte, sostener que las diferencias observadas en la tasa fotosintética no son directamente atribuibles a las diferencias en la intensidad lumínica que enfrenta cada especie. Por otra parte, estas diferencias resaltan algunas diferencias en la forma en que los factores del medio físico externo inciden en cada especie.

En el caso de *P. chiapensis* encontramos una de las mayores sensibilidades a la luz reportadas hasta ahora en coníferas y mucho mayor que la del resto de los pinos de Capulalpan. Aunado a esto, a partir de intensidades de luz bajas, de apenas $28 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, *P. chiapensis* comienza a tener una ganancia neta de CO_2 . Estas características suelen estar asociadas a la capacidad de crecimiento en condiciones de sombra, como las que prevalecen bajo el dosel de bosques ya formados; de hecho, la sensibilidad a la luz de esta especie se asemeja más a la de *Picea abies*, especie conocida por ser relativamente más tolerante a la sombra, comparada con especies del género *Pinus* (Niinemets, 2002; Niinemets y Kull, 1995; Teskey et al., 1995). Una sensibilidad a la luz elevada, también llamada *eficiencia en la asimilación de fotones* (Teskey et al., 1995), asociada a la capacidad de alcanzar las máximas tasas fotosintéticas con relativamente poca luz (punto de saturación bajo), permite a *P. chiapensis* fotosintetizar antes de que la temperatura sea muy alta (T para $F_{MAX} = 20^\circ\text{C}$)

En *P. ayacahuite* se observa una intensidad lumínica de saturación parecida a la de *P. chiapensis*, sin embargo, la curva asintotiza muy poco después de la compensación, cuando

F_N aún ni se ha incrementado demasiado. Adicionalmente *P. ayacahuite* requiere de intensidades lumínicas un poco mayores para tener una fijación neta de CO_2 , y la pendiente con la que se incrementa F_N al incrementarse la intensidad de la luz es de las más bajas entre las especies de pinos que se estudiaron. Por otro lado, F_{MAX} y $F_{N\text{ saturación}}$ son un orden de magnitud más pequeñas que en *P. chiapensis*. Significativamente, estas dos especies pueden ser ubicadas en un mismo grupo homogéneo de condiciones de medio abiótico en lo referente a RFA, $T^\circ C$ y HR (Tabla 5-2). El ejemplo es interesante, pues aunque comparten el medio abiótico y son especies relativamente cercanas su respuesta fotosintética es notablemente diferente.

P. oaxacana y *P. pseudostrobus* presentan sensibilidades a la luz intermedias ($\alpha = 0.0083$ y $\alpha = 0.0091$, respectivamente; Tabla 5-10), entre los rápidos incrementos de F_N en función de la luz que se encuentran en los *P. chiapensis* y el efecto de la luz mucho menor que se observa en los otros pinos del Subgénero *Diploxylon*. El punto de compensación es también parecido (178 y 81 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente), y similar al de especies tolerantes a la sombra. El resto de la respuesta fotosintética a luz difirió notablemente entre estas dos especies. *P. oaxacana*, presenta un punto de saturación alto, de 1700 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, que se traduce en que aún a grandes intensidades lumínicas se sigue incrementando la F_N ; este tipo de respuesta se suele encontrar en especies que resisten la insolación alta. Por su parte, *P. pseudostrobus* tiene un punto de saturación mucho más bajo, parecido al de los pinos del Subgénero *Haploxylon*. Aunque algunos autores han planteado que los bajos puntos de saturación se suelen encontrar en especies tolerantes a la sombra (Teskey et al., 1995; Reich et al., 1995; Salisbury y Ross, 1992), también se tiene el antecedente de *Picea abies*, especie para la que se ha reportado un punto de saturación de 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Roberntz y Stockfors, 1998) aunque se le considera una especie tolerante a la sombra y propia de etapas sucesionales avanzadas (Niinemets, 2002). Nuevamente, el ejemplo es interesante, pues aún tratándose de especies que pueden ser consideradas dentro de un mismo grupo homogéneo de condiciones de RFA, $T^\circ C$ y HR y son especies hermanas, la respuesta al medio abiótico no es homogénea.

En el caso de *P. pringlei* es interesante hacer notar que la aunque la respuesta fotosintética es parecida a la de *P. oaxacana* en su punto de compensación y de saturación, la

sensibilidad a la luz es más alta ($\alpha = 0.0104$), por lo que la tasa fotosintética se incrementa más rápidamente con la luz. Sin embargo, la F_N en saturación es menor, por lo que las intensidades lumínicas superiores a $1900 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no se traducen en tasas fotosintéticas similares.

El ejemplo más claro de las diferencias en la respuesta fotosintética a RFA se halla en *P. patula* en el que como ya se dijo, los parámetros del punto de compensación y de sensibilidad provinieron de la parte gemela de la hipérbola debido a que no se presentaron tasa fotosintéticas positivas. A pesar de las limitaciones al no poderse interpretar estos datos como representativos de las medias anuales en F_N , es claro que esta especie difirió notablemente del resto en este momento particular del año.

Independientemente del análisis posterior de los efectos de las relaciones filogenéticas en los valores observados de los caracteres fenotípicos de las especies, un aspecto que comienza a resaltar es que cada especie presenta una relación particular con el medio físico y que el supuesto de que comparten un ambiente o la necesidad de incluir datos tomados de "régimenes selectivos compartidos" que ha señalado Blomberg (2002), requiere de rediscutir ambos conceptos. La existencia de diferencias significativas en F_N y F_{MAX} , así como en g_{SMAX} y WUE_{MEDIA} permite rechazar la hipótesis nula de ausencia de diferencias en las características fisiológicas. No obstante, si estas pueden ser atribuidas a efectos o inercia filogenética se discutirá en los siguientes apartados.

6.2 EL PAPEL DE LAS RELACIONES ANCESTRO DESCENDIENTE

Quizás lo primero que debe decirse a este respecto es que la cantidad de especies incluidas en este trabajo parece insuficiente para permitir el pleno funcionamiento de los procedimientos estadísticos con que se cuenta. Ya Christman (1997), Diniz-Fihlo (2000) y más recientemente Blomberg y Garland (2002) han señalado la necesidad de incluir al menos 20 especies en los análisis intragenéricos que empleen el modelo autorregresivo de Cheverud o los contrastes filogenéticamente independientes de Felsenstein. Por otra parte, la falta de réplicas intraespecíficas para estimar la relación RFA- F_N , así como para determinar la temperatura asociada a F_{MAX} , limitó la aplicación del análisis de varianza anidado a cuatro de las características fisiológicas estudiadas. Aún así, se pueden apreciar algunos resultados

interesantes acerca del efecto de las relaciones filogenéticas en los valores fenotípicos observados.

No se discutirán los resultados de cada tipo de análisis comparativo filogenético por separado, sino que se tratará de extraer los patrones generales de todos los análisis en aras de sustentar conclusiones más claras.

En torno a la estimación del componente filogenético de los caracteres

Los resultados de la estimación de estados ancestrales mostraron las dificultades e imprecisiones producidas por la inclusión de longitudes diferentes para las ramas de la filogenia. Así, los tamaños de error estándar promedio más pequeños (en relación al valor de estado ancestral calculado) se encontraron al utilizar longitudes iguales para las ramas de la filogenia.

Al suponer un modelo de evolución exponencial para los caracteres incluidos la información que se obtiene acerca de los nodos más basales de la filogenia es muy reducida, pues, según el modelo, los cambios ocurrirían en nodos muy recientes. Como ya se dijo, el número de especies de la Sección Ponderosae que se incluyó es reducido y debido a esto, el suponer la evolución exponencial de los caracteres provoca que todos los grupos hermanos anteriores al nivel de especies presenten valores muy semejantes para los caracteres fenotípicos, sobreestimándose notablemente la estasis filogenética. Esto no es un problema debido al modelo de evolución exponencial en sí, sino a que se necesitaría incluir más especies para que este sea de utilidad. Asimismo, el reducido número de especies estudiado deja sin representar una parte de la variación fenotípica, lo cual afecta a todos los métodos comparativos.

Es claro que la estimación de estados ancestrales fue más consistente cuando se incluyeron longitudes de rama iguales a uno (Tablas 5-12 y 5-14). Lo que resulta más difícil es determinar cuál de los modelos se adecua mejor para describir la evolución de los caracteres estudiados, aunque la varianza acumulada para todos los caracteres resulta en general menor cuando se supone la evolución lineal de estos, esto es cuando se supone que se aproximan más al movimiento browniano. Estos datos son importantes porque una de las formas en las que se puede presentar la inercia filogenética es justamente que la evolución

de los caracteres se desvíe del movimiento Browniano, disminuyendo la tasa de cambio en los caracteres fenotípicos. Acerca de en qué casos particulares la conservación del movimiento Browniano en la evolución de un carácter puede ser evidencia de inercia o restricción filogenética, hablaré más adelante.

La desviación del movimiento browniano en la evolución del carácter también puede manifestarse en la forma de tasas aceleradas en la evolución de los caracteres fenotípicos en ramas o en niveles particulares de la filogenia. El modelo de evolución exponencial supone que la tasa de evolución del carácter se incrementa cerca de las puntas de las ramas de la filogenia.

Los resultados del análisis de autocorrelación (correlogramas de I de Moran) filogenética mostraron patrones contrastantes en la distribución de la correlación entre los niveles jerárquicos de la filogenia (Figura 5-3, Tabla 6-1). La tasa de evapotranspiración media (TRP_{MEDIA}), la temperatura asociada a la tasa fotosintética máxima ($T^{\circ}C_{F_{MAX}}$) y en menor grado la conductividad estomática máxima ($g_{S_{MAX}}$), muestran un patrón de distribución de la autocorrelación filogenética similar al esperado normalmente en procesos de evolución por movimiento Browniano (Gittleman et al., et al., 1997), es decir que el grado de autocorrelación filogenética se va haciendo más pequeño conforme los cortes de la filogenia para los que se evalúa están más atrás en el tiempo. Algunos autores han señalado que este tipo de patrón puede atribuirse a la influencia de la deriva génica

Para poder avanzar en la comprensión de los procesos microevolutivos particulares que serían la causa de este patrón de disminución del índice I de Moran conforme se incrementa la distancia filogenética, es necesario conocer la cantidad de genes que intervienen en la determinación de este tipo de características y la forma en que el resultado de cada uno de esos genes interactúa con otros. En general, la claridad con la que se puede asignar a una fuerza microevolutiva el patrón de correlación filogenético observado será mayor mientras menos genes estén involucrados en la característica fenotípica estudiada. En este caso, queda por discernir, por lo menos, el papel de las proteínas del complejo antena, de las proteínas del citocromo, de la actividad de la Rubisco, de los mecanismos involucrados en el transporte activo de iones como el potasio y otros relacionados con la integración de las variables del medio físico en la respuesta fotosintética. Todo esto hace más

difícil la asociación de fuerzas microevolutivas como la selección estabilizadora o la deriva génica al patrón de movimiento Browniano.

Otro aspecto cuyo conocimiento futuro será trascendente es el de la reconstrucción de la historia de la distribución de estas especies que muestran patrones de movimiento Browniano en la evolución de TRP_{MEDI} , $T^{\circ}C$ para F_{MAX} y g_{SMAX} , aunada a la reconstrucción de las condiciones abióticas prevalecientes en el pasado en las zonas de esa distribución. Esta información permitiría identificar los casos en los que el movimiento Browniano en la evolución de algunos caracteres se mantiene a pesar de cambios más o menos bruscos en las condiciones de medio abiótico, esto es, casos en los que se pueda apreciar inercia filogenética. Al mismo tiempo la articulación con este tipo de información paleoclimática y de paleodistribución permite la utilización de otros métodos que sí pueden estimar la participación de fuerzas como la selección estabilizadora o la selección direccional en el contexto de los estudios comparativos filogenéticos, como el modelo de adaptación de Hansen (1997) o el de Baum y Larson (1991).

No se debe perder de vista que en $T^{\circ}C$ para F_{MAX} , TRP_{MEDI} y g_{SMAX} , la correlación va disminuyendo de forma un poco escalonada, con un cierto parecido al proceso denominado "paso a paso" (Gittleman et al., et al., 1997), en el que en algunos niveles de la filogenia no se observan cambios en la correlación filogenética y sólo en algunos se observan descensos un poco bruscos en la autocorrelación filogenética estimada. Este patrón podría deberse, nuevamente al número reducido de especies incluidas que redundan en que entre los valores estimados para los nodos de la filogenia con la que trabajé hay, de hecho, otros nodos que relacionan a las 6 especies estudiadas con el resto de las especies de pinos, con lo que solo se reconstruyó una parte del proceso de evolución de cada carácter. Las características fenotípicas de las especies no estudiadas aquí podrían ser necesarias para completar la muestra de la variación fenotípica del género y de como se relacionan estas características con la estructura filogenética.

Varias características relacionadas con la tasa fotosintética de las especies mostraron un patrón de correlación distinto, en el que ésta se hace menor entre las especies más cercanamente emparentadas. Este fue el caso de la WUE_{MEDI} , el punto de saturación y la sensibilidad a RFA (α), aunque en este último caso, el correlograma indica la ausencia de

cambios en la correlación filogenética en los nodos más lejanos. En un caso extremo, la tasa fotosintética máxima F_{MAX} presentó una correlación filogenética negativa (aunque no significativa) en los nodos más recientes de la filogenia. Se ha debatido mucho acerca de las fuerzas microevolutivas que podrían estar involucradas en una tendencia de este tipo (McKittrick, 1993; Martins, 1996; Gittleman et al., 1996; Blomberg y Garland, 2002), y aunque la evolución de este carácter podría estar correlacionada con procesos de selección disruptiva operando sobre algunas otras características (por ejemplo estructurales), la sola presencia de este patrón en los correlogramas del índice I de Moran, no nos permite afirmar la preponderancia de algún proceso en la historia evolutiva de los caracteres.

Tabla 6-1. Patrones de los correlogramas del índice I de Moran para las características fisiológicas y posibles procesos evolutivos causantes. En las características para las que se señalan dos patrones el cambio en los valores de I mostró características de ambos (ver la Figura 5-3 para más detalles).

		Patrón observado en los correlogramas del índice I conforme se incrementa la distancia filogenética					
		Sin correlación	Direccional ascendente monotónica	Direccional ascendente escalonada	Pieza a pieza	Pérdida de correlación a partir de nodos específicos	Direccional descendente monotónica
Caracteres Fisiológicos	F_{MAX}						×
	g_{SMAX}		×	×			
	E_{tMEDIA}		×	×			
	WUE_{MEDIA}					×	
	AFE	×					
	T para F_{MAX}		×	×			
	Punto de compensación				×		
	F_N saturación				×		
	Punto de saturación				×		
	α					×	
Proceso asociado al patrón		Posible conservación filogenética del nicho	Movimiento Browniano posiblemente debido a deriva génica o selección estabilizadora	Alta labilidad evolutiva	Posible surgimiento de innovaciones clave	Selección disruptiva	

En general los valores bajos del índice I de Moran indican una alta labilidad de los caracteres fenotípicos estudiados, pues éstos solo resultaron significativos para los “cortes” correspondientes a los nodos más basales en el caso de la temperatura asociada a F_{MAX} y en el caso del índice de área foliar específica, a pesar de que los valores de z asociados al índice I de Moran resultaron estadísticamente significativos. La ausencia de cambios en los valores de I son indicativos de relativamente poca influencia de la estructura filogenética en este carácter lo cual se ajusta, en este sentido a lo esperado de acuerdo a Blomberg y Garland (2002) y a Morales (2000b)

La tasa fotosintética en saturación (F_N en saturación) y la sensibilidad a RFA (α) muestran caídas abruptas en el valor del índice I de Moran, en el primer caso en nodos intermedios de la filogenia y en el segundo en los nodos más recientes. Este tipo de patrón es muy trascendente porque puede indicar el surgimiento o aparición de novedades evolutivas clave en esos nodos en particular que ampliasen el nicho definido por una especie y sus descendientes. Estos patrones son más significativos toda vez que los valores del coeficiente ρ de autorregresión del modelo de Cheverud son intermedios y no significativos para estos caracteres, lo cual es consistente con la presencia de intervalos de distancia filogenética para los que la autocorrelación es contrastantemente pequeña.

Aunque sería deseable tener resultados de análisis de varianza anidado de estas dos características para tener una idea más completa de la ubicación de los nodos en los que la estructura filogenética pierde importancia en la determinación de la varianza, los resultados de este análisis para F_{MAX} , característica relacionada con $F_{N_{saturación}}$, son reveladores. Efectivamente, el nivel jerárquico de las Subsecciones, de acuerdo con los resultados del análisis de varianza anidado (Tabla 5-15), resulta no explicativo de la varianza en esta característica. De este modo, al conjuntar la evidencia de los diferentes métodos comparativos filogenéticos parece detectarse un periodo de mayor labilidad evolutiva que habría permitido la ampliación de la variación que se observa en estas dos características en las diferentes especies, probablemente debido a la aparición de alguna modificación “clave”. Asimismo, lo interesante es que estos resultados pueden llamar nuestra atención hacia el estudio de en que parte del mecanismo de la fotosíntesis se dieron estas “innovaciones

clave”, lo cual puede orientar futuros estudios de bioquímica, genética molecular y evolución del desarrollo.

En particular se ha sostenido que los caracteres para los que la pendiente de los correlogramas cambia de sentido (llamado “pieza a pieza”), como el punto de compensación, F_N en saturación y el punto de saturación, la labilidad evolutiva del carácter es mayor (Gittlemann, 1997), lo cual puede deberse tanto a una gran plasticidad del carácter que permite responder a cambios en el sentido de las presiones de selección, como a presiones de selección muy bajas sobre los caracteres, lo cual permite que el proceso de evolución del carácter sea más azaroso.

Los patrones generales que se observaron para varios de los caracteres fenotípicos en los valores de I de Moran coinciden sólo parcialmente con los resultados del análisis de autorregresión filogenética de Cheverud que se realizó con longitudes fraccionarias para las ramas de la filogenia (Figuras 5-4 y 5-5). En este análisis, F_{MAX} y α también mostraron un sentido de la autorregresión filogenética negativo, indicando que las especies más cercanas difieren más en estas variables que las especies más lejanas. Otras dos características que habían mostrado una correlación filogenética negativa en el análisis de los correlogramas del índice I de Moran, la WUE_{MEDIA} y el punto de compensación, tuvieron valores positivos de ρ en este análisis. En parte la inconsistencia está explicada por la baja significancia estadística que mostraron ambos modelos.

Posibles sesgos producto de la inclusión de longitudes de rama fraccionarias

La subrepresentación de la Sección Ponderosae como ya se ha dicho, afecta los resultados obtenidos porque sobreestima el efecto de la cercanía filogenética de las especies del grupo. Adicionalmente, la baja tasa de sustitución del marcador empleado para estimar las distancias entre las especies ($matK$), hace que las ramas de este grupo aparezcan sumamente cortas. Estas longitudes de rama, actúan acentuando el sesgo de la aparente cercanía entre las especies de este grupo. Longitudes de rama demasiado largas o demasiado cortas pueden oscurecer o sesgar los patrones debidos a la filogenia, pues si los eventos de especiación ocurrieron hace muy poco, es más probable que se observe que las diferencias al interior del grupo se deban a los sucesos posteriores a la especiación y no a la inercia filogenética. Por el contrario, si los eventos de especiación hubiesen ocurrido muy atrás en el

tiempo, se presenta un efecto similar a la atracción de las ramas largas, pues especies distantes pueden tener caracteres fenotípicos homoplásicos, que diluyen la señal filogenética y pueden contribuir a la autocorrelación filogenética negativa, pues especies muy lejanas tendrían un mayor parecido que especies cercanas.

El problema se halla en que al haberse estimado las distancias entre las especies a partir de un solo marcador molecular de baja tasa de sustitución, estos estimados no son los más confiables y sería deseable contar con un estimado hecho a partir de varios marcadores no relacionados con las características fisiológicas estudiadas, o bien, a partir de un solo marcador molecular con la resolución necesaria para establecer las relaciones de las especies que integran el género. Inicialmente se intentó incluir la información acerca de las longitudes de las ramas con el objetivo de que esta proveyese una mayor resolución en la detección de la inercia filogenética. Sin embargo, Symonds (2002) reportó que la inclusión de longitudes fraccionarias ha traído problemas para la estimación de los estados ancestrales, con consecuencias en la imposibilidad de elaborar los contrastes filogenéticamente independientes. El mismo problema se presentó en este trabajo, donde en general la inclusión de longitudes diferentes para las ramas sobreestimó el cálculo de los estados ancestrales en particular en los nodos de la rama del subgénero *Pinus*. En este caso, el incluir las longitudes estimadas para las ramas de la filogenia incrementa el efecto de "falsa cercanía" ya descrito anteriormente, por lo que los estimados de estados ancestrales así como de la magnitud de la inercia filogenética más verosímiles parecen ser los que incluyen longitudes de rama iguales para toda la filogenia.

Symonds (2002) llegó al extremo de asignar valores arbitrarios a las ramas de la filogenia de los mamíferos con la que trabajó. En este caso el contraste que se observa al incluir longitudes de rama iguales a uno, hace que estos estimados parezcan más correctos, pues permiten disminuir el sesgo debido a la sobreestimación de la cercanía filogenética de las especies de la Sección *Ponderosae*. Adicionalmente, en otro trabajo que incorporó métodos comparativos filogenéticos en el estudio de especies de pinos (Grottkop y Rejmanek, 2001), se prefirió la incorporación de longitudes de ramas equivalentes debido a que aún se carece de una filogenia completa de todos los miembros del género *Pinus*.

Correlaciones e inercia filogenética con longitudes de rama iguales

El signo negativo del coeficiente de correlación ρ que en este caso se presentó para todos los caracteres no resultó significativo más que para la temperatura asociada a T °C asociada a F_{MAX} . En todos estos casos de ausencia de correlación significativa, incluso el sentido de la interacción podría ser un efecto del reducido número de especies incluidas en la comparación. Si se supone como válido el signo de ρ , se podría interpretar que no existe inercia filogenética en los caracteres estudiados, pues Gittleman y sus colaboradores (1996) han señalado que solo los valores positivos y significativos de ρ serían indicativos de inercia filogenética. Sin embargo, también se ha argumentado que el coeficiente ρ sólo mide el parecido entre las especies dada su relación filogenética (Blomberg, 2002) y no provee poder explicativo para ser indicador de inercia filogenética. Volveré a abordar este tema al final de esta sección

Resulta interesante por otra parte comparar los valores de R^2 del modelo de autocorrelación filogenética con los de R^2 para los caracteres en que se realizó el ANOVA anidado, pues siguiendo modelos distintos, ambos coeficientes se consideran una medida válida de la proporción de la varianza fenotípica explicada por la estructura filogenética que relaciona a las especies estudiadas. En el modelo autorregresivo de Cheverud (1985) los valores bajos de este coeficiente (asociados a ρ no significativas) indican que la mayor parte de la variación observada en los caracteres estudiados corresponde a la respuesta particular de cada especie al medio físico.

En el caso del ANOVA anidado, se encontró un efecto significativo de la estructura de anidamiento construida con base en las relaciones filogenéticas entre las especies. Esta estructura, como ya se ha dicho, resultaría explicativa del 31% de la variación observada en los valores de F_{MAX} . El valor de R^2 obtenido en el ANOVA (0.3185) resulta mucho más grande que el del valor de R^2 obtenido en el modelo de Cheverud (0.1443). Sin embargo estas diferencias pueden ser sólo aparentes. El valor de R^2 del ANOVA anidado incluye el efecto del último nivel de anidamiento incluido, es decir el de las especies (para este nivel $R^2=0.1257$), lo cual puede sobrestimar la proporción de la varianza explicada por el modelo

lineal. En cambio, el modelo de Cheverud incorpora la porción de la varianza explicada por las respuestas fenotípicas de las especies en el otro componente del modelo, por lo que esta parte de la variación explicada no se incluye en el valor de este R^2 .

De manera similar ocurre en los otros cuatro caracteres para los que se realizó el análisis de varianza anidado. En particular en el caso de TRP_{MEDIA} y WUE_{MEDIA} , el nivel de anidamiento correspondiente a las especies resultó significativamente explicativo de una parte de la varianza observada en estos caracteres. Esto hace que el argumento mencionado arriba se pueda extender a todas estas comparaciones; así las diferencias en el funcionamiento de los dos análisis explican las diferencias en la parte de la varianza fenotípica que queda asociada a la estructura de relaciones filogenéticas.

La manera como se distribuyen los valores de R^2 del ANOVA anidado en el caso de F_{MAX} revela que la mayor parte de la porción de la varianza fenotípica explicada por la estructura jerárquica de la filogenia se halla en el nivel de las especies. El nivel inmediato inferior no resultó significativamente explicativo de la varianza fenotípica y sólo los niveles más basales, como Subgénero y Sección mostraron significancia estadística para explicar la varianza en este carácter. Esto habla de la necesidad de analizar con mayor detalle las diferencias entre los Subgéneros en estudios posteriores que incorporen un mayor número de especies de cada uno de ellos para minimizar el efecto de las ramas largas. A este respecto, resulta importante no perder de vista que de acuerdo con datos de Daniel Piñero (comunicación personal) la divergencia entre los dos Subgéneros se ubica en hace alrededor de 135 millones de años, por lo que resulta trascendental que aún después de un periodo largo de evolución independiente, el efecto de la longitud de las ramas no contrarreste la estructuración de la varianza fenotípica debida a la filogenia y en particular debida a nodos basales de ésta.

Dado que el ANOVA anidado es un análisis no desarrollado *ex-profeso* para la realización de análisis comparativos filogenéticos, puede sobreestimar algunas veces el efecto de las relaciones ancestro-descendiente, ya que se incorpora en R^2 la varianza explicada por el nivel de anidamiento de las especies, como se puede apreciar en este caso a partir de la comparación de sus resultados con los de otros análisis (Tabla 6-2). Sin embargo, los resultados de este análisis aportan elementos que permiten sugerir que en el futuro,

estudios que incorporen un mayor número de especies de pinos podría concentrarse en el análisis de las diferencias fisiológicas entre los dos subgéneros y por otra parte en las diferencias que se presenta en el nivel de especie.

Tabla 6-2. Comparación del valor de R^2 obtenido mediante el modelo autorregresivo de Cheverud (1985) y el análisis de varianza anidado. Se incluyen solamente la variables fisiológicas para las que se realizaron ambos análisis. Se indican en negritas los valores significativos.

	Valor de R^2		
	ANOVA anidado	ANOVA anidado sin incluir el nivel de especie	Modelo de Cheverud
F_{MAX}	0.3185	0.1928	0.1443
g_{SMAX}	0.3460	0.3278	0.2119
TRP_{MEDIA}	<i>0.1815</i>	0.1757	0.0646
WUE_{MEDIA}	0.3388	0.337	0.0003

La ausencia de una autocorrelación filogenética significativa ($\rho=-0.49$; Tabla 5-14) para el índice de área foliar específica (AFE) aunada a los resultados observados en los correlogramas del índice I de Moran, resulta particularmente extraña de acuerdo a lo esperado. Se ha afirmado y constatado en otros trabajos (Grottkop y Rejmanek, 2001; Morales 2000a; Gittleman et al., et al., 1997) que los caracteres estructurales de variación continua tienden a mostrar una mayor inercia filogenética. Grottkop (2001) encontró que al analizar los componentes fisiológicos y estructurales de la tasa relativa de crecimiento en 26 especies de pinos, los efectos de la filogenia sobre cada uno de estos componentes y sobre la correlación general no son demasiado grandes pues las correlaciones entre las distintas características resultaron similares tanto al usar los datos crudos como los valores residuales. Este último elemento es de importancia en la discusión del otro patrón observado a partir de la aplicación del modelo autorregresivo de Cheverud y de los Contrastes Filogenéticamente Independientes.

La constancia en el valor de I para AFE y α , en este último caso con la excepción de las distancias filogenéticas muy pequeñas hace interesantes las diferencias interespecíficas encontradas en el ANOVA de una vía (Tabla 5-3). No se trata entonces de un caso en el que el medio físico implique una morfología foliar compartida o una convergencia fisiológica, en todo caso, sólo se puede pensar que el medio físico compartido oscurece el patrón de

disminución en el parecido conforme se incrementa la distancia filogenética que se esperaría en caso de correlación filogenética. El patrón observado para el AFE puede hablarnos de un fenómeno parecido al que Webb et al. (2002) llama "conservación filogenética del nicho", pues la constancia en el valor de I indica que no hay aumentos o disminuciones en la similitud fenotípica entre los especies asociados a la divergencia. Nuevamente, en el caso de α , la caída en la correlación filogenética en las distancias más pequeñas indica que cada especie tiene una respuesta diferente como resultado de procesos no atribuibles a la inercia filogenética.

Correlaciones fenotípicas al retirar el componente filogenético

Al ser la pendiente de la correlación entre los valores de r de Pearson para los datos crudos (incluyendo el componente filogenético de los caracteres) y residuales (sin incluir el componente filogenético de los caracteres) muy cercana a 1, se puede inferir que el efecto global de las relaciones filogenéticas es pequeño, pues esto indica que para la mayoría de las correlaciones lineales entre los caracteres el valor de r no varió mucho al retirar el componente filogenético de estos. La consistencia de los resultados del modelo autorregresivo de Cheverud con diferentes longitudes de rama (figuras 5-4 y 5-5), así como en los contrastes filogenéticamente independientes (aunque en este caso la dispersión de los puntos se incrementó), permite afirmar que en general el papel del componente filogenético en los caracteres estudiados es pequeño. No todas las correlaciones entre los caracteres fenotípicos proveen información funcional real (p. ej., no hay elementos que nos permitan hipotetizar algún mecanismo que relacione el índice de área foliar específica, AFE, con la sensibilidad a RFA) y en otros casos ya sabemos que existen relaciones lineales entre los caracteres, sea porque uno implica al otro (WUE y TRP), sea porque ambos son función lineal de un tercero (F_N y g_s respecto a la conductividad hídrica; Hubbard et al., 2001). Sin embargo, el objetivo principal de comparar las correlaciones crudas y residuales es tener una idea aproximada del efecto de retirar el componente filogenético de la interacción.

Los valores de seis de las correlaciones entre caracteres si se modificaron notablemente al retirar el componente filogenético de los valores de carácter. Es interesante que la mitad de los cambios importante en el valor de r al trabajar con los valores fenotípicos residuales, correspondan a correlaciones que involucran la temperatura asociada a F_{MAX} .

Esto puede interpretarse como que la estructura filogenética incide de manera más importante en los valores de este carácter.

Sin embargo, el efecto de la filogenia observado en T °C para F_{MAX} , se diluye en la interacción con otros caracteres, pues sólo algunas de las correlaciones lineales con otros caracteres mostraron el mismo efecto filogenético

Haciendo un balance general, los valores bajos de los componentes filogenéticos para los caracteres estudiados podrían ser indicativos de poca inercia filogenética. Sin embargo, para poder conocer si efectivamente existen restricciones filogenéticas a la variación en estas características fisiológicas es necesario tener mayor información acerca de la historia de la distribución espacial de las especies así como de la paleoclimatología de las zonas de distribución. De este modo se podría identificar si efectivamente se puede presumir que existió una ausencia o limitación en el cambio en los caracteres fenotípicos a pesar de cambios en las condiciones climáticas en las que se distribuían las especies estudiadas. En otro campo, queda aún por conocerse si las diferencias mostradas en las características fisiológicas entre las especies se hallan asociadas a alguna diferencia a nivel molecular entre las enzimas que intervienen en el proceso de la fotosíntesis (por ejemplo, el complejo antena o de captación de luz, que permite concentrar la energía de los fotones en los centros de reacción).

6.3. EN TORNO A LAS RELACIONES ENTRE LOS ORGANISMOS Y EL AMBIENTE

En el inicio de este trabajo se planteó el supuesto de la existencia de un entorno ambiental compartido por las especies del género *Pinus* estudiadas. Al margen de si las diferencias encontradas en algunas de las variables del entorno físico pudiesen haber tenido un efecto no lineal sobre las variables fotosintéticas de los árboles estudiados y por tanto no detectado en la regresión lineal múltiple, creo que es importante retomar la parte de la discusión que tiene que ver con hasta que punto las características del mundo exterior al organismo pueden considerarse sinónimas del ambiente del mismo. Se suele utilizar la palabra "ambiente" como sinónimo de las condiciones físicas y de un conjunto de variables como la humedad, el tipo de suelo y otras, que serían absolutas en el sentido de que todos

los organismos se enfrentan a ellas como condiciones externas. Otra forma de entender la palabra ambiente sería que el "ambiente", en tanto que entorno en el que se desarrollan los organismos, requiere ser definido en relación a las condiciones particulares del medio físico que son importantes para el organismo y a la forma en que estas inciden en sus características, por ejemplo fisiológicas, pues cada especie integra de una manera particular dichas condiciones.

En el caso de las especies estudiadas, diferencias en el proceso de integración de las condiciones del mundo exterior, así como en las características de los diferentes sistemas involucrados en la fijación del CO₂ pueden estar implicadas en las diferencias observadas, por ejemplo, en la tasa fotosintética. De hecho, parte de estas diferencias en la integración de las señales del medio físico se ve reflejada en las diferentes curvas de respuesta fotosintética a la luz que se presentaron en el capítulo anterior y se discutieron en la sección 6.2.

Es cierto que por una parte, el ambiente determina las características de las especies; en el corto plazo las determina en tanto que los recursos disponibles, así como los efectos de la temperatura, luz, humedad, etc., inciden en la morfología y la fisiología de las especies mecánicamente, lo que se suele llamar explicación de *causas próximas*; en el tiempo profundo, las condiciones ambientales inciden en la sobrevivencia y reproducción de los diferentes organismos propiciando la fijación de características favorables, lo que constituye un tipo de explicación de *causas últimas*. Pero también es cierto que las características del organismo determinan que partes del mundo exterior son integradas y de qué forma, conformando sus ambientes y cuales relaciones entre los elementos de este son importantes para la vida del organismo; un mismo conjunto de condiciones ambientales puede tener efectos diferentes sobre diferentes especies de acuerdo a las características particulares de la biología de estas. A esto se puede sumar la modificación, de corto y largo plazo, que pueden incluir desde la alteración del microentorno hasta la modificación de las condiciones físicas circundantes a largo plazo (el ejemplo más dramático lo tenemos en los cambios en la composición de la atmósfera en distintos momentos de la historia geológica). La evolución del organismo y del ambiente son entonces procesos acoplados. Alrededor de este proceso Lewontin (2000) ha planteado la necesidad de hablar de la *construcción del ambiente* por el organismo, entendiendo por ambiente ya no un mundo exterior ante el cual los organismos se enfrentan

como algo absoluto, sino como una relación particular que se establece entre cada organismo y ese mundo exterior. La suposición de que el coexistir en un mismo sitio implica necesariamente que las especies comparten un régimen selectivo (Blomberg y Garland, 2002) no es necesariamente cierta y parece necesario reconsiderarla en el marco del conocimiento del resto de las características biológicas de cada especie.

Al respecto, Webb (2002) ha señalado que las relaciones filogenéticas entre las especies pueden afectar no sólo la distribución espacial de las especies –hecho bien conocido–, sino también las características ecológicas que estas presentan en los espacios en los que coexisten. A uno de los patrones que se podrían observar le ha llamado la “conservación filogenética del nicho”, el cual tiene que ver con la conservación de algunas características ecológicas a pesar del cambio en los ecosistemas en los que se encuentran. El concepto parece guardar cierta semejanza al de restricción filogenética. Aquí, además de explorar la relación de la variación fenotípica observada en el presente con las relaciones filogenéticas a nivel macroevolutivo, es necesario incorporar en el análisis procesos relacionados con la historia más reciente de las especies, los cambios en sus zonas de distribución y las condiciones climáticas en las que estas se han desarrollado.

No se puede perder de vista que la selección natural puede actuar favoreciendo la fijación de diferentes tipos de características en cada especie aún en un contexto ecosistémico similar, si el ambiente, aún entendido como “problema por resolver” no es único, tampoco lo son las soluciones. Estas son influidas por el tipo de condiciones externas actuales, pero también por las condiciones externas o de medio abiótico con las que se relacionaron los organismos en el pasado y esto está vinculado con la distribución pasada de las especies, la cual no necesariamente coincide estrictamente con la secuencia de eventos de especiación que se pueden leer en una filogenia de las especies de pinos con las que se trabajó en el presente estudio.

Parte de la predicción común en la literatura de que características fisiológicas (y de comportamiento en el caso de los animales) tenderán a mostrar un menor grado de efecto de la filogenia (Blomberg et al., 2003; Morales 2000b; Ackerly, 1999; Miles y Dunham, 1993), proviene del hecho de que como han señalado Blomberg y Garland (2002) las comparaciones suelen hacerse entre especies que no comparten una distribución geográfica ni un medio. Es

cierto que si comparamos las características fisiológicas de muchas especies relacionadas que no comparten un ambiente (p. ej., todos los pinos del mundo), los efectos del medio abiótico en el que se desenvuelve cada especie pueden oscurecer o borrar la mayor parte de la huella del efecto de la filogenia, pues los procesos mecánicos (dada una concentración de CO_2 en la atmósfera, se establece una cierta presión parcial de este gas que determina un cierto flujo hacia el interior de la planta con una g_s dada) y procesos de selección natural (dado un déficit de H_2O promedio y una cierta temperatura promedio, habría una relación $g_s\text{-}T\text{ }^\circ\text{C}$ que incrementa más la adecuación) determinarían en mayor grado los valores de las características fisiológicas.

La idea general de este estudio consistió justamente en tratar de controlar las diferencias en el medio abiótico y revisar a partir de esto la magnitud de el efecto filogenético. La existencia de un medio físico compartido, extendida la existencia de un ambiente compartido se utilizó al inicio como cláusula *ceteris paribus* (Gould, 2001). Por lo tanto, se esperaba observar un efecto grande de la filogenia. Los resultados muestran que la asociación de la variación a la filogenia sólo se cumple en el caso de dos características fisiológicas. Otro de los elementos que se extraen de los resultados es la necesidad de conocer más a fondo la historia de la distribución de las especies para poder plantear hipótesis que tomen en cuenta la relación entre los cambios de medio abiótico y los cambios en los caracteres fisiológicos. Por otra parte, la existencia de diferencias en las respuestas fisiológicas que se observan en las distintas especies indica que el efecto del medio abiótico dista de ser homogéneo. Así, la evidencia indica que deben existir diferencias en características genéticas en las distintas especies.

Se puede afirmar que el reducido efecto de la filogenia es el resultado de la dependencia de estas características del medio abiótico. Sin embargo, también se puede establecer otro tipo de explicación, pues alrededor de este tema se desarrolla buena parte de la polémica acerca de las relaciones organismo-ambiente. Como hemos señalado y como se observa en los resultados de este trabajo, la determinación de las características fisiológicas por el medio no es absoluta, pues se siguen presentando diferencias en las características que presentan las especies que comparten el medio abiótico. Esto no niega la importancia de factores como RFA, $T\text{ }^\circ\text{C}$, HR y demás en las características fisiológicas, pero llama nuestra

atención sobre el papel que sin duda desempeñan factores de la biología interna de los organismos (Rubisco, complejo antena, citocromo, acomodo de las células fotosintéticas con respecto a la estructura de la hoja, etc.). De hecho, las diferencias observadas ponen en duda la cláusula *ceteris paribus* que se estableció al inicio de este trabajo, esto es, el ambiente necesita ser definido en relación a los organismos, pues las relaciones de estos con las condiciones externas varían de una especie a otra esto se refleja en las variables fisiológicas que se midieron.

El medio, para ser medio, debe ser medio de algún organismo y la historia pasada del organismo incide en la forma en la que el medio se define. En la concepción que parece más adecuada, los organismos no están inermes esperando a que los inspeccione una entidad externa, el medio, sino que se interrelacionan dialécticamente con el mundo exterior y lo transforman, definiendo así al medio mismo. Claro está, no nos referimos a la acción consciente y deliberada del organismo *para* llevar el proceso evolutivo en una dirección, no se trata de revivir los "impulsos vitales" de los que Lamarck hablaba en el pasado. Se trata más bien, de reconocer que organismo y ambiente evolucionan juntos, modificándose continuamente el vínculo estrecho entre el ser vivo y el mundo exterior. El medio es, efectivamente, mucho más que un simple telón de fondo o un escenario alterado sólo por la acción de los factores abióticos, los propios seres vivos, en su variación definen constatemente su nicho. El ambiente es una relación .

Al mismo tiempo, aunque las posibilidades de combinación de las condiciones físicas del mundo que podrían ser usadas para describir un nicho ecológico son muchísimas, en la realidad solo unas cuantas ocurren, sólo unos pocos de los nichos posibles son definidos por los organismos. No se tratará con mayor extensión la complejidad del proceso, pero es conveniente señalar algunos elementos: 1) que la selección natural no se produce solamente en el nivel de una estructura o gen particular; 2) la selección natural no es la única fuerza motriz del cambio evolutivo; 3) los organismos no son infinitamente flexibles a los cambios por lo que los límites estructurales y filogenéticos imponen soluciones "no óptimas" desde el criterio de eficiencia (Gould, 1983a); 4) por último, los organismos no son objetos pasivos sobre los que actúan las fuerzas selectivas, sino que van definiendo su trayectoria de vida activamente (usando la noción planteada por Rose, 1997).

7. CONCLUSIONES

De acuerdo a lo que se esperaba, las 6 especies de pinos estudiadas mostraron diferencias significativas en las características fisiológicas estudiadas. No se puede descartar que algunas diferencias a nivel microambiental hayan contribuido a la presencia de estas diferencias. Para poder tener una evaluación más completa de la influencia de estas condiciones microambientales, es necesario analizar la variación de las características fisiológicas estudiadas. La diversidad de especies de pinos que se presenta en esta zona en particular, está acompañada de heterogeneidad en las respuestas fisiológicas.

Los análisis de método comparativo realizados muestran que sólo la variación en dos de las características esta asociada significativamente a la filogenia, $T^{\circ}\text{C}$ para F_{MAX} y F_{MAX} . Varias de las características muestran una tendencia no significativa a diferir más entre especies más cercanas.

La contribución de la inercia filogenética a los estados de carácter actuales es relativamente pequeña. El análisis más preciso de la magnitud de la inercia filogenética en las características fisiológicas estudiadas requiere, por otra parte, un conocimiento más completo acerca de los cambios en la distribución de estas especies que permitan conocer mejor los procesos que operaron en el pasado y que permitieron la coexistencia actual de estas especies en un solo bosque.

Es necesario realizar más estudios acerca de las características fisiológicas del género *Pinus* incluyendo más especies e incluyendo también más características morfológicas.

Los patrones de respuesta fisiológica indican que las diferentes variables del medio inciden de manera distinta dependiendo de la especie de que se trate. Esto implica que cada especie integra estas variables de manera diferente "construyendo" su ambiente.

8. REFERENCIAS

- Ackerly, D.D., 1999. Comparative plant ecology and the role of phylogenetic information. En: *Plant physiological ecology*. British Ecological Society, London, 1999.
- Baldwin, H. G. y Robichaux, R. H. ,1995. Historical biogeography and ecology of the Hawaiian silversword alliance (Compositae): New molecular phylogenetic approaches. En: Wagner, W. L. y Funk, V. (Eds.). *Hawaiian biogeography: evolution on a hot spot archipelago*. Smithsonian Institution Press, Washington D.C.
- Barradas, V. I. 1994. *Instrumentación biometeorológica*. Fondo de Cultura Económica, México. 113 págs.
- Baum D. y Larson, A. 1991. Adaptation reviewed: a phylogenetic methodology for studying character macroevolution. *Systematic zoology*. 40(1): 1-18.
- Blomberg, S. P. y Garland Jr., T., 2002. Tempo and mode in evolution: phylogenetic inertia, adaptation and comparative methods. *Journal of evolutionary biology*. 15(2002): 899- 910
- Blomberg S. P., Garland Jr. T. e Ives A. R. , 2003. Testong for phylogenetic signal: behavioral traits are more labile. *Evolution*. 57(4): 717-745.
- Brooks D. y Mc Lennan B. 1991. *Phylogeny, ecology and behavior*. The University of Chicago Press, Chicago. pp. 434
- Brooks D. y Mc Lennan B. 1994. Historical ecology as a research programme: scope limitations and the future. En: Eggleton, P. & Vane-Wright, R., (Eds.). *Phylogenetics and ecology*. Academic Publishing, Great Britain, 1994. pp. 376.
- Buffon G. L. L., 178-. Des époques de la nature. En: Buffon, G. L. L., *Ouvres completes de Buffon* (nouvelle ed). Verdier et Ladrang. París, 1824.
- Carter G. A. y Smith W. K., 1985. Influence of shoot structure on light interception and photosynthesis in conifers. *Plant physiology*. 79: 1038-1043.
- Cheverud J. M., Dow M. M., y Leutenegger W., 1985. The quantitative assessment of phylogenetic constraints in comparative analyses: sexual dimorphism in body weight among primates. *Evolution*. 39 (6): 1335-1351
- Christman M. C., Jernigan R. W., y Culver D., 1997. A comparison of two models for estimating phylogenetic effect on trait evolution. *Evolution*. 51 (1):262-266

- Comisión de Estudios del Territorio Nacional-Instituto de Geografía, UNAM, 1970. Carta de Climas (1:500 000). San Pedro Pochutla 14P-(II). Dirección de Planeación, México.
- Cregg, B.M. 1994. Carbon allocation, gas exchange, and needle morphology of *Pinus ponderosa* genotypes known to differ in growth and survival under imposed drought. *Tree Physiology*. 14, 883-898.
- Darwin C., (2001) [1859]. *On the origin of the species by means of natural selection*. A facsimile of the first edition. Harvard University Press, E.U.A.
- Diniz-Filho J. A., 2000. *Métodos Filogenéticos Comparativos*. Riberão Preto: Holos. Brasil
- Downie N. y Heath R., 1974. *Basic Statistical Methods*. Harper & Row Publishers. E.U.A., 1974
- Drew A. P., y Running S. W., 1975. Comparison of two techniques for measuring surface area of conifer needles. *Forest Science*. 21 (3): 231-232.
- Eguiluz, T. 1982. Clima y distribución del género *Pinus* en México. *Ciencia forestal*. 38 (7): 30-44.
- Ehleringer J. K. y Moson R. K, 1993. Evolutionary and ecological aspects of photosynthetic pathway variation. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 24:411-439.
- Falge E., Graber. W., Siegwolf R. y Tenhunen, J. D., 1996. A model of the gas response of *Picea abies* to habitat conditions. *Trees*. 10: 277-287.
- Farjon A. F., 1996. Biodiversity of *Pinus* (Pinaceae) in México: speciation and paleo-endemism. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 121: 365-384.
- Farjon A. F. y Styles B. T., 1997. *Flora Neotropica, Pinus (Pinaceae)*. The New York Botanical Garden. Nueva York.
- Felsenstein J., 1985. Phylogenies and the comparative method. *The American Naturalist*. 125 (1): 1-15
- Field C. B., Ball J. T. y Berry, J. A., 1989. Photosynthesis: principles and field techniques. En: Pearcy R.W., Ehleringer, J. R. Monney, H. A. et al., (ed.) *Plant physiological ecology, field methods an instrumentation*. Chapman and Hall. New York (1989) pp. 209-248.
- Freckleton R.P., 2000. Phylogenetic tests of ecological and evolutionary hypotheses: checking for phylogenetic independence. *Functional Ecology*. 14: 129-134

- Futuyma D.J., 1998. *Evolutionary Biology*. Sinauer Associates Inc. Massachussets, E.U.
- ✓ Falge E., Graber W., Siegwolf R. y Tenhunen J. D., 1996. A model of the gas exchange response of *Pice abies* to habitat conditions. *Trees*. 10: 277-287.
- Garland Jr. T., Midford P. E., e Ives A. R., 1999. An introduction to phylogenetically based statistical methods, with a new method for confidence intervals on ancestral values. *American zoologist*. 39: 374-388
- Gittlemann J.L., Anderson C. G., Kot M. y Luh H. K., 1996. Comparative tests of evolutionary lability and rates using molecular phylogenies. En: Harvey, P. H., et al. (eds.) *New uses for new phylogenies*. Oxford University Press. Great Britain, 1996.
- Gould S. J. y Lewontin R.C., [1979]. The spandrels of San Marco and the Panglossian paradigm: a critique of the adaptationist programme. En: Sober, E., 1984. *Conceptual issues on evolutionary biology*. The Massachussets Institute of Technology Press. E.U.A.
- Gould S. J. y Vrba E. S., 1982. Exaptation- a missing term in the science of form. *Paleobiology*, 8 (1): 4-15
- Gould S. J., 1983 a. Reinos sin ruedas. En: Gould, S. J., 1995. *Dientes de gallina y dedos de caballo*. Editorial Crítica. Barcelona, España.
- Gould S. J., 1983 b. Una audiencia para Vavilov. En: Gould, S. J., 1995. *Dientes de gallina y dedos de caballo*. Editorial Crítica. Barcelona, España.
- Gould S. J., 2001. The evolutionary definition of selective agency, validation of the theory of hierarchical selection and fallacy of the selfish gene. En: Singh R. S., Krimbas C. B., Paul D. B. y Beatty J (eds.), 2001. *Thinking about evolution, historical, phylosophical and political perspectives*. Cambridge University Press. Gr. Br.
- Grottkop E., Rejmánek M. y Rost, T. 2002. Toward a causal explanation of plant invasiveness: seedling growth and life-history strategies. *The American Naturalist*. 159 (4): 396-419
- Gulke N E. y Reztalf W., 2001. Changes in physiological attributes of ponderosa pine from seedling to mature tree. *Tree physiology*. 21: 275-286.
- ✓ Gulke N. E., Holm J.L y Roberts S.W., 1993. Physiological adjustment of two half-sib families of ponderosa pine to elevates CO₂. *Tree Physiology*. 12, 391-401.
- Hansen T. F., 1997. Stabilizing selection and the comparative analysis of adaptation. *Evolution*. 51 (4): 1341-1351.

- Hansen T.F. y Martins E. P., 1996. Translating between microevolutionary process and macroevolutionary patterns: the correlations structure of interspecific data. *Evolution*. 50 (4): 1404-1417
- × Hubbard R., Ryan M., Stiller V., y Sperry J., 2001. Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in ponderosa pine. *Plant, Cell and Environment*. 24: 113-121.
- Huey R.B. y Bennett A. E., 1987. Phylogenetic studies of coadaptation: preferred temperatures versus optimal performance temperature of lizards. *Evolution*. 41 (5): 1098-1115
- INEGI 2002. www.inegi.gob.mx
- James J., Grace J. y Hoad S., 1994 Growth and photosynthesis of *Pinus sylvestris* at its altitudinal limit in Scotland. *Journal of Ecology*. 82: 297-306
- Jones H. G., 1992. Plants and microclimate: a quantitative approach to environmental plant physiology. Cambridge University Press. Gr. Br.
- Kume A., Naoko T., Satomura T., Suzuki M, Chiwa M, Nakane K., Sakurai N., Horikoshi T., Sakugawa H., 2000. Physiological characteristics of Japanese red pine, *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc., in declined forests at Mt. Gokurakuji in Hiroshima Prefecture, Japan. *Trees*. 14 (6): 305-311
- Laitinen K., Luomala E. M., Kellomäki S. y Vaapavpuri E., 2000. Carbon assimilation and nitrogen in needles of fertilized and unfertilized field-grown Scots-pine at natural and elevated concentrations of CO₂. *Tree physiology*. 20, 881-892.
- ✧ Lajtha K, y Getz J., 1993. Photosynthesis and water-use efficiency in pinyon-juniper communities along an elevation gradient in northern New Mexico. *Oecologia*. 94: 94-101.
- Lewontin R.C., 2000. The triple helix: organism, gene and environment. Harvard University Press.
- Lewontin R. C., 2002. Directions in evolutionary biology. *Annual review of genetics*. 36: 1-18.
- Linder S. y Troeng E., 1980. Photosynthesis and transpiration of 20 year old scots pine. En: Persson, T. (ed) 1980 *Structure and function of northern coniferous forests- An ecosystem study* Ecol. Bull. (Stokholm) 32: 165-181
- Lynch M., 1991. Methods fo the analysis of comparative data in evolutionary biology. *Evolution*. 45 (5): 1065-1080

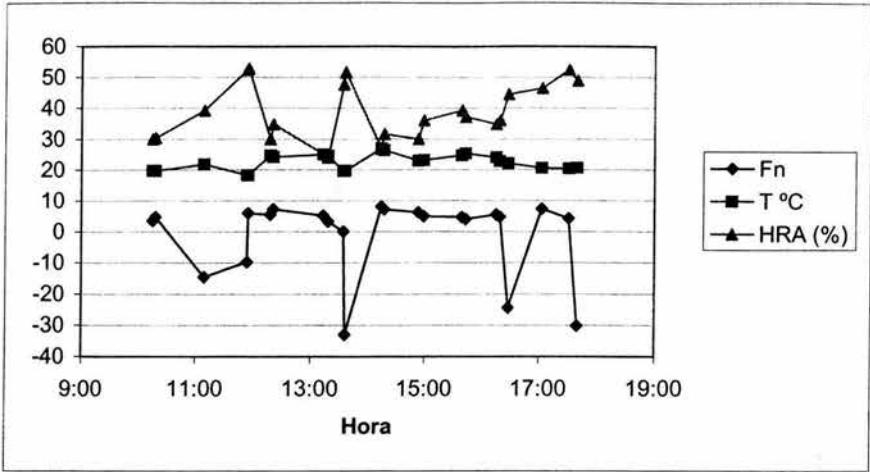
- Manes, F.; Seufert, G. y Vitale, M. 1997. Ecophysiological studies of mediterranean plant species at the Castelporziano Estate. *Atmospheric environment*. 31 No SI.
- Martins, E. P. 2001. COMPARE, version 4.4. Computer programs for the statistical analysis of comparative data. Distribuido por la autora via a través de la red en la dirección <http://compare.bio.indiana.edu/>. Department of Biology, Indiana University, Bloomington IN.
- Martins, E. P. 1996. Phylogenies, spatial autoregression, and the comparative method: a computer simulation test. *Evolution*. 50:1750-1765
- Martins, E. P. & Hansen, T. F., 1997. Phylogenies and the comparative method: a general approach to incorporating phylogenetic information into the analysis in interespecific data. *The American Naturalist*. 149 (4): 646-667
- Martins, E. P. y Hansen, T. F. 1996. A microevolutionary link between phylogenies and the comparative data. En: Harvey, P. H. et al. (eds.) *New uses for new phylogenies*. Oxford University Press. Great Britain, 1996.
- Mayr, Ernst, 1982. *The growth of biological thought. Diversity, evolution and inheritance*. The Belknap Press of the Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts.
- Mazer, S. J. 1998. Alternative approaches to the analysis of comparative data: compare and contrast. *American Journal of Botany*. 85(9):1194-1199
- Mc Kitrick, M., 1993. Phylogenetic constraint in evolutionary theory: Has it any explanatory power?. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 24: 307-330
- Miles, D. B. y Dunham, A. E., 1993. Historical perspectives in ecology and evolutionary biology: the use of phylogenetic comparative analysis. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 24: 587-619
- Monson, R.K. , 1996. The use of phylogenetic perspective in comparative plant physiology and developmental biology. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 83: 3-16.
- (Monson R. K. y Grant, 1989),. Citado en: Rundel, P. W. & Yoder, B., 1998 *Ecophysiology of Pinus*. En: Richardson, D. M. (ed.) *Ecology and biogeography of Pinus*. Cambridge University Press. Cambridge (1998). pp.296-323.
- Morales, E., 2000 a. El método comparativo en ecología vegetal. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 66: 37-51
- Morales E., 2000 b. Estimating phylogenetic inertia in *Tithonia* (Asteraceae): a comparative approach. *Evolution*, 54 (2): 475-484

- Niinemets Ü., 2002. Stomatal conductance alone does not explain the decline in foliar photosynthetic rates with increasing tree age and size in *Picea abies* and *Pinus sylvestris*. *Tree physiology*, 22: 515-535.
- Niinemets Ü., 1997. Distribution patterns of foliar carbon and nitrogen as affected by tree dimensions and relative light conditions in the canopy of *Picea abies* trees. *Trees* 11:144-154.
- Niinemets Ü, y Kull O., 1995. Effects of light availability and tree size on the architecture of assimilative surface in the canopy of *Picea abies*: variation in needle morphology. *Tree physiology*, 15: 307-315.
- Palladry S. G., Cermák J., Ewers F. W., Kaufmann M. R., Parker W.C. y Sperry J.S., 1995. Water transport dynamics in trees and stands. En: Smith, W. K. Y Hinkley, T. M. (eds.) *Resource physiology of conifers: acquisition, allocation and utilization*. Academic Press. E. U. A. (1995). pp 39-74
- Panek J. A. y Goldstein A. H., 2001. Response of stomatal conductance to drought in ponderosa pine: Implications for carbon and ozone uptake. *Tree physiology* 21, 337-344.
- Perry J. P., 1991. *The pines of Mexico and Central América*. Ed. Timber Press. Portland, Oregon (1991). 231 págs.
- Posada D. y Crandall K. A., 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*. 14(9): 817-818.
- Price R.A.; Liston A. y Strauss S. H., 1998. Phylogeny and systematics of *Pinus*. En: D. M. Richardson (ed.) *Ecology and biogeography of Pinus*. Cambridge University Press. Cambridge (1998). pp. 49-68.
- Rambaut, A. 2002. Sequence alignment editor v2.0a4. Department of Zoology. Oxford University.
- Reich P.B., Kloeppel B. D., Ellsworth D.S. y Walters M. B., 1995. Different photosynthesis-nitrogen relations in deciduous hardwood and evergreen coniferous tree species. *Oecologia* (1995) 104: 21-30.
- Rundel P. W. y Yoder B., 1998 Ecophysiology of *Pinus*. En: D. M. Richardson (ed.) *Ecology and biogeography of Pinus*. Cambridge University Press. Cambridge. pp. 296-323.
- Roberntz, P. y Stockfors, J., 1998. Effects of elevated CO₂ concentration and nutrition on net photosynthesis, stomatal conductance and needle respiration of field-grown Norway spruce trees. *Tree physiology*. 18: 233-241.

- Rose S., 1997. *Trayectorias de vida: biología libertad y determinismo*. Editorial Granica, Barcelona.
- Salisbury F.B. y Ross C.W. , 1992. *Plant Physiology*. Wadsworth Publishing Company, Belmont, California.
- Sandrino B. y Hernández L., 1986 Nuevo método para determinar el área de las hojas de *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea*. *Ciencias Biológicas* (Cuba). 16:111-114
- Scott V. E. y Naeem S., 1993. The phylogenetic component of cooperative breeding in perching birds. *The American naturalist*. 141 (5): 754-1789
- Sellin A., 2001a. Morphological and stomatal responses of Norway spruce foliage to irradiance within a canopy depending on shoot age. *Environmental and experimental botany*. 45: 115-131.
- Sellin A., 2001b. Hydraulic and stomatal adjustment of Norway spruce trees to environmental stress. *Tree physiology*. 21: 879-888
- Sokal R. R. y Rohlf F. J., 2000. *Biometry*. W. H. Freeman and Company. New York.
- SSP-INEGI, 1980. Carta de Precipitación Total Annual 1:1000 000, Oaxaca. Secretaría de Programación y Presupuesto, México.
- Stearns S. y Hoekstra R., 2000. *Evolution: an introduction*. Oxford University Press. New York.
- Symonds M.W. y Elgar M.A. 2002. Phylogeny affects estimations of metabolic scaling in mammals. *Evolution* 56 (11): 2330-2333.
- Swofford D. L., 2002. PAUP version 4.0 b10, Phylogenetic Analysis Using Parsimony and other methods. Sinauer Associates, Inc. publishers. Sunderland, Massachussets
- Teskey, R.O., 1995. A field study of the effects of elevated CO₂ on carbon assimilation, stomatal conductance and branch growth of *Pinus taeda* trees. *Plant, cell and environment*. 18 (5): 565-573.
- Teskey, R. O., Sheriff, D. W., Hollinger, D. Y. y Thomas, R. B., 1995. External and internal factors regulating photosynthesis. En: Smith, W. K. Y Hinkley, T. M. (eds.) *Resource physiology of conifers: aquisition, allocation and utilization*. Academic Press. E. U. A. (1995). pp 105-140

- Tselniker Y. L., Malinka I.S. y Korzhukin M.D., 1998. Application of the generalized Rabinowitch model to analysis of *Picea abies* photosynthesis as a function of light, temperature and humidity. *Russian journal of plant physiology*. 45(4): 512-524.
- Webb C.O., Ackerly D. D., McPeck M.A. y Donoghe M.J., 2002. Phylogenies and community ecology. *Annual review of ecology and systematics*. 33: 475-505.

a) *Pinus oaxacana*



b) *P. pseudostrobus*

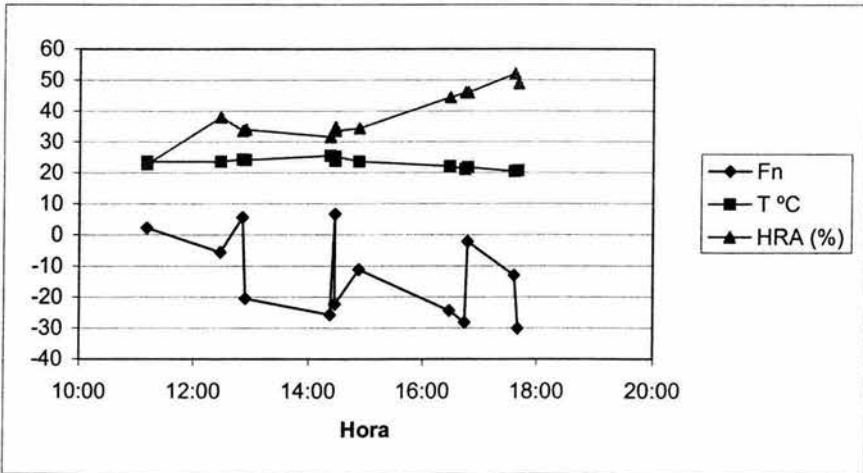
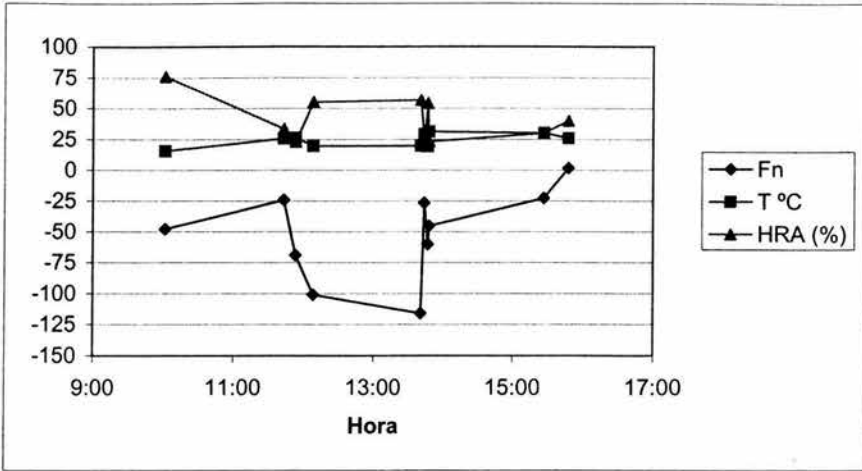


Figura A1-1 Variación diurna en F_n ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y en variables del medio físico para *P. oaxacana* y *P. pseudostrobus*.

a) *P. pringlei*



b) *P. patula*

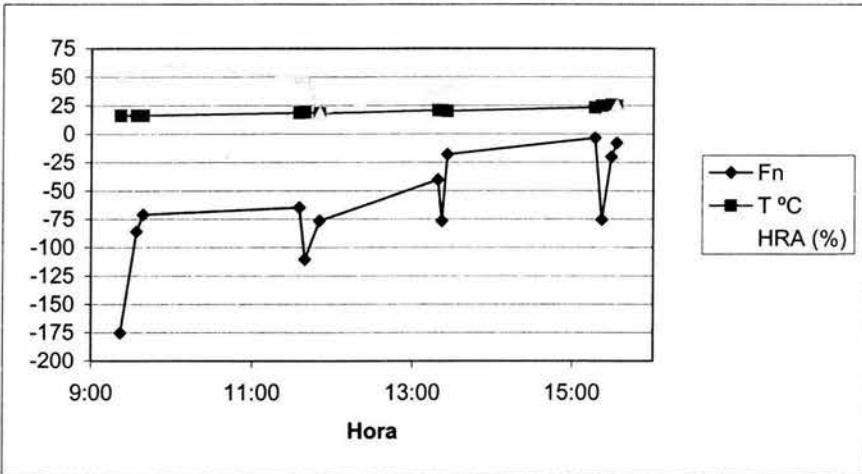
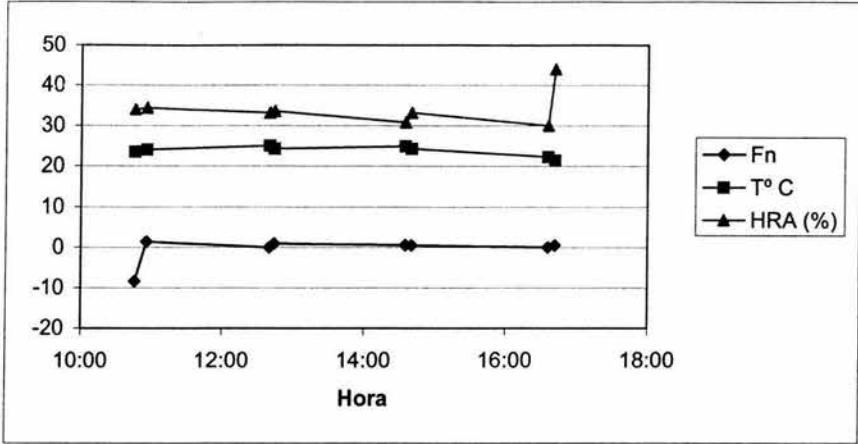


Figura A1-2 Variación diaria en F_n ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y en variables del medio físico para *P. pringlei* y *P. patula*.

a) *P. ayacahuite*



b) *P. chiapensis*

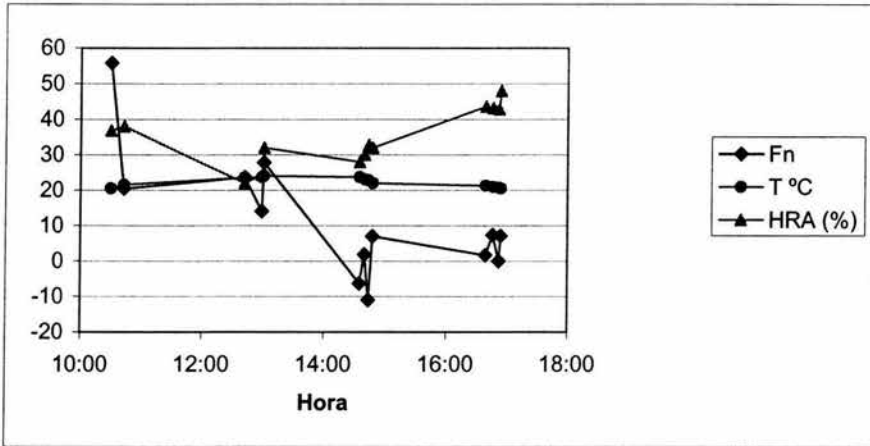


Figura A1-3 Variación diaria en F_n ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y en variables del medio físico para *P. ayachuite* y *P. chiapensis*.

Pinus oaxacana ind 1 comparación por rama

variable	Fn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T °C	Humedad relativa	RFA	Trsp ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	WUE
prueba	T student	T student	T student	MWU test	T student	MWU test	T student
m ó M rama 1	8.04E-06	23.875	30.4	22	0.895694	23	8.03788E-06
m ó M rama 2	1.44E-05	22.7	37.04	23	0.436667	22	1.44052E-05
valor T o Z	-1.807435	0.612174	-1.403142	0.491952	1.911179	0.734847	-1.80743494
p	0.113641	0.559774	0.203341	0.622757	0.097588	0.462438	0.113640855
p con dos extremos				0.730159		0.555556	

Pinus oaxacana ind 2 comparación por rama

variable	Fn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T °C	Humedad relativa	RFA	Trsp ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	WUE
prueba	T student	T student	T student	MWU test	T student	T student	MWU test
m ó M rama 1	-32.79905	22.38	36.48	23	0.464889	0.018316	21
m ó M rama 2	-7.84138	22.22	39.92	32	0.605556	0.026829	34
valor T o Z	-1.164033	0.148059	-0.573359	-0.940019	-0.419312	-0.809374	-1.35780573
p	0.277949	0.88596	0.582156	0.347215	0.686021	0.441706	0.174534887
p con dos extremos				0.420635			0.222222224

Pinus oaxacana ind 3 comparación por rama

variable	Fn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T °C	Humedad relativa	RFA	Trsp ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	WUE
prueba	T student	T student	T student	T student	T student	T student	MWU test
m ó M rama 1	-7.206405	19.525	50.3	306	0.299444	0.022693	23
m ó M rama 2	-37.26316	19.625	53	523	0.172639	0.010778	13
valor T o Z	1.085041	-0.035192	-0.324018	-0.484184	1.88548	2.19975	1.443375707
p	0.319564	0.973068	0.756922	0.645421	0.108329	0.070126	0.14892447
p con dos extremos							0.200000003

P. pseudostrobus ind 1

comparación por rama

variable	Fn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T °C	Humedad relativa	RFA	Trsp ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	WUE
prueba	T student	T student	T student	T student	T student	T student	T student
m ó M rama 1	-44.98097	22.525	35.8	178.5	0.549028	0.022154	-0.00025063
m ó M rama 2	0.218349	22.525	36.4	598.25	0.610833	0.023201	-1.9922E-05
valor T o Z	-1.477343	-2.72E-15	-0.087618	-1.238618	-0.144206	-0.074268	-1.46160475
p	0.190053	1	0.933031	0.261745	0.89006	0.943211	0.194160707

P. pseudostrobus ind 2 comparación por rama

variable	Fn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T °C	Humedad relativa	RFA	Trsp ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	WUE
prueba	T student	T student	T student	T student	T student	T student	T student
m ó M rama 1	3.047106	23.375	34.3	105.75	0.665833	0.025202	5.7805E-06
m ó M rama 2	-19.93766	22.93333	38.13333	55.33333	0.237778	0.011132	-8.9695E-05
valor T o Z	4.845941	0.427378	-0.58922	0.693222	1.00216	0.924596	5.874039384
p	0.00469	0.686884	0.581328	0.519046	0.36227	0.397605	0.002029592

P. pringlei ind 1 comparación entre ramas

variable	Fn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T °C	Humedad relativa	RFA	Trsp ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	WUE
prueba	T student	T student	T student	T student	T student	T student	T student
m ó M rama 1	-31.05158	28.43333	29	1040	0.938333	0.029266	-6.7177E-05
m ó M rama 2	-45.72315	29.3	25.46667	390.3667	1.00037	0.032907	-3.142E-05
valor T o Z	1.008487	-0.431301	0.94238	1.255942	-0.090872	-0.152077	-0.85826394
p	0.370273	0.688477	0.399356	0.277492	0.931963	0.886489	0.439132445
p con dos extremos					0.4		

P. pringlei ind 2 comparación entre ramas

variable	Fn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T °C	Humedad relativa	RFA	Trsp ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	WUE
prueba	T student	T student	T student	T student	T student	T student	MWU test
m ó M rama 1	-88.39201	20.26667	55.73333	737.3333	1.097222	0.059431	10
m ó M rama 2	-61.24143	20.775	55.7	599.975	0.101389	0.012714	18
valor T o Z	-0.644835	-0.121291	0.002794	0.182369	1.177187	1.937169	-0.70710677
p	0.54745	0.908184	0.997879	0.862457	0.292101	0.110471	0.479505301
p con dos extremos							0.628571451

P. patula ind 1 comparación entre ramas

variable	Fn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T °C	Humedad relativa	RFA	Trsp ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	WUE
prueba	T student	T student	T student	T student	T student	T student	T student
m ó M rama 1	-71.0617	19.725	43.5	618.975	0.436389	0.025709	-0.00013439
m ó M rama 2	-87.60895	21.4	44	804.6667	0.529815	0.030308	-0.00017035
valor T o Z	0.369538	-0.731782	-0.121802	-0.254277	-0.592114	-0.474732	0.537906791
p	0.726861	0.497143	0.9078	0.809408	0.579533	0.654989	0.61371155

P. patula ind 2

variable	Fn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T °C	Humedad relativa	RFA	Trsp ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	WUE
prueba	T student	T student	T student	T student	T student	MWU test	MWU test
m ó M rama 1	-41.51325	20.7	48	302	0.175185	10	10
m ó M rama 2	-31.68574	19.525	31.05	318.25	0.148056	18	26
valor T o Z	-0.277069	0.374788	1.246513	-0.05053	0.325174	-0.707107	-2.32327151
p	0.792817	0.723189	0.26779	0.961657	0.758215	0.479505	0.020170802
p con dos extremos						0.628571	0.028571429

P. ayacahuite ind 1 Comparación por rama

Pinus oaxacana comparación entre individuos

variable	Fn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T °C	Humedad relativa	RFA	Trsp ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	WUE
prueba	ANOVA	ANOVA	ANOVA	ANOVA	ANOVA	ANOVA	ANOVA
p	0.114318	0.031562	0.001813	0.90691	0.11567	0.50493	0.253613
F	2.377109	4.00482	8.306973	0.098111	2.363035	0.703166	1.453449
m1		23.22222	34.08889				
m2		22.3	38.2				
m3		19.575	51.65				

Pinus pseudostrobus comparación entre individuos

variable	Fn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T °C	Humedad relativa	RFA	Trsp ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	WUE
prueba	T student	T student	T student	MWU test	T student	T student	T student
m ó M rama 1	-28.45634	22.55556	40.71111	109	0.536111	0.030858	-5.9E-05
m ó M rama 2	-12.25706	23.1375	34.95	44	0.426181	0.016933	-0.000223
valor T o Z	-1.938924	-0.677729	1.624554	2.695954	0.522982	1.20537	0.924135
p	0.07156	0.508263	0.12508	0.007022	0.608626	0.246732	0.370045
p con dos extremos				0.005512			

Pinus pringlei comparación entre individuos

variable	Fn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T °C	Humedad relativa	RFA	Trsp ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	WUE
prueba	MWU test	T student	MWU test	T student	T student	T student	MWU test
m ó M rama 1	52	28.86667	21	715.1833	0.969352	0.031086	57
m ó M rama 2	39	20.55714	70	658.8429	0.528175	0.032736	34
valor T o Z	1.428571	3.730243	-3.008276	0.125756	0.80644	-0.089082	2.142857
p	0.153137	0.003322	0.002629	0.902194	0.437077	0.930618	0.032132
p con dos extremos	0.180653		0.001166				0.034965

Pinus patula

comparación entre individuos

variable	Fn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T °C	Humedad relativa	RFA	Trsp ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	WUE
prueba	T student	T student	MWU test	MWU test	T student	T student	MWU test
m ó M rama 1	-78.15338	20.44286	21	698.5571	0.476429	0.02768	54
m ó M rama 2	-35.89753	20.02857	70	311.2857	0.159683	0.010107	51
valor T o Z	-1.619161	0.229946	-3.008276	1.068518	3.816599	3.571133	0.191663
p	0.131378	0.822006	0.002629	0.306311	0.002455	0.003844	0.848007
p con dos extremos			0.001166	0.06434			0.901515

Pinus chiapensis

comparación entre individuos

variable	Fn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T °C	Humedad relativa	RFA	Trsp ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	WUE
prueba	T student	T student	T student	T student	MWU test	MWU test	T student
m ó M rama 1	7.509948	22.275	33.35	36.25	90	92	3.85E-05
m ó M rama 2	7.581493	22.175	36.25	40.125	63	61	5.35E-05
valor T o Z	-0.007529	0.152089	-0.749652	-0.426514	0.866025	1.058475	-0.183575
p	0.994099	0.881287	0.465876	0.676219	0.386483	0.289847	0.856979
p con dos extremos					0.423447	0.321267	

Comparación de la FN registrada en las diferentes mediciones

Group 1= registros del 2001 Group 2= registros del 2003.

P. ayacahuite

Grouping: SALIDA (combinator.sta)

Group 1: G_1:1

Group 2: G_2:2

	Mean G_1:1	Mean G_2:2	t-value	df	p
FN	-0.99081	-0.583123	-0.2153	14	0.833

P. chiapensis

Mann-Whitney U Test (combinator.sta)

By variable SALIDA

Group 1: 1 Group 2: 2

	Rank Sum Group 1	Rank Sum Group 2	U	Z	p-level	Z adjusted	p-level	Valid N Group 1	Valid N Group 2	2*1sided exact p
FN	268	260	124	0.151	0.88	0.150894	0.8801	16	16	0.896533

P. oaxacana

Mann-Whitney U Test (combinator.sta)

By variable SALIDA

Group 1: 1 Group 2: 2

	Rank Sum Group 1	Rank Sum Group 2	U	Z	p-level	Z adjusted	p-level	Valid N Group 1	Valid N Group 2	2*1sided exact p
FN	333	613	197	-0.477	0.633	-0.47739	0.6331	16	27	0.64564

P. pseudostrobis

Mann-Whitney U Test (combinator.sta)

By variable SALIDA

Group 1: 1 Group 2: 2

	Rank Sum Group 1	Rank Sum Group 2	U	Z	p-level	Z adjusted	p-level	Valid N Group 1	Valid N Group 2	2*1sided exact p
FN	360	201	48	3.17	0.002	3.169928	0.0015	16	17	0.001056

P. pringlei

Mann-Whitney U Test (combinator.sta)

By variable SALIDA

Group 1: 1 Group 2: 2

	Rank Sum Group 1	Rank Sum Group 2	U	Z	p-level	Z adjusted	p-level	Valid N Group 1	Valid N Group 2	2*1sided exact p
FN	315	91	13	3.853	1E-04	3.853178	0.0001	16	12	2.45E-05