



Variación intraespecífica en tolerancia al frío en progenies de *Pinus pseudostrobus* en dos sitios de evaluación

Intraspecific variation in cold tolerance in *Pinus pseudostrobus* progenies at two test sites

Rubén Barrera Ramírez^{1*}, J. Jesús Vargas Hernández², Sebastián Escobar Alonso²,

Alberto Pérez Luna² y Javier López Upton²

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Uruapan. Uruapan, Michoacán, México.

² Colegio de Postgraduados. Postgrado en Ciencias Forestales. Texcoco, Estado de México, México.

* Autor de correspondencia. ruben.barrera.ram@gmail.com

RESUMEN

La tolerancia al frío tiene valor adaptativo en plantas perennes de clima templado-frío, por lo que es importante detectar variación genética en ella para árboles forestales. En dos ensayos de progenie de *Pinus pseudostrobus* establecidos en Pueblo Nuevo, Puebla (S₁, 2853 m) y Teolocholco, Tlaxcala (S₂, 2355 m), se determinó el índice de daño celular (ID) en plantas de cuatro años con una prueba de congelamiento, y se estimó su relación con el crecimiento en altura y variables bioclimáticas del sitio de origen de las familias en la región central de México. La tolerancia a frío se determinó con la pérdida de electrolitos (ID) a -15 °C durante 4 h. El análisis de varianza se realizó con Proc Mixed, usando un diseño de bloques completos al azar. El ID fue diferente ($P < 0.05$) entre sitios y mayor en S₁ (60.7%) que en S₂ (50%); los parámetros genéticos indicaron que la tolerancia al frío está bajo control genético ($h^2_f \geq 0.50$). El crecimiento en altura de las plantas en S₂ fue mayor que en S₁. Las variables bioclimáticas de mayor correlación ($r \geq 0.55$) con ID y el crecimiento en altura están relacionadas con la humedad, temperatura y precipitación de otoño-invierno. El daño por heladas en las familias varió entre sitios, lo que demuestra que existe interacción genotipo-ambiente asociada con resistencia al frío para algunas progenies; además de que los factores climáticos asociados con la humedad, la temperatura y precipitación también son importantes en la adaptación y crecimiento de las progenies de *P. pseudostrobus*.

PALABRAS CLAVE: fenología, índice de daño, tasa de crecimiento, tolerancia a heladas, variables climáticas.

ABSTRACT

Cold tolerance has adaptive value for perennial plants in cold-temperate climates, so it is important to detect genetic variation for this trait in forest trees. In two *Pinus pseudostrobus* progeny tests established at Pueblo Nuevo, Puebla (S₁, 2853 m) and Teolocholco, Tlaxcala (S₂, 2355 m), the cell damage index (ID) was determined in four-year-old plants with a freezing test, and its relationship with height growth, and bioclimatic variables at the origin site of families, in the central region of Mexico, was estimated. Tolerance to low temperatures was determined with the electrolyte leakage (REL) method, at -15 °C for 4 h. Analysis of variance was performed with Proc Mixed, using a randomized complete block design. Mean DI differed between sites ($P < 0.05$) and was higher at S₁ (60.7%) than at S₂ (50%); genetic parameters indicated that cold tolerance is under genetic control ($h^2_f \geq 0.50$). Height growth of progenies at S₂ was greater than at S₁. The bioclimatic variables with the highest correlation ($r \geq 0.55$) with ID and height growth are related to humidity, temperature, and precipitation from autumn to winter. Frost damage of families varied between sites, showing that there is genotype-environment interaction associated with cold tolerance in some progenies; in addition, climatic factors associated with humidity, temperature and precipitation are also important for adaptation and growth of *Pinus pseudostrobus* progenies.

KEYWORDS: phenology, damage index, growth rate, frost tolerance, climate variables.

INTRODUCCIÓN

La tolerancia al frío es la capacidad de las plantas para soportar temperaturas de congelación sin sufrir daños significativos (Yu y Lee, 2020); además determina la variación genética en árboles forestales de clima templado (Bansal et al., 2015; Bansal et al., 2016) y su adaptabilidad entre y dentro de poblaciones (Mabaso et al., 2019; Atucha-Zamkova et al., 2021). En coníferas, el daño por heladas determina en gran medida su distribución, supervivencia y crecimiento (Aldrete et al., 2008; Charra-Vaskou et al., 2012; Malmqvist et al., 2018; Ambroise et al., 2020), por lo tanto, la selección de especies y procedencias apropiadas y adaptadas a la ocurrencia de heladas es un factor relevante para aumentar la supervivencia y el crecimiento (Viveros-Viveros et al., 2009; Malmqvist et al., 2016), que se ven afectados por la combinación de factores ambientales, como la duración del fotoperíodo y la temperatura (Malmqvist et al., 2018). El daño en la planta ocurre cuando la temperatura del agua alcanza el punto de congelamiento (Yu y Lee, 2020) en las células de los tejidos vegetales como yemas, tallos, brotes, follaje y raíces (Malmqvist et al., 2016; Malmqvist et al., 2018; Mabaso et al., 2019; Yu y Lee, 2020).

La evaluación del daño por congelamiento es importante para predecir la supervivencia y la productividad de las coníferas (Richardson et al., 2018) e identificar aquellas especies y procedencias tolerantes (Pohl et al., 2019) y con ello desarrollar estrategias que reduzcan el estrés por el efecto de bajas temperaturas (Bansal et al., 2015; Bansal et al., 2016). Un método de evaluación es determinar el índice de daño ocasionado por bajas temperaturas a través de la técnica de fuga relativa de electrolitos (FRE) (Atucha-Zamkova et al., 2021) que mide la concentración de electrolitos liberados por los tejidos vegetales (hojas, tallos o raíces) después de exponerse a temperaturas de congelamiento (Yu y Lee, 2020); la FRE expresa el daño inducido en la membrana celular causado por el descenso de temperatura (Hodge et al., 2012; Arora, 2018) y proporciona una estimación del daño por congelamiento (Yu y Lee, 2020). El descenso de temperatura generalmente es de 2 °C cada hora hasta alcanzar el umbral

de daño (TL_{50}) para una muestra de congelamiento, y así se obtiene el índice de daño celular (ID%), el cual es una relación entre FRE después de la congelación y FRE final obtenida por esterilización de las muestras en autoclave (Hodge et al., 2012; Arora, 2018).

En estudios realizados con otro tipo de prueba de daños por heladas Viveros-Viveros et al. (2009) señalaron que los daños causados por las bajas temperaturas mostraron un patrón de variación genética altitudinal con diferencias de resistencia a bajas temperaturas entre poblaciones de *Pinus hartwegii* Lindl, donde las procedencias de menor altitud (3000 m) presentaron mayor daño por heladas (69%) que las de mayor altitud (3600 m; ID = 53%). Además, Bansal et al. (2015) señalan que, a través de la prueba controlada FRE, se determinaron diferencias de ID = 20% por efecto de heladas en acículas y yemas, entre y dentro de poblaciones de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco. También, Reyes et al. (2020), con el mismo procedimiento, señalaron que existen diferencias de tolerancia a bajas temperaturas entre procedencias de *Pinus radiata* D. Don, ya que las procedencias de Isla Cedros fueron más resistentes al daño artificial por heladas que las de Isla Guadalupe que fueron más susceptibles. Por lo tanto, es necesario seleccionar especies y procedencias donde exista un balance adecuado entre el potencial de crecimiento y la resistencia a heladas (Viveros-Viveros et al. (2009).

Pinus pseudostrobus Lindl. es una especie de distribución amplia en México y presenta variación intraespecífica en características morfológicas y de crecimiento (Viveros-Viveros et al., 2006), prospera naturalmente en sitios de clima templado-frío, en altitudes de 1500 a 3300 m, con precipitación media de 800 mm año⁻¹ a 1200 mm año⁻¹, temperatura media anual de 12 °C a 18 °C (Barrera-Ramírez et al., 2020), y mínima de -8 °C (Viveros-Viveros et al., 2006); sin embargo, se ha señalado que es una especie susceptible al daño por heladas y que difiere entre procedencias (Viveros-Viveros et al., 2006). Por lo tanto, se plantearon los objetivos del presente trabajo.



OBJETIVOS

1) Determinar el índice de daño ocasionado por heladas en dos ensayos de progenie de *Pinus pseudostrubus* a través de una prueba artificial de congelamiento; 2) estimar el índice de daño por heladas para dos grupos distintos de crecimiento de 20 familias de progenies presentes en ambos ensayos; y 3) comparar la relación que existe entre las variables ambientales del origen de las familias con respecto al índice de daño por heladas y el patrón crecimiento de las progenies de *Pinus pseudostrubus* establecidas en dos sitios contrastantes en la región central de México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Origen del material biológico y localización de los ensayos de progenie

Se utilizó germoplasma de *Pinus pseudostrubus* procedente de árboles seleccionados fenotípicamente como superiores en rodales naturales de los estados de México, Puebla y Tlaxcala (Tabla 1). La planta fue producida en el vivero del Posgrado en Ciencias Forestales del Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco; en contenedores de plástico rígido de 310 cm³ con sustrato formado por la mezcla de turba, vermiculita y perlita en proporción 2:1:1, más 3 kg m⁻³ de fertilizante de liberación controlada Multicote® (15-7-15+2MgO+micronutrientes). En octubre de 2018, con plantas de 10 meses, se establecieron dos ensayos de progenie, uno en Pueblo Nuevo, Chignahuapan, Puebla (S₁) y el otro en Atlamajac, Teolocholco, Tlaxcala (S₂) (Tabla 1).

En cada ensayo se incluyeron 72 familias de progenies de polinización libre, cada familia estuvo representada por 21 árboles distribuidos en 21 bloques completos al azar. Para este trabajo, en octubre de 2021 se eligieron dos grupos de familias con potencial de crecimiento en altura contrastante: 10 familias de menor crecimiento promedio en altura (grupo 1 = 178 cm) y 10 más con el mayor crecimiento (grupo 2 = 234 cm). En la tabla 1 se muestran los datos geoclimáticos del sitio de origen de las familias seleccionadas y su altura promedio a los cuatro años de su plantación.

Prueba de congelamiento

Con base en pruebas preliminares, realizadas en diciembre de 2021 para determinar el tipo de parte de la planta a emplear, se decidió utilizar muestras de cinco acículas desarrolladas por árbol, recolectadas en la mitad del verticilo que se formó durante 2021. Las acículas se recolectaron en ocho plantas de cada familia (5 acículas por planta), elegidas al azar en cada sitio, un total de 160 muestras; cada muestra de acículas se colocó en bolsa sellada tipo Ziplock® dentro de una hielera para su transporte. En el laboratorio, cada muestra de acículas se lavó con agua destilada y, sin utilizar la punta y la base, se cortaron cuatro secciones de 10 mm. Con ayuda de una balanza analítica marca Chyo Balance Corp®, con resolución de 1 mg; cada muestra se separó en dos partes o submuestras con peso fresco similar de 100 mg y se colocaron en tubos de ensayo previamente etiquetados; una submuestra se sometió a prueba de congelamiento (F_i) y la otra se utilizó como control (F_c).

La prueba de exposición al frío se realizó del 7 al 24 de febrero de 2022, los tubos con la fracción F_i se colocaron en rejillas dentro de una cámara de congelación modelo M1212 (Manufacturas Ind. Universo, México, 2013) donde se programó la rutina de descenso de la temperatura que simuló los parámetros de tolerancia a heladas (invierno) en condiciones naturales donde se distribuye *P. pseudostrubus* (Viveros-Viveros et al., 2006); para ello, primero todas las muestras F_i se estabilizaron por 60 minutos a 4 °C, posteriormente, se programó la cámara de frío para que durante 9.5 horas la temperatura descendiera gradualmente 2 °C cada hora hasta alcanzar el umbral de -15 °C y, una vez alcanzado este, se mantuvo por 4 horas continuas; la prueba de congelamiento duró 15 horas. Las muestras de la fracción F_c se mantuvieron a temperatura ambiente (20 °C - 22 °C) por el mismo tiempo. Una vez que finalizó la prueba de frío, las muestras de la fracción F_i se dejaron reposar por 24 h hasta alcanzar nuevamente la temperatura ambiente (20 °C -22 °C) (Fig. 1).

TABLA 1. Información geoclimática del origen de las 20 familias de *Pinus pseudostrabus* y de los sitios donde se establecieron los ensayos de progenie.

Grupo	Fam	Estado	Municipio	Latitud (N)	Longitud (S)	Altitud (m)	Tmin (°C)	Tmax (°C)	PMA (mm)	ALT (cm)
1	21	Méx.	Villa de Allende	19°20'37.9"	100°12'30.2"	2442	6	23.2	884	203.5
	23	Méx.	Donato Guerra	19°15'1.9"	100°04'28.8"	2410	7.7	23.7	900	179.6
	24	Méx.	Donato Guerra	19°14'53.2"	100°04'09.8"	2423	7.7	23.6	905	186.8
	57	Tlax.	Nanacamilpa	19°27'25.8"	98°34'7.8"	2850	4.7	21.6	741	204.4
	71	Pue.	Ajalpan	18°25'23.1"	97°05'21.4"	2616	6.5	21.6	1090	157
	78	Pue.	Tlatlauquitepec	19°40'12.6"	97°30'20.6"	2822	5.6	20	575	189.3
	80	Pue.	Zautla	19°38'32.4"	97°38'11.1"	2573	7.9	22.4	577	182.5
	82	Pue.	Chignahuapan	19°56'59.8"	98°09'14.7"	2815	6.2	20.6	677	163.8
	85	Pue.	Zacatlan	19°57'50.3"	98°02'1.9"	2548	6.5	21.5	748	152.2
	86	Pue.	Zacatlan	19°57'47.4"	98°02'09.0"	2571	6.5	21.4	746	161.3
2	28	Méx.	SJ. del Rincón	19°41'26.0"	100°11'34.6"	2993	5.4	20.3	790	234.7
	29	Méx.	SJ. del Rincón	19°40'50.9"	100°14'16.9"	3105	5	19.6	824	233.5
	32	Méx.	Coatep. Harinas	18°57'23.9"	99°45'11.8"	2507	7.2	22.8	1029	253.1
	33	Méx.	Coatep. Harinas	18°57'50.2"	99°44'48.3"	2513	7	22.8	1019	241.3
	52	Tlax.	Tlaxco	19°41'07.8"	98°13'27.2"	2933	4.8	20.5	727	263.9
	53	Tlax.	Terrenate	19°32'15.5"	97°53'9.3"	3020	5.2	20.2	727	257.8
	55	Tlax.	Terrenate	19°32'27.2"	97°52'19.1"	3105	5	19.6	759	236.1
	58	Tlax.	Nanacamilpa	19°27'16.5"	98°34'26.2"	2796	4.6	22	735	234.7
	61	Pue.	Tlahuapan	19° 26'32.2"	98°37'58.7"	3247	3.3	19.1	821	233.5
	65	Pue.	Tlahuapan	19° 26'21.1"	98°38'24.2"	3228	3.2	19.2	800	219.4
S₁	Pue.	Chignahuapan	19° 56'27.4"	98°07'25.7"	2 853	4.8	12.7	1100	246.8	
S₂	Tlax.	Teolocholco	19°13' 53.8"	98°11'20.1"	2 355	8.8	21.5	762	236.4	

Fam: familia; Tmin: temperatura mínima promedio; Tmax: temperatura máxima promedio, PMA: precipitación media anual y ALT: altura promedio en febrero 2022, datos climáticos obtenidos de "Climate NA versión 7.20" (Wang et al, 2016).

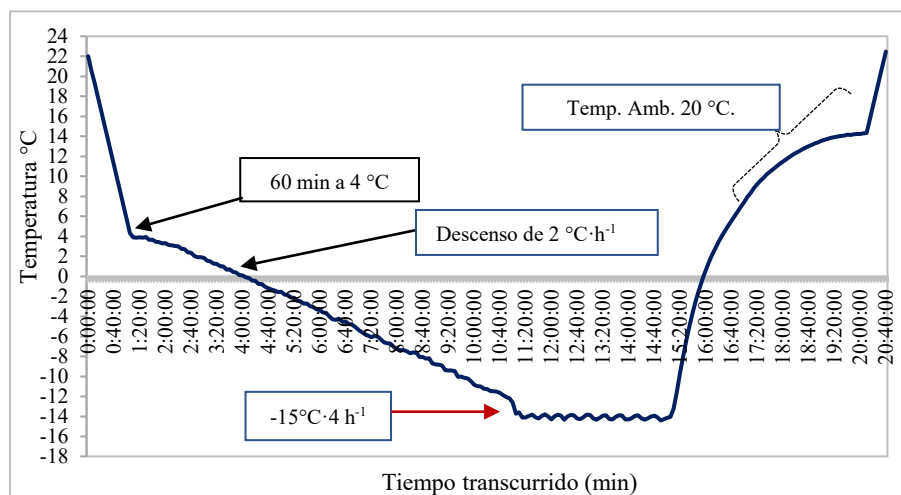


FIGURA 1. Dinámica de la temperatura en la prueba de congelamiento y exposición a frío (-15 °C por 4 h) de las muestras de follaje (F_t) de 20 progenies de *Pinus pseudostrabus* Lindl.

Después, se añadieron 10 ml de agua desionizada a las dos fracciones (F_t y F_c) y se dejaron reposar nuevamente 12 h a temperatura ambiente. El daño causado a las acículas se determinó con el método de pérdida relativa de electrolitos (PRE), que mide la cantidad de electrolitos liberados por los tejidos vegetales después de la exposición a temperaturas de congelamiento (Hodge et al., 2012; Arora, 2018; Yu y Lee, 2020).

La conductividad eléctrica inicial (C_1) en la solución de las submuestras F_t y F_c se midió con un conductímetro LAQUAtwin® modelo EC-33, con 1 $\mu\text{S}/\text{cm}$ de resolución. Después, ambas muestras se esterilizaron en autoclave a 120 °C durante 30 minutos y se dejaron reposar 12 h con la finalidad de medir la conductividad eléctrica total (C_2). En cada medición de C_1 y C_2 se tomaron tres lecturas por muestra (F_t y F_c) con separación de 10 minutos cada una. El promedio de las tres lecturas se estandarizó a una masa de 100 mg de tejido y se calculó la conductividad relativa e índice de daño celular (Ecuaciones 1 y 2, respectivamente) para cada familia.

$$C_r = (C_1/C_2) * 100 \quad (1)$$

$$\text{ID} = 100 * (C_{rt} - C_{rc}) / (100 - C_{rc}) \quad (2)$$

donde:

C_r = conductividad relativa (%)

C_1 = conductividad eléctrica inicial ($\mu\text{S}/\text{cm}$)

C_2 = conductividad eléctrica final ($\mu\text{S}/\text{cm}$)

ID = índice de daño celular (%)

C_{rt} = conductividad relativa de la muestra de trabajo (%)

C_{rc} = conductividad relativa de la muestra de control (%)

Análisis estadístico

Con los datos del ID se realizó el análisis estadístico donde se probó el modelo general completo, y ya que no se encontraron efectos significativos para familias ni de la interacción familias por grupo de crecimiento; se realizó un segundo análisis con un modelo general reducido (Ecuación 3), y luego por separado, un análisis estadístico para cada sitio (Ecuación 4); ambos análisis se realizaron a través del procedimiento MIXED en SAS ver. 9.4 (SAS Institute, 2013), con los límites de confianza de 95% y nivel de significancia $\alpha = 0.05$; con el mismo procedimiento también se estimaron los componentes de varianza necesarios para calcular los parámetros genéticos de heredabilidad individual (h^2_i) y de las medias de familia (h^2_f) con respecto a la resistencia a heladas para cada sitio.

$$Y_{ijklm} = \mu + A_i + B_{j(i)} + C_k + AC_{ik} + \epsilon_{ijklm} \quad (3)$$

$$Y_{ijkl} = \mu + E_i + F_j + G_{k(j)} + \epsilon_{ijkl} \quad (4)$$

donde:

Y_{ijklm} = valor de la $ijklm$ -ésima observación del factor ABC

Y_{ijkl} = valor de la $ijkl$ -ésima observación del factor EFG

μ = media general

A_i = efecto del nivel i del factor A (sitio)

$B_{j(i)}$ = efecto del nivel j del factor B (repetición) anidado en el nivel i del factor A

C_k = efecto del nivel k del factor C (familia)

AC_{ij} = efecto de la interacción $A*D$, correspondiente al nivel i del factor A y l del factor D dentro de la condición de crecimiento k

ϵ_{ijklm} = error experimental (ecuación 1)

E_i = efecto del nivel i del factor E (repetición)

F_j = efecto del nivel j del factor F (grupo de crecimiento)

$G_{k(j)}$ = efecto del nivel k del factor G (familia) anidado en el nivel j del factor F (grupo)

ϵ_{ijkl} = error experimental (ecuación 2)

Cuando se presentaron diferencias significativas en alguno de los factores evaluados, se realizó una prueba de comparación de medias de Tukey ($p = 0.05$).

Relación de tolerancia a frío con el patrón de crecimiento en altura y variables ambientales

El crecimiento en altura se evaluó desde el establecimiento de los ensayos, sin embargo, para este, trabajo únicamente se consideró el crecimiento en altura (cm) de 2020 y 2021 ya que fue donde inició un proceso de diferenciación entre progenies con respecto a esta variable. Los datos que se generaron del patrón de crecimiento de las progenies corresponden a: (1) crecimiento total en altura hasta febrero de 2022 (ALT22); (2) crecimiento en altura durante los años 2020 y 2021 (CALT); (3) crecimiento en el periodo favorable del año (febrero a octubre de 2020 y de 2021), cuando existen condiciones favorables de temperatura y humedad y se presenta el alargamiento del brote terminal

con la formación de verticilos, ramas y follaje (CFAV-FO); (4) crecimiento en el periodo desfavorable del año (noviembre 2020 a febrero 2021 y noviembre 2021 a febrero 2022), cuando existen condiciones desfavorables de temperatura y el árbol generalmente presenta una yema terminal en reposo, pero ocasionalmente puede ocurrir una reactivación de esta yema, con alargamiento del brote (CDES-NE); (5) activación de la yema terminal de 2021 (AYT21) que se presentó al inicio del periodo favorable de crecimiento en el año 2021; y (6) formación de yema terminal en el ciclo de crecimiento 2021 (FYT21) cuando la planta inicia el periodo de dormancia o reposo de la yema terminal, asociado con la terminación del periodo favorable de crecimiento, a finales del otoño e inicios del invierno. En ambos casos, la activación y formación de la yema terminal se evaluó asignando valores nominales de 0 a plantas sin la condición (i. e., sin yema terminal activa o formada, respectivamente) y de 1 a plantas con la condición de yema terminal activa o formada, respectivamente.

Con los datos geográficos de origen de las 20 familias (latitud, longitud y altitud) y utilizando el programa ClimateNA ver. 7.20 (Wang et al., 2016), se obtuvieron las variables bioclimáticas y sus derivadas estacionales ('sm' = verano, 'at' = otoño, 'wt' = invierno, 'sp' = primavera). En total se incluyeron 72 variables bioclimáticas derivadas de cálculos de temperatura, precipitación, humedad y radiación solar estacional y anual de un periodo espacial de 30 años (1990 a 2020) para México; los datos obtenidos fueron de una resolución espacial de 1 km².

Finalmente, con los datos promedio de las variables ID, ALT22, CALT, CFAV-FO, CDES-NE, AYT y FYT por sitio y las 72 variables bioclimáticas, se realizó una correlación de Pearson ($p = 0.05$) a través del procedimiento CORR PEARSON en SAS ver 9.4 (SAS Institute, 2013).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Daño por bajas temperaturas

El índice de daño general ocasionado por baja temperatura en ambos sitios fue de 56%, con una temperatura letal (TL₅₀) cercana a -12 °C; estos resultados son similares a los



obtenidos por Reyes et al. (2020) para dos poblaciones de *Pinus radiata* D. Don donde se observó, en promedio, un ID = 50% en invierno con una TL_{50} de -12 °C. El análisis del modelo general reducido demostró que existen diferencias significativas de ID únicamente entre sitios ($P < 0.001$) (Tabla 2). Con la prueba de Tukey fue posible distinguir que el daño por heladas del S₁ (Pueblo Nuevo) fue mayor (60.7%) y que en el S₂ (Teolochocho) el ID fue menor (50.1 %) (Fig. 2).

En trabajos similares se ha señalado que las diferencias de ID entre sitios o poblaciones se debe a la capacidad fisiológica de aclimatación y resistencia o tolerancia al proceso de congelamiento de la planta (Aldrete et al., 2008; Ambroise et al., 2020), y también al origen geográfico de la procedencia (Mabaso et al., 2019).

TABLA 2. Resultados del análisis de varianza con el modelo general reducido para el índice de daño por heladas en progenies de *Pinus pseudostrabus*.

Efecto	GL	F-calculada	Significancia
Sitio	1	21.4	0.0002*
Repetición (sitio)	14	1.31	0.2011
Condición	1	0.14	0.7105
Sitio*Condición	1	1.3	0.2698

*Significativo con un valor de $p < 0.05$.

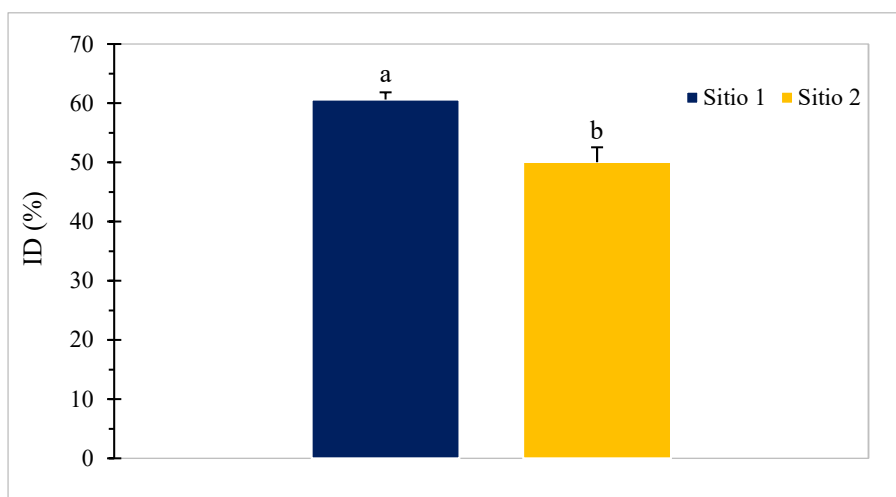


FIGURA 2. Índice de daño ocasionado por bajas temperaturas (-15 °C durante 4 h) en progenies de *Pinus pseudostrabus* establecidas en Ejido Pueblo Nuevo, Pue. (Sitio 1) y Teolochocho, Tlax. (Sitio 2).

Barras indican desviación estándar, letras distintas, diferencias significativas ($p < 0.001$).

En este trabajo, la diferencia de ID entre sitios estuvo asociada con la altitud donde se estableció cada ensayo, ya que el S₁ se encuentra a 2850 m y el S₂ a 2355 m; como lo señala Gömöry et al. (2010) en *Picea abies* (L.) H. Karst., donde la diferencia en altitud fue un factor asociado a la resistencia de bajas temperaturas; por lo tanto, aunque son las mismas familias en ambos sitios, en el S₂ aquellas que provienen de lugares con menor altitud presentaron mayor resistencia a heladas. Otros estudios señalan lo contrario ya que algunas procedencias establecidas en sitios más fríos y de mayor altitud son más resistentes a heladas (LT₅₀ promedio: -20.6 °C), como lo mencionan Semerci et al. (2021) para *Pinus brutia* Ten. Por lo tanto, la resistencia de las plantas a heladas, de acuerdo con los resultados de este estudio, está determinada por el origen geográfico de las familias.

En la figura 3 se muestran los valores promedio del ID de las 20 familias establecidas en los dos ensayos (S₁ y S₂); se puede observar que algunas progenies fueron más susceptibles al daño por bajas temperaturas que otras, como las familias 71 y 29 con ID promedio de 63% y, por el contrario, las progenies de las familias 24 y 55 presentaron

daños muy por debajo de la media general (56%) con ID promedio de 48.2%. Por lo tanto, existe una tendencia donde aquellas familias con mayor y menor ID en un sitio también presentan el mismo comportamiento en el otro sitio.

La resistencia a heladas que presentan algunas familias en ambos sitios puede estar asociada con la activación de mecanismos fisiológicos como el aumento del ácido abscísico o cambios en la composición de la membrana celular (Semerci et al., 2021), esto permite que algunas especies de árboles generen diferentes niveles de resistencia a bajas temperaturas (Ambroise et al., 2020). Además, esta característica de adaptación local está relacionada con la distribución de la especie (Charra-Vaskou et al., 2012), *P. pseudostrobus* se distribuye en sitios desde 1600 m hasta 3300 m, con temperaturas mínimas de -8 °C y media anual de 12 °C a 18 °C (Barrera-Ramírez et al., 2020). Los resultados obtenidos son consistentes con lo anterior, ya que con un umbral de daño mayor a LT₅₀ = -8 °C se observaron daños considerables en acículas de más de 50% de las progenies (Fig. 3) en ambos sitios, donde el daño aumentó al llegar a -15 °C.

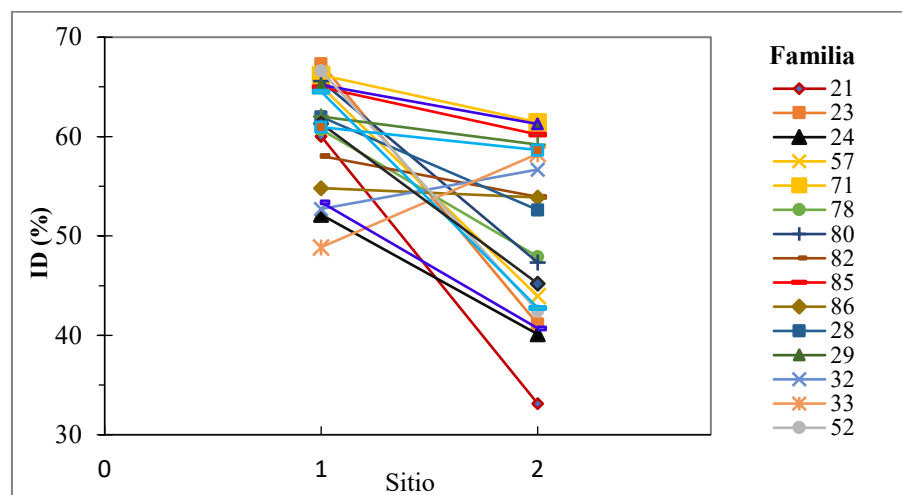


FIGURA 3. Índice de daño promedio (ID, %) por congelamiento (-15 °C durante 4 h) en 20 progenies de *Pinus pseudostrobus* establecidas en Ejido Pueblo Nuevo, Pue., (Sitio 1) y Teolocholco, Tlax., (Sitio 2).



Es importante señalar que la resistencia al frío de algunas progenies de *P. pseudostrobus* se debe a que estas crecen en condiciones de clima y suelo similares a las de su sitio de origen, especialmente aquellas que provienen de un gradiente altitudinal de 2040 m a 2700 m (familias 21 y 24) ya que la altitud de distribución y crecimiento óptima para *P. pseudostrobus* se encuentra de 2400 m a 2800 m (Viveros-Viveros et al., 2006).

El análisis estadístico del modelo reducido para ambos sitios de estudio no presentó diferencias significativas del ID con respecto a las repeticiones, grupos y familias (Tabla 3). Los valores obtenidos del ID en los grupos de crecimiento 1 y 2 en S₁ fueron 61.5% y 59.7% y en S₂ 48.3% y 51.8%, respectivamente.

Semerçi et al. (2021), en dos ensayos de procedencias con *Pinus brutia*, observaron que, al igual que en este estudio, algunas procedencias presentaron diferente grado de resistencia al frío cuando crecieron en distintos sitios. En su estudio, la población más sensible soportó hasta -16.8 °C (± 0.9 °C) y la más resistente -20.6 °C (± 0.4 °C). En este trabajo, existen progenies que posiblemente podrían resistir hasta -18 °C o -20 °C como las familias 52, 55, 58 y 61 en S₂, ya que con una temperatura de -15 °C estas no alcanzaron la media general de ID (56%), lo que permite señalar que existen algunas progenies de *P. pseudostrobus* que presentan mayor resistencia a bajas temperaturas.

Los resultados obtenidos con la prueba artificial de congelamiento son comparables con observaciones reales en campo, como lo señalan Mitchell et al. (2013) y Semerçi et al. (2021) en sus respectivos trabajos. En este sentido, registrar la cantidad de fuga celular de electrolitos, proporcionó una estimación confiable del daño por heladas en las progenies de ambos sitios (S₁ y S₂), ya que los resultados obtenidos son consistentes con los de otros trabajos realizados con árboles forestales de clima templado (Semerçi et al., 2021).

Heredabilidad por sitio

El control genético del ID en los sitios fue de bajo a moderado. En S₁ la heredabilidad individual (h^2_i) estimada para la característica de resistencia al frío fue de 0.11 y en S₂ fue 0.44. La heredabilidad estimada de las medias de familia (h^2_f) en S₁ fue 0.24 y en S₂ 0.58. Por lo tanto, en S₂ se expresó más el control genético de la resistencia al frío que en S₁. Este resultado puede atribuirse a que las plantas establecidas en S₂, a menor altitud (2355 m), presentaron mayor crecimiento en altura; por consiguiente, la expresión de su potencial de crecimiento fue mejor que en las plantas de las mismas familias en S₁ y, con ello, las diferencias en la manifestación del control genético de la resistencia al frío (Tabla 4).

TABLA 3. Resultados del análisis de varianza para el índice de daño por heladas en progenies de *Pinus pseudostrobus* realizado con el modelo reducido por sitio.

Efecto	GL	F-calculada	Significancia
Sitio 1			
Repetición	7	1.24	0.286
Grupo de crecimiento	1	0.48	0.4989
Sitio 2			
Repetición	7	1.36	0.2263
Grupo de crecimiento	1	0.81	0.3793

*Significativo con un valor de $p < 0.05$.

TABLA 4. Valores promedio por sitio, componentes de varianza y heredabilidad a nivel individual (h^2_i) y a nivel de las medias de familia (h^2_f) del índice de daño por heladas para cada sitio de los ensayos de progenie de *Pinus pseudostrabus* establecidas en Ejido Pueblo Nuevo, Puebla (S₁) y Teolochocho, Tlaxcala (S₂).

Sitio	ID (%)	Intervalo ID (%)	σ^2_{fam}	σ^2_e	σ^2_A	σ^2_p	σ^2_{pf}	h^2_i	h^2_f
Pueblo Nuevo, Pue. (S ₁)	60.7 a	33.1 - 62.5	7.3	186.2	21.9	193.5	30.5	0.11	0.24
Teolochocho, Tlax. (S ₂)	50.1 b	48.8 - 67.3	42.7	247.3	128.1	289.9	73.6	0.44	0.58

Letras distintas indican diferencias significativas entre sitios ($p < 0.01$).

Se observaron diferencias en la varianza aditiva de resistencia al frío entre los ensayos de progenie de *P. pseudostrabus*, lo que concuerda con estudios previos de adaptación de la especie (Viveros-Viveros et al., 2006; Viveros-Viveros et al., 2007). Los resultados en el S₂ con respecto al S₁ (Tabla 4) permiten señalar, al igual que en otros estudios con pinos (Bower y Aitken, 2006; Viveros-Viveros et al., 2007), que estos se encuentran asociados con los orígenes contrastantes de las progenies estudiadas, ya que probablemente la prueba de congelamiento se realizó cuando existía distinta etapa fenológica de crecimiento y activación del brote terminal entre sitios, y esto aumentó o disminuyó la variación entre y dentro de progenies en la resistencia a heladas, tal y como lo señala Prada (2015). A pesar de ello, se pudo apreciar que las progenies originadas de altitudes menores a 2200 m presentaron los mayores ID; por lo tanto, estas diferencias reflejaron el efecto de la variación genética en el grado de control genético que existe en esta característica (Bower y Aitken, 2006; Prada, 2015) y también el grado de adaptación de las progenies a las condiciones ambientales de ambos sitios (Reyes et al., 2020).

La tolerancia a heladas podría mejorarse mediante la reproducción y la selección de aquellas progenies de *P. pseudostrabus* resistentes a bajas temperaturas y mayores a $LT_{50} = -8$ °C (temperatura que resiste la especie en condiciones naturales), tal y como sugieren Mitchell et al. (2013) en su trabajo con *Pinus maximinoi* H.E. Moore y *Pinus*

tecunumanii Eguiluz y J. P. Perry, ya que, al seleccionar y reproducir la especie más resistente y tolerante a heladas (*P. tecunumanii*), pudieron ampliar su utilización en plantaciones a sitios más fríos y de mayor altitud.

Relación del ID y el patrón de crecimiento de las progenies

El crecimiento promedio en altura observado durante los ensayos fue distinto, ya que en la última evaluación (febrero de 2022), las plantas de las progenies en S₂ superaron el crecimiento promedio obtenido en S₁ (Tabla 1); lo mismo sucedió con el crecimiento en el periodo favorable de los ciclos de crecimiento (febrero-octubre) de 2020 y 2021, sin embargo, el crecimiento en el periodo desfavorable (noviembre-enero) fue mayor en S₁.

El patrón de crecimiento de las progenies presentó baja correlación con el ID en ambos sitios, las asociaciones para cada sitio formaron dos grupos: positivas y negativas. El primer grupo (positivas) en S₁ incluyó únicamente la correlación del ID con FYT21 y en S₂ el ID con CALT-21, CFAV_FO21, CDES_NE20, CDES_NE21 y AYT21; mientras que en el segundo grupo (negativas) en S₁ se encontró la correlación de ID con ALT22, CALT-20, CALT-21, CFAV_FO20, CFAV_FO21, CDES_NE20, CDES_NE21 y AYT21 y en S₂ solo con ALT22, CALT-20, CFAV_FO20 y FYT21 (Tabla 5).



TABLA 5. Valores promedio de las características del patrón de crecimiento en altura y su correlación (r) con el índice de daño por heladas (ID) en 20 progenies de *Pinus pseudostrobus* establecidas en Ejido Pueblo Nuevo, Puebla y Teolocholco, Tlaxcala.

Variable	Ejido Pueblo Nuevo, Puebla		Teolocholco, Tlaxcala	
	Promedio (cm)	r (ID)	Promedio (cm)	r (ID)
ALT22 (cm)	194.8 (4.29) b	-0.23 ($p=0.341$)	225.5 (4.29) a	-0.10 ($p=0.670$)
CALT-20 (cm)	59.4 (1.52) b	-0.20 ($p=0.387$)	64.4 (1.52) a	-0.13 ($p=0.572$)
CALT-21 (cm)	89.7 (2.48) b	-0.23 ($p=0.329$)	96.7 (2.48) a	0.03 ($p=0.341$)
CFAV_FO20 (cm)	47.2 (1.26) b	-0.11 ($p=0.633$)	60.2 (1.26) a	-0.17 ($p=0.466$)
CFAV_FO21 (cm)	26.1 (1.53) b	-0.22 ($p=0.341$)	92.3 (1.53) a	0.01 ($p=0.964$)
CDES_NE20 (cm)	12.2 (0.49) b	-0.29 ($p=0.217$)	4.2 (0.49) a	0.07 ($p=0.784$)
CDES_NE21 (cm)	63.6 (1.53) b	-0.22 ($p=0.348$)	4.4 (1.53) a	0.17 ($p=0.484$)
AYT21 (%)	66.1 (3.0) a	-0.10 ($p=0.674$)	56.2 (3.0) b	0.13 ($p=0.585$)
FYT21 (%)	55.2 (4.0) a	0.15 ($p=0.541$)	46.1 (4.0) a	-0.14 ($p=0.543$)

Letras distintas indican diferencias significativas entre sitios, con un valor de $P < 0.05$. Entre paréntesis (error estándar). ALT22 = altura total durante 2022, CALT-20 = crecimiento en altura durante 2020, CALT-21 = crecimiento en altura durante 2021, CFAV_FO20 = crecimiento en altura en el periodo favorable de febrero a octubre de 2020, CFAV_FO21 = crecimiento en altura en el periodo favorable de febrero a octubre de 2021, CDES_NE20 = crecimiento en altura en el periodo desfavorable de noviembre a enero de 2020, CDES_NE21 = crecimiento en altura en el periodo desfavorable de noviembre a enero de 2021, AYT21 = activación de la yema terminal 2021 y FYT21 = formación de la yema terminal 2021.

Las asociaciones presentes en S_1 , incluido el crecimiento en los periodos favorable y desfavorable de 2020 y 2021 fueron bajas y negativas; por lo tanto, existe una relación inversa de mayor ID en progenies con menor crecimiento en este sitio. Por el contrario, en el S_2 las correlaciones fueron bajas pero positivas (i.e., mayor daño en las familias de mayor crecimiento promedio en altura), lo que permite señalar que, independientemente de si la relación es positiva o negativa, el ID tiende a aumentar o disminuir de acuerdo con la dinámica de crecimiento de las progenies donde las condiciones locales del cada sitio de plantación son determinantes y, en consecuencia, la generación de brotes nuevos durante la activación de la yema terminal o la formación de nuevas yemas es un factor crítico en la resistencia a heladas (Bansal et al., 2016) debido a que se ha señalado que el crecimiento de los brotes está definido por la expansión de las estructuras preformadas, y la fecha en que la planta alcance su máximo crecimiento dependerá de

su proceso fisiológico (Viveros-Viveros et al., 2009), el cual se puede acelerar o retrasar por efecto de la temperatura (Prada, 2015). Por lo tanto, la fenología de los brotes en S_2 pudo haberse adelantado varias semanas (crecimiento favorable a menor altitud) y, en consecuencia, el efecto de la dinámica de crecimiento y su relación con las condiciones ambientales de cada sitio de plantación podría tener un efecto negativo si se produjeran heladas durante los periodos de crecimiento temprano como en el caso del S_1 . En este último sitio se registró el mayor ID, el cual estuvo asociado positivamente con la formación de la yema terminal ($r = 0.15$) y, por el contrario, en S_2 dicha asociación fue negativa ($r = -0.14$) lo que indicó que el efecto del daño por heladas en este sitio fue menor en las progenies que adelantaron la formación de la yema. El cese o activación del brote terminal jugó un papel importante ya que determinó el adelanto en la reactivación del crecimiento durante el periodo desfavorable de crecimiento y este efecto

pudo resultar en menor resistencia a congelación (caso de S_1), como lo señalaron Malmqvist et al. (2018), en su trabajo con plántulas de abeto Douglas (*Pseudotsuga menziesii*) del sur de Suecia.

Relación del índice de daño con las variables climáticas del sitio de origen

La dinámica de crecimiento en altura permitió determinar que existen progenies con respuesta al cambio de condiciones ambientales, atribuibles a su origen geográfico, por ejemplo, aquellas que provienen de altitudes entre 2500 m y 3000 m presentaron mejor crecimiento que las de altitudes menores a 2200 m; esto posiblemente se debe a que *P. pseudostrobus* presenta un crecimiento óptimo entre 2400 m y 2600 m (Viveros-Viveros et al., 2006; Barrera-Ramírez et al., 2020). El conjunto de las variables ambientales mostró fuertes correlaciones con el ID, especialmente aquellas que están relacionadas con humedad, evaporación, precipitación y temperatura ($r \geq 0.45$) durante otoño e invierno.

En el S_1 , la mayoría de las correlaciones fueron negativas y bajas ($r \leq -0.14$), con excepción de la precipitación de otoño (PPT_at), que presentó la correlación negativa más fuerte con el ID ($r = -0.31$). Las asociaciones positivas del ID se presentaron con índice anual de calor y humedad (AHM), déficit de humedad climática de Hargreaves anual (CMD) y en otoño (CMD_at), con valores de $r = 0.24, 0.20$ y 0.10 , respectivamente (Tabla 6).

Las correlaciones entre variables ambientales e ID en el S_2 fueron significativas en su mayoría; se formaron dos grupos, uno de correlaciones negativas con variables como el déficit de humedad climática de Hargreaves en otoño (CMD_at; $r = -0.55$) e invierno (CMD_wt; $r = 0.52$), evaporación de referencia de Hargreaves en otoño (Eref_at; $r = -0.40$) e invierno (Eref_wt; $r = -0.54$), también con la temperatura media anual (MAT; $r = -0.39$) y los grados-día por encima de $18\text{ }^\circ\text{C}$ (DD18; $r = -0.29$). En el segundo grupo, las correlaciones positivas se presentaron con el índice de humedad climática de Hogg en otoño (CMI_at) donde se obtuvo el valor más alto de $r = 0.67$, seguido de CMI_wt con $r = 0.56$ y la precipitación de otoño (PPT_at;

$r = 0.45$) e invierno (PPT_wt; $r = 0.47$); también la humedad relativa media anual (RH) mostró una correlación significativa ($r = 0.45$) así como la humedad relativa en primavera ($r = 0.50$) e invierno ($r = 0.45$) (Tabla 6).

De manera similar Bansal et al. (2015) concluyeron que el daño por bajas temperaturas ocasionado en acículas y tallos de *Pseudotsuga menziesii* se correlacionó positivamente con la temperatura media del mes más cálido (MWT) y el déficit de humedad climática de Hargreaves de otoño (CMD_at). Por lo tanto, si se desea introducir una especie como *P. pseudostrobus* en sitios más fríos (altitudes > 3000 m), se deben comprender bien los límites de resistencia al frío ($-8\text{ }^\circ\text{C}$ en este caso) y, en este sentido, las pruebas de congelamiento artificial son esenciales para simular diferentes niveles de severidad del frío, con la finalidad de identificar las temperaturas umbrales de daño (Ma et al., 2019; Ambroise et al., 2020; Reyes et al., 2020; Semerci et al., 2021), y predecir los riesgos potenciales asociados con el movimiento de semillas a través de análisis más detallados como el de transferencia climática recomendado por Bansal et al. (2015). Autores como Atucha-Zamkova et al. (2021) señalan que, en general, las especies con un bajo requerimiento de frío (caso de *P. pseudostrobus*) tendrán un período más prolongado de brotación y crecimiento determinado por el calentamiento global (Ma et al., 2019; Atucha-Zamkova et al., 2021).

Sin embargo, la adaptación local de las progenies no ocurre en periodos tan cortos (Ambroise et al., 2020); por lo tanto, se requiere seguir estudiando los factores asociados con el daño por heladas por efecto del cambio climático, ya que estas podrían aumentar en frecuencia e intensidad, ocasionando daños severos, como lo mencionan Richardson et al. (2018) y Pohl et al. (2019). Por lo tanto, realizar estudios complementarios a este, por ejemplo, modelos geoespaciales de proyecciones regionales (especialmente para el centro y norte de México) permitirá estimar los efectos futuros del cambio climático en relación con la resistencia a heladas de *P. pseudostrobus*, pero también propondrán escenarios de susceptibilidad o adaptación a otros factores ambientales futuros como la sequía.



TABLA 6. Correlaciones entre las variables bioclimáticas y el índice de daño de 20 familias de *Pinus pseudostrobus* establecidas en Ejido Pueblo Nuevo, Puebla y Teolochoolco, Tlaxcala.

Variable ambiental	Valor de r		
	S ₁	S ₂	Conjunto
AHM = Índice anual de calor y humedad (MAT+10) / (MAP/1000)	0.24	-0.21	-0.05
CMD = Déficit de humedad climática de Hargreaves (mm)	0.24	-0.43	-0.31
CMD_at = Déficit de humedad climática de Hargreaves en otoño (mm)	0.10	-0.55**	-0.47**
CMD_wt = Déficit de humedad climática de Hargreaves en invierno (mm)	0.00	-0.52**	-0.54**
CMI = Índice de humedad climática de Hogg (mm)	-0.18	0.56**	0.34
CMI_at = Índice de humedad climática de Hogg en otoño (mm)	-0.24	0.67**	0.46*
CMI_sp = Índice de humedad climática de Hogg en primavera (mm)	-0.20	0.31	0.24
CMI_wt = Índice de humedad climática de Hogg en invierno (mm)	-0.05	0.54**	0.51**
Eref_at = Evaporación de referencia de Hargreaves en otoño (mm)	0.11	-0.40	-0.42
Eref_sm = Evaporación de referencia de Hargreaves en verano (mm)	-0.14	-0.45*	-0.40
Eref_sp = Evaporación de referencia de Hargreaves en primavera (mm)	-0.04	-0.33	-0.37
Eref_wt = Evaporación de referencia de Hargreaves en invierno (mm)	-0.16	-0.32	-0.35
MAP = Precipitación media anual (mm)	-0.14	0.20	0.00
PPT_at = Precipitación de otoño (mm)	-0.31*	0.45*	0.22
PPT_wt = Precipitación invernal (mm)	-0.29	0.47*	0.45*
RH = Humedad relativa media anual (%)	0.10	0.45*	0.34
RH_at = Humedad relativa en otoño (%)	-0.08	0.40	0.28
RH_sm = Humedad relativa en verano (%)	-0.12	0.31	0.12
RH_sp = Humedad relativa en primavera (%)	-0.27	0.50**	0.39
RH_wt = Humedad relativa en invierno (%)	-0.05	0.45	0.34
MAT = Temperatura media anual (°C)	-0.08	-0.39	-0.26
DDI8 = Grados-día por encima de 18°C	-0.22	-0.29	0.19

*Significativos con un valor de $p \leq 0.05$; ** Significativos con un valor de $p \leq 0.01$.

CONCLUSIONES

Con la prueba de congelación artificial se obtienen resultados similares a los que ocurren de manera natural, pero debe planificarse cuidadosamente al momento de seleccionar la duración, velocidad de congelación y de descongelación, temperatura letal y el órgano vegetal de la planta. La resistencia a heladas del sitio de Pueblo Nuevo, Chignahuapan, Puebla fue menor que la de Teolocho, Tlaxcala, y se debe a que en cada sitio existe diferente dinámica de crecimiento en altura. Dicha dinámica estuvo asociada positivamente con el crecimiento en época desfavorable y favorable, donde la activación y formación de yema fue un proceso fisiológico determinante para que entre los sitios se presentará mayor (sitio 1) o menor ID (sitio 2). Esto sugirió que efectivamente la dinámica de crecimiento en altura está relacionada directamente con los factores fisiológicos que determinan menor o mayor daño por congelamiento y mayor productividad en las progenies de *P. pseudostrabus*.

La resistencia a heladas en las progenies de *P. pseudostrabus* demostró estar bajo control genético moderado, pero con diferencias en el nivel de expresión al cambiar las condiciones ambientales de crecimiento, ya que presentaron mayor variación genética las familias en el sitio de Tlaxcala en comparación con la observada en el sitio de Puebla. Por otro lado, la baja correlación entre el crecimiento promedio en altura y el ID permite seleccionar progenies o familias resistentes a climas adversos en el contexto actual de cambio climático y que además presenten buen crecimiento, con la finalidad de maximizar el potencial que ofrecen y, en consecuencia, reducir el riesgo del daño por bajas temperaturas; sin embargo, es necesario continuar estudiando dichos factores en distintas estaciones de crecimiento, como primavera y otoño.

RECONOCIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (Conahcyt) por las facilidades de financiamiento al primer autor, también al proyecto 277784 “Establecimiento de huertos semilleros asexuales regionales y ensayos de

progenie de *Pinus pseudostrabus* para la evaluación genética de los progenitores” del Fondo Sectorial Conacyt-Conafor por la información brindada y al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias por el apoyo de financiamiento para realizar esta investigación a través del proyecto fiscal No. 2081535888.

REFERENCIAS

- Aldrete, A., Mexal, J. G., & Burr, K. E. (2008). Seedling cold hardiness, bud set, and bud break in nine provenances of *Pinus greggii* Engelm. *Forest Ecology and Management*, 255(11), 3672–3676. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.02.054>
- Ambroise, V., Legay, S., Guerriero, G., Hausman, J. F., Cuypers, A., & Sergeant, K. (2020). The roots of plant frost hardiness and tolerance. *Plant and Cell Physiology*, 61(1), 3–20. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcz196>
- Arora, R. (2018). Mechanism of freeze-thaw injury and recovery: a cool retrospective and warming up to new ideas. *Plant Science* 270,301–313. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.03.002>
- Atucha-Zamkova, A. A., Steele, K. A., & Smith, A. R. (2021). Modelling the impact of climate change on the occurrence of frost damage in Sitka spruce (*Picea sitchensis*) in Great Britain. *Forestry*, 94(5), 664–676. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpab020>
- Bansal, S., St. Clair, J. B., Harrington, C. A., & Gould, P. J. (2015). Impact of climate change on cold hardiness of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*): environmental and genetic considerations. *Global Change Biology*, 21(10), 3814–3826. <https://doi.org/10.1111/gcb.12958>
- Bansal, S., Harrington, C. A., & St. Clair, J. B. (2016). Tolerance to multiple climate stressors: A case study of Douglas-fir drought and cold hardiness. *Ecology and Evolution*, 6(7), 2074–2083. <https://doi.org/10.1002/ece3.2007>
- Bower, A. D & Aitken, S. N. (2006). Geographic and seasonal variation in cold hardiness of whitebark pine. *Canadian Journal of Forest Research*, 36, 1842–1850. <https://doi.org/10.1139/x06-067>
- Barrera-Ramírez, R., González-Cubas, R., Treviño-Garza, E. J., González-Larreta, B., & López-Aguillón, R. (2020). Áreas potenciales para establecer Unidades Productoras de Germoplasma Forestal con dos variedades de *Pinus pseudostrabus* en México. *Bosque (Valdivia)*, 41(3), 277–287. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002020000300277>
- Charra-Vaskou, K., Charrier, G., Wortemann, R., Beikircher, B., Cochard, H., Ameglio, T., & Mayr, S. (2012). Drought and frost resistance of trees: a comparison of four species at different sites and altitudes. *Annals of Forest Science*, 69(3), 325–333.



- Gömöry, G., Foffová, E., Kmet, J., Longauer, R., Romšáková, I. (2010). Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) provenance variation in autumn cold hardiness: adaptation or acclimation? *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 52, 42–49. <https://doi.org/10.2478/V10182-010-0022-8>
- Hodge, G. R., Dvorak, W. S., & Tighe, M. E. (2012). Comparisons between laboratory and field results of frost tolerance of pines from the southern USA and Mesoamerica planted as exotics. *Southern Forests: A Journal of Forest Science*, 74(1), 7–17.
- Ma, Q., Huang, J. G., Hänninen, H. & Berninger, F. (2019). Divergent trends in the risk of spring frost damage to trees in Europe with recent warming. *Global Change Biology*, 25, 351–360. <https://doi.org/10.1111/gcb.14479>
- Mabaso, F., Ham, H., & Nel, A. (2019). Frost tolerance of various *Pinus* pure species and hybrids. *Southern Forests: A Journal of Forest Science*, 81(3), 273–280. <https://doi.org/10.2989/20702620.2019.1615212>
- Malmqvist, C., Wallertz K., & Lindström, A. (2016). Storability and freezing tolerance of Douglas-fir and Norway spruce seedlings grown in mid-Sweden. *Scandinavian Journal of Forest Research* 32, 30–38. <https://doi.org/10.1080/02827581.2016.1183704>
- Malmqvist, C., Wallertz, K., & Johansson, U. (2018). Survival, early growth and impact of damage by late-spring frost and winter desiccation on Douglas-fir seedlings in southern Sweden. *New Forests* 49, 723–736. <https://doi.org/10.1007/s11056-018-9635-7>
- Mitchell, R. G., Wingfield, M. J., Hodge, G. R., Dvorak, W. S., & Coutinho, T. A. (2013). Susceptibility of provenances and families of *Pinus maximinoi* and *Pinus tecunumanii* to frost in South Africa. *New Forests*, 44(1), 135–146. <https://doi.org/10.1007/s11056-012-9306-z>
- Prada, O. E. M. (2015). *Pinus pinaster* Ait.: Resistencia a heladas bajo condiciones controladas. Doctoral dissertation. Universidad de Vigo. Ciudad de Vigo, España, 179 p.
- Pohl, B., Joly, D., Pergaud, J., Buoncristiani, J.F., Soare, P. & Berger, A. (2019). Huge decrease of frost frequency in the Mont-Blanc Massif under climate change. *Scientific Reports*, 9, 4919. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41398-5>.
- Reyes, G. J., Vargas-Hernández, J. J., Cruz-Huerta, N., & López-Upton, J. (2020). Populations of *Pinus radiata* D. Don differ in low-temperature tolerance and growth rate. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 26(3), 469–484. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2019.12.096>
- Richardson, A. D., Hufkens, K., Milliman, T., Aubrecht, D. M., Furze, M. E., Seyednasrollah, B., Misha, B., Krassovski, J., Latimer, M., Robert, O. W., Heiderman, R., Warren, M. J. & Hanson, P. J. (2018). Ecosystem warming extends vegetation activity but heightens vulnerability to cold temperatures. *Nature*: 560, 368–371. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0399-1>
- Semerci, A., Īmal, B., & Gonzalez-Benecke, C. A. (2021). Intraspecific variability in cold tolerance in *Pinus brutia* sampled from two contrasting provenance trials. *New Forests*, 52(4), 621–637. <https://doi.org/10.1007/s11056-020-09815-0>
- SAS Institute (2013). *Base SAS® 9.4 Procedures Guide: Statistical Procedures* (2a ed.). SAS Institute Inc.
- Viveros-Viveros, H., Sáenz-Romero, C., Vargas-Hernández, J., & López-Upton, J. (2006). Variación entre procedencias de *Pinus pseudostrubus* establecidas en dos sitios en Michoacán, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 29(2), 121–126.
- Viveros-Viveros, H., Sáenz-Romero, C., López-Upton, J., & Vargas-Hernández, J. J. (2007). Growth and frost damage variation among *Pinus pseudostrubus*, *P. montezumae* and *P. hartwegii* tested in Michoacán, México. *Forest Ecology and Management*, 253(1–3), 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.07.005>
- Viveros-Viveros, H., Saenz-Romero, C., Vargas-Hernández, J. J., López-Upton, J., Ramírez-Valverde, G., & Santacruz-Varela, A. (2009). Altitudinal genetic variation in *Pinus hartwegii* Lindl. I: Height growth, shoot phenology, and frost damage in seedlings. *Forest Ecology and Management*, 257(3), 836–842. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.10.021>
- Wang, T., Hamann, A., Spittlehouse, D., & Carroll, C. (2016). Locally downscaled and spatially customizable climate data for historical and future periods for North America. *PLoS ONE*, 11(6), e0156720. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156720>
- Yu, D. J., & Lee, H. J. (2020). Evaluation of freezing injury in temperate fruit trees. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 61(5), 787–794. <https://doi.org/10.1007/s13580-020-00264-4>

Manuscrito recibido el 28 de octubre de 2022

Aceptado el 18 de marzo de 2024

Publicado el 10 de octubre de 2024

Este documento se debe citar como:

Barrera Ramírez, R., Vargas Hernández, J. J., Escobar Alonso, S., Pérez Luna, A., & López Upton, J. (2024). Variación intraespecífica en tolerancia al frío en progenies de *Pinus pseudostrubus* en dos sitios de evaluación. *Madera y Bosques*, 30(2), e3022548. <https://doi.org/10.21829/myb.2024.3022548>



Madera y Bosques por Instituto de Ecología, A.C. se distribuye bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NonComercialCompartirIgual 4.0 Internacional.