

VARIACIÓN MORFOLÓGICA ALTITUDINAL ENTRE POBLACIONES DE *Pinus devoniana* Lindl. Y LA VARIEDAD PUTATIVA *cornuta* EN MICHOACÁN

ALTITUDINAL MORPHOLOGICAL VARIATION AMONG *Pinus devoniana* Lindl. POPULATIONS AND PUTATIVE VARIETY *cornuta* IN STATE OF MICHOACAN

Cuauhtémoc Sáenz-Romero¹, Selene Aguilar-Aguilar², Miguel Ángel Silva-Farías³,
Xavier Madrigal-Sánchez², Sabina Lara-Cabrera² y Javier López-Upton⁴

RESUMEN

La comprensión de los patrones de variación morfológica a lo largo de gradientes altitudinales es útil para distinguir entidades taxonómicas y tomar decisiones de manejo. Conos, semillas, fascículos y yemas fueron analizados en individuos de 16 poblaciones naturales de *Pinus devoniana* (ex *P. michoacana*). El material se recolectó a lo largo de un transecto de 1,600 a 2,450 msnm, a razón de una población cada 50 m, cerca de la ciudad de Morelia, en el estado de Michoacán. Se realizaron análisis univariados (ANOVA) y multivariados (componentes principales y de conglomerados) para determinar las variedades putativas presentes. Los resultados evidenciaron la existencia de un patrón altitudinal significativo de variación morfológica, en el cual las poblaciones de localidades bajas tienen hojas, semillas y conos más largos que las desarrolladas en lugares con altitudes medias y altas. El análisis multivariado discriminó dos grupos evidentemente distintivos: uno compuesto por individuos de poblaciones originadas entre 1,600 y 1,850 msnm: *Pinus devoniana* var. *devoniana* (equivalente a *P. michoacana* típica), y otro en el que se integraron ejemplares de poblaciones procedentes de sitios ubicados en un intervalo de 1,950 a 2,450 msnm: *Pinus devoniana* var. *cornuta* (ex *P. michoacana* var. *cornuta*). Así, se sugiere la separación de las poblaciones estudiadas de *P. devoniana* en al menos dos variedades: *P. devoniana* var. *devoniana* y *P. devoniana* var. *cornuta*.

Palabras clave: Análisis de conglomerados, componentes principales, *Pinus devoniana* Lindl., *Pinus michoacana* Martínez var. *cornuta* Martínez, variación altitudinal, variación morfológica.

ABSTRACT

Understanding the patterns of morphological variation along environmental gradients is useful to distinguish taxonomical entities and take management decisions. Morphological variation of cones, seeds, fascicles and buds were analyzed on individuals from 16 natural *Pinus devoniana* (ex *P. michoacana*) populations collected along an altitudinal transect (from 1,600 to 2,450 m, one population every 50 m of altitudinal difference) near Morelia city, in the state of Michoacán (Mexico). Univariate (ANOVA) and multivariate (principal components and cluster) statistical analyses were conducted, in order to clarify if putative varieties exist. There is a significant pattern of morphological altitudinal variation, where populations from lower altitudes have larger cones, needles and seeds than populations from middle and higher altitudes. The multivariate analysis discriminated individuals and populations in two clearly distinctive groups: one group made of individuals from populations originated between 1,600 m to 1,850 m of altitude, which would correspond to *Pinus devoniana* var. *devoniana* (equivalent to *P. michoacana* typical); a second group is composed of individuals from populations originated between 1,950 m to 2,450 m, which would correspond to *Pinus devoniana* var. *cornuta* (ex *P. michoacana* var. *cornuta*). Thus, we suggest the separation of *P. devoniana* in at least two varieties: *P. devoniana* var. *devoniana* and *P. devoniana* var. *cornuta*.

Key words: Altitudinal variation, cluster analysis, morphological variation, *Pinus devoniana* Lindl., *Pinus michoacana* Martínez var. *cornuta* Martínez, principal components.

Fecha de recepción: 26 de abril de 2011

Fecha de aceptación: 18 de agosto de 2012

¹ Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH). Correo-e: csaenzromero@gmail.com

² Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

³ Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

⁴ Programa Forestal, Colegio de Postgraduados.

INTRODUCCIÓN

Pinus devoniana Lindl. es un pino que se distribuye, preferentemente, en el territorio mexicano: Colima, Chiapas, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Estado de México, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas; aunque su área de distribución se extiende a los departamentos de Chimaltenango, Guatemala, Quiché, Quetzaltenango, Sacatepequez y Totonicapán, en Guatemala. Habita en zonas de clima templado cálido, con una precipitación anual de 1,000 a 1,500 mm; en altitudes de 1,500 a 2,500 m (con crecimiento óptimo a 2,000 msnm); en bosques de pino-encino y de pino. *Pinus devoniana* tiene una etapa cespitosa, cuando es una plántula (Perry, 1991; Farjon y Styles, 1997).

La taxonomía de *P. devoniana*, descrita por primera vez por Lindley (1839), es un asunto no consensuado entre la comunidad científica. Shaw (1909) integró a *Pinus devoniana* con *P. montezumae* Lamb., *P. hartwegii* Lindl. y *P. rudis* Endl. en una sola especie incluyente: *P. montezumae*. Este agrupamiento fue dividido, nuevamente, en las cuatro especies originales por Martínez (1944), pero reconoce a *P. devoniana* bajo el nuevo nombre: *Pinus michoacana* Martínez, con una subdivisión en dos variedades: var. *cornuta* y var. *quevedoi* y tres formas: var. *cornuta* f. *nayaritana*, f. *tumida* y f. *procera* (Martínez, 1948). Excepto, por la forma *tumida*, en general, esta clasificación es aceptada por Perry (1991).

Pinus michoacana típico (*sensu* Martínez, 1948) tiene conos menos curvados, más grandes, oblongo-ovoides o casi cilíndricos y cónicos en el extremo, con vainas fasciculares de color más claro, apófisis más elevadas y ampliamente piramidales en comparación con la variedad *cornuta*, la cual presenta conos más curvos (semejantes a cuernos), más cortos, menos cilíndricos, gradualmente atenuados, más oscuros y resinosos (casi negros con la edad), con vainas fasciculares y la apófisis aplanada con dos lados (Martínez, 1948; Perry, 1991). Perry (1991) también apoya la diferenciación de la variedad *cornuta* basándose en las diferencias del contenido de trementina α -pineno y β -pineno.

Sin embargo, las variedades de *P. michoacana* no han sido reconocidas en clasificaciones posteriores. Rushforth (1987) notó que el nombre anterior y el corregido de *P. michoacana* correspondían, de hecho, a *P. devoniana*. McVaugh (1992) y Farjon y Styles (1997) favorecieron esta denominación, como el nombre correcto y concluyeron que no había argumentos para mantener la subdivisión en variedades y formas a partir de los rasgos usados por Martínez (1948), que no siempre fueron consistentes al examinar varios ejemplares de herbario (muchos con caracteres intermedios). Con respecto a la variedad *cornuta*, McVaugh (1992) indicó que el contenido de trementina no parece ser suficiente para sustentar su diferenciación como una variedad.

INTRODUCTION

Pinus devoniana Lindl. is a pine distributed mostly in Mexico (states of Colima, Chiapas, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Mexico, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Tlaxcala, Veracruz and Zacatecas), and in Guatemala (departments of Chimaltenango, Guatemala, Quiché, Quetzaltenango, Sacatepequez and Totonicapán). It inhabits warm temperate zones with annual precipitation from 1,000 to 1,500 mm, and altitudes ranging from 1,500 to 2,500 m (optimal growth at approximately 2,000 m), in pine-oak and pine forests. *Pinus devoniana* has a grass stage when it is a young seedling (Perry, 1991; Farjon and Styles, 1997).

The taxonomy of *P. devoniana*, first described by Lindley (1839), is an issue without consensus among the scientific community. Shaw (1909) subsumed *P. devoniana* together with *P. montezumae* Lamb., *P. hartwegii* Lindl. and *P. rudis* Endl. in an inclusive single species: *P. montezumae*. This lumping was divided again into the four original species by Martínez (1944; 1948), recognizing *P. devoniana* as a separate species although under a new name: *Pinus michoacana* Martínez, with a further subdivision in two varieties: var. *cornuta* and var. *quevedoi* and three forms: var. *cornuta* f. *nayaritana*, f. *tumida* and f. *procera* (Martínez, 1948). Except for the form *tumida*, this classification was recognized in general by Perry (1991).

The typical *P. michoacana* (*sensu* Martínez, 1948) has cones that are less curved, larger, oblong-ovoid or almost cylindrical and conical to the end, with lighter fascicle sheaths, more raised and widely pyramidal apophysis than the variety *cornuta*, which has more curved cones (resembling horns), shorter in length, less cylindrical, gradually attenuated, darker and resinous (almost black when aged) fascicle sheaths and the apophysis flattened with two sides (Martínez, 1948; Perry, 1991). Perry (1991) also supported the differentiation of *cornuta* variety based on differences of α -pinene and β -pinene turpentine content.

However, the varieties of *P. michoacana* have not been recognized in later classifications. Rushforth (1987) noted that the earlier and corrected name for *P. michoacana* was in fact *P. devoniana*. McVaugh (1992) and Farjon and Styles (1997) supported also *P. devoniana* as the correct name and concluded that there are no grounds to maintain the subdivision in varieties and forms, based on the observation that the traits used by Martínez (1948) are not always consistent when examining several herbarium specimens (many had intermediate traits). Regarding the *cornuta* variety, McVaugh (1992) indicated that the turpentine content does not seem enough to support the differentiation as a separate variety.

We aim to explore whether there are grounds for the recognition of the variety *cornuta* as compared to the typical *P. devoniana* based

El propósito del presente estudio fue explorar la existencia de elementos para reconocer la variedad *cornuta*, al compararla con la típica *P. devoniana* con base en un análisis cuantitativo de la variación morfológica entre las poblaciones a lo largo de un gradiente altitudinal en el estado de Michoacán, entidad ubicada en el centro-occidente de México. Las características utilizadas fueron cono, semilla, fascículos y caracteres morfológicos de las yemas. Mediante este documento, se asume que el nombre correcto para *P. michoacana* es *P. devoniana*; entonces, *P. devoniana* var. *devoniana* se considera la especie típica y *P. devoniana* var. *cornuta* como la variedad putativa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo y evaluación morfológica

En un transecto altitudinal, se recolectaron conos y ramillas de siete árboles procedentes de cada una de las 18 poblaciones naturales de *P. devoniana*. Estas se localizaron con una diferencia de altitud de aproximadamente 50 m, en las cercanías del pueblo de Tumbisca (1,600 msnm, 19°34'40.0" N y 101°03'55.2" O) y de San Miguel del Monte (2,450 msnm, 19°35'52.1" N y 101°07'55.5" O). Los individuos se eligieron al azar entre los que portaban conos maduros, sin diferenciar entre variedades putativas. Los lugares de muestreo a los 1,900 y 2,000 m de altitud se descartaron del análisis, porque *P. devoniana* tenía muy baja densidad (únicamente dos árboles presentaban conos en cada una de las poblaciones). Los ejemplares representados por las muestras se designaron como poblaciones; mientras que, a la localidad se le denominó procedencia.

Se eligió una rama de los árboles con al menos un cono desarrollado, sin daños por insectos o enfermedades, y con el tamaño promedio de los conos maduros existentes en cada individuo muestreado. Si había más de un cono con dichos criterios, se eligió uno al azar. Antes de abrir, se midió la longitud del mismo, de la base a la punta mediante un calibrador Mitutoyo modelo 700-127 modificado para medir la longitud de un vector base-punta; ancho, a la mitad del cono; curvatura, que se obtuvo con el mismo calibrador y consistió en la distancia de la parte central del cono a su vector base-punta (expresado en porcentaje de la longitud); y forma: 1 = oblongo-ovoide, 2 = intermedio, y 3 = gradualmente atenuado. También se marcó una escama en la parte lateral del cono, justo a la mitad de su longitud. Después de la apertura de los conos, se midió la anchura de la quilla en la escama marcada, así como la altura de la apófisis y se le contó el número de caras. Se extrajeron las semillas del cono y se midieron las que estaban totalmente desarrolladas, con los mismos criterios usados para los conos. A las semillas y las alas se les determinó el largo y ancho y se registró su color: 1 = café suave, 2 = café medio, 3 = café rojizo y 4 = café oscuro. Se seleccionó un fascículo totalmente desarrollado por rama de árbol, sin señales de declinación y se contabilizaron sus acículas, longitud

on a quantitative analysis of the variation among populations along an altitudinal gradient in Michoacán, central-west Mexico, for cone, seed, fascicle and bud morphological traits. Throughout this paper we assume that the correct name for *P. michoacana* is *P. devoniana*. Thus, we will refer in this study to *P. devoniana* var. *devoniana* as the typical species and *P. devoniana* var. *cornuta* as the putative variety.

MATERIALS AND METHODS

Sampling and morphological assessment

Cones and branchlets of ca. seven trees from 18 natural *P. devoniana* populations were collected in an altitudinal transect, close to Morelia city, Michoacán state, Mexico. Populations sampled were located approximately every 50 m of altitudinal difference, from near the village of Tumbisca (1,600 m of altitude, N 19°34'40.0", W 101°03'55.2") to San Miguel del Monte (2,450 m of altitude, N 19°35'52.1", W 101°07'55.5"). A map and detailed location coordinates are provided in Sáenz-Romero and Tapia-Olivares (2008). Trees were randomly selected among those bearing ripe cones, without differentiating between putative varieties. Sampling sites at 1,900 and 2,000 m of elevation were discarded for the analysis because *P. devoniana* had such low density (only two trees bearing cones from each of those populations). The trees represented by the samples are referred to as populations while the location of a population is called the provenance.

We selected one branchlet from each tree with at least one developed cone without damage caused by insects or diseases, and with the average size found among fully developed cones of that tree; if there were more than one cone that met that criteria, only one cone was randomly selected, aiming to represent an average cone per tree. Before opening, we measured the cone length (from the base to the tip; using a modified caliper Mitutoyo 700-127 to measure the length of a vector base-tip), width (at the middle part of the cone), curvature (distance of the central part of the cone to the vector base-tip of the cone, expressed as percent of the length) and form (1 = oblong-ovoid, 2 = intermediate, and 3 = steadily attenuated); we also marked one scale from the middle length of the cone, on a lateral side. After cone opening, we measured on the marked scale the width of the keel, apophysis height, and the number of sides of the apophysis. Seeds were extracted from the cone; we selected and measured only one fully developed seed following the same criteria as for the cone. Seeds and wings were measured in length and width, and wings in color (1 = light brown, 2 = medium brown, 3 = reddish-brown and 4 = dark brown). We selected per branch from each tree one fully developed fascicle, without signs of decay, and measured the number of needles, length of the longest needle and sheath length and color (1 = brown,

de la acícula más larga, y se definió el color de la vaina: 1 = café, 2 = café negruzco y 3 = negro. Se midió la longitud, el ancho y la forma del catáfilo: 1 = acuminado y 2 = rostrado (Stearn, 1996).

Los individuos se clasificaron como *P. devoniana* var. *devoniana* y la variedad putativa *cornuta* con una clave botánica (Madrigal, 1982, basado en Martínez, 1948). Algunos ejemplares presentaron caracteres ubicados entre ambos taxa, por lo que se clasificaron como intermedios. Por último, se estimó la proporción de individuos por categoría y población.

Análisis Estadísticos

Se hizo el Análisis de Varianza (ANOVA) para cada carácter, a fin de probar la significancia entre poblaciones mediante el programa PROC GLM (SAS, 2004), y los componentes de la varianza fueron estimados con el programa PROC VARCOMP METHOD = REML (SAS, 2004), con el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad (1)$$

Donde:

Y_{ij} = Observación en el $J^{\text{ésimo}}$ árbol de la $i^{\text{ésima}}$ población
 μ = Media
 τ_i = Efecto de la $i^{\text{ésima}}$ población
 ε_{ij} = término del error
 $i = 1 \dots p, j = 1 \dots n$; donde p y n corresponden al número de poblaciones y árboles dentro de las poblaciones.

Se hizo un análisis múltiple de medias por cada variable con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). Los caracteres morfológicos que eran conteos o categorías: forma del cono, número de caras de la apófisis y número de acículas, color de la vaina del fascículo, forma del catáfilo y color del ala de la semilla se analizaron por medio de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. La relación de la variación entre poblaciones y la altitud de la procedencia solo se evaluó para aquellos caracteres con variación significativa entre poblaciones, para ello se corrió un análisis de regresión del promedio de la población, con respecto a la altitud de la procedencia mediante el programa PROC REG (SAS, 2004) y el modelo:

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_i X_i + \varepsilon_{ij} \quad (2)$$

Donde:

Y_{ij} = Media de la población
 β_0 = Intercepto

2 = brown-blackish and 3 = black). Cataphyll was evaluated for length, width and form 1 = acuminatus and 2 = rostratus (Stearn, 1996).

Individuals were preliminarily classified into *P. devoniana* var. *devoniana* and the putative var. *cornuta* using a botanical key (Madrigal, 1982, based on Martínez, 1948). Some individuals presented intermediate traits among those two taxa, and were classified as intermediate. Then, we estimated the proportion of individuals belonging to each category for each population.

Statistical analyses

Analysis of variance (ANOVA) of each trait was conducted to test significance among populations using PROC GLM (SAS, 2004), and variance components were estimated using PROC VARCOMP METHOD=REML (SAS, 2004), using the following statistical model:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad (1)$$

Where:

Y_{ij} = Observation on the J^{th} tree of the i^{th} population
 μ = Overall mean
 τ_i = Effect of i^{th} population
 ε_{ij} = Error term
 $i = 1 \dots p, j = 1 \dots n$; where Eij p and n are the number of populations and trees within populations.

Multiple mean analysis for each variable was conducted using Tukey test ($\alpha=0.05$). Morphological traits that are counts or categories (cone form, number of apophysis' sides and needles per fascicles, fascicle sheath color, cataphyll form and seed wing color), were analyzed using the non-parametric Kruskal-Wallis test. The relationship of variation among populations to the altitude of the provenance was assessed only for those traits with significant variation among populations, conducting a regression analysis on population average against elevation of provenance, using PROC REG (SAS, 2004) and the following model:

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_i X_i + \varepsilon_{ij} \quad (2)$$

Where:

Y_{ij} = Population mean
 β_0 = Intercept
 β_i = Regression parameter (slope)
 X_i = Altitude (m) of i^{th} provenance
 ε_{ij} = Error.

A multivariate analysis was carried out, using principal components (PROC PRINCOMP) and a cluster analysis (PROC CLUSTER)(SAS, 2004), including only those variables that showed significant differences among populations on the univariate analysis and excluding variables highly correlated with others ($R^2 > 0.70$). From the PRINCOMP analysis, differentiation among

- β_i = Parámetro de regresión (pendiente)
 X_i = Altitud (m) de la *i*ésima procedencia
 ϵ_{ij} = Error.

Así mismo, se llevó a cabo un análisis multivariado por Componentes Principales (PROC PRINCOMP) (SAS, 2004) y un análisis de conglomerados (PROC CLUSTER) en el que se incluyeron únicamente las variables que tuvieron diferencias significativas entre poblaciones en el análisis univariado y se excluyeron las altamente correlacionadas con otras ($R^2 > 0.70$). Del análisis de Componentes Principales, la diferenciación entre poblaciones fue probada con un ANOVA y una prueba múltiple de medias de los componentes principales relevantes, con el modelo (1).

El patrón de diferenciación entre las poblaciones a lo largo del gradiente altitudinal se determinó a partir de la comparación de los valores individuales de componentes principales con la procedencia. El análisis de conglomerados se corrió con datos estandarizados, para lo cual se usó un método de vinculación promedio (método de grupos pareados no ponderados con media aritmética (UPGMA)) y se generó un diagrama de árbol por medio del programa PROC TREE (SAS, 2004).

Finalmente, se compararon los resultados del análisis cuantitativo con la clasificación tentativa inicial en dos taxa putativos, *P. devoniana* var. *devoniana* y la putativa *P. devoniana* var. *cornuta*, con base en los criterios explicados por Martínez (1948).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Distribución altitudinal de variedades basada en la descripción de Martínez (1948).

La proporción de individuos por población perteneciente a *P. devoniana* var. *devoniana* y la categoría denominada intermedia (Martínez, 1948) reveló una distribución altitudinal de las variedades putativas (Figura 1). Las poblaciones presentes entre 1,600 y 1,700 msnm pertenecen a *P. devoniana* var. *devoniana*, y las del intervalo de 1,950 a 2,450 msnm corresponden a la putativa *P. devoniana* var. *cornuta*. Las restantes se disponen en altitudes que varían de 1,750 a 1,850 m, que parece ser una zona de transición donde las poblaciones están compuestas por una mezcla gradual de las variedades putativas, además de individuos clasificados como intermedios (Figura 1).



populations was tested again with an ANOVA and a multiple mean test of the relevant principal components using model (1). The differentiation pattern among populations along the altitudinal gradient was explored, plotting individual principal component values against altitude of provenance. Cluster analysis was conducted on standardized data, with a method of average linkage (unweighted average pair-group method using arithmetic averages, UPGMA), and generating a tree diagram by PROC TREE (SAS, 2004).

Finally, we compared our quantitative analysis results with the initial tentative classification of individuals in the two putative taxa, *P. devoniana* var. *devoniana* and putative *P. devoniana* var. *cornuta*, based on criteria explained by Martínez (1948).

RESULTS AND DISCUSSION

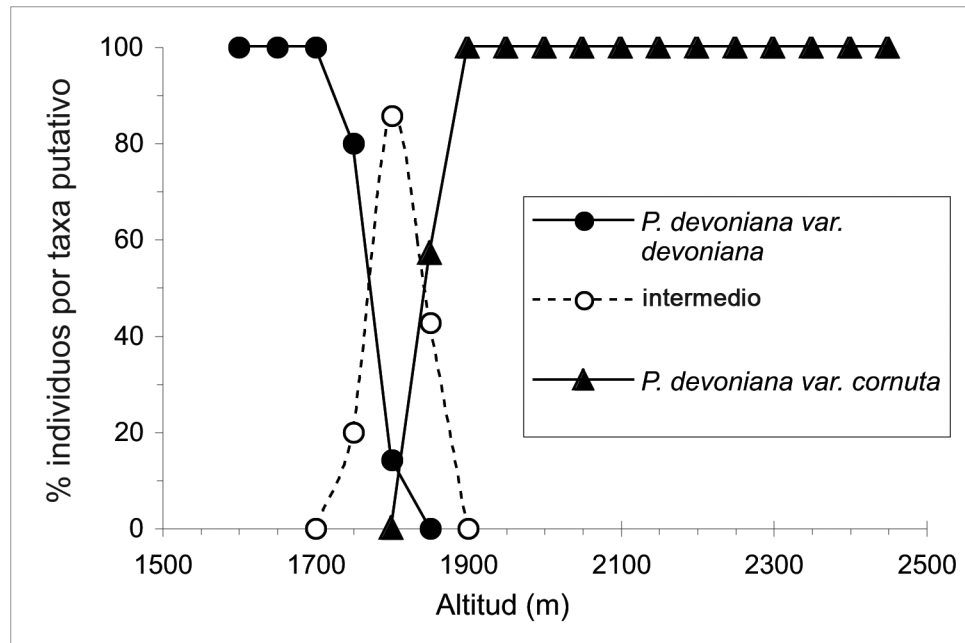
Altitudinal distribution of varieties based on the description by Martínez (1948).

The proportion of individuals per population belonging to *P. devoniana* var. *devoniana*, *P. devoniana* var. *cornuta*, and the category termed intermediate, based on Martínez (1948), reveals that there is an altitudinal distribution of the putative varieties (Figure 1). Populations distributed between 1,600 to 1,700 m of altitude belong to *P. devoniana* var. *devoniana*, and populations between 1,950 to 2,450 m belong to putative *P. devoniana* var. *cornuta*. The remaining and intermediate altitudinal range between 1,750 and 1,850 m of altitude appears to be a transition zone, where populations are composed of a gradual mix of either of the putative varieties plus individuals classified as intermediates (Figure 1).

Univariate analysis: analysis of variance among populations and regression against altitude

Sixteen of the 20 traits showed significant differences among populations. Only cataphyll width and form, number of needles per fascicle, and wing color were not significantly different among populations (Table 1). Plots of population average values against altitude indicate in general an altitudinal clinal trend, where populations from lower altitudes have larger average values than those from higher altitudes. This means that populations from lower altitudes have trees with larger and wider cones, larger peduncles, more prominent apophysis, wider keels, longer number of sides on the apophysis, larger needles (Figure 2), larger cataphylls, larger and wider seeds and seed wings. This trend is similar to that found in other conifer populations. *Pinus oaxacana* Mirov populations from lower altitudes (in Chiapas, Mexico) have larger needles than those from higher altitudes (Bermejo and Patiño, 1981).

There are some other traits that have an altitudinal clinal trend as well but where populations from lower altitudes



Los taxa putativos corresponden a una clasificación tentativa inicial basada en los criterios de Martínez (1948)

Putative taxa correspond to an initial tentative classification made using Martínez (1948) criteria.

Figura 1. Distribución altitudinal del taxon putativo *Pinus devoniana* Lindl.

Figure 1. Altitudinal distribution of *Pinus devoniana* Lindl. putative taxon.

Análisis univariado: análisis de varianza entre poblaciones y regresión respecto a la altitud

Se consideraron 20 caracteres, y de ellos 16 mostraron diferencias significativas entre poblaciones. El ancho y la forma del catáfilo, número de acículas por fascículo y el color de las alas no fueron significativamente diferentes entre poblaciones (Cuadro 1). Las gráficas de los valores poblacionales promedio respecto a la altitud indicaron, en general, una tendencia altitudinal, en la cual las poblaciones de localidades bajas tuvieron valores promedio más altos, que en las de zonas elevadas. Esto significa, que las primeras tienen árboles, conos, acículas y pedúnculos más grandes; apófisis más prominentes, quillas más amplias, mayor número de caras en las apófisis (Figura 2); así como catáfilos más largos, las semillas más grandes y anchas y aladas. Tendencia similar a la que se observa en otras poblaciones de coníferas; por ejemplo, *Pinus oaxacana* Mirov, de altitudes bajas (en Chiapas) presenta acículas de mayor tamaño que las especies de altitudes superiores (Bermejo y Patiño, 1981).

Otros caracteres, igualmente, mostraron una tendencia clinal, pero en las poblaciones de elevaciones bajas tuvieron valores promedio inferiores: conos menos curvos y atenuados, vainas fasciculares más cortas y de tonos menos oscuros (Figura 3).

have the lower average values: populations from lower altitudes have less curved cones, less attenuated cones, shorter fascicle sheaths, and lighter dark fascicle sheaths than those from higher altitudes (Figure 3).

Association between population averages and provenance altitude was significant on all the examined variables (those having significant differences among populations), after a regression analysis with a linear model (Table 1).

Multivariate analysis: principal components and cluster analysis

Four principal components (PC) had eigenvalues above 1 (7.19, 1.39, 1.20 and 1.09). Principal component 1 (PC1) explains 45.0 % of the variance. PC2, PC3 and PC4 contribute far less to explain the total variance: 8.7 %, 7.5 % and 6.8 %. For this reason, we will focus mostly on PC1.

The plot of PC2 individual values against PC1 (Figure 4) shows a separation of individuals in two groups: one group (right side on Figure 4) includes mostly individuals that were initially identified as *P. devoniana* var. *devoniana*, all the individuals (except one) identified as intermediate and only four individuals (originated from the provenance at 1,850 m a.s.l.) identified as var. *cornuta*; a second group (left side on Figure 4) includes individuals initially identified as *P. devoniana* var. *cornuta* and a single individual identified as intermediate.

Cuadro 1. Estadísticos de las poblaciones estudiadas.

Table 1. Statistics of the studied populations.

Carácter	Análisis de varianza				Regresión	
	Media	%	P	Error	R ²	P
Largo de cono (mm)	179	3	0.013	97	0.31	0.027
Ancho de cono (mm)	48.7	59	0.001	41	0.54	0.001
Curvatura de cono (%)	10.9	8	0.001	92	0.26	0.042
Longitud del pedúnculo (mm)	15.8	5	0.005	95	0.52	0.002
Altura de la apófisis (mm)	6.7	31	0.001	69	0.57	0.001
Ancho de la quilla (mm)	17.8	56	0.001	44	0.49	0.003
Longitud de la acícula (mm)	355	13	0.001	87	0.62	0.001
Longitud de la vaina del fascículo (mm)	27.6	13	0.001	87	0.58	0.001
Longitud del catáfilo (mm)	1.8	7	0.002	93	0.45	0.005
Ancho del catáfilo (mm)	0.4	1	0.285	99	---	---
Longitud de la semilla (mm)	6.9	77	0.001	23	0.75	0.001
Ancho de la semilla (mm)	4.8	41	0.001	59	0.80	0.001
Longitud del ala (mm)	30.9	44	0.001	56	0.75	0.001
Ancho del ala (mm)	9.0	17	0.001	83	0.64	0.001
Prueba no paramétrica para la población						
		X ²	P			
Caras de la apófisis (Número)	2.7	50.2	0.001		0.61	0.001
Número de semillas	5.1	18.1	0.260		---	---
Forma del cono	1.9	74.8	0.001		0.69	0.001
Color de la vaina del fascículo	2.0	76.1	0.001		0.76	0.001
Forma del catáfilo	1.1	15.6	0.407		---	---
Color del ala	2.6	17.3	0.210		---	---

%- Porcentaje de contribución a la varianza total.

%- Percent of contribution of total variance.

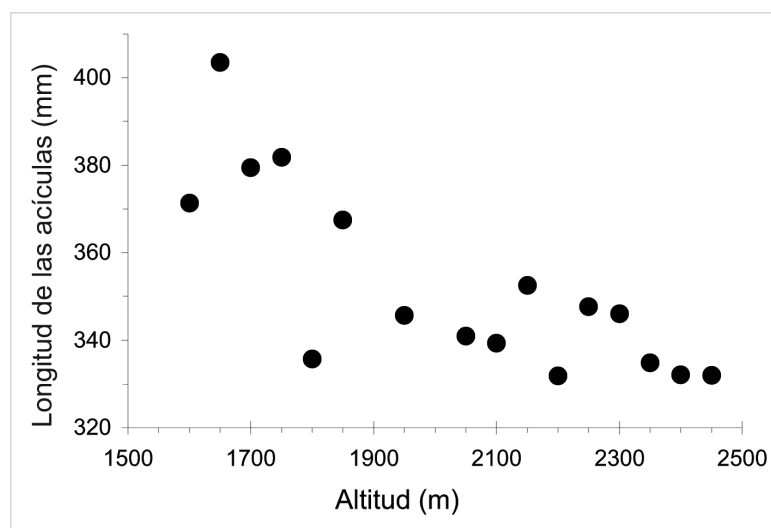
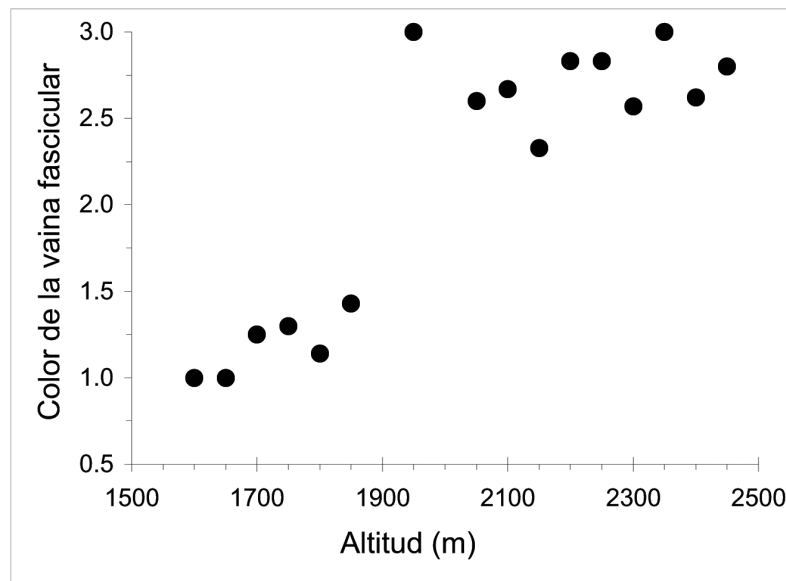


Figura 2. Promedios de las poblaciones de la longitud de acículas respecto a la altitud de la procedencia.

Figure 2. Population averages for needle length against provenance altitude.

La asociación entre los promedios de la población y la altitud de las procedencias fue significativa en todas las variables examinadas (aquellas que tenían diferencias significativas entre las poblaciones), después del análisis de regresión con un modelo lineal (Cuadro 1).

Furthermore, plotting principal component 1 (PC1) individual values against population altitude, clearly separates in two altitudinal groups, with an altitudinal pattern more ecotypic or discontinuous rather than clinal, that correspond to the two putative taxa: a first group (left-upper side of Figure 5)



Colores: 1 = café; 2 = café; negruzco; 3 = negro.

Colors: 1 = brown; 2 = brown-blackish; 3 = black.

Figura 3. Promedios de las poblaciones del color de la vaina fascicular con respecto a la altitud de la procedencia.

Figure 3. Population averages for fascicle sheath color against provenance altitude.

Análisis Multivariado: componentes principales y análisis de conglomerados

Cuatro componentes principales (PC) registraron Eigenvalores por encima de 1 (7.19, 1.39, 1.20 y 1.09). El componente principal 1 (PC1) explicó 45.0 % de la varianza. Los componentes PC2, PC3 y PC4 contribuyeron mucho menos a explicar la varianza total: 8.7 %, 7.5 % y 6.8 %, respectivamente. Por esta razón, la atención se centró en PC1.

El conjunto de los valores individuales de PC2, en contraste con los de PC1 (Figura 4) indicó una separación de individuos en dos grupos: uno (lado derecho de la Figura 4) que incluye a la mayoría de los individuos inicialmente identificados como *P. devoniana* var. *devoniana*, a los intermedios (excepto uno) y a cuatro individuos (procedentes de los 1,850 msnm) pertenecientes a la variedad *cornuta*; un segundo grupo (lado izquierdo de la Figura 4) en el que se integran los ejemplares de *P. devoniana* var. *cornuta* y un individuo de los intermedios.



is composed of individuals with PC1 values mostly above 0, which correspond to populations distributed between 1,600 to 1,850 m; a second group (right-lower side of Figure 5) is composed of trees with PC1 values mostly below 0, which correspond to populations distributed between 1,950 to 2,450 m. These two groups are coincidental with a separation in two varieties: the first group corresponds to the var. *devoniana*, including the transition zone individuals also called the intermediates and four individuals (from 1,850 m of altitude) tentatively classified as belonging to the *cornuta* variety; and the second group corresponds to *P. devoniana* var. *cornuta*.

The ANOVA of PC1 individual values indicate significant differences among populations ($P \leq 0.001$), and Tukey test confirms the separation in two sharply distinctive ecotypic groups of populations: a first group distributed between 1,600 to 1,850 m, which corresponds to *P. devoniana* var. *devoniana* (group "a" in Figure 6), and a second group composed by populations distributed between 1,950 to 2,450 m, which corresponds to *cornuta* variety (group "b" in Figure 6).

Individuals of the transition zone (distributed between 1,750 and 1,850 m of altitude, identified tentatively as intermediate

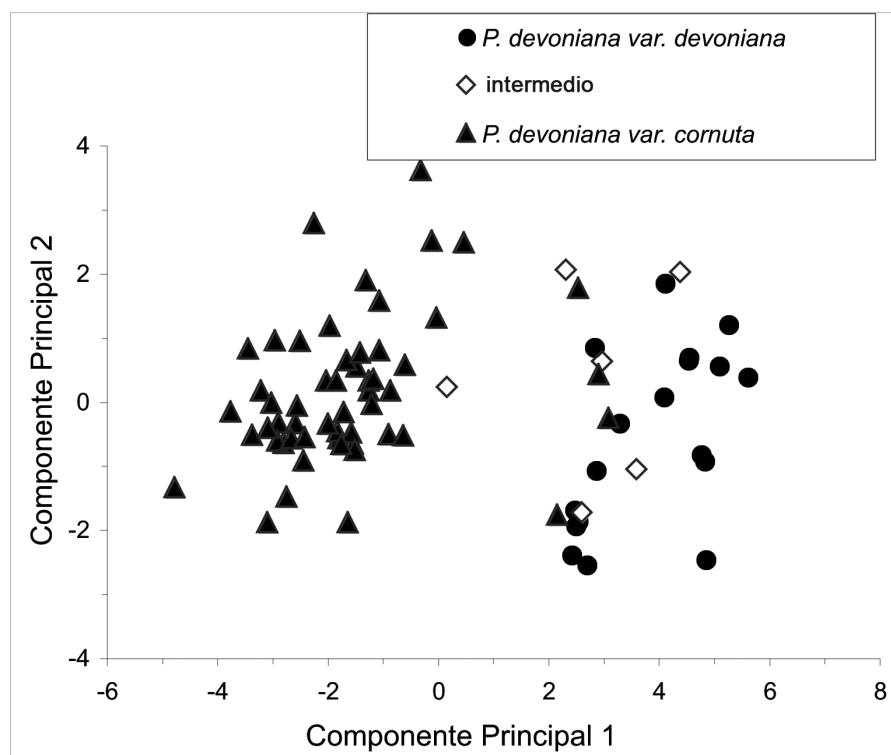


Figura 4. Valores individuales del Componente Principal 2, respecto al Componente Principal 1, clasificado por taxon putativo, que corresponde a la clasificación inicial de Martínez (1948).

Figure 4. Individual values of Principal Component 2 against Principal Component 1, classified by putative taxon, which corresponds to an initial classification of Martínez (1948).

Los valores individuales del componente principal 1 (PCI) separan dos grupos altitudinales, con un patrón más ecotípico o discontinuo que clinal, el cual corresponde a dos taxa putativos: uno (lado superior izquierdo de la Figura 5) integrado por individuos cuyos valores de PCI, son superiores a 0, y que corresponden a poblaciones distribuidas entre 1,600 y 1,850 msnm; el segundo (lado inferior derecho de la Figura 5) está compuesto por árboles con valores de PCI, en su mayoría, por debajo de 0 con poblaciones presentes en un intervalo altitudinal de 1,950 a 2,450 m. Estos conjuntos coinciden con la separación en dos variedades: el primer grupo corresponde a la variedad *devoniana* e incluye a los individuos de la zona de transición, también denominados intermedios y a cuatro árboles (a partir de 1,850 m de altitud), tentativamente clasificados como variedad *cornuta*; y otro grupo identificado como *P. devoniana* var. *cornuta*.

and four as *cornuta* variety), have traits with average values that can not be statistically differentiated from populations that belong to *P. devoniana* var. *devoniana*. Then, for practical purposes, populations of the transition zone can be considered as part of the var. *devoniana*.

Finally, a separation of populations in two clearly distinct groups was confirmed also by the cluster analysis, where a group of populations originated from altitudes between 1,600 and 1,850 m group together (left side of Figure 7), while a second group of populations originated between 1,950 and 2,450 m of altitude cluster together (right side of Figure 7). The separation between these two clusters occurs at 1.30 units.

The sharp distinction between both groups of populations, where there appears to be a threshold of morphological differentiation at 1,900 m of altitude when the traits are analyzed together by the multivariate analysis, that contrasts with the continuous pattern of clinal genetic variation among populations for some individual morphological traits and for frost damage found for the same populations (Sáenz-Romero and Tapia-Olivares, 2008). This difference is evidence that various selection pressure forces can act differently for various traits. Environmental temperatures likely have a clinal trend that parallels the genetic pattern for frost damage. However, the evolutionary forces involved in shaping the patterning of



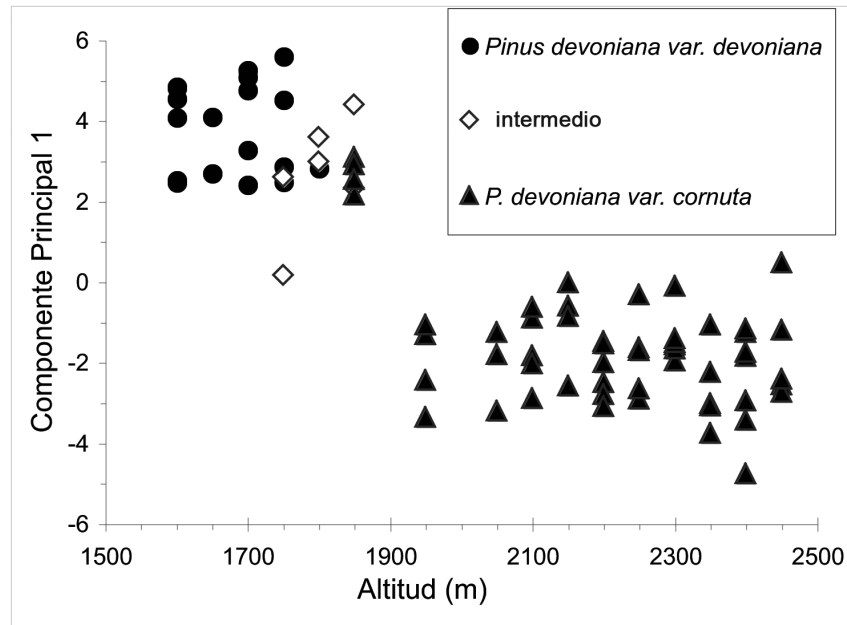
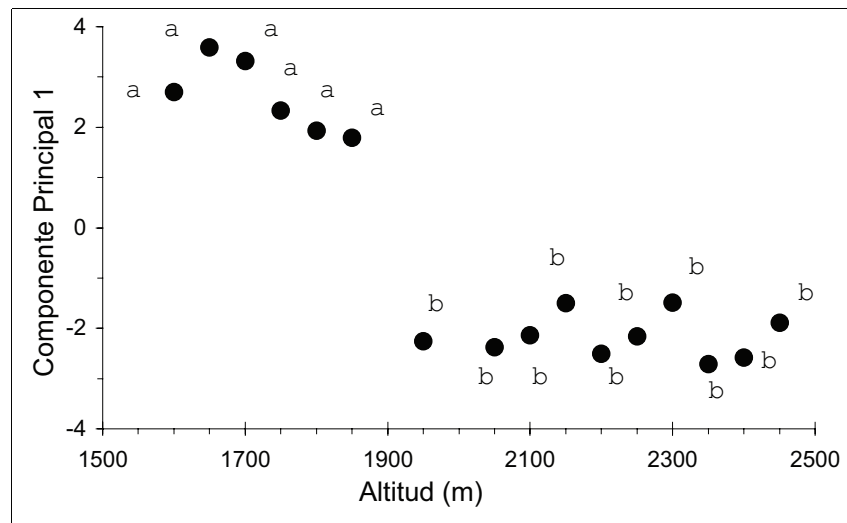


Figura 5. Valores individuales del Componente Principal 1, respecto a la procedencia de altitud, clasificados por el taxon putativo.

Figure 5. Individual values of Principal Component 1 against provenance altitude, classified by putative taxon.



Letras iguales indican que no hay diferencias significativas $\alpha = 0.05$.

Same letter indicates no statistical difference (Tukey test, $\alpha = 0.05$).

Figura 6. Promedios poblacionales para el Componente Principal 1, respecto a la procedencia de altitud.

Figure 6. Population averages for Principal Component 1 against provenance altitude.

El ANOVA de los valores individuales del PCI señalaron diferencias significativas entre las poblaciones ($P \leq 0.001$), y la prueba de Tukey confirmó la separación en dos grupos poblacionales ecotípicos distintos: uno distribuido entre 1,600 y 1,850 msnm, que corresponde a *P. devoniana* var. *devoniana* (grupo "a" en la Figura 6), y otro integrado por poblaciones que se ubican entre 1,950 y 2,450 msnm, variedad *cornuta* (grupo "b" en la Figura 6).

morphological variation appear to have a different dynamics, which created a discontinuity around 1,900 m of elevation.



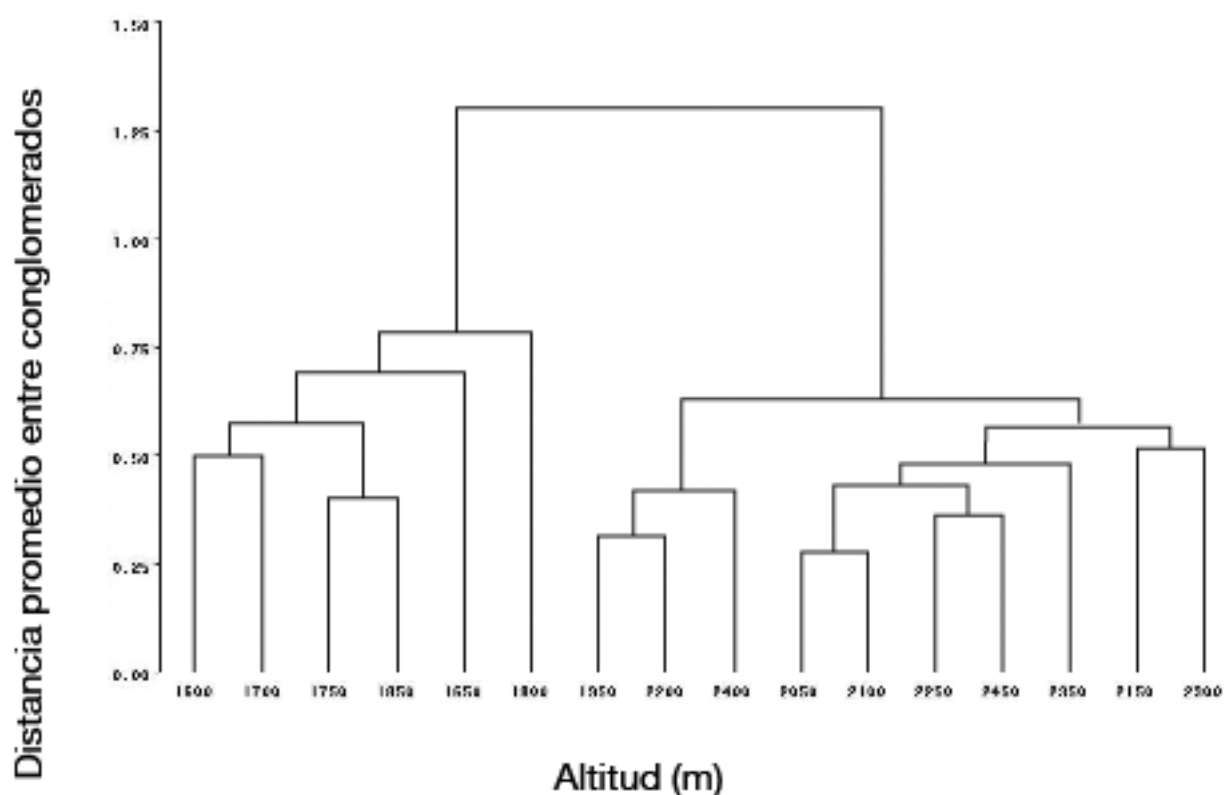


Figura 7. Diagrama de árbol utilizando el método de grupos pareados no ponderados con media aritmética (UPGMA), después del análisis de conglomerados.

Figure 7. Tree diagram using unweighted average pair-group method (UPGMA) after a cluster analysis.

Árboles de la zona de transición (1,750 y 1,850 msnm, identificados de manera tentativa como intermedios y cuatro como variedad *cornuta*) tuvieron caracteres de los valores promedio que no pueden ser estadísticamente diferenciados de las poblaciones pertenecientes a *P. devoniana* var. *devoniana*. Entonces, para propósitos prácticos, las poblaciones de la zona de transición se consideran parte de la variedad *devoniana*.

Una separación de poblaciones en dos grupos, claramente distintivos, fue confirmada por el análisis de conglomerados, en el cual las distribuidas en altitudes de 1,600 y 1,850 m (lado izquierdo de la Figura 7) se agregan; mientras que, las presentes en el intervalo altitudinal de 1,950 a 2,450 m constituyen un conglomerado aparte (lado derecho de la Figura 7). La separación entre ambos ocurre en el valor de 1.30.

Cuando los caracteres se analizan en conjunto con un análisis multivariado, se observa una marcada distinción entre los dos grupos de poblaciones, en la que parece existir un umbral en la diferenciación morfológica a 1,900 msnm; que contrasta con el patrón continuo de variación genética clinal entre poblaciones, para caracteres morfológicos individuales y para daños por heladas en las mismas poblaciones (Sáenz-Romero y Tapia-Olivares, 2008). Esta diferencia evidencia la actuación

CONCLUSIONS

Variation among populations suggests an altitudinal trend, where populations from lower altitudes (1,600 to 1,850 m of altitude) have larger cones, needles, and seeds, and apparently belong to *P. devoniana* var. *devoniana* (also known as the typical variety), whereas populations from intermediate and higher altitudes (1,950 to 2,450 m), have smaller cones, needles, and seeds, and therefore belong to *P. devoniana* var. *cornuta*.

These results have wider implications, particularly in the taxonomy of the species, since they support the separation of *P. devoniana* in two varieties, originally proposed by Martínez as *P. michoacana* typical and *P. michoacana* var. *cornuta*. However, considering that the correct name for the species is *P. devoniana*, we suggest the use of the names *P. devoniana* var. *devoniana* and *P. devoniana* var. *cornuta*. However, these results are preliminary, as further analysis of the morphological variation at other localities within the natural distribution of the species. 🌲

diferencial de diversas fuerzas de presión de selección sobre varios caracteres. Las temperaturas ambientales, igualmente, siguen una tendencia clinal que equipara el patrón genético para daño por heladas. Sin embargo, las fuerzas de evolución involucradas en los patrones de variación morfológica parecer tener una dinámica diferente, que dieron origen a una discontinuidad alrededor de 1,900 m de altitud.

CONCLUSIONES

La variación entre poblaciones sugiere una tendencia altitudinal, en la que las poblaciones de altitudes bajas (de 1,600 a 1,850 msnm) tienen conos, acículas y semillas más grandes, y, aparentemente, pertenecen a *P. devoniana* var. *devoniana* (variedad típica); mientras que, las poblaciones de altitudes intermedias y altas (de 1,950 a 2,450 m) presentan conos, acículas y semillas más pequeños, y por lo tanto, corresponden a *P. devoniana* var. *cornuta*.

Estos resultados tienen implicaciones más amplias, en particular en la taxonomía de las especies, ya que apoya la propuesta original de Martínez que separa la especie típica *P. michoacana* y *P. michoacana* var. *cornuta*. Dado que el nombre correcto es *P. devoniana*, se sugiere que se usen las denominaciones *P. devoniana* var. *devoniana* y *P. devoniana* var. *cornuta*. Sin embargo, estos resultados son preliminares, pues se requiere de un mayor análisis de la variación morfológica en otras localidades dentro de la distribución natural de la especie. 

AGRADECIMIENTOS

El financiamiento fue proporcionado por CSR con recursos del Fondo Mixto de Investigación Forestal, CONACYT- CONAFOR (proyecto 2002-C01-4655) y por la Coordinación de la Investigación Científica, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

REFERENCIAS

- Bermejo V., B. y F. Patiño V. 1981. Estudio de variación de las características morfológicas de *Pinus pseudostrabus* Lindl. y *Pinus pseudostrabus* var. *oaxacana* Martínez en Chiapas. Revista Chapingo (29-30):3-8.
- Farjon, A. and B. T. Styles. 1997. *Pinus* (Pinaceae). Flora Neotropica Monograph 75. New York Botanical Garden, NY, USA. 291 p.
- Lindley, J. 1839. Miscellaneous notices: Mexican pines. Edwards's Bot. Reg. 25:62-64.
- Madrigal S., X. 1982. Claves para la identificación de las coníferas silvestres del Estado de Michoacán. Boletín Divulgativo No. 58. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. México, D.F., México. 100 p.
- Martínez, M. 1944. Una nueva especie del género *Pinus*. *Pinus michoacana*. Anales del Instituto de Biología 15(1):1-6.
- Martínez, M. 1948. Los pinos mexicanos. Editorial Botas. México, D.F., México. 361 p.

ACKNOWLEDGEMENTS

Funding was provided to CSR by grants from a joint Forestry Research Fund between the Mexican Council of Science and Technology (CONACYT) and the Mexican Forestry National Commission (CONAFOR, project 2002-C01-4655), and by the Coordinación de la Investigación Científica, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

End of the English version



- McVaugh, R. 1992. Flora Novo-Galiciana. Gymnosperms and Pteridophytes. University of Michigan Press, Ann Arbor, MI. USA. Vol. 17, 467 p.
- Perry, J. P. 1991. The Pines of México and Central America. Timber Press. Portland, OR USA. 231 p.
- Rushforth, K. D. 1987. Conifers. Facts on File Publications. Christopher Helm, Oxford, UK. 432 p.
- Sáenz-Romero, C. and B. L. Tapia-Olivares. 2008. Genetic variation in frost damage and seed zone delineation within an altitudinal transect of *Pinus devoniana* (*P. michoacana*) in Mexico. Silvae Genetica 57(3):165-170.
- Statistical Analysis System (SAS). 2004. SAS Institute Inc. SAS/STAT User's Guide. Release 9.1. SAS Institute. Raleigh, NC USA. 5136 p.
- Shaw, G. R. 1909. The Pines of Mexico. Arnold Arboretum No.1 J. R. Ruiters & Co., Boston, MA USA. 29 p.
- Stearn, W. T. 1996. Botanical Latin. David & Charles. Newton Abbot, Devon, UK. 546 p.