



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

TOLERANCIA A BAJAS TEMPERATURAS EN
ESPECIES DE PLANTAS PARAMERAS DE
DISTINTA FORMA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

ANDREA CAMPUZANO CHÁVEZ PEÓN

TUTOR:

DR. CARLOS MARTORELL DELGADO

2010





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Hoja de Datos del Jurado

1. Datos del alumno Apellido paterno Apellido materno Nombre(s) Teléfono Universidad Facultad Carrera Número de cuenta	Campuzano Chávez Peón Andrea (555) 568-0648 Universidad Autónoma de México Facultad de Ciencias Biología 405000595
2. Datos del tutor Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	Dr. Carlos Martorell Delgado
3. Datos del sinodal 1 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	Dra. Alma Delfina Orozco Segovia
4. Datos del sinodal 2 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	Dr. Erick De la Barrera Montppellier
5. Datos del sinodal 3 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	Dra. Alejandra Vázquez Lobo Yurén
6. Datos del sinodal 4 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	Biól. Hugo Antonio Tovar Romero
7. Datos del trabajo escrito Título Subtítulo Número de páginas Año	Tolerancia a bajas temperaturas en especies de plantas parameras de distinta forma 47 p. 2010

Agradecimientos

Este trabajo no hubiese sido posible sin el apoyo que recibí durante toda la carrera. Debo resaltar que éste no es el resultado del proyecto de tesis, sino de una experiencia que empezó mi primer día de clases en la UNAM. Por eso quisiera agradecer, no sólo a quienes estuvieron involucrados en la tesis, sino a todos aquellos que fueron parte de esta gran experiencia de vida. Antes que nada quisiera agradecer a la UNAM y en especial a todos los profesores de la carrera de Biología de la Facultad de Ciencias por haberme dado las herramientas para llevar a cabo esta tesis y mi vida profesional. A mi asesor, el Dr. Carlos Martorell Delgado, por su inmenso conocimiento y ayuda, y por haberme permitido trabajar con él. A la SEMARNAT y al parque nacional Izta-Popo Zoquiapan, en especial al Biól. Omar Maldonado por darnos los permisos y facilidad de acceso al parque.

También quisiera agradecer a aquellos profesores involucrados en la revisión y edición de esta tesis: Dra. Alma Delfina Orozco Segovia, Dr. Erick De La Barrera Montppellier, Dra. Alejandra Vázquez Lobo, Biól. Hugo Tovar Romero. Al Laboratorio de Ecología de la Facultad de Ciencias, en especial a mis compañeros de trabajo, Tania, Flor, Delfín, Edgar, y Hugo. Al Laboratorio de Microcine de la Facultad de Ciencias, en especial al M. en C. Alejandro Martínez Mena y a la M. en F. Ana Isabel Bieler.

Un agradecimiento especial a la M. en C. Beátriz Zúñiga Ruiz por todo su apoyo en los experimentos; de nuevo a la Dra. Alejandra Vázquez Lobo por ser una gran maestra y por todo su apoyo en la parte de Evolución y a la Dra. Valeria Souza Saldivar por abrirme las puertas de su laboratorio.

Por su apoyo y compañía, a mis amigos: Prisci, Fer Samaniego, Diego Marquina, Cetto, Mucha, David, Renata, y Gabriel Gálvez.

A Diego por los innumerables viajes al Iztaccíhuatl, a Rocío por toda su ayuda en el cuidado de mis plantitas, y a los dos por ser tan buenos amigos.

A Andrés por toda su ayuda con el análisis de imágenes y por estos últimos años de su gran compañía, apoyo y todo su cariño.

A toda mi familia, a mis tías y tíos, a mis abuelos Mach, Abi, Roberto y Martha, a mis hermanitas Dani y Ceci y a mi papá.

A mi mamá, a quien dedico esta tesis, agradezco profundamente el haberme transmitido su gusto por la biología, por su apoyo incondicional y por estar ahí siempre.

A el PAPIIT por su apoyo económico y por haber hecho posible el proyecto número IN217607 “Mecanismos de atenuación y tolerancia al estrés y su efecto sobre la estructura de la vegetación alpina en el centro de México”.

Índice General

I. Introducción	1
1. Resistencia a las temperaturas extremas en la alta montaña	1
2. Resistencia y forma de crecimiento	4
3. Principales formas de crecimiento en los páramos	5
<i>Plantas en forma de cojín y/o tapizantes</i>	5
<i>Pastos amacollados</i>	5
<i>Hierbas</i>	5
<i>Arbustos</i>	6
<i>Rosetas</i>	6
4. Evasión y tolerancia en las diferentes formas de crecimiento	6
II. Objetivos	10
• Objetivo General	10
• Objetivos Particulares	10
III. Método	11
1. Descripción de la zona de estudio	11
2. Criterios para distinguir entre forma de crecimiento	13
3. Método de colecta	15
4. Tratamientos de temperatura	16
5. Análisis de imágenes digitales	16
6. Desacoplamiento y temperatura mínima	17
7. Análisis Estadísticos	18
<i>Cálculo de la LT50</i>	18

<i>Relación entre tolerancia y evasión</i>	18
8. Método comparativo	19
<i>Hipótesis filogenética</i>	
<i>Reconstrucción de los estados ancestrales</i>	
<i>Contrastes filogenéticamente independientes</i>	
IV.Resultados	24
1. Regresiones logísticas de las especies	24
2. Regresiones entre tolerancia y evasión	26
3. Análisis de los contrastes independientes de tolerancia y evasión	27
V. Discusión	29
1. Tolerancia a las bajas temperaturas	29
2. Diferencias en tolerancia entre formas de crecimiento	31
3. Evolución de la tolerancia y la evasión	32
VI.Conclusiones	34
VII.Bibliografía	35

I. Introducción

1. Resistencia a las temperaturas extremas en la alta montaña

Las comunidades bióticas alpinas son las que se establecen por encima del límite altitudinal de la vegetación arbórea. En el centro de México esto ocurre típicamente a más de 4000 m s.n.m., principalmente en la Malinche, el Nevado de Toluca, el Iztaccíhuatl, el Popocatepetl y el Pico de Orizaba (Challenger 1998).

Se denomina páramo a la vegetación que se desarrolla en dichas altitudes y que se encuentra en los trópicos (Monasterio y Vuilleumier 1986). En general, los páramos tienen un clima frío y húmedo, con fluctuaciones diarias de la temperatura desde valores bajo cero hasta mayores de 30 °C, lo que puede resultar en ciclos diarios de congelamiento-descongelamiento, a los cuales se ha denominado “verano cada día e invierno cada noche” (Kappelle 2005). Además de la reducción en las presiones parciales de CO₂ y O₂ debido a la altitud (Smith y Johnson 2009), el agua puede no estar fisiológicamente disponible por la noche y la atmósfera ser muy desecante. La radiación ultravioleta es intensa, y los suelos suelen ser pobres en algunos nutrientes y materia orgánica (Körner 2003b). Por lo tanto, el ambiente del páramo se caracteriza por imponer numerosas formas de estrés a los organismos que ahí se desarrollan.

Hay muchas definiciones de el término estrés en la literatura. Grime (1977) llama estrés a una restricción externa que limita las tasas de adquisición de recursos, crecimiento o reproducción de los organismos. Para Leclerc (2002) es una desviación significativa de las condiciones ambientales óptimas que produce cambios medibles en la fisiología, resultando en una aclimatación o, en el extremo, una degradación letal. Sin embargo, independientemente del concepto que se utilice, la vida en la zona paramera requiere de procesos y estructuras que minimicen el impacto del ambiente (Körner 2003a). Las bajas temperaturas son muy importantes ya que constituyen el filtro ambiental más importante que las especies tie-

nen que superar para invadir los ambientes de alta montaña, y juegan un papel decisivo en la distribución global de las plantas de dicho ambiente (Körner 2003a).

Las plantas tienen diferentes mecanismos de resistencia como respuesta al estrés por frío que experimentan (Sarmiento 1986), muchos de los cuales se relacionan con condiciones microclimáticas (Márquez *et al.* 2006). En plantas de alta montaña se han reportado dos diferentes mecanismos de resistencia al frío: la evasión y la tolerancia (Körner 2003a; Lipp *et al.* 1994; Rada *et al.* 1987; Rundel 1994; Squeo *et al.* 1991). Ambos han sido observados en plantas que habitan tanto ambientes de alta montaña tropical como extratropical (Azócar 2006; Azócar *et al.* 1988; Rada *et al.* 1985; Squeo *et al.* 1991; Squeo *et al.* 1996).

En estos mecanismos se involucran adaptaciones fisiológicas y morfológicas contrastantes (Rada *et al.* 1987). En la evasión, las plantas no experimentan las bajas temperaturas, ya que existen mecanismos que impiden que el factor de estrés alcance un equilibrio entre ambiente y citoplasma; es decir, este último no se enfría. Por el contrario, en la tolerancia se incluyen los mecanismos que mejoran el desempeño aún cuando hay un equilibrio termodinámico, en donde el citoplasma sí se enfría (Azócar 2006; Levitt 1980)

La evasión se manifiesta como el desacoplamiento entre la temperatura que experimenta la planta y la temperatura de la atmósfera libre (Körner 2003a). Entre los atributos que permiten evadir el frío se encuentran: la fenología (en montaña extratropical) la morfología, las estructuras aislantes, el amortiguamiento de la temperatura, y la preferencia de microhábitat (Körner 2003a).

Las plantas que evaden por medio de aislamiento frecuentemente tienen los ápices, meristemos basales, primordios foliares y los órganos reproductivos a varios centímetros por debajo de la superficie del suelo, protegiéndolos de temperaturas deletéreas de congelación (Körner 2003a). La reducción de la conductancia de calor también puede lograrse mediante la formación de capas aislantes de aire entre la materia vegetal muerta. Otro caso de formación de capas aislantes es el movimiento diario de las hojas de las rosetas gigantes, resultando en una forma globular por la noche que protege a los meristemos junto con el mesófilo esponjoso y los tomentos de las hojas adultas (Rundel 1994).

Hay diversos mecanismos de evasión mediante amortiguadores térmicos. Algunas especies bañan su meristemo apical con agua exudada, la cual retarda el descenso en la temperatura nocturna del brote (Rundel *et al.* 2005). Los pastos amacollados y las plantas cojín, además del aislamiento, almacenan agua en grandes cantidades en acumulaciones de tejido muerto. El agua almacenada tiene una gran capacidad calorífica por lo que pueden también estar involucrados mecanismos de evasión por medio de amortiguadores térmicos (Rundel 1994).

La tolerancia al frío puede resultar de la prevención de la formación de hielo a temperaturas por debajo de 0 °C (superenfriamiento) o por la tolerancia al congelamiento (Körner 2003a; Lipp *et al.* 1994; Rada *et al.* 1987; Rundel 1994). El superenfriamiento puede resultar de un ajuste osmótico a través de la acumulación de solutos (en general azúcares) que abaten la temperatura de congelamiento, de la ausencia de sustancias que inicien el proceso de cristalización (nucleación), de la compartimentación del agua en el interior de las vacuolas, de la impregnación de las paredes celulares con lignina, o de cambios en la estructura específica del agua en las soluciones (Körner 2003a; Lipp *et al.* 1994; Rada *et al.* 1987; Rundel 1994).

Cuando se habla de tolerancia al congelamiento en tejidos vegetales, se refiere a la formación de cristales de hielo solamente en los espacios intercelulares, ya que el congelamiento del interior de la célula ocasiona la muerte de la misma. La formación de hielo intercelular se ve favorecida principalmente por el alto punto de congelamiento de la solución presente en estos espacios, en comparación con el contenido celular, que por tener mayor concentración de solutos presenta un punto de congelamiento más bajo. La membrana celular también juega un papel de aislante impidiendo la formación de hielo en el interior de la célula. Cuando comienza la formación de hielo en los espacios intercelulares, la presión de vapor en los mismos cae abruptamente, y el gradiente de presión favorece el paso de agua desde el interior de la célula hacia el exterior aumentando aún más la concentración y la capacidad de superenfriamiento del citoplasma (Körner 2003a). Debido a estos movimientos de agua, las plantas tolerantes a temperaturas congelantes también toleran el déficit hídrico (Körner 2003b).

Se ha encontrado que las plantas toleran las bajas temperaturas a través de la integración de fosfolípidos tolerantes en las membranas, y la presencia de proteínas que funcionan a bajas temperaturas (Rada *et al.* 1987). Por ejemplo, los pastos amacollados, tienen temperaturas óptimas para la fotosíntesis bastante bajas, de aproximadamente 10 °C (Mark 1975). En especies tolerantes se ha encontrado también la presencia de grasas, taninos y ligninas que funcionan, entre otras cosas, para proteger los tejidos, ya sea para retardar su congelamiento o para proteger la integridad de las células una vez que el hielo se ha formado en los espacios intercelulares (Azócar 2006).

2. Resistencia y forma de crecimiento

El frío que experimenta la planta está determinado por varios factores como son la radiación solar, la pendiente, la orientación y la morfología (Körner 2003a). Esta última puede determinar la evasión al estrés, ya que la estatura de la planta, el arreglo de las hojas, y la estructura del dosel ejercen fuertes influencias sobre el desacoplamiento (Körner 2003a).

A diferencia de los árboles o arbustos grandes, la vegetación de estatura pequeña, como la encontrada en los páramos, está efectivamente desacoplada al medio día de las condiciones atmosféricas, provocando que el calor se acumule en su copa y la parte superior del suelo durante periodos de moderada a alta radiación. Entre menor es la estatura de la planta más se desacopla de la temperatura del ambiente y acumula una mayor cantidad de calor en las hojas (Körner 2003a). Además de las diferencias en tamaño, existen variaciones morfológicas importantes que inciden sobre la temperatura que experimentan los individuos. Se ha encontrado que las plantas parameras han convergido en un número relativamente pequeño de formas como rosetas, plantas cojín y/o tapizantes, pastos amacollados, hierbas, y arbustos entre otras.

3. Principales formas de crecimiento en los páramos

Plantas en forma de cojín y/o tapizantes

Son plantas en forma de almohadilla plana, convexa o hemisférica. Se caracterizan por una superficie reducida, alta densidad de ramas y hojas, con entrenudos muy cortos que modelan una arquitectura compacta y achaparrada, que puede modificar significativamente las condiciones microclimáticas que se generan en su interior. Solamente las hojas exteriores y superiores son verdes y vivas; el interior del cojín consiste de una masa con restos de hojas muertas, humus acumulado, polvo, suelo y agua, la cual protege las yemas y tallo del viento, la desecación y la depredación y brinda un reservorio de agua y nutrientes (Cavieres *et al.* 2002) (Figura 1 a)

Pastos amacollados

Esta forma de crecimiento es la más común en el páramo a altitudes medias. Puede alcanzar una estatura promedio de metro a metro y medio y con frecuencia forman macollas densas de tallos con hojas rígidas (Körner 2003a). Se regenera mediante la producción de yemas vegetativas a nivel del suelo, donde los macollos son muy densos y los vástagos vivos se encuentran entre los tallos y hojas muertas (Kappelle 2005) (Figura 1 b)

Hierbas

Son plantas con un desarrollo apreciable de los tallos, generalmente ramificados desde la base y sin estar lignificados. Se pueden reconocer dos tipos de hierbas, las postradas y las erectas. Las postradas tienen un crecimiento lateral sobre el suelo. Normalmente, esta forma de crecimiento tiene sus yemas regenerativas por debajo del nivel del suelo, donde están protegidas del fuego y la escarcha (Kappelle 2005) (Figura 1 c y d)

Arbustos

Son plantas que se caracterizan por tener tallos lignificados. Pueden tener un follaje denso de hojas pequeñas, xeromórficas, generalmente con adaptaciones que actúan protegiendo la planta de la luz ultravioleta y/o reduciendo transpiración (Kappelle 2005) (Figura 1 e)

Rosetas

Se conocen rosetas con y sin tallo (rosetas acaulescentes). Las rosetas con tallos son una forma típica del páramo, pero éstas no están presentes en México. Las plantas en roseta acaulescente, desarrollan raíces gruesas, perennes y axonomorfas y una roseta densa de hojas al nivel del suelo. Las yemas que forman las flores se originan en las axilas de las hojas de la roseta, las cuales se encuentran hundidas unos pocos centímetros del suelo. De esta forma, las plantas acaulescentes protegen sus yemas de la escarcha (Kappelle 2005) (Figura 1 f).

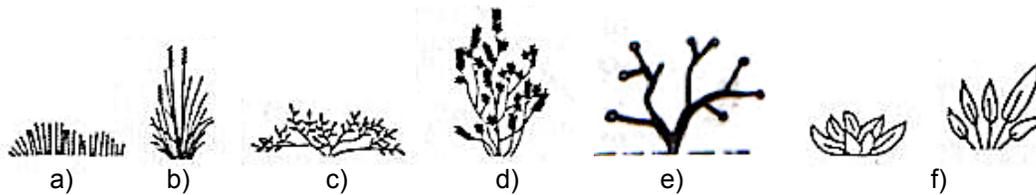


Figura 1. Distintas formas de crecimiento: a) tapizantes, b) macollos, c) hierbas postradas, d) hierbas erectas, e) arbustos, f) rosetas. Modificado de Körner (2003a)

4. Evasión y tolerancia en las diferentes formas de crecimiento

La temperatura que alcanza cada grupo morfológico es diferente, siendo las plantas en forma de cojín, hierbas postradas y rosetas las que se mantienen más calientes al medio día (hasta 40 °C por encima de la temperatura del aire circundante; Körner 2003a). La temperatura promedio es mayor dentro del cojín que en la superficie exterior, de tal forma que se protege a las yemas de las temperaturas frías (Kappelle 2005). Además se benefician del en-

friamiento nocturno retardado, debido a la capacidad calorífica de la humedad almacenada dentro del cojín o en el suelo o roca subyacente (Cavieres *et al.* 2002). La temperatura promedio dentro de las rosetas puede ser constante independientemente de la temperatura del aire que las rodea ya que estas plantas parecen amortiguar las variaciones de temperatura y ser capaces de evitar los extremos tanto positivos como negativos (Kappelle 2005).

Por el contrario, las hierbas erectas, los arbustos y los pastos amacollados permanecen más cerca de la temperatura ambiental al medio día (Körner 2003a; Rundel *et al.* 2005). Los pastos amacollados conservan las hojas muertas, que se descomponen sobre la planta y, junto con los tallos, ofrecen un buen aislamiento. Su dosel generalmente se calienta mucho menos que en el caso de la mayoría de las formas de crecimiento postrado (Kappelle 2005). Es posible que las hierbas erectas, que tienen crecimiento vertical, no capten suficiente calor (Körner 2003a)

Existe una relación entre la estatura de la planta y el mecanismo de resistencia a temperaturas congelantes (Squeo *et al.* 1991). En zonas tropicales la evasión es el mecanismo de resistencia más común en las especies arborescentes mientras que las especies que crecen cercanas al suelo tienen a la tolerancia como el principal mecanismo de resistencia. Esto se debe a que las plantas más cercanas al suelo están sometidas a condiciones de temperatura más extremas, ya que el suelo absorbe mucha radiación durante el día especialmente el suelo volcánico que por lo general es oscuro (Squeo *et al.* 1991). En periodos largos de irradiación las temperaturas pueden sobrepasar los 50 °C a nivel superficie. Por la noche, este calor es emitido de manera que su temperatura disminuye, incluso por debajo de 0 °C (Azócar 2006; Körner 2003a).

En zonas templadas tiende a ocurrir lo contrario, las plantas que crecen más cercanas a suelo suelen presentar mecanismos de evasión debido a que con las primeras nevadas quedan protegidas bajo la nieve y permanecen a una temperatura constante de alrededor de 0 °C, mientras que las especies de talla grande son tolerantes (Squeo *et al.* 1991). En las plantas de tamaño intermedio se han encontrado los dos mecanismos con la tendencia de las plantas herbáceas a ser tolerantes y las plantas leñosas evasoras (Squeo *et al.* 1991).

En consecuencia la morfología podría explicar las diferencias en el grado de desacoplamiento entre la temperatura de la planta y la ambiental. El grado de desacoplamiento al medio día decrece en la siguiente secuencia: tapizantes, hierbas postradas, rosetas, pastos amacollados, hierbas erectas y arbustos (Körner 2003a). Este desacoplamiento es positivo, provocado por la acumulación de calor en las plantas en periodos de radiación, que les permite estar varios grados arriba de la temperatura ambiental. Sin embargo, dado que el suelo es el estrato que presenta condiciones de temperatura más contrastantes y es donde se observan las temperaturas más bajas durante la noche. Puede esperarse que las plantas pequeñas y cercanas al suelo, que más se desacoplen positivamente al medio día, sean las que más se enfríen al amanecer, hora más fría del día, cuando mostrarían un desacoplamiento negativo al estar por debajo de la temperatura el aire. Por lo tanto la secuencia de desacoplamiento al amanecer será la misma que la presentada en el desacoplamiento al medio día planteado por Körner (2003a).

El desacoplamiento al medio día es una medida de evasión (mayor desacoplamiento implica mayor evasión) a diferencia del desacoplamiento al amanecer, que es negativo y por tanto es indicador de incapacidad de evadir. Es decir, entre más se desacoplen las plantas presentarán menor evasión. Puesto que para poder subsistir en la alta montaña es necesario presentar mecanismos de resistencia a las bajas temperaturas, se esperaría que las plantas con mayor desacoplamiento al amanecer presentaran una mayor tolerancia al frío. Así, se espera que la tolerancia sea menor en los arbustos y se vea incrementada en la secuencia hierbas erectas, pastos amacollados, rosetas, hierbas postradas y plantas tapizantes.

Es posible incluso que esta relación entre evasión y tolerancia en la alta montaña no sea sólo el resultado de una restricción ecológica que impediría la colonización por plantas carentes de mecanismos de resistencia, sino una tendencia evolutiva hacia el desarrollo de mecanismos de tolerancia en ausencia de mecanismos de evasión (o de mecanismos de evasión en ausencia de tolerancia) (Figura 2).

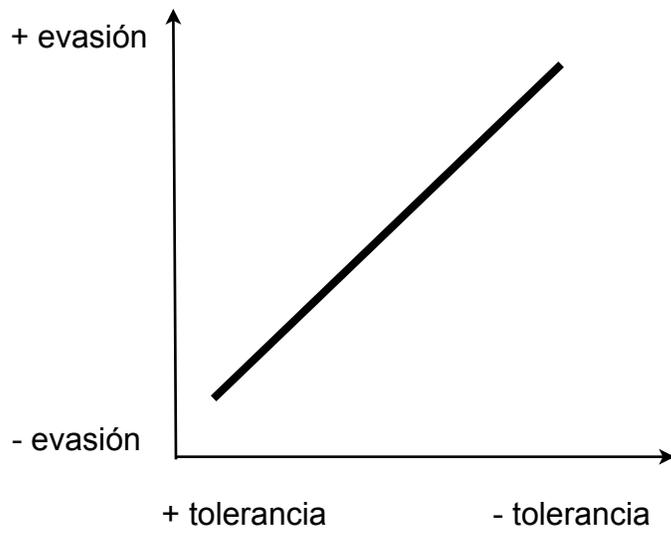


Figura 2. Relación esperada entre los mecanismos de tolerancia y evasión.

II. Objetivos

Objetivo General

Determinar el efecto que la forma de crecimiento de las plantas parameras y su capacidad de evadir el frío tiene sobre su tolerancia fisiológica a bajas temperaturas.

Objetivos Particulares

- Conocer las temperaturas mínimas que pueden tolerar las distintas especies.
- Evaluar si existen diferencias en las temperaturas mínimas toleradas entre las distintas formas de crecimiento.
- Determinar si las especies más tolerantes al frío son las que corresponden a formas que tienen mayor desacoplamiento al amanecer.
- Determinar si existe una tendencia evolutiva hacia el desarrollo de tolerancia en ausencia de capacidad de evasión.

III. Método

1. Descripción de la zona de estudio

Se estudió la tolerancia al frío en distintas especies del páramo del Iztaccíhuatl. Esta montaña tiene 5,284 m s.n.m. y es la tercera montaña más alta de México y la sexta de Norteamérica. Se encuentra a 19° 11' latitud Norte y 98° 39' longitud Oeste formando parte del Eje Neovolcánico en los límites de los Valles de México y Puebla (Beman 1962). El sitio de colecta se encuentra cerca del refugio de Alzomoni a 4030 m s.n.m (Figura 3).

En el Iztaccíhuatl, a diferencia de las zonas alpinas que se encuentran en latitudes más al norte, las temperaturas permanecen constantes durante el año pero cambian drásticamente durante el día (Beman 1962). Según la estación meteorológica de Atlautla, a 3,750 m s.n.m, el promedio de las temperaturas medias, medidas a dos metros sobre el nivel del suelo, es de 5.1 °C, el de las máximas, 9.5 °C, y el de las mínimas -0.1 °C (IMTA 2009) (Figura 4). La vegetación está dominada por pastos amacollados en las áreas bajas y por plantas cojín en las áreas altas.

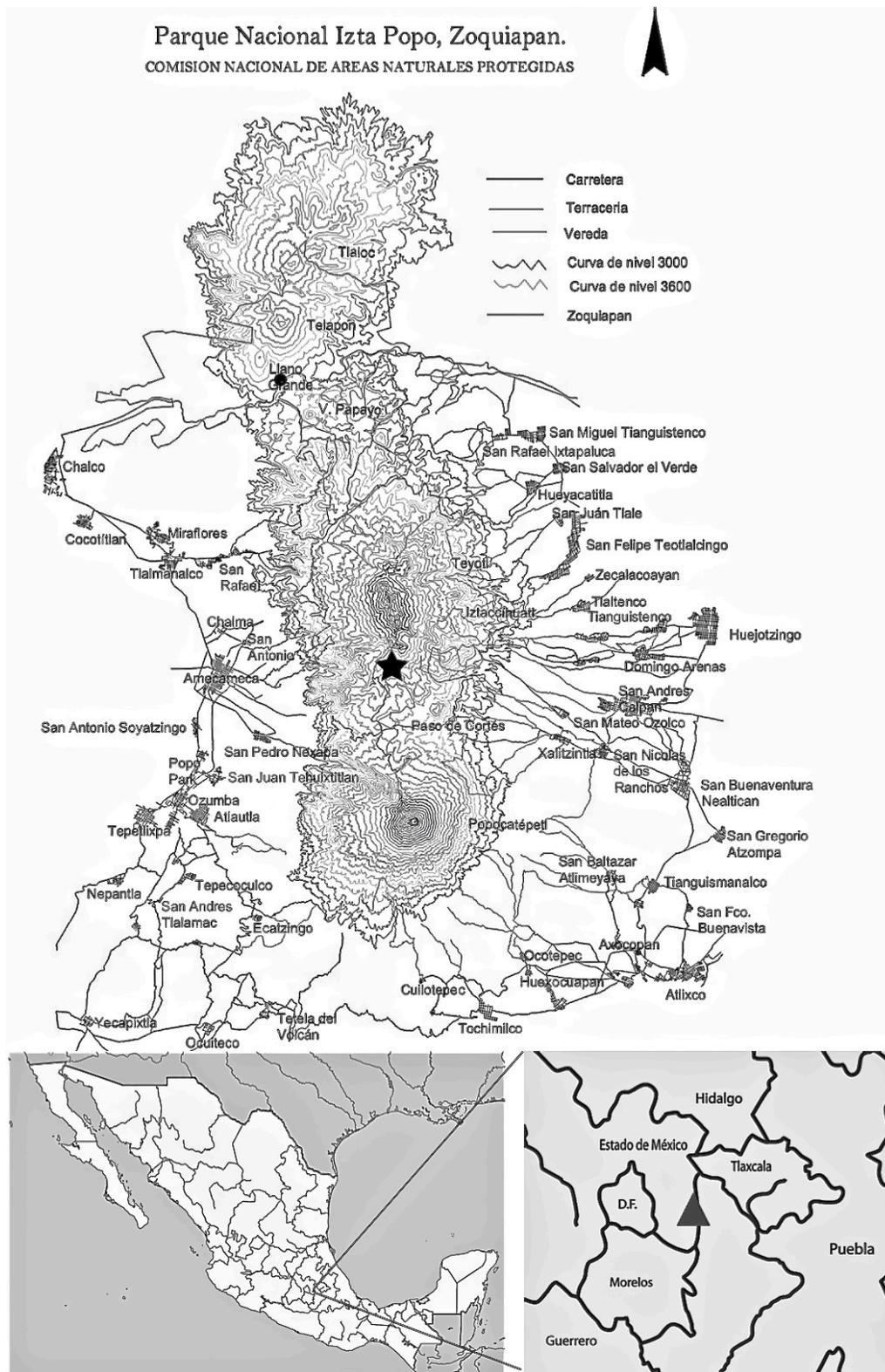


Figura 3 Ubicación del sitio de estudio

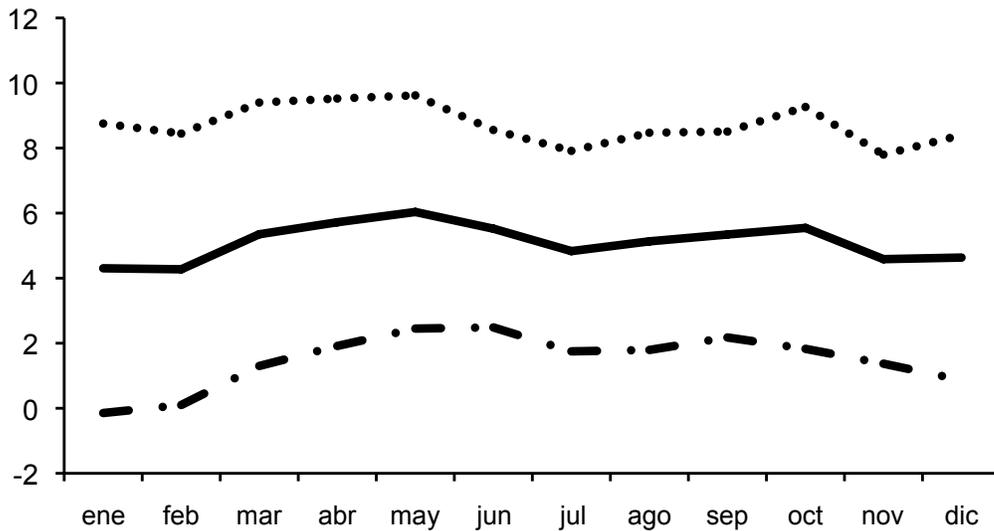


Figura 4. Temperaturas en el Iztaccíhuatl durante el año. Temperaturas máximas (.....), medias (—) y mínimas (---), según la estación Meteorológica de Atlautla a 3.750 m. s.n.m. Estas temperaturas son registros del aire, en el suelo pueden ser muy inferiores.

2. Criterios para distinguir entre forma de crecimiento

En el Iztaccíhuatl se reconocieron cinco formas de vida (tapizantes, macollos, hierbas, arbustos y rosetas) usando como referencia la clave de Halloy (1990) para identificarlas. Los criterios empleados para reconocerlas fueron:

Tapizantes. Estas plantas son una variante de la forma cojín. Tienen un número indeterminado de ápices, regularmente espaciados. La distancia entre ápices es menor a 1.6 veces la longitud de la hoja. Por lo general, el tamaño está claramente definido y la forma es de un disco plano. Las hojas son pequeñas y cortas (menos de cinco veces más largas que anchas; Figura 5 a).

Macollos. Son plantas con las mismas características que las tapizantes pero tienen hojas muy largas, usualmente curvadas por su propio peso. La posición de éstas es de 90° a 50° de la horizontal. Los grupos foliares son usualmente fascículos (Figura 5 b).

Hierbas. El aspecto de la planta está determinado principalmente por un desarrollo apreciable de los tallos, los cuales generalmente están ramificados desde la base y no están

lignificados. Tienen un número reducido de meristemas apicales, generalmente muy espaciados entre sí. Pueden ser erectas o postradas (Figura 5 c y d).

Arbustos. Son plantas en las cuales el aspecto está determinado principalmente por un desarrollo apreciable de los tallos, los cuales están lignificados y generalmente ramificados desde la base (Figura 5 d).

Rosetas. El aspecto de la planta está determinado principalmente por las hojas, dispuestas en forma simétrica radial, con al menos dos planos de simetría paralelos al eje central. Las hojas están muy próximas entre sí debido a la cercanía de los entrenudos ya que se insertan en una porción del tallo más corta que la longitud de una hoja individual, y están dispuestas en forma elíptica a nivel del suelo (Figura 5 e).

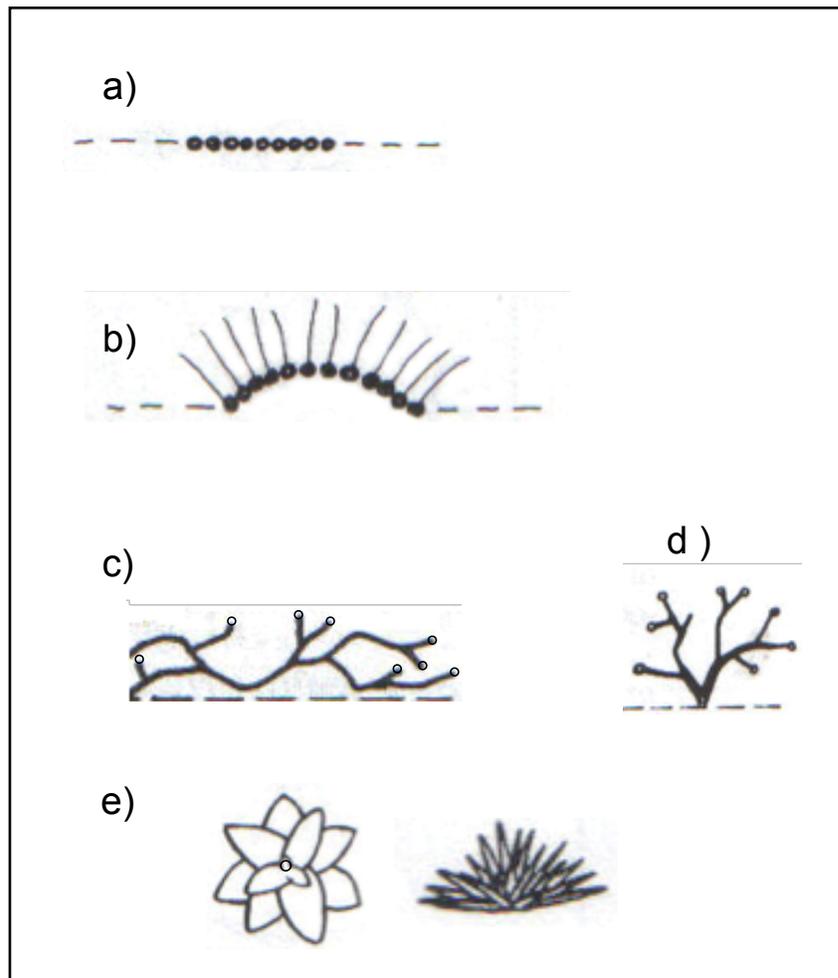


Figura 5. Formas de crecimiento según Halloy (1990): a) tapizantes b) macollos, c) hierbas postradas, d) hierbas erectas y arbustos y e) rosetas. Los puntos indican la posición de los meristemas.

2. Método de colecta

Se seleccionaron 13 especies con distinta forma de crecimiento (Tabla 1). En cinco fechas diferentes durante el invierno, se colectaron un total de cuatro plantas aisladas de cada especie para someter a bajas temperaturas a tres de ellas y conservar un control. Las plantas fueron extraídas completas y se colocaron en vasos de plástico conservando la tierra de alrededor de las raíces. Se transportaron al laboratorio, donde se mantuvieron una semana en la germinadora, con temperatura y luz controlada para su aclimatación, con la finalidad de que todas estuvieran al menos parcialmente aclimatadas a las mismas condiciones iniciales, simulando temperaturas en el campo (temperaturas día/noche de 15 °C/5 °C respectivamente con un ciclo de luz/obscuridad de 12/12 h).

Tabla 1. Clasificación de las especies utilizadas +

Clase	Subclase	Orden	Familia	Especie	Forma de crecimiento
Magnoliopsida	Caryophyllidae	Caryophyllales	Caryophyllaceae	<i>Arenaria reptans</i> Hemsl.	tapizante
Magnoliopsida	Rosidae	Rosales	Rosaceae	<i>Lachemilla vulcanica</i> (Schtdl. & Cham.) Rydb.	hierba
Magnoliopsida	Rosidae	Fabales	Fabaceae	<i>Lupinus elegans</i> Kunth	hierba
Magnoliopsida	Asteridae	Asterales	Asteraceae	<i>Gnaphalium liebmanni</i> Sch. Bip. ex Klatt	roseta
Magnoliopsida	Asteridae	Asterales	Asteraceae	<i>Robinsonecio gerberifolius</i> (Sch. Bip. ex Hemsl.) T.M. Barkley & Janovec	roseta
Magnoliopsida	Asteridae	Apiales	Apiaceae	<i>Eryngium carlinae</i> F. Delaroché	roseta
Magnoliopsida	Asteridae	Apiales	Apiaceae	<i>Eryngium proteaeflorum</i> F. Delaroché	roseta
Magnoliopsida	Asteridae	Solanales	Hydrophyllaceae	<i>Phacelia platycarpa</i> (Cav.) Spreng.	roseta
Magnoliopsida	Asteridae	Lamiales	Lamiaceae	<i>Stachys eriantha</i> Benth.	hierba
Magnoliopsida	Asteridae	Lamiales	Plantaginaceae	<i>Plantago linearis</i> Kunth	roseta
Magnoliopsida	Asteridae	Lamiales	Plantaginaceae	<i>Penstemon gentianoides</i> (Kunth) Poir.	arbusto
Liliopsida	Commelinidae	Poales	Poaceae	Pasto Banderilla	macollo
Liliopsida	Commelinidae	Poales	Poaceae	<i>Festuca tolucensis</i> Kunth	macollo

+ Verificada el ocho de febrero de 2010, en la base de datos taxonómica de W3TROPICOS Missouri Botanical Garden's VAST (VAScular Tropicos) nomenclatural database, vers. 1.5, Missouri Botanical Garden, St. Louis, MO, 63166-0299, USA.

3. Tratamientos de temperatura

En cada individuo se marcaron tres hojas jóvenes, buscando que fueran del mismo tamaño y no mostraran daño. Las plantas se sometieron a los diferentes tratamientos de temperatura (-15 °C, -20 °C, -25 °C, -30 °C, -35 °C). Para lograr las temperaturas se utilizó una ultracongeladora REVCO ULT2540-3-A35. Las plantas se colocaron completas dentro de la ultracongeladora a temperatura ambiente y se esperó a que se alcanzara la temperatura deseada, la cual se mantuvo constante por una hora más, tiempo representativo de bajas temperaturas para algunas especies en el campo (Nobel 1988).

Terminado el tratamiento las plantas se mantuvieron por otra semana en la germinadora. Ya que la fecha de colecta de cada grupo de plantas fue variable y que los resultados podrían reflejar condiciones inherentes a la historia común de las plantas en el campo y no a las bajas temperaturas aplicadas, se utilizó un control para cada especie, el cual no fue expuesto al frío y se mantuvo durante las dos semanas en la germinadora. Este control a su vez fue utilizado para cuantificar el daño causado por el manejo de las plantas o las condiciones en campo al momento de la colecta, y no por la aplicación de bajas temperaturas.

4. Análisis de imágenes digitales

Al término de las dos semanas, se digitalizaron las tres hojas previamente marcadas de cada planta con un escáner convencional para la posterior determinación visual del daño con el software de Adobe PhotoShop CS3. El cálculo del porcentaje del área dañada de la hoja se hizo de la siguiente manera: Se contó el número de píxeles ocupados por la hoja, se seleccionó un área dañada de ésta y se pidió al programa que seleccionara todas las áreas con una coloración semejante. Posteriormente se revisó la selección que realizaba el programa y se corrigió manualmente para cerciorarse que los registros únicamente correspondieran a las áreas dañadas y no a partes de las hojas con coloración variable. De esta manera se definieron las zonas muertas, y se contó el número de píxeles que ocupaba. Con esto se calculó el porcentaje de daño respecto al área total de la hoja (Neuner y Buchner 1999).

El porcentaje de daño observado se determinó de manera separada para cada hoja y posteriormente se calculó el daño promedio para cada individuo. El porcentaje de daño de la hoja atribuible al frío se obtuvo restando el porcentaje de daño experimentado por el control al daño observado por cada planta que fue expuesta a bajas temperaturas. Si el daño experimentado por la planta tratada era menor que el observado en la planta control, se consideró que el daño experimentado equivalía al que ocurriría aún en ausencia de bajas temperaturas, por lo que se le asignó un daño de cero a ese individuo. Como la convención es utilizar la fracción viva de la hoja se hizo una resta de uno menos la fracción dañada.

5. Desacoplamiento y temperatura mínima

Los datos del desacoplamiento y de la temperatura mínima para cada especie fueron proporcionados por F. L. Vega Ramos (comunicación personal). Dichos datos se obtuvieron midiendo la temperatura superficial de las hojas con un termómetro de radiación infrarroja en cinco plantas de las especies utilizadas en este trabajo. Cada individuo fue monitoreado durante 24 h. También se midió la temperatura del aire a 30 cm por encima del suelo, a las seis hora solar, que es aproximadamente la hora más fría del día. En este momento es cuando es más importante que la planta se mantenga caliente. El valor de desacoplamiento se obtuvo con la diferencia entre la temperatura que experimenta la planta y la temperatura del aire circundante.

El dato de desacoplamiento al amanecer obtenido a partir de los datos proporcionados es negativo, es decir todas las plantas se enfriaron por abajo de la temperatura ambiental al amanecer, excepto en el caso del arbusto *Penstemon gentianoides* (0.44 °C) (Tabla 2). A partir de este momento, cuando se hable de desacoplamiento me referiré a desacoplamiento al amanecer.

6. Análisis Estadísticos

En el presente trabajo se utilizaron como variables indicadoras de tolerancia la LT_{50} (temperatura que causa el 50% de daño) y fracción viva de la planta a $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ y como variables indicadoras de evasión el desacoplamiento y temperatura mínima.

Cálculo de la LT_{50}

Para conocer las temperaturas mínimas que pueden tolerar las distintas especies se realizó una regresión logística del porcentaje de daño contra la temperatura, con el programa S-Plus 2000. Con la curva logística ajustada se estimó la LT_{50} (Nobel 1988). Se realizó un ANOVA con las LT_{50} de cada especie para evaluar si existían diferencias significativas en la tolerancia en distintas formas de crecimiento.

Relación entre tolerancia y evasión

Para determinar si hay una relación entre la tolerancia y la evasión, se hicieron dos regresiones, una entre el desacoplamiento y la LT_{50} y otra entre la LT_{50} y la temperatura mínima experimentada por la especie en el campo. Para determinar si las regresiones eran significativamente diferentes de 0, se realizó una t de Student.

Debido a que la mortalidad de *Lachemilla vulcanica* fue de cero en casi todos los casos, es decir, no se observó daño, la LT_{50} no puede calcularse por lo que dicha especie no se incluyó en el análisis. Como en varias especies la LT_{50} quedó por fuera del intervalo de las temperaturas utilizadas, dicho dato se trata de una extrapolación, lo que resta confiabilidad. Por ello, se hizo un nuevo análisis usando la fracción viva de la planta a $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Se realizaron dos regresiones de la misma manera que con la LT_{50} . La primera entre la fracción viva de la planta a $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ y el desacoplamiento y la segunda entre la primera variable y la temperatura mínima. En este caso sí se utilizó *Lachemilla vulcanica* porque se tenían los datos de la fracción viva a $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Se realizaron regresiones tipo II con el método de regresión de eje mayor reducido, debido a que se violaban los supuestos de la regresión tipo I. Es decir los valores del eje "x" tenían error de medición y no se podía discernir una relación causa-efecto entre ambas variables (Sokal y Rohlf 1995): El desacoplamiento no necesariamente es la causa de la tolerancia fisiológica. Una planta que se desacopla tiene necesidad evolutiva de volverse tolerante pero también puede suceder que, una planta que es tolerante no tenga necesidad de desarrollar características que le sirvan para evadir el frío, es decir, que la causalidad podría ser en sentido contrario. Incluso ambas situaciones pueden suceder al mismo tiempo en la evolución, por lo que hay una causalidad, pero no podemos establecer en qué dirección actúa. Además el desacoplamiento y las temperaturas mínimas se midieron en cinco plantas por lo que el promedio que se usó puede estar lejos del promedio real en la población. Además las cinco plantas empleadas para determinar la temperatura mínima no fueron las mismas usadas para medir la LT_{50} .

7. Método comparativo

Para determinar si había una tendencia evolutiva hacia el desarrollo de tolerancia en ausencia de evasión (o de evasión en ausencia de tolerancia) se usó el método comparativo. Este método es un conjunto de técnicas que permiten contrastar hipótesis sobre adaptación a partir de la información presente en un conjunto de organismos vivos que se relacionan filogenéticamente entre sí. Se utilizan dos tipos de información: datos (medidas) relativos a las variables que se quieren comparar según la hipótesis de interés, e información filogenética (o, en su defecto, taxonómica) sobre el grupo (Harvey y Pagel 1991a).

Si dos atributos se encuentran correlacionados en un cierto número de especies, es probable que el patrón resulte de un proceso evolutivo. Hay dos posibilidades: La primera es que sólo sea un efecto del parentesco, es decir, se retienen los caracteres ancestrales. En este caso, los descendientes comparten ambos atributos si los ancestros los presentaban juntos, y lo que podría parecer adaptación se debe sólo a la ancestría. La segunda posibilidad es que haya una tendencia evolutiva a que las plantas que presentan un atributo desa-

rrollen el otro en forma independiente. En el caso que me interesa, esto significa que las especies que carecen de tolerancia desarrollen estrategias para evadir y viceversa. Hablar de tendencia implicaría que evolutivamente, varias veces y de forma independiente, las plantas que carecían de uno de los atributos han desarrollado el otro. La palabra clave es *independientemente*, esto implica que son características que cada especie ha desarrollado por sí misma. Es decir, para que haya tendencia evolutiva, dos o más plantas comparten una característica y esto no debe resultar de la ancestría.

Hipótesis filogenética

Lo primero que se hizo fue construir una hipótesis filogenética a partir de la información taxonómica y las filogenias disponibles. La división más grande en las especies utilizadas está entre las clases Magnoliopsida (dicotiledóneas) y Liliopsida (monocotiledóneas) (Tabla 1).

No hay consenso sobre cómo fue la evolución temprana de las dicotiledóneas, por lo que la tricotomía de las subclases Caryophyllidae-Rosidae-Asteridae no está clara. Sin embargo, todas las filogenias publicadas concuerdan en que las tres subclases difirieron muy rápida y tempranamente, por lo que aquí la consideramos una verdadera tricotomía, y no sólo el resultado de una falta de certidumbre. Dentro de la subclase Rosidae, Rosales y Fabales están cercanamente emparentadas entre ellas (APG II 2003; Davies *et al.* 2004; Hilu *et al.* 2003; Soltis *et al.* 1999). Dentro de la subclase Asteridae los órdenes Asterales y Apiales están más cercanamente emparentados mientras con las Solanales y Lamiales están cercanas entre sí (APG II 2003; Davies *et al.* 2004; Hilu *et al.* 2003; Plunkett 2001; Soltis *et al.* 1999)(Figura 6)

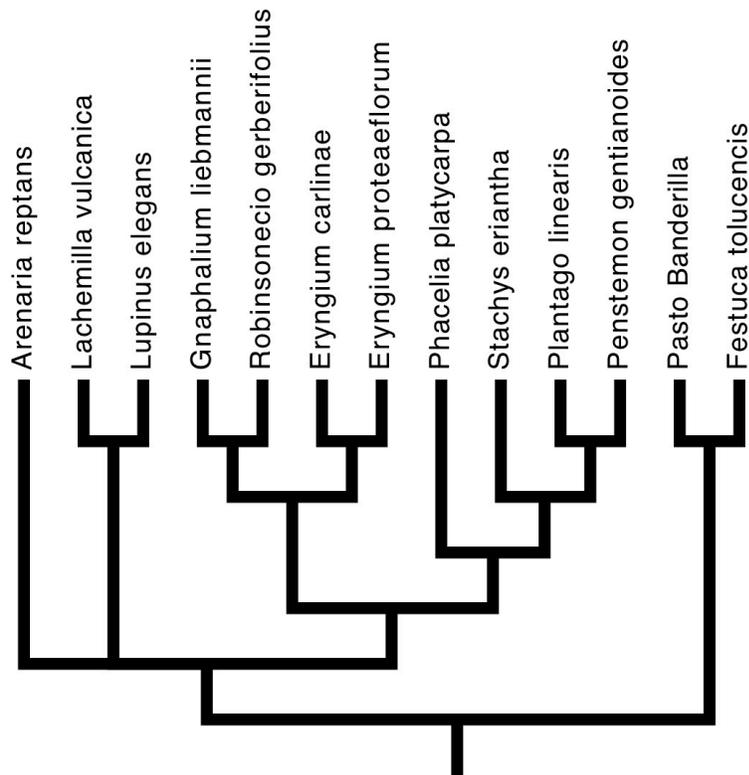


Figura 6. Hipótesis filogenética de las especies utilizadas. La hipótesis se construyó en base a la información taxonómica y las filogenias disponibles.

Reconstrucción de los estados ancestrales

Tomando la hipótesis filogenética (figura 6) se consideró cada nodo como una especie antigua, es decir el ancestro de todos los organismos que descienden de ese nodo. El método comparativo empleado requiere que se asignen atributos a dichas especies. Para ello se tomaron los valores para cada una de las cuatro variables de evasión y tolerancia (LT_{50} , fracción viva a $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$, temperatura mínima y desacoplamiento) para cada una de las especies modernas. Se trabajó con cada variable por separado.

El método más sencillo y conservador para reconstruir los estados ancestrales parte del supuesto de que la evolución es gradual y que los organismos han cambiado poco en el tiempo. Por lo tanto, el procedimiento se basa en encontrar los estados ancestrales que re-

sultan en el menor cambio posible a lo largo de la evolución, es decir el escenario más parsimonioso que aún así da como resultado las diferencias observadas entre especies actuales. Matemáticamente, para que los cambios evolutivos sean lo menores posible, cada nodo debe ser el promedio de los tres nodos que lo rodean, el ancestro y sus dos descendientes (Harvey y Pagel 1991b). Los últimos nodos tienen a las especies actuales como descendientes, y el nodo basal sólo tiene dos nodos asociados, ya que carece de nodo ancestral. Como sólo se conocían los valores de las especies actuales, se reconstruyeron los estados ancestrales haciendo estimaciones a partir de los datos. Se generaron valores tentativos para cada nodo ancestral sacando el promedio de los nodos que le quedaban inmediatamente arriba. Empezando por los valores conocidos de las especies actuales, se obtuvieron los valores para los últimos nodos, y usando éstos, se obtuvieron los de los nodos siguientes, y así sucesivamente hasta el nodo basal. Después se calculó un nuevo valor para cada nodo, siguiendo la regla de que debe ser el promedio de sus tres vecinos (descendientes y ancestro), manteniendo fijos los valores de las especies actuales, los cuales se conocían con exactitud. Este proceso se repitió hasta que los valores no cambiaran más de un decimal (Harvey y Pagel 1991a).

Contrastes filogenéticamente independientes

Es un método de análisis de variables continuas que requiere de filogenias bien resueltas y está basado en la comparación de taxa que comparten un ancestro común a lo largo de la hipótesis filogenética utilizada.

Las especies se van diferenciando entre sí al avanzar la evolución. Para eliminar el efecto de similitudes por parentesco, el análisis necesita que sólo se comparen las diferencias entre pares de especies (actuales y ancestrales) que evolucionaron independientemente. Dichas diferencias se calcularon como las restas de los valores de cada atributo (LT_{50} , desacoplamiento, temperatura mínima y fracción viva a $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$) entre cada par de taxa que emerge de una dicotomía (Figura 7). Las diferencias o “contrastes” entre los valores que presentan para un carácter, calculadas de esta manera dependen exclusivamente del camino

evolutivo seguido por cada una desde que se separaron y, por tanto, es independiente del pasado común. Se llegó a la tricotomía pero se resolvió obteniendo los tres contrastes posibles, ya que, como al parecer los tres grupos aparecieron simultáneamente en la historia evolutiva, cada contraste era independiente del ancestro (APG II 2003; Soltis *et al.* 1999).

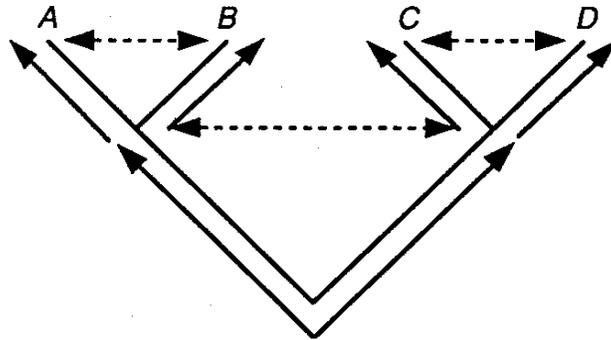


Figura 7 Contrastes independientes. Las líneas punteadas representan pares de especies que tienen parte de su ancestría independiente de la otra, es decir que evolucionaron independientemente.

Se hizo una regresión que pasara por el origen (Harvey y Pagel 1991b) entre los contrastes independientes de variables indicadoras de tolerancia (LT_{50} y fracción viva de la planta a $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$) contra variables indicadoras de evasión (desacoplamiento y temperatura mínima) para saber si existe una relación evolutiva entre las diferentes formas de resistencia que sugiera que éstas se presentan de manera intercambiable. Se hicieron cuatro regresiones: entre la LT_{50} y el desacoplamiento, entre la LT_{50} y la temperatura mínima, entre la fracción viva a $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ y el desacoplamiento y entre la fracción viva a $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ y la temperatura mínima.

IV. Resultados

1. Regresiones logísticas de las especies

En todas las especies, se observó que la fracción viva de la hoja fue disminuyendo conforme la temperatura del tratamiento aplicado era menor, excepto en *Lachemilla vulcanica*, especie en la cual hubo muy poco daño y no se observó que disminuyera dicha fracción (Figura 8).

La LT_{50} es diferente en cada especie, variando desde $-28.57\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta $-48.88\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Tabla 2). Las especies tienen temperaturas de daño muy por debajo de los $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, llegando a ser de hasta $-48\text{ }^{\circ}\text{C}$ en *Arenaria reptans* (Tabla 2). Las distintas formas de crecimiento difirieron significativamente en sus LT_{50} ($F=4.62$, $P=0.032$). Las tapizantes presentaron la LT_{50} más baja y los arbustos la LT_{50} más alta. (Figura 9).

Tabla 2. Forma de crecimiento, temperatura mínima, desacoplamiento de la temperatura ambiental al amanecer, LT_{50} y fracción viva a $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ de las especies utilizadas

Especie	Forma de crecimiento	Desacoplamiento ($^{\circ}\text{C}$)*	Temperatura mínima ($^{\circ}\text{C}$)*	LT_{50} ($^{\circ}\text{C}$)	Fracción viva a $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$
<i>Arenaria reptans</i>	tapizante	-7.14	-2.48	-48.88	0.842
<i>Robinsonecio gerberifolius</i>	roseta	-1.80	4.00	-35.95	0.566
<i>Eryngium carlinae</i>	roseta	-4.36	1.32	-29.99	0.202
<i>Eryngium proteaeflorum</i>	roseta	-3.92	2.16	-29.24	0.160
<i>Gnaphalium liebmannii</i>	roseta	-4.00	-1.28	-36.69	0.616
<i>Plantago linearis</i>	roseta	-3.16	-0.09	-28.57	0.219
<i>Phacelia platycarpa</i>	roseta	-3.68	0.93	-32.59	0.270
Pasto banderilla	macollo	-2.04	2.20	-37.62	0.893
<i>Festuca toluencensis</i>	macollo	-2.36	2.65	-42.11	0.922
<i>Lupinus</i>	hierba	-3.60	1.68	-32.46	0.365
<i>Stachys eriantha</i>	hierba	-5.44	-2.40	-45.08	0.709
<i>Penstemon gentianoides</i>	arbusto	0.44	4.31	-29.76	0.200
<i>Lachemilla vulcanica</i>	hierba	-9.23	-4.07		0.994

*Datos tomados en el Iztaccíhuatl a 4030 m s.n.m. por F. L. Vega Ramos (comunicación personal).

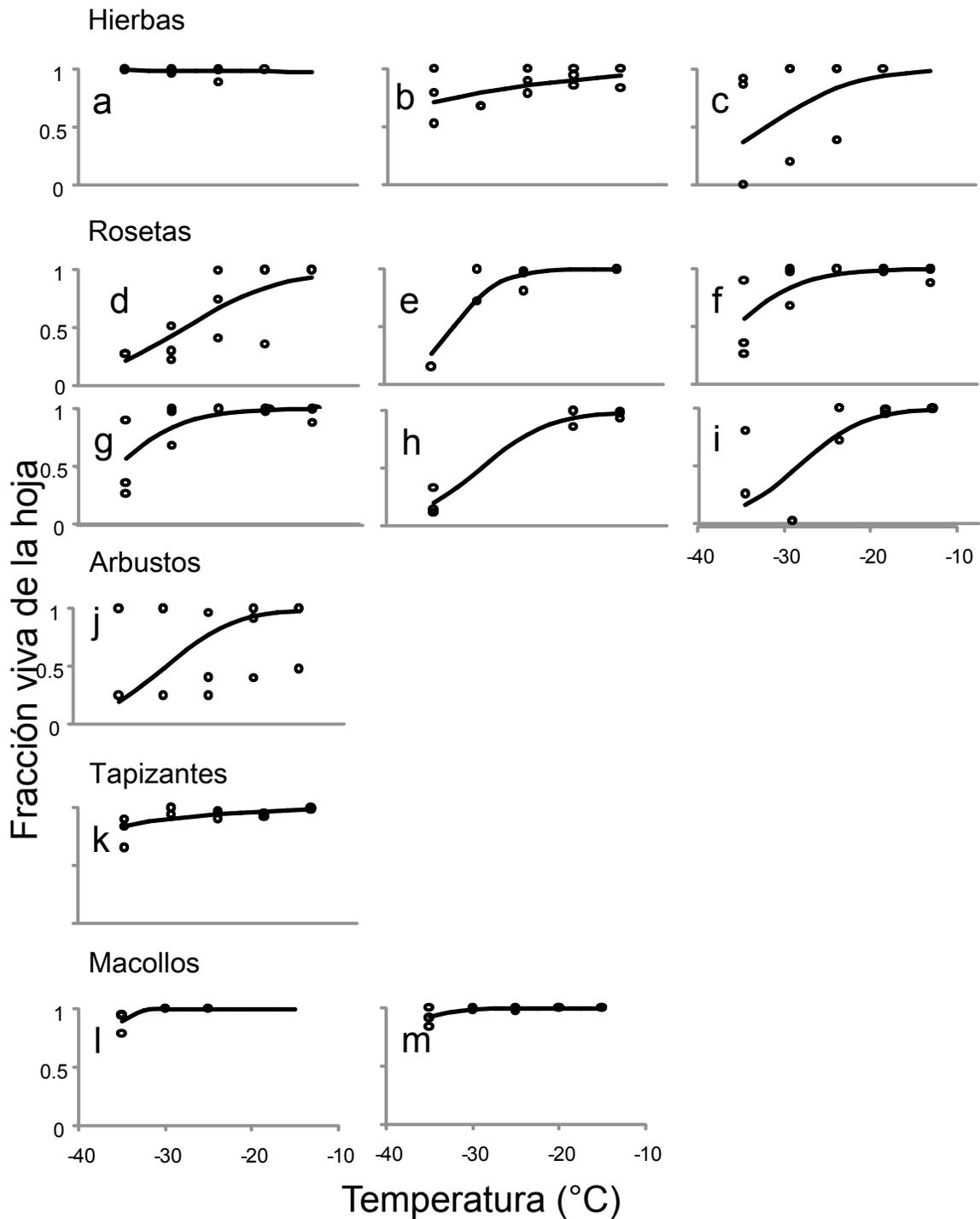


Figura 8. Fracción viva de la hoja tras la exposición a diferentes temperaturas. Las curvas fueron ajustadas mediante una regresión logística. Se muestran plantas con diferentes formas de crecimiento: Hierbas (a. *Lachemilla vulcanica*, b. *Stachys eriantha*, c. *Lupinus elegans*), rosetas (d. *Plantago linearis*, e. *Phacelia platycarpa*, f. *Robinsonia gerberifolia*, g. *Gnaphalium liebmannii*, h. *Eryngium carlinae*, i. *Eryngium proteaeflorum*), arbustos (j. *Penstemon gentianoides*), tapizantes (k. *Arenaria reptans*) y macollos (l. Pasto bandera, m. *Festuca tolucensis*).

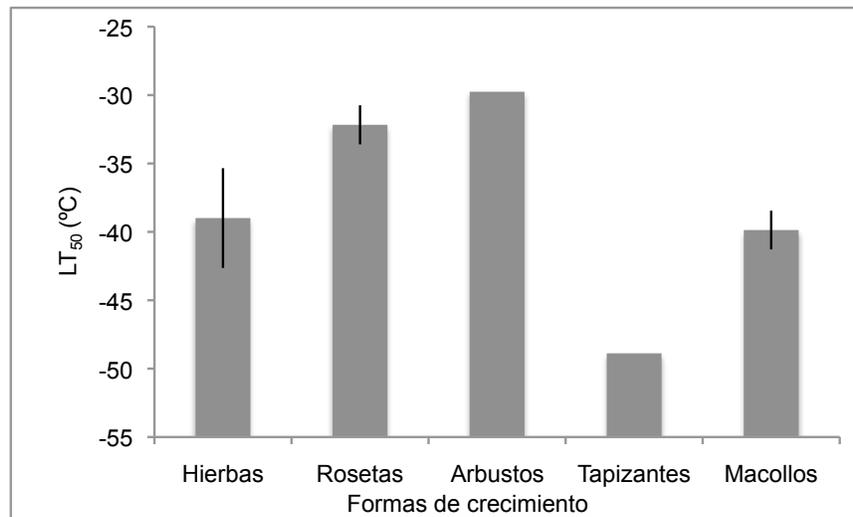


Figura 9. Tolerancia promedio de plantas con diferentes formas de crecimiento: Las barras de error muestran el error estándar.

2. Regresiones entre tolerancia y evasión

Hubo una relación positiva entre la LT_{50} y la temperatura mínima ($t= 3.76$, $P=0.002$; Figura 10 a), así como entre la LT_{50} y el desacoplamiento ($t=3.72$, $P= 0.002$; Figura 10 b) implicando una mayor tolerancia en las plantas que no pueden evadir. En términos de fracción viva a -35 °C se encontró una relación negativa tanto con la temperatura mínima de la planta ($t= 3.72$, $P= 0.001$; Figura 10 c), como con el desacoplamiento ($t= 3.69$ $P= 0.002$; Figura 10 d). Esto indica el mismo patrón observado con el LT_{50} : mayor tolerancia en las plantas que no pueden evadir. Se encontraron especies que toleran o que evaden pero no se observaron plantas que no tengan ninguna de las dos formas de resistencia ni tampoco plantas que sean muy tolerantes y muy evasoras al mismo tiempo (Figura 10).

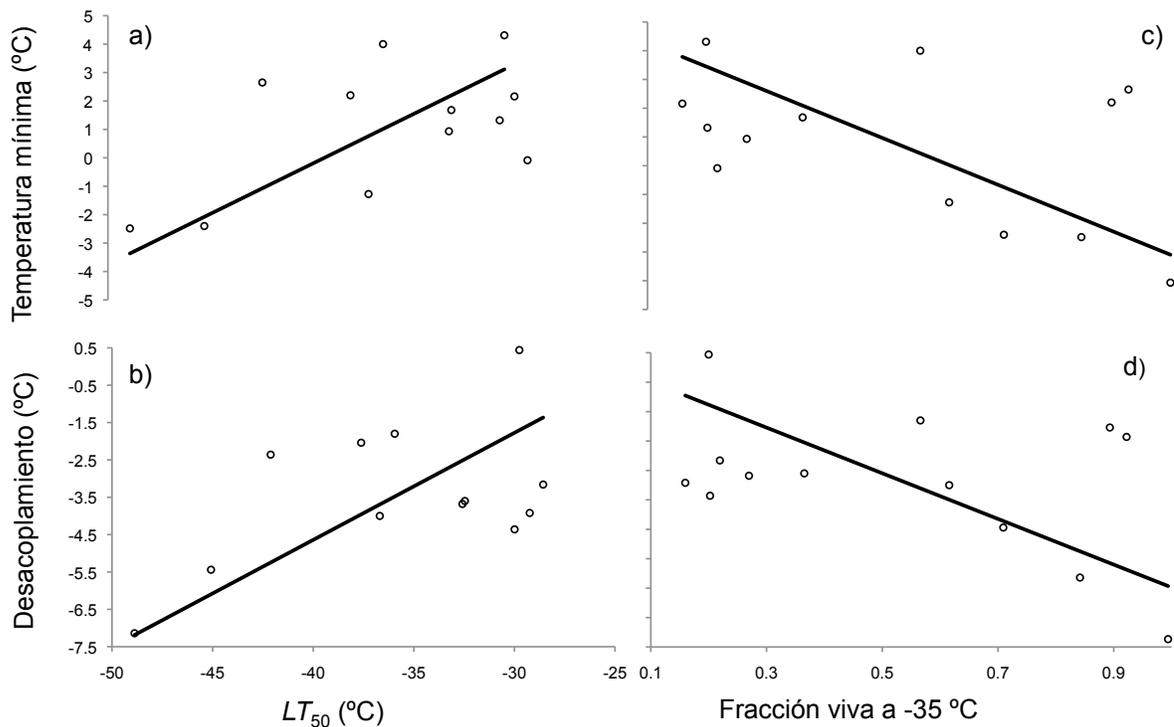


Figura 10. Tolerancia y evasión en las especies estudiadas a). Relación entre la LT_{50} y la temperatura mínima, b) Relación entre la LT_{50} y el desacoplamiento. c) Relación entre la fracción viva de la planta a -35 °C y la temperatura mínima d) Relación entre la fracción viva de la planta a -35 °C y el desacoplamiento.

3. Análisis de los contrastes independientes de tolerancia y evasión

Se encontró que a mayores contrastes de LT_{50} mayores son los contrastes de temperatura mínima. ($F=7.86$, $P=0.02$; Figura 11 a) La misma relación fue detectada entre los contrastes LT_{50} y desacoplamiento ($F= 10.72$ $P= 0.007$; Figura 11 b). Asimismo, se encontró una relación negativa entre los contrastes de temperatura mínima y los contrastes de fracción viva de la planta a -35 °C ($F= 15.61$, $P=0.002$; Figura 12 a). De la misma manera, al aumentar los contrastes de desacoplamiento disminuyeron los contrastes de la fracción viva de la planta a -35 °C ($F=11.56$, $P=0.005$; Figura 12 b).

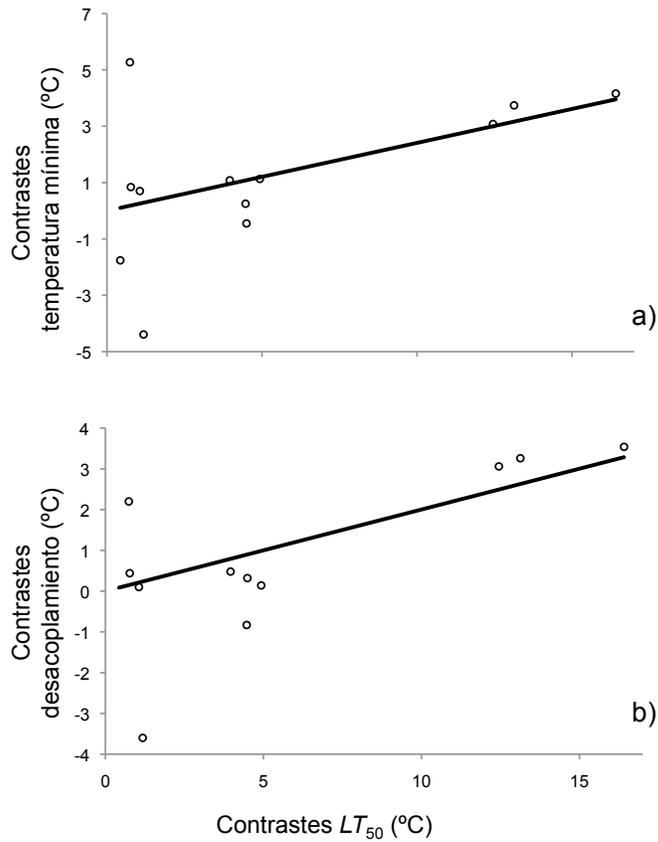


Figura 11. Contrastes independientes de tolerancia y evasión: a) Relación entre los contrastes de LT_{50} y los contrastes temperatura mínima, b) Relación entre los contrastes de LT_{50} y los contrastes de desacoplamiento

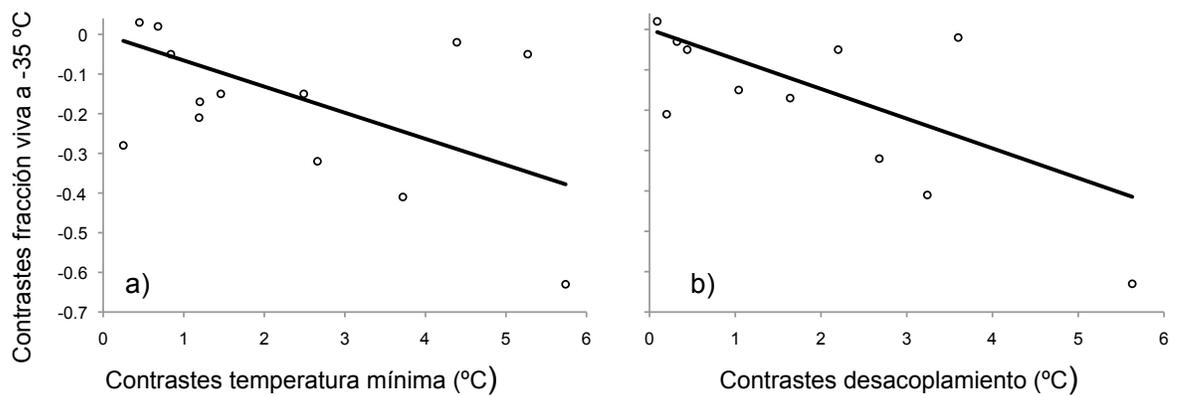


Figura 12. Contrastes independientes de evasión y tolerancia: a) Relación entre los contrastes de fracción viva a -35 °C y la temperatura mínima b) Relación entre los contrastes de fracción viva a -35 °C y el desacoplamiento.

V. Discusión

1. Tolerancia a las bajas temperaturas

Con los datos obtenidos al amanecer, hora más fría del día, se encontró que las plantas parameras se desacoplaron de su medio ambiente varios grados por abajo de la temperatura del aire circundante, por lo que tienen un desacoplamiento negativo (se enfrían más) excepto en el caso del arbusto *Penstemon gentianoides* (0.44 °C; Tabla 2). Este desacoplamiento negativo difiere del desacoplamiento propuesto por Körner (2003a) posiblemente debido a que este autor lo midió a las 12 horas y no a la hora más fría del día. Rada *et al.* (1985) han reportado que las hojas alcanzan temperaturas mucho más bajas que la temperatura del aire durante la noche debido a la transferencia convectiva del calor.

Como se esperaba al aplicar temperaturas congelantes, la fracción de daño de la planta aumentó conforme se disminuyó la temperatura, con la excepción de *Lachemilla vulcanica*, especie en la cual el daño siempre fue imperceptible. Esto probablemente se debió a que las temperaturas de los tratamientos utilizados no fueron lo suficientemente bajas como para causar daño en esta hierba postrada.

Las especies tienen valores de LT_{50} muy por debajo de los 0 °C (entre -29.2 °C y -48.8 °C; Tabla 2) y difieren entre sí en las temperaturas de daño. Una comparación a nivel mundial de la tolerancia al congelamiento de plantas de alta montaña es difícil debido a la gran variedad de definiciones de resistencia, de métodos y de pretratamientos que han sido aplicados, así como de la historia climática inmediatamente anterior y la época del año. Sin embargo, se han reportado temperaturas de daño en verano para plantas parameras entre -4.7 °C y -20 °C (Azócar 2006; Squeo *et al.* 1991; Squeo *et al.* 1996) y para plantas alpinas entre -4.5 °C y -14.6 °C (Taschler y Neuner 2004).

Debido a que los extremos de temperatura baja en los trópicos y subtrópicos son menos predecibles comparados con los de las montañas extratropicales, aparentemente se re-

quiere mayor tolerancia al frío en los trópicos (Körner 2003a). Lipp *et al.* (1994), al comparar especies tropicales con especies de los Alpes, encuentran que las primeras toleran temperaturas lo doble de bajas (-9 °C a -19 °C) que las segundas (-4 °C y -10 °C).

Körner (2003a) reportó grandes variaciones estacionales en la tolerancia, aún en medios ambientes ecuatoriales, al realizar repetidas mediciones sobre varios periodos en diferentes años, aunque otros autores no han encontrado variaciones estacionales en la tolerancia en los páramos (Sarmiento 1986). Esta variabilidad posiblemente refleja las condiciones climáticas inmediatamente anteriores y/o de ritmos fenológicos (Körner 2003a). En las plantas alpinas se presenta un incremento en el grado de tolerancia de otoño a invierno debido a la aclimatación al frío. La mayoría de las plantas que crecen en climas fríos sufren daño por congelamiento a temperaturas sólo por debajo de los -3 °C a -5 °C cuando están creciendo activamente en el verano. Sin embargo, en invierno tienen la habilidad de sobrevivir a temperaturas de -43 °C y hasta -80 °C (Levitt 1980; Yamori *et al.* 2005).

En consecuencia, temperaturas de LT_{50} tan bajas como las encontradas en este trabajo podrían deberse a que las colectas se realizaron en invierno y a que son plantas parameras, condiciones que se sabe requieren mayor tolerancia. No se puede evitar mencionar que el método utilizado pueda ser otra posible explicación. El método de análisis de imágenes digitales incluyó un ajuste manual, en el cual las áreas que se tomaron como coloración variable de la hoja pudieron corresponder a áreas dañadas por las temperaturas bajas. Además, las especies presentan diferentes gamas de coloración; lo que podría representar células vivas con coloración variable para una especie, podría representar daño para otra.

No obstante, Neuner y Buchner (1999) al evaluar tres métodos que se utilizan para calcular la temperatura de daño (análisis de imágenes digitales, pérdida de electrolitos y fluorescencia de la clorofila), no encontraron diferencias significativas entre los mismos en verano mientras que en invierno el método de fluorescencia sobrestimó la tolerancia. De ello concluyeron que es recomendable utilizar el método de análisis digitales ya que es el más sencillo.

2. Diferencias en tolerancia entre formas de crecimiento

Como se esperaba, en este trabajo se encontraron diferencias significativas en las temperaturas de daño de las distintas formas de crecimiento, lo cual difiere de lo reportado en algunos trabajos (Azócar 2006; Taschler y Neuner 2004) pero concuerda con otros. Körner (2003a) presentó datos para plantas alpinas en donde las hojas de arbustos y plantas cojín, completamente aclimatadas al invierno, muestran las temperaturas de daño más altas y más bajas, LT_{50} de -35 a -80 °C y de -70 a -196 °C respectivamente.

Otros autores han reportado diferencias en la tolerancia dependiendo de atributo morfológicos como la estatura. Squeo *et al.* (1991) midieron la temperatura de daño en plantas a nivel del suelo (cojines, pequeñas rosetas, y hierbas perennes), plantas de estatura intermedia (arbustos y hierbas perennes) y formas arborescentes (rosetas gigantes y pequeños árboles) determinando que hay una relación entre la estatura de la planta y el mecanismo de resistencia. Encontraron que las plantas a nivel de suelo presentan tolerancia al frío a diferencia de las formas arborescentes que muestran evasión. Las plantas de tamaño intermedio tienen ambos mecanismos. En ambientes fríos, en términos de costo-beneficio, una combinación de tolerancia al congelamiento y evasión por medio de estructuras protectoras puede ser un mecanismo menos costoso y más seguro que el superenfriamiento por sí solo. Esto concuerda con lo hallado en este trabajo en donde se encontraron estrategias intermedias, es decir se observó un gradiente y no grupos discretos de plantas tolerantes y evasoras.

Se podría decir que la secuencia de mayor a menor tolerancia obtenida en este trabajo (tapizantes, macollos, hierbas, rosetas y arbustos; Figura 9), fue similar a la secuencia de desacoplamiento propuesta por Körner (2003a): tapizantes, hierbas postradas, rosetas, pastos amacollados, hierbas erectas y arbustos. Debido a que algunas formas de crecimiento no tuvieron más que una especie representante (tapizantes y arbustos) y que las hierbas no se clasificaron en postradas y erectas como lo hizo Körner, sino se agruparon en una sola categoría, podemos pensar que al aumentar el número de especies, que representan cada forma de crecimiento, y al usar la misma clasificación que Körner (2003 a), se podría evaluar con mayor exactitud si se tiene la misma secuencia.

Las temperaturas de daño de las plantas que crecían más cercanas al suelo fueron inferiores que las temperaturas que presentaron las plantas de mayor estatura. Esto se debió a que el suelo es donde el microhábitat es más riguroso en términos de temperatura, no sólo las temperaturas son más bajas sino que también permanecen bajo 0 °C por más tiempo de manera que una gran tolerancia es necesaria para subsistir (Azócar 2006; Squeo *et al.* 1996). Bajo estas condiciones la planta tapizante, que es la que crece más cercana a nivel del suelo, está dentro de las especies que más se desacoplaron y de las que registraron temperaturas mínimas más bajas en el campo, presentó la LT_{50} más baja (-48 °C). Por el contrario, la planta de mayor estatura, el arbusto, que fue la que menos se desacopló y tuvo las temperaturas mínimas más altas, mostró un daño semejante con menor disminución de temperatura (-29 °C).

La LT_{50} cambió con el grado de desacoplamiento y la temperatura mínima experimentada en el campo. Las plantas que presentaron temperaturas mínimas más bajas y mostraron un mayor desacoplamiento al amanecer (ineficientes para conservar el calor) lo compensaron a través de una mayor tolerancia a las temperaturas más bajas (Figura 10 a y b).

Al igual que con la LT_{50} , las formas de crecimiento que más se desacoplaron al amanecer y que registraron temperaturas mínimas más bajas son las que tuvieron una mayor fracción viva a -35 °C (Figura 10 c y d). Esta misma relación fue observada para las especies individualmente. La fracción viva a -35 °C de *Lachemilla vulcanica*, hierba postrada que crece pegada al suelo, fue muy alta lo que concordó con el hecho de que fue la especie que más se desacopló y que registró la temperatura mínima más baja en el campo (Tabla 2).

3. Evolución de la tolerancia y la evasión

Las pendientes positivas entre los análisis de contrastes independientes entre temperatura mínima y LT_{50} indicaron que hubo una tendencia evolutiva a reducir la tolerancia ante un aumento de evasión presentando la misma relación entre los contrastes de LT_{50} y desacoplamiento (Figura 10 a y b) . Asimismo, las pendientes negativas entre los análisis de contrastes independientes entre temperatura mínima y fracción viva a -35 °C y entre desacopla-

miento y fracción viva a $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ indicaron que hubo una tendencia evolutiva a aumentar la tolerancia ante una reducción en la evasión (Figuras 10 c y d).

Por lo tanto, se puede descartar que los patrones observados se deban únicamente a la ancestría y los resultados son consistentes con la hipótesis de que existe una tendencia evolutiva hacia el desarrollo de mecanismos de tolerancia en ausencia de mecanismos de evasión (o de mecanismos de evasión en ausencia de tolerancia). Como se mencionó, el hecho de que hubiera una correlación entre la LT_{50} y el desacoplamiento pudo haber sido resultado de un fenómeno ecológico y no evolutivo: En ese caso, el patrón observado en nuestros datos se debería a que las plantas en el Iztaccíhuatl tendrían que tener al menos uno de los dos mecanismos de resistencia, ya sea evasión o tolerancia, para poder colonizar la montaña. El análisis de contrastes independientes no descarta los fenómenos ecológicos, sólo indica que también existen fenómenos evolutivos y es posible incluso que los dos fenómenos expliquen en parte los patrones observados.

En este trabajo se encontraron especies que toleran o que evaden pero no se observaron plantas que no tengan ninguna de las dos formas de resistencia ni tampoco plantas que sean muy tolerantes y muy evasoras al mismo tiempo. Esto puede ser resultado de los costos asociados a la resistencia. Se ha calculado que el costo de producción de taninos, ligninas y lípidos se encuentra entre los más altos de todos los compuestos producidos por las plantas. Dado que la tolerancia y la evasión parecen ser intercambiables, se esperaría que cuando una especie gane en evasión pierda en tolerancia. ¿Para qué invertir en paredes celulares gruesas, ligninas, taninos, grasas, sustancias anticongelantes, y supresión de núcleos de formación de hielo si los individuos no experimentan las bajas temperaturas?

VI. Conclusiones

- Existen diferencias en las temperaturas mínimas toleradas entre las distintas formas de crecimiento.
- Las especies más tolerantes al frío son las que corresponden a formas que tienen mayor desacoplamiento al amanecer y experimentaron una temperatura más baja en el campo.
- Existe una tendencia evolutiva hacia el desarrollo de tolerancia en ausencia de evasión.
- Las plantas de la zona alta del Iztaccíhuatl pueden habitar en este lugar ya que presentan uno de los dos mecanismos de resistencia (tolerancia o evasión), o bien combinaciones intermedias de ambos, pero no se encontraron plantas que presentara los dos mecanismos muy desarrollados.

VII. Bibliografía

- APG II (2003) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141:399–436.
- Azócar A. (2006) Relación entre anatomía foliar, forma de crecimiento y mecanismos de resistencia a temperaturas congelantes en diferentes especies en el Páramo de Piedras Blancas. En, vol. Tesis Profesional. Universidad de los Andes, Mérida
- Azócar A., Rada F. y Goldstein G. (1988) Freezing tolerance in *Draba chionophila*, a 'miniature' caulescent rosette species. *Oecología* 75:156-160.
- Beman J. (1962) The timberlines of Iztaccihuatl and Popocatepetl, México. *Ecology* 43:377-385.
- Cavieres L., Arroyo M., Peñaloza A. y Molina-Montenegro M. (2002) Nurse effect of *Bolax gummifera* (Apiaceae) cushion plants in the alpine vegetation of the Chilean Patagonian Andes. *Journal of Vegetation Science* 13:457-554.
- Challenger A. (1998) La zona ecológica templada subhúmeda (Bosque de pino y encino). En: Challenger (ed) Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México. Pasado, presente y futuro. Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México Agrupación Sierra Madre S.C., México, pp 519-615.
- Davies J., Barraclough T., Chase M., Soltis P. y Soltis D. (2004) Darwin's abominable mystery: Insights from a supertree of the angiosperms. *PNAS* 101:1904-1909.
- Grime J. (1977) Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *American Naturalist* 111:1169-1994.
- Halloy S. (1990) A morphological classification of plants, with special reference to the New Zeland alpine flora. *Journal of Vegetation Science* 1:291-304.

- Harvey P. y Pagel M. (1991a) *The Comparative Method in Evolutionary Biology*. Oxford University Press, Nueva York. 239 p.
- Harvey P. y Pagel M. (1991b) *The Comparative Method in Evolutionary Biology*. Oxford University Press, Nueva York. 239 p.
- Hilu K. *et al.* (2003) Angiosperm Phylogeny based on *matK* Sequence information. *American Journal of Botany* 90:1758-1776.
- IMTA (2009) ERIC III: Extractor Rápido de Información Climática. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. México D.F.
- Kappelle M. (2005) Hacia una breve descripción del concepto páramo. En: Kappelle M. y Horn S. (eds) *Páramos de Costa Rica*. INBio, Costa Rica, pp 29-36.
- Körner C. (2003a) *Alpine plant life. Functional plant ecology of high mountain ecosystems*, Berlin. 334 p.
- Körner C. (2003b) Limitation and stress-always or never? *Journal of Vegetation Science* 14:141-143.
- Leclerc J. (2002) *Plant Ecophysiology*. Science Publisher, Enfield, New Hampshire. 280 p.
- Levitt J. (1980) *Responses of plants to environmental stresses*. Academic Press, London. p.
- Lipp C., Goldstein G., Meinzer F. y Niemczura W. (1994) Freezing tolerance and avoidance in high-elevation Hawaiian plants *Plant, Cell and Environment* 17:1035-1044.
- Mark A. (1975) Photosynthesis and dark respiration in three alpine snow tussocks (*Chionochloa* spp.) under controlled environments. *New Zealand Journal of Botany* 13:93-122.
- Márquez E., Rada F. y Fariñas M. (2006) Freezing tolerance in grasses along an altitudinal gradient in the Venezuelan Andes. *Oecología* 150:393-397.

- Monasterio M. y Vuilleumier F. (1986) Introduction: High tropical biota of the world. En: Vuilleumier F. y Monasterio M. (eds) High altitude tropical biogeography. Oxford University Press, New York, pp 3-7.
- Neuner G. y Buchner O. (1999) Assessment of foliar frost damage: a comparison of in vivo chlorophyll fluorescence with other viability tests. *Journal of Experimental Botany* 73:50-54.
- Nobel P. (1988) Temperature. En: Nobel P. (ed) Environmental Biology of agaves and cacti. Cambridge University Press, Nueva York, pp 94-137.
- Plunkett G. (2001) Relationship of the order Apiales to subclass Asteridae: A re-evaluation of morphological characters based on insights from molecular data. *J. BOT.* 58:183-200.
- Rada F., Goldstein G., Azócar A. y Meinzer F. (1985) Freezing avoidance in Andean giant rosette plants. *Plant Cell and Environment* 8:501-507.
- Rada F., Goldstein G., Azócar A. y Torres F. (1987) Supercooling along an altitudinal gradient in *Espeletia schultzii*, a caulescent giant rosette species. *Journal of Experimental Botany* 36:989-1000.
- Rundel P. (1994) Tropical Alpine climates. En: Rundel P., Smith A. y Meinzer F. (eds) Tropical alpine environments: plant form and function. Cambridge University Press, U.K., pp 21-44.
- Rundel P., Gibson A. y Sharifi M. (2005) Plant functional groups in alpine fellfield habitats of the White Mountains, California. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research* 37:358-365.
- Sarmiento G. (1986) Ecologically crucial features of climate in high tropical mountains. En: Vuilleumier F. y Monasterio M. (eds) High Altitude Tropical Biogeography. Oxford University Press, Oxford, pp 11-45.
- Smith W. y Johnson D. (2009) Biophysical effects of altitude on plant gas exchange. En: De La Barrera E. y Smith W. (eds) Perspectives in Biophysical Plant Ecophysiology: A tribute to Park S. Nobel, pp 257-280.

- Sokal R. R. y Rohlf J. F. (1995) *Biometry*, 3rd edn. W. H. Freeman and Company, Nueva York. 887 p.
- Soltis P., Soltis D. y Chase M. (1999) Angiosperm phylogeny inferred from multiple genes as a tool for comparative biology. *NATURE* 402:402-404.
- Squeo F., Rada F., Azócar A. y Goldstein G. (1991) Freezing tolerance and avoidance in high tropical Andean plants: is it equally represented in species with different plant height? *Oecología* 86:378-382.
- Squeo F., Rada F., García C., Ponce M., Rojas A. y Azócar A. (1996) Cold resistance mechanisms in high desert Andean plants. *Oecología* 105:552-555.
- Taschler D. y Neuner G. (2004) Summer frost resistance and freezing patterns measured in situ in leaves of major alpine plant growth forms in relation to their upper distribution boundary. *Plant Cell and Environment* 27:737-746.
- Yamori W., Kogami H. y Masuzawa T. (2005) Freezing tolerance in alpine plants as assessed by the FDA-stainin method. *Polar Bioscience* 18:73-81.