

DENSIDAD DE LA MADERA DE *Pinus hartwegii* Lind. EN DOS NIVELES ALTITUDINALES Y DE EXPOSICIÓN

WOOD DENSITY OF *Pinus hartwegii* Lind. AT TWO ALTITUDE AND EXPOSITION LEVELS

Gisela Morgado-González¹, Armando Gómez-Guerrero^{1*}, José Villanueva-Díaz², Teresa Terrazas³,
Carlos Ramírez-Herrera¹, Patricia Hernández de la Rosa¹

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, km 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo, Estado de México. 56230, México. (agomezg@colpos.mx). ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria Relación Agua-Suelo-Planta Atmósfera (INIFAP-CENID-RASPA). Margen Derecha del Canal Sacramento Km 6.5. 35140. Gómez Palacio, Durango, México. ³Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Del. Coyoacán, México D.F. 04510, México.

RESUMEN

La densidad de la madera en especies forestales que forman anillos de crecimiento anuales representa un archivo natural relacionado con la variabilidad climática. El objetivo de este estudio fue evaluar si el método de tomografía computarizada de rayos X (TCRX) detecta cambios radiales de la densidad y si ésta varía de acuerdo con la altitud y a la exposición del sitio; por lo tanto, se obtuvieron perfiles de densidad de la madera de *Pinus hartwegii* Lind. mediante ese método con un equipo médico (TCRX). Las muestras de madera procedían de cuatro sitios contrastantes del volcán Tláloc, dos niveles de altitud, 3500 y 3900 msnm, y dos de exposición, NO y SO. Para evaluar el efecto simple y de interacción de la altitud y la exposición sobre la densidad de madera se utilizó un modelo lineal general en el cual la anchura de anillo total se incluyó como covariable. Entre sitios hubo diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.001$). La interacción altitud*exposición fue significativa ($p \leq 0.001$), lo cual indicó que los cambios en densidad de la madera son influenciados por la altitud, pero el nivel de cambio depende de la exposición. En la exposición NO el efecto de la altitud en la densidad de la madera fue positivo y en la exposición SO no hubo efecto. El sitio con exposición NO y altitud 3500 msnm presentó densidad mayor de madera. La anchura de anillo como variable transformada ayuda a explicar significativamente parte de la varianza de la densidad radial de madera entre sitios. La tomografía computarizada de rayos X permitió estudiar la variación de la densidad de la madera y deducir los cambios atribuibles a la variación climática reciente en forma confiable y precisa.

Palabras clave: anchura de anillo, bosque alpino, densidad de madera, factores topográficos, *Pinus hartwegii*, tomografía computarizada.

ABSTRACT

The wood density of the forest species that form annual growth rings represents a natural archive related with climate variability. The objective of this study was to evaluate if the X-ray computed tomography (XRCT) method is able to detect radial changes in wood density and if it varies according to altitude and exposition of the site; therefore, that method with a medical equipment (XRCT) was used to obtain radial density profiles for *Pinus hartwegii* Lind. The wood samples came from four contrasting sites at the Tláloc volcano, two altitudinal levels (3500 and 3900 masl), and two exposition levels (NW and SW). A general linear model—including the total ring width as a co-variable—was used to evaluate the simple and interaction effects of altitude and exposition on wood density. There were statistically significant differences among sites ($p \leq 0.001$). The altitude*exposition interaction was significant ($p \leq 0.001$), which indicated that changes in wood density are influenced by altitude; however, the degree of change depends on the exposition. In the NW exposition, altitude had a positive effect on wood density, while, in the SW exposition, there was no effect. There was a greater wood density in the site with NW exposition and an altitude of 3500 masl. The ring width—as a transformed variable—helps to explain a significant part of the variance of the radial density of wood between sites. X-ray computed tomography allowed to study the variation of wood density and, reliably and accurately, to deduce which changes can be attributed to the recent climate variation.

Key words: ring width, alpine forest, wood density, topographic factors, *Pinus hartwegii*, computed tomography.

Introduction

The forest industry began to analyze wood density to evaluate the physical-mechanical characteristics of wood and the quality of

*Autor responsable ❖ Author for correspondence.

Recibido: marzo, 2018. Aprobado: febrero, 2019.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 53: 645-660. 2019.

INTRODUCCIÓN

El análisis de la densidad de la madera empezó en la industria forestal para evaluar sus propiedades físico-mecánicas y la calidad de los productos forestales (Fritts, 1976; Schweingruber *et al.*, 1978; Wei *et al.*, 2011; Jacquin *et al.*, 2017). Los primeros métodos para determinar la densidad de la madera fueron destructivos. Sin embargo, debido al avance de métodos no destructivos (Jacquin *et al.*, 2017) esta característica se considera como un indicador en estudios de cambio climático (Briffa *et al.*, 2004; Dürthorn *et al.*, 2016), ciclo del carbono (Pompa-García y Venegas-González, 2016), mecanismo de transporte de agua (Fromm *et al.*, 2001), demografía poblacional (Poorter *et al.*, 2008), detección histórica de actividad volcánica (Esper *et al.*, 2015) y velocidad de descomposición de la madera (Hervé *et al.*, 2014). La densidad de la madera es el resultado de la fisiología y de los árboles y de las condiciones ambientales en las que crecen; por esta razón, en las especies que forman anillos de crecimiento anual se integran registros naturales desde los cuales se pueden inferir los efectos de la variación del clima sobre el crecimiento (Grace *et al.*, 2002; Bouriaud *et al.*, 2005; Rathgeber *et al.*, 2005; Villanueva-Díaz *et al.*, 2007).

La densidad de la madera se correlaciona principalmente con la temperatura (Fan *et al.*, 2009) y su variación se explica por cambios en la anchura de anillos, el tamaño de las traqueidas, la proporción de madera temprana-tardía y la transición de madera juvenil a madura (Schweingruber *et al.*, 2007). Sin embargo, también puede haber cambios en la densidad de la madera explicados por la presencia de madera de tensión y compresión. Aunque los factores genéticos determinan las características físico-mecánicas de la madera, los factores ambientales también influyen en dichas características (Schweingruber *et al.*, 2007).

La densidad de la madera de *Pinus hartwegii* Lindl., una especie de ecosistemas alpinos, podría ser un indicador indirecto de los efectos de la variación climática sobre la productividad primaria neta. Además, dado que la altitud influye en la temperatura y la exposición en la radiación solar neta, se espera que la densidad de la madera presente variación en función de la combinación de estos factores y, por lo tanto, los efectos de cambio climático sobre el crecimiento

forest products (Fritts, 1976; Schweingruber *et al.*, 1978; Wei *et al.*, 2011; Jacquin *et al.*, 2017). The first methods used to determine wood density were destructive. However, as a result of the advance of non-destructive methods (Jacquin *et al.*, 2017), this characteristic is considered as an indicator in studies of climate change (Briffa *et al.*, 2004; Dürthorn *et al.*, 2016), carbon cycle (Pompa-García and Venegas-González, 2016), mechanism of water transport (Fromm *et al.*, 2001), population demography (Poorter *et al.*, 2008), historical detection of volcanic activity (Esper *et al.*, 2015), and speed of wood decomposition (Hervé *et al.*, 2014). Wood density is the result of the physiology, the trees, and the environmental conditions in which they grow; therefore, the annual growth rings formed in certain species become natural records, from which the effects of climate variation on growth can be inferred (Grace *et al.*, 2002; Bouriaud *et al.*, 2005; Rathgeber *et al.*, 2005; Villanueva-Díaz *et al.*, 2007).

Wood density correlates mainly with the temperature (Fan *et al.*, 2009), and its variation is explained by the changes in the ring width, the size of the tracheids, the ratio between early and late wood, and the transition from juvenile wood to mature wood (Schweingruber *et al.*, 2007). However, the presence of tension and compression wood can also explain changes in wood density. Although genetic factors determine the physical-mechanical characteristics of the wood, environmental factors also influence these characteristics (Schweingruber *et al.*, 2007).

The density of the wood of *Pinus hartwegii* Lindl., a species native to alpine ecosystems, could be an indirect indicator of the effects of climate variation over the net primary productivity. In addition, because altitude influences temperature and exposition influences net solar radiation, wood density is expected to vary on the basis of the combination of these factors; therefore, the effects of climate change on the growth of trees will be determined by the topographic location of forest stands (van der Maaten *et al.*, 2012; Diaconu *et al.*, 2016; Topaloglu *et al.*, 2016). *Pinus hartwegii* forests are located on the high mountain tree line, and therefore, they are an ideal scenario for climate change research; in particular, they help to deduce if the increases in atmospheric CO₂ concentration entails, for example, fertilization effects (gain in biomass) or growth reduction in alpine ecosystems (Gómez-Guerrero *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2015).

de los árboles estén determinados por la ubicación topográfica de los terrenos forestales (van der Maaten *et al.*, 2012; Diaconu *et al.*, 2016; Topaloğlu *et al.*, 2016). Los bosques de *P. hartwegii* se ubican en el límite arbóreo de la alta montaña, por lo cual ofrecen un escenario idóneo para la investigación sobre cambio climático; en particular para deducir si los incrementos en la concentración de CO₂ atmosférico se traducen, por ejemplo, en efectos de fertilización (ganancia en biomasa) o en la reducción del crecimiento en ecosistemas alpinos (Gómez-Guerrero *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2015).

La tomografía computarizada de rayos X (TCRX), realizada con equipo médico, es un procedimiento no destructivo para evaluar la densidad de la madera en muestras de anillos de crecimiento (Freyburger *et al.*, 2009; Steffenrem *et al.*, 2014). La TCRX en muestras de madera se aplicó por primera vez en la década 1980 para detectar sus defectos (Benson-Cooper *et al.*, 1982; Funt y Bryant, 1987). Aunque la TCRX no iguala la resolución de los equipos especializados como el uso combinado de micro-densitómetros con radiografía convencional, es una alternativa rápida para estimar la densidad media de muestras de madera sin preparación previa (Jacquin *et al.*, 2017).

Los objetivos de este estudio fueron: 1) analizar la densidad de la madera en muestras de anillos de crecimiento de *P. hartwegii* mediante el uso de TCRX, y 2) investigar el efecto de la topografía del sitio (dos niveles altitudinales y dos de exposición) en esa variable. La hipótesis fue que la densidad de la madera en *P. hartwegii* varía de acuerdo con la altitud y la exposición. Esta información es importante para establecer una línea base de la ganancia de biomasa en el tejido leñoso para medir, en otros estudios, los efectos netos del cambio climático en las regiones alpinas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El área de estudio se localiza en el volcán Tláloc, en la Faja Volcánica Transmexicana al oriente del Estado de México (19° 23' 43" y 19° 28' 37" N, 98° 42' 51" y 98° 48' 12" O y altitud máxima de 4120 msnm). El clima es templado húmedo, con lluvias en verano, la temperatura media anual oscila de 5 a 7 °C, mientras que la precipitación anual varía de 900 a 1000 mm (García, 2004).

X-ray computed tomography (XRCT), performed with medical equipment, is a non-destructive procedure to evaluate wood density in samples of growth rings (Freyburger *et al.*, 2009; Steffenrem *et al.*, 2014). The XRCT of wood samples was first applied in the 1980s to detect their defects (Benson-Cooper *et al.*, 1982, Funt and Bryant, 1987). Although XRCT does not provide the same resolution as specialized equipment —such as the combination of X-ray microdensitometer with conventional X-rays—, it is a quick alternative to estimate the mean density of wood samples without prior preparation (Jacquin *et al.*, 2017).

The objectives of this study were: 1) to analyze the wood density in samples of growth rings of *P. hartwegii* using XRCT; and 2) to investigate the effect of the topography of the site —two altitudinal levels and two exposition levels— in that variable. The hypothesis of the study was that the wood density of *P. hartwegii* varies according to altitude and exposition. This information is important to establish a baseline of the biomass gain in woody tissue in order to measure, in further studies, the net effects of climate change on the alpine regions.

MATERIALS AND METHODS

Study area

The study area is located in the Tláloc volcano, part of the Trans-Mexican Volcanic Belt in the eastern region of the Estado de México (19° 23' 43" and 19° 28' 37" N, 98° 42' 51" and 98° 48' 12" W), at a maximum altitude of 4120 masl). The climate is humid temperate, with summer rains; the mean annual temperature ranges from 5 to 7 °C, while the mean annual precipitation varies from 900 to 1000 mm (García, 2004). The soils are of volcanic origin and they are classified as Humic and Umbric Andosols. The six plant associations identified in the 2500-4000 masl altitudinal profile are: holm oak forest, oak forest, mixed forest, fir forest, pine forest, and alpine grasslands (Sánchez *et al.*, 2006). The samples were obtained from the pine forest.

Site selection

To choose the study sites, two altitude levels (3500 and 3900 masl) and two expositions (southwest (SW) and northwest (NW)) —in which *P. hartwegii* mature stands were located— were considered. The digital elevation model of INEGI (2016) was

Los suelos son de origen volcánico, clasificados como Andosoles húmicos y úmbricos. Las seis asociaciones vegetales identificadas en el perfil altitudinal de 2500 a 4000 msnm son: encinar arbustivo, bosque de encino, bosque mixto, bosque de oyamel, bosque de pino y zacatonal alpino (Sánchez *et al.*, 2006). Las muestras se obtuvieron del bosque de pino.

Selección de sitios

Para elegir los sitios de estudio se consideraron dos niveles altitudinales, 3500 y 3900 msnm y dos exposiciones, suroeste (SO) y noroeste (NO) en las que existieran rodales maduros de *P. hartwegii*. La ubicación de los sitios en el área de estudio se hizo con el modelo digital de elevación de INEGI (2016) y se corroboró mediante recorridos de campo. En cada sitio se instaló un datalogger (HOBO Pro V2) para medir temperatura y humedad relativa cada cuatro horas. Para evitar el robo de dataloggers se pintaron de color gris oscuro, como la corteza de los árboles, y se fijaron con tornillo y abrazadera al tronco de un árbol, aproximadamente a 2.5 m sobre el nivel del suelo. El Cuadro 1 muestra los valores medios de estas variables de septiembre de 2016 a septiembre de 2017. Los sitios de estudio se ubican a partir de la cota 3500 msnm dentro del parque nacional "Iztaccíhuatl-Popocatepetl". Está área no está sujeta a manejo forestal a menos que surja una situación especial de sanidad, lo que no ocurrió durante el estudio. Es un área de bosque abierto y saludable con 150 a 200 árboles ha^{-1} (Mendoza-Ponce y Galicia, 2010; Acosta *et al.*, 2014), lo que corresponde a una distancia media entre árboles de 7 a 8 m, es decir, con baja competencia entre árboles.

used to locate the sites in the study area; they were subsequently corroborated during field trips. A datalogger (HOBO Pro V2) was installed in each site in order to measure temperature and relative humidity every four hours. To prevent the stealing of dataloggers, they were painted the same dark gray as the bark of the trees and fixed with a screw and clamp to the trunk, approximately 2.5 m above ground level. Table 1 shows the mean values of these variables from September 2016 to September 2017. The study sites are located above 3500 masl, in the Iztaccíhuatl-Popocatepetl National Park. This area is not subject to forest management, except under special health situations, which did not occur during the study. It is an open and healthy forest area with 150 to 200 trees ha^{-1} (Mendoza-Ponce and Galicia, 2010; Acosta *et al.*, 2014). This means that trees are 7-8 m apart from each other (*i.e.*, there is low competition between trees).

Samples of growth rings

In each study site, samples of growth rings were taken at 1.3 m above ground level from 12 dominant and codominant trees. Healthy trees, free of mechanical damage were selected, trying to include three trees per quadrant and a tree was taken as reference, located in the center of the polygon that defined the altitude and exposition of the study site. A Pressler drill with a 12 mm internal diameter (HAGLOF®, Switzerland) was used to extract shavings from each tree, from one end of the bark to the other, passing through the pith. In order to decrease the likely variation between tension and compression wood, the samples were taken in the direction of the contour line. The samples were dried

Cuadro 1. Ubicación geográfica, valores medios climáticos y dasométricos de los árboles muestra los sitios de estudio establecidos hacia 2016 en el Volcán Tláloc.

Table 1. Geographic location, the mean climate and dasometric values of the trees shows the study sites established about 2016 in the Tláloc volcano.

Sitio [†]	Coordenadas Latitud N, Longitud O	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)	Diámetro normal (cm)	Edad (año)
NO3900	19° 25' 27.6" N 98° 43' 28.3" O	6.1±6d	71.4±23a	48.1±2.6	145±19.8
SO3900	19° 24' 36.7" N 98° 43' 31.4" O	6.9±5c	69.6±23b	36.5±1.4	129±7.1
NO3500	19° 26' 8.5" N 98° 44' 33.8" O	7.3±5b	72.7±22a	59.5±2.4	82±5.3
SO3500	19° 24' 16.0" N 98° 44' 31.2" O	8.5±5a	67.4±23c	61.5±3.8	95±6.1

[†]Los prefijos NO y SO corresponden a las exposiciones noroeste y suroeste. El número es la altitud. Datos obtenidos con dataloggers HOBO® Pro V2 en el periodo de septiembre de 2016 a septiembre de 2017. Los valores con $\pm$ corresponden a la desviación estándar. Valores con letras distintas en una columna indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$). ♦[†]The NO (NW) and SO (SW) prefixes matches the Northwest and Southwest expositions. The number is the altitude. Data were obtained with HOBO® Pro V2 dataloggers from September 2016 to September 2017. The values with $\pm$ match the standard deviation. Values with different letters in a column indicate significant differences ($p \leq 0.05$).

Muestras de anillos de crecimiento

En cada sitio de estudio se tomaron muestras de anillos de crecimiento de 12 árboles dominantes y codominantes, a 1.3 m sobre el nivel del suelo. Árboles sanos y libres de daño mecánico, se seleccionaron, tratando de incluir tres árboles por cada cuadrante y se tomó como referencia un árbol centro, ubicado dentro del polígono que definía la altitud y exposición del sitio de estudio. De cada árbol se extrajo una viruta de corteza a corteza pasando por la médula, con un taladro de Pressler de 12 mm de diámetro interno (HAGLOF®, Suiza). Para disminuir la variación probable entre la madera de tensión y compresión, las muestras se tomaron en sentido de la curva de nivel. Las muestras se secaron al aire libre, se montaron en bases de madera y se lijaron para mejorar la identificación de los anillos. Después, se realizaron las mediciones de anchura de anillo y se fecharon con las técnicas dendrocronológicas convencionales (Stokes y Smiley, 1968; Fritts, 1976) en el laboratorio de dendrocronología del INIFAP, Gómez-Palacio, Durango. La calidad del fechado se verificó con el paquete COFECHA (Holmes, 1983; Grissino-Mayer, 2001) y se tomaron como válidas sólo las series con correlación >0.3281 ($p \leq 0.01$), como lo sugiere Holmes (1983). Con las anchuras de la madera temprana y del anillo total se calculó el porcentaje de madera temprana. El fechado de las muestras ayudó a identificar la tendencia en cambio de densidad de acuerdo con la edad del *cambium*.

Determinación de la densidad

La densidad se midió con TCRX, método no destructivo y no requiere preparación previa de muestras. El principio de la TCRX se basa en la ley de Beer-Lambert, la cual establece que la intensidad de los rayos X atenuados ($I_{(x)}$) depende de la intensidad inicial (I_0), un coeficiente de atenuación lineal (μ) y el espesor de la muestra (x) (Ramírez *et al.*, 2008). La relación entre estas variables es exponencial, de acuerdo con la siguiente expresión (Wei *et al.*, 2011):

$$I_{(x)} = I_0 e^{-\mu x}$$

Con la TCRX se estima el coeficiente de atenuación en volúmenes (voxels) de menos de 1 mm^3 , dependiendo de la resolución de la toma y del espesor de rastreo. Los coeficientes de atenuación estimados con el tomógrafo de rayos X son proporcionales a la densidad del material y se representan en una escala de grises en imágenes 2D (Calzado y Geleijns, 2010). Los equipos médicos se calibran con coeficientes de atenuación para el agua y para el aire. Los valores medidos en agua tienen un valor de 0 y los del aire de -1000 (Lindgren, 1991). En la imagen de la tomografía

outdoors, mounted on wooden bases, and sanded to improve the identification of the rings. Afterwards, ring width was measured and dated with conventional dendrochronological techniques (Stokes and Smiley, 1968; Fritts, 1976), at the dendrochronology laboratory of INIFAP, Gómez-Palacio, Durango. The dating quality was verified with the COFECHA software (Holmes, 1983; Grissino-Mayer, 2001) and only the series with a >0.3281 ($p \leq 0.01$) correlation were considered valid, as Holmes suggest (1983). Based on the early wood width and the total ring width, the percentage of early wood was calculated. The dating of the samples helped to identify the trend in density change, according to the age of the *cambium*.

Determination of density

Density was measured with XRCT, which is a non-destructive method and does not require prior preparation of the samples. The principle of the XRCT is based on the Beer-Lambert law, which states that the intensity of the attenuated X-rays ($I_{(x)}$) depends on the initial intensity (I_0), a linear attenuation coefficient (μ), and the sample thickness (x) (Ramírez *et al.*, 2008). These variables have an exponential relationship, according to the following expression (Wei *et al.*, 2011):

$$I_{(x)} = I_0 e^{-\mu x}$$

Using the XRCT, the volume attenuation coefficient (voxels) of less than 1 mm^3 is estimated, depending on the shot resolution and the tracking thickness. The attenuation coefficients estimated with the X-ray tomography equipment are proportional to the density of the material and are represented in a grayscale in 2D images (Calzado and Geleijns, 2010). The medical equipment is calibrated with attenuation coefficients for water and air. The values measured in water have a value of 0 and those in the air of -1000 (Lindgren, 1991). In the image of the tomography, the pixel values match the values of the water attenuation coefficient, which are known as Hounsfield units (HU) (Calzado and Geleijns, 2010). The standardization of the attenuation coefficient values in Hounsfield units is based on the following expression:

$$UH_{mat} = \frac{\mu_{mat} - \mu_{agua}}{\mu_{agua}} \times 1000$$

where, UH_{mat} : Hounsfield units of material; μ_{mat} : material attenuation coefficient; μ_{water} : water attenuation coefficient.

A subsample of three shavings was selected —with a table of random numbers— from the 12 samples from

los valores del pixel corresponden a valores relativos al coeficiente de atenuación del agua, los cuales se conocen como unidades Hounsfield (HU) (Calzado y Geleijns, 2010). La estandarización de los valores del coeficiente de atenuación en unidades Hounsfield se basa en la siguiente expresión:

$$UH_{mat} = \frac{\mu_{mat} - \mu_{agua}}{\mu_{agua}} \times 1000$$

donde, UH_{mat} : unidades Hounsfield del material; μ_{mat} : coeficiente de atenuación del material; μ_{agua} : coeficiente de atenuación del agua.

De las 12 muestras de cada sitio se seleccionó, con una tabla de números aleatorios, una submuestra de tres virutas, de las que se obtuvo una tomografía con un equipo médico (Philips MX8000 Dual[®]), con campo visual máximo de 500 mm. El equipo es propiedad de una cadena de laboratorios de análisis clínicos ubicados en Texcoco, Estado de México. Las muestras mayores a 500 mm de longitud se escanearon en dos partes con área de traslape. Después de varias pruebas preliminares se encontró que las muestras se leyeron mejor con el filtro de reconstrucción para cuello, con voltaje de 120 kVp e intensidad de 275 mA y grosor del corte de 0.6 mm. De cada muestra se obtuvieron 20 imágenes (repeticiones), convertidas a una matriz de 512×512 píxeles, con un tamaño medio de pixel de 900 μm , en tres dimensiones; esto corresponde a un voxel de aproximadamente 0.486 mm^3 (0.9×0.9×0.6 mm).

Para validar la utilidad de las imágenes se hizo una calibración paralela para la que consistió se obtuvieron tomografías de 15 muestras de madera de especies de clima templado-frío (pino y encino) y de especies tropicales, con densidad conocida entre 635 y 1045 kg m^{-3} . Las muestras de madera usadas como referencia se obtuvieron en un punto de venta de madera, cubren un espectro amplio de densidades e incluyen los géneros: *Pinus*, *Quercus*, *Swietenia* y *Cedrela*. Las muestras elegidas se cortaron en cubos regulares de 2 cm y se secaron a 103 °C hasta peso constante. La correlación entre las UH y la densidad de la madera fue estadísticamente significativa ($r=0.95$, $n=15$, $p\leq 0.001$) y generó la siguiente ecuación:

$$\rho = 1136.2 + 1.11782 \cdot (UH)$$

donde, ρ : densidad de la madera en kg m^{-3} ; UH : Unidades Hounsfield.

Manejo de las imágenes

Debido a que el formato de las imágenes que generan los equipos médicos es DICOM (*Digital Imaging and Communications in Medicine*), un formato diseñado para visualización de órganos humanos más que para el análisis estadístico de píxeles, las imá-

each site. A tomography was obtained from each subsample with a Philips MX8000 Dual[®] medical equipment, with a 500 mm maximum visual field. The equipment is owned by a clinical laboratory services chain located in Texcoco, Estado de Mexico. Samples larger than 500 mm were scanned in two parts with an overlapping area. After several preliminary tests, the best readings for the samples were obtained with the neck reconstruction filter, a 120-kVp voltage, a 275-mA intensity, and a 0.6-mm cut thickness. Twenty images (replicates) were obtained from each sample, and they were subsequently converted to a 512×512-pixel matrix, with a mean pixel size of 900 μm , in three dimensions; this matches a voxel of approximately 0.486 mm^3 (0.9×0.9×0.6 mm).

To validate the usefulness of the images, a parallel calibration was performed: the 15 wood samples from temperate-cold climate species (pine and oak) and tropical species—with known density between 635 and 1045 kg m^{-3} —were subjected to a tomography procedure. The wood samples used as a reference were obtained at a wood outlet, they cover a wide spectrum of densities, and they include the following genera: *Pinus*, *Quercus*, *Swietenia* and *Cedrela*. The chosen samples were cut in 2-cm regular cubes and dried at 103 °C until they reached a constant weight. The correlation between the HU and the wood density was statistically significant ($r=0.95$, $n=15$, $p\leq 0.001$), and generated the following equation:

$$\rho = 1136.2 + 1.11782 \cdot (UH)$$

where, ρ : wood density in kg m^{-3} ; UH : Hounsfield units.

Handling images

Since the medical equipment generates DICOM (*Digital Imaging and Communications in Medicine*) images—a format designed to visualize human organs rather than statistical pixel analysis—the images were then imported into Image J—a flexible software for pixel analysis.

Out of the 20 images generated per sample with the tomography equipment (35 % sampling intensity), seven were selected with a table of random numbers, and the mean pixel values were obtained. A horizontal line was inserted over each image, starting from the pith in the direction of the cortex; the “Multipoint” tool was used to mark all the pixels with which it had an intersection. The value of each pixel was extracted with the “Measure” analysis function. Importing images in ImageJ generates positive numbers; consequently, because air has the lowest value in the DICOM format (−1000 HU), when the images are imported in ImageJ, the pixels have 1000 extra units. Therefore, before applying the density equation from the HU values, the corresponding correction was made. Excel[®] was used

genes se importaron en Image J, que es un paquete flexible para el análisis de píxeles.

De las 20 imágenes por muestra generadas con el tomógrafo se seleccionaron siete (35 % de intensidad de muestreo) con una tabla de números aleatorios y se obtuvieron los valores promedio de pixel. Sobre cada imagen se insertó una línea horizontal con dirección de la médula hacia la corteza y con la herramienta “*Multipoint*” se marcaron todos los píxeles que la intersectaron. Con la función de análisis “*Measure*” se extrajo el valor de cada pixel. La importación de imágenes en J-image genera números positivos, y dado que el valor más bajo en formato DICOM es el del aire (−1000 UH), al importar las imágenes en Image J los píxeles tenían 1000 unidades de más. Por lo tanto, antes de aplicar la ecuación de densidad a partir de los valores en UH, se hizo la corrección correspondiente. Los datos extraídos se trabajaron en Excel® y la densidad estimada de la madera se empató con la edad de los anillos en forma manual.

Factores de estudio

Con la combinación de factores de altitud y exposición de cada sitio se asumió un diseño experimental simple aleatorio, con arreglo factorial 2^2 ; cada factor con dos niveles (Cuadro 2). Aunque en los ecosistemas forestales se dificulta establecer diseños experimentales perfectos, los datos climatológicos del Cuadro 1 mostraron una separación lógica de acuerdo con los factores de estudio.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico además de considerar los factores de estudio se tomó en cuenta la anchura del anillo total como covariable de acuerdo con el siguiente modelo estadístico

to analyze the data extracted and the estimated wood density was manually connected with the age of the rings.

Study factors

Combining the altitude and exposition factors of each site, a simple randomized experimental design was established, with 2^2 factorial arrangement; each factor had two levels (Table 2). Although it is difficult to establish perfect experimental designs in forest ecosystems, the climatological data in Table 1 showed a logical separation according to the study factors.

Statistical analysis

The statistical analysis did not only take into consideration the study factors, but also the total ring width as a covariable, according to the following statistical model:

$$DM = \beta_0 + \beta_1 (\text{Altitude}) + \beta_2 (\text{Exposition}) + \beta_3 (\text{Altitude} \times \text{Exposition}) + \beta_4 \log((\text{Total ring width}) + 1) + \varepsilon_i$$

where, *DM*: wood density; β_0 : intercept; β_1 , β_2 , β_3 , β_4 : adjustment parameters for the study factors; ε_i : experimental error.

The statistical model was tested with the GLM procedure by SAS®, and adjustment of the distribution of the residuals to a normal distribution was verified. The ring width variable was transformed to $\ln + c$; where *c* represents a constant that, in this case, was equal to the unit. This fulfilled the basic foundations of the variance analysis with regard to the normal distribution

Cuadro 2. Valores medios de las variables medidas en las muestras de los anillos anuales de *Pinus hartwegii* en los sitios muestreados del Volcán Tláloc.

Table 2. Mean values of the variables measured in the samples from the annual rings of *Pinus hartwegii* in the sites of the Tláloc volcano where the samples were taken.

Sitio	Núm. Obs.	Ext. Cro. (años)	Ecam. (años)	Aat (mm)	PMT (%)	DM (kg m ⁻³)
NO3900	838	257	96±74	1.3±1.1	21.0±15.5	557.1±86.4
SO3900	794	138	67±38	1.2±0.7	21.4±11.0	583.2±77.7
NO3500	420	75	36±21	3.2±2.0	28.0±12.7	603.6±109.2
SO3500	462	97	41±25	3.3±2.2	19.0±10.2	584.1±90.7

Los prefijos NO y SO corresponden a las exposiciones noroeste y suroeste, respectivamente. Los números después del prefijo corresponden a la altitud. Núm. Obs.: Número de observaciones de pixel; Ext. Cro: Extensión de la cronología; Ecam: Edad cambial; Aat: Anchura anillo total; PMT: Proporción de madera tardía; DM: Densidad de la madera. Los valores ± son la desviación estándar. ♦ The NO (NW) and SO (SW) prefixes match the Northwest and Southwest expositions, respectively. The numbers after the prefix match the altitude. Núm. Obs.: Number of pixel observations; Ext. Cro: Range of the chronology; Ecam: Cambial age; Aat: Total ring width; PMT: Late wood ratio; DM: wood density. The ± values are the standard deviation.

$$DM = \beta_0 + \beta_1 (\text{Altitud}) + \beta_2 (\text{Exposición}) + \beta_3 (\text{Altitud} \times \text{Exposición}) + \beta_4 \text{Log}((\text{Anchura de anillo total}) + 1) + \varepsilon_i$$

donde, DM : densidad de la madera; β_0 : intercepto; $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4$: parámetros de ajuste para los factores de estudio; ε_i : error experimental.

Con el procedimiento GLM de SAS[®] se probó el modelo estadístico y se verificó que la distribución de los residuales se ajustara a una distribución normal. La variable anchura de anillo se transformó a $\ln+c$; donde c representa una constante que, en este caso, fue igual a la unidad. Lo anterior para cumplir con los fundamentos básicos del análisis de varianza respecto a la distribución normal de los residuales (Lindgren, 1991). Las medias de densidad de la madera por sitio se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros medios por sitio y perfiles de densidad

La mayoría de los sitios mostraron un efecto juvenil que se reflejó en una tendencia de disminución de la densidad desde la médula hasta aproximadamente 15 años de edad cambial, después la densidad aumentó hacia la corteza en todos los sitios (Figura 1). Estas tendencias son similares a las documentadas en otras especies como *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. &

of residuals (Lindgren, 1991). The wood density means per site were compared with Tukey test ($p \leq 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Mean parameters per site and density profiles

Most of the sites showed a juvenile effect that was reflected in a density decrease trend from the pith to approximately 15 years of cambial age. Later the density increased towards the bark in all the sites (Figure 1). These trends are similar to those documented for other species such as *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. & Cham (Adlard *et al.*, 1979), *Fagus sylvatica* (Diaconu *et al.*, 2016), *Quercus petraea* Liebl (Hamada *et al.*, 2016), and *Pinus cooperi* C.E. Blanco (Pompa-García and Venegas-González, 2016). The density of the trees—which is reflected in the ring width, and therefore, in the wood density—influences the timber productivity. However, the estimated density average for the study area was 150 trees ha^{-1} ; therefore, it is unlikely that this variable affected the response in wood density. Soil depth also affects the productivity and ring width. Soils are shallower at higher altitudes and, because the sites are separated by 400 m in altitude, soil depth is more likely to have an impact. Some of the results can be attributed to the age of the trees located in the higher sites. Compared to old trees, young trees (less than 100 years old)

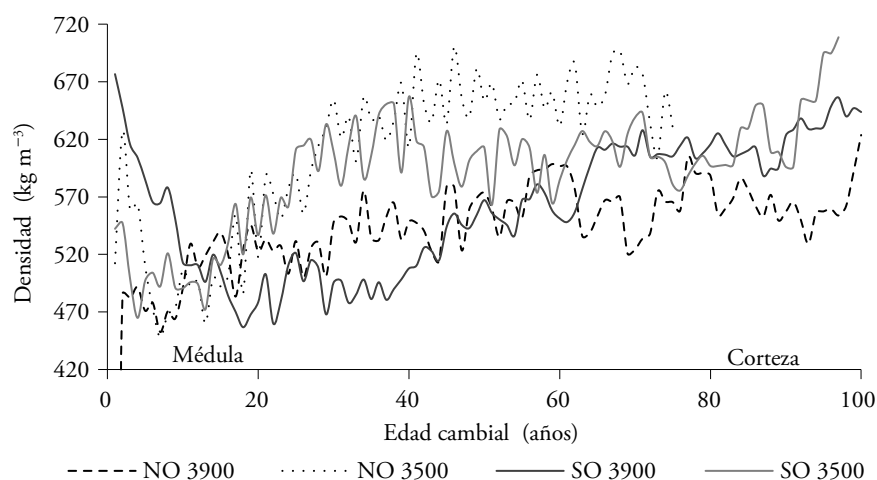


Figura 1. Variación radial de la densidad de la madera de *Pinus hartwegii*. Los prefijos NO y SO corresponden a las exposiciones Noroeste y Suroeste, respectivamente. Los números después del prefijo corresponden a la altitud.

Figure 1. Radial variation of the density of *Pinus hartwegii* wood. The NO (NW) and SO (SW) prefixes match the Northwest and Southwest expositions, respectively. The numbers after the prefix match the altitude.

Cham (Adlard *et al.*, 1979), *Fagus sylvatica* (Diaconu *et al.*, 2016), *Quercus petraea* Liebl (Hamada *et al.*, 2016) y *Pinus cooperi* C.E. Blanco (Pompa-García y Venegas-González, 2016). La densidad del arbolado influye en la productividad maderable, lo que se refleja en la anchura de anillos y, por lo tanto, en la densidad de la madera. No obstante, el promedio de densidad estimado para la zona de estudio fue 150 árboles ha⁻¹, por lo cual es poco probable que esta variable haya afectado la respuesta en densidad de la madera. Otro factor que afecta la productividad y anchura de anillos es la profundidad del suelo. Los suelos son menos profundos a mayores altitudes, y dado que los sitios están separados por 400 m de altitud, es más probable el efecto de profundidad del suelo. La mayor edad del arbolado en los sitios más elevados también puede explicar parte de los resultados. En los sitios de estudio el arbolado joven (menor de 100 años) responde más en crecimiento y vigor ante los cambios en altitud y exposición que el arbolado maduro, lo cual sugiere periodos más prolongados del proceso de formación y consolidación de la madera (Correa-Díaz *et al.*, 2019).

Los árboles fueron más jóvenes y con mayores diámetros en la altitud 3500 msnm; además, tuvieron mayor anchura de anillo total en la altitud mas baja (Cuadro 3).

Efecto de la altitud y exposición

La significancia estadística de los factores de estudio y de la variable transformada de anchura de anillo (Log (anchura de anillo+1) se presenta en el Cuadro 3, y la Figura 2 muestra la variación en densidad de la madera de acuerdo a la edad cambial y por sitio. El efecto de la interacción Altitud*Exposición fue altamente significativo ($p \leq 0.001$), lo cual indicó que la densidad de la madera varió con la altitud, pero la tendencia dependió de la exposición (Cuadro 3, Figura 2). Cuando la exposición fue NO el efecto del cambio de

respond faster to changes in altitude and exposition changes than mature trees, which suggests that the wood formation and consolidation process last longer in low altitudes with young trees (Correa- Díaz *et al.*, 2019).

The trees were younger and wider at an altitude of 3500 masl; their total ring width was also greater at the lowest altitude (Table 3).

Effect of altitude and aspect

Table 3 shows the statistical significance of the study factors and the ring width transformed variable of (Log (ring width+1), and Figure 2 shows the variation in wood density, according to cambial age and per site. The effect of the Altitude*Exposition interaction was highly significant ($p \leq 0.001$), which indicated that wood density varied with altitude, but that the trend depended on exposition (Table 3, Figure 2). For the NW exposition, the effect of the change in altitude was evident, while altitude had no effect in the SW exposition. The wood density also had a significant —although negative ($p \leq 0.001$)— correlation, with the ring width transformed variable (Table 3). The significance of the total ring width variable is explained by the dependence of wood density on the number, size and thickness of the cell wall of tracheid per unit volume (per voxel, in this case).

Positive changes in altitude in the NW exposition might have been the result of the higher humidity levels present under such conditions, which allow a better growth and possibly a greater accumulation of biomass in the secondary wall of the tracheids, and this was reflected in higher wood density. In relation to the factors of the site, the changes in the said variable are complex, as DÜthorn *et al.* (2016) proved in their studies with on *Pinus sylvestris* L. There is not always a direct relationship between ring width and wood

Cuadro 3. Efectos de los factores de estudio sobre la variación de la densidad de la madera de *Pinus hartwegii*.
Table 3. Effects of the study factors on the variation of *Pinus hartwegii* wood density.

Fuente de variación	GL	Cuadrados medios	Valor de F	P
Altitud	1	1631524.2	232.6	<0.0001
Exposición	1	5361.2	0.8	0.3821
Altitud×Exposición	1	328481.6	46.8	<0.0001
Log ((Anchura de anillo total) + 1)	1	2218627.1	316.3	<0.0001

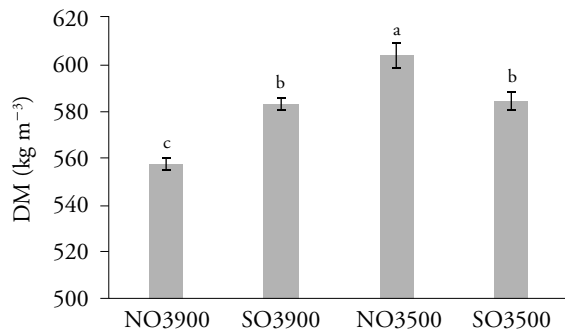


Figura 2. Valores medios de densidad de la madera de *Pinus hartwegii* (DM). Los prefijos NO y SO corresponden a las exposiciones Noroeste y Suroeste, respectivamente. Los números después del prefijo corresponden a la altitud. Las barras indican el error estándar y los valores con letras diferentes muestran diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Figure 2. *Pinus hartwegii* wood density (DM) mean values. The NO (NW) and SO (SW) prefixes match the Northwest and Southwest expositions, respectively. The numbers after the prefix match the altitude. The bars indicate the standard error and the values with different letters show significant difference ($p \leq 0.05$).

altitud fue evidente, mientras que en la exposición SO no hubo efecto de la altitud. La densidad de la madera también tuvo una correlación significativa, aunque negativa ($p \leq 0.001$) con la variable transformada anchura de anillo (Cuadro 3). La significancia de la variable anchura de anillo total se explica porque la densidad de la madera depende del número, tamaño y espesor de la pared celular de traqueidas por unidad de volumen (por voxel, en este caso).

Los cambios de altitud pudieron haber sido positivos en la exposición NO debido a que en tales condiciones hay mayor humedad que permite un mejor crecimiento y probablemente una mayor acumulación de biomasa en la pared secundaria en las traqueidas, lo cual se reflejó en mayor densidad de la madera. Los cambios en dicha variable, con relación a los factores del sitio, son complejos como se comprobó en estudios con *Pinus sylvestris* L. (Düthorn *et al.*, 2016). No siempre existe una relación directa entre ancho de anillo y densidad de la madera en coníferas (Esper *et al.*, 2015; Düthorn *et al.*, 2016). Es razonable suponer que un buen crecimiento reflejado en anillos amplios, especialmente de madera temprana, contribuye a que la densidad tienda a bajar. Sin embargo, hay que considerar dos aspectos en nuestro estudio. El primero es que los anillos se componen de madera temprana y tardía, esta última de mayor densidad. En lugares de buen crecimiento las dos bandas, temprana y tardía, son amplias contribuyendo a mayor densidad. En segundo lugar, nuestros datos se presentan con respecto a la edad del cambium y muestran que, al madurar, la densidad de la madera aumenta como en otras especies de pino (Pompa-García y Venegas-González, 2016). No obstante, esta maduración del cambium, que implica la fase intensa de depósitos en pared celular, se alcanza más rápido en los árboles del sitio NO-3500 que tiene mejor calidad. La densidad también puede ser mayor en altitudes más bajas porque la maduración

densidad en coníferas (Esper *et al.*, 2015; Düthorn *et al.*, 2016). It is reasonable to suppose that a good growth—reflected in wide rings (especially in the case of early wood)—contributes to a decreased in density. However, this study has to take two expositions into consideration. In the first place, the rings are composed of early and late wood; the latter has a higher density. In places of good growth, both bands—early and late—are broad, which contributes to a greater density. In the second place, the data in this study are presented in relation to the age of the cambium and show that, as it matures, the wood density increases as in other pine species (Pompa-García and Venegas-González, 2016). However, this maturation of the cambium—which involves the intense phase of cell wall deposits—is reached faster in the trees found in the NW-3500 site, which has a better quality. The density may also be higher at lower altitudes, because the maturation of the cell wall continues for longer periods, compared to higher altitudes. Gindl *et al.* (2001) observed this effect in *Picea abies* (L.) Karst. at low altitudes and these trees had wider rings, thicker cell walls, higher cell division rate, and longer maturation periods of the cell wall, with regard to trees of higher areas.

Rojas and Villers (2005) found lower densities in the *P. hartwegii* wood, but higher values in the N ($517 \text{ kg m}^{-3} \pm 4.9$) than those in the SW exposition ($475 \text{ kg m}^{-3} \pm 3.0$). This trend is consistent with regard to the exposition found in this study. Topaloğlu *et al.* (2016) found that wood density of *Fagus orientalis* Lipsky was higher at intermediate altitudes, because the environmental conditions in that area encourage growth, while at extreme altitudes the density decreased. Van der Maaten *et al.* (2012) studied the effect of exposition on wood density of *F. sylvatica* L. and concluded that site moisture was the determining factor in the

de la pared celular continúa por periodos más largos, comparada con mayores altitudes. Este efecto lo observaron Gindl *et al.* (2001) en *Picea abies* (L.) Karst. en bajas altitudes, y estos árboles tuvieron anillos más anchos, paredes celulares más gruesas, mayor tasa de división celular y periodos más prolongados para la maduración de la pared celular, con respecto a árboles de zonas más elevadas.

Rojas y Villers (2005) encontraron densidades menores a las de este estudio en la madera de *P. hartwegii*, pero con mayores valores en las exposiciones N ($517 \text{ kg m}^{-3} \pm 4.9$) que en las SO ($475 \text{ kg m}^{-3} \pm 3.0$), tendencia consistente con respecto a lo encontrado en nuestro estudio. Para *Fagus orientalis* Lipsky, Topaloğlu *et al.* (2016) encontraron que la densidad de la madera fue mayor en altitudes intermedias, gracias a las mejores condiciones ambientales para el crecimiento que ahí prevalecen, mientras que en altitudes extremas la densidad disminuyó. Van der Maaten *et al.* (2012) estudiaron el efecto de la exposición en la densidad de madera de *F. sylvatica* L. y concluyeron que la humedad del sitio fue el factor determinante en la formación de la madera. Diaconu *et al.* (2016) también probaron el efecto de la exposición en la densidad de la madera de *F. sylvatica* y aunque encontraron densidades de madera mayores en exposiciones NO con respecto a la SO, concluyeron que la edad del cambium fue más importante que la exposición o la anchura del anillo. Nuestro estudio también mostró que la densidad de la madera varía con la edad cambial y se estabiliza al envejecer el árbol (Figura 1).

La falta de efecto de la altitud sobre la densidad de la madera cuando se mantuvo constante la exposición SO podría explicarse por la mayor temperatura en esta exposición, ya que en las regiones del límite arbóreo el factor determinante de la fotosíntesis y de la formación de madera es la baja temperatura (Grace *et al.*, 2002; Rossi *et al.*, 2007). Lo anterior fue congruente con los valores medios de temperatura registrados en los sitios de nuestro estudio (Cuadro 1).

En el sitio NO3500, con condiciones más favorables de temperatura y humedad relativa para el crecimiento, la densidad de madera y la anchura de anillo total tendieron a ser mayores como se ha confirmado en *Pinus sylvestris* L. (Wodzicki, 1971) y *Picea marina* (Mill.) Britton, Sterns & Poggenburg (Dufour y Morin, 2010). Lo anterior refuerza el argumento de que la temperatura y humedad son factores importantes

formation of wood. Diaconu *et al.* (2016) also proved the effect of exposition on the density of *F. sylvatica* wood; although they found higher wood densities under NW expositions compared with SW, they concluded that the age of the cambium was more important than the exposition or ring width. Our study also showed that wood density varies with cambial age and stabilizes as the tree ages (Figure 1).

Altitude does not have an effect on the wood density, when the SW exposition is kept constant. This lack of effect could be explained by the higher temperature in this exposition. In the tree line regions, low temperature determines the photosynthesis and formation of wood (Grace *et al.*, 2002; Rossi *et al.*, 2007). This was consistent with the mean temperature values recorded in the sites of our study (Table 1).

At the NW3500 site, which provides more favorable temperature and relative humidity conditions for growth, wood density, and total ring width tended to be higher as confirmed for *Pinus sylvestris* L. (Wodzicki, 1971) and *Picea marina* (Mill.) Britton, Sterns & Poggenburg (Dufour and Morin, 2010). This reinforces the argument that temperature and humidity are important factors that affect wood density (Fan *et al.*, 2009).

Late wood ratio

Higher density was found at the NW 3500 site, as well as a trend towards higher ratio of late wood and ring width (Figure 3). However, the organization of cell structures was different, to such an extent that it exceeded the density of the remaining sites. The ratio of late wood in some boreal forests can be kept constant (30 %), even though there are regional variations of ring width. However, the results of this study indicate a significant topographical effect determined by altitude and exposition (Düthorn *et al.*, 2016).

The lower wood density in the NW3900 site can be a reflection of the weather influence in the formation process. A decrease in the ratio of late wood produces narrower rings at higher altitudes (lower temperature) and results in lower wood densities. This is probably because the resistance priority in late wood becomes less crucial than the growth in diameter (Rao *et al.*, 1997; Park and Spiecker, 2005), and the increase of lignin at higher altitudes is a compensation mechanism that maintains the mechanical structure of the xylem

que inciden en la densidad de la madera (Fan *et al.*, 2009).

Proporción de madera tardía

En el sitio NO3500 se halló mayor densidad, además de una tendencia de mayor proporción de madera tardía y anchura de anillo (Figura 3). Sin embargo, la organización de las estructuras celulares fue diferente, tanto que superó en densidad a los otros sitios. La proporción de madera tardía en algunos bosques boreales puede mantenerse constante, en 30 %, a pesar de que existan variaciones en anchura de anillo a nivel regional. Sin embargo, los resultados de este estudio denotan un efecto significativo a nivel topográfico determinado por la altitud y la exposición (Düthorn *et al.*, 2016).

La menor densidad de madera en el sitio NO3900 puede ser un reflejo de la influencia del clima en el

(Gindl *et al.*, 2001). Meanwhile sites at lower altitudes have wider rings and thicker cell wall than sites at high altitudes with thinner secondary walls and lower density. Therefore, in the NW3500 site, this condition was combined with good radial growth and higher density.

Computed tomography results

Measuring wood density using XRCT proved to be a viable procedure for the generation of different density profiles in each site. The said profiles support the significant effect of the Altitude*Exposition interaction (Table 3). Moreover, the density values obtained in this study were higher than those recorded by other authors who used gravimetric methods. Thus, Rojas and Villers (2005) determined mean values of 497 kg m^{-3} in *P. hartwegii* wood samples. Although the purpose of Rojas and Villers (2005) was not to

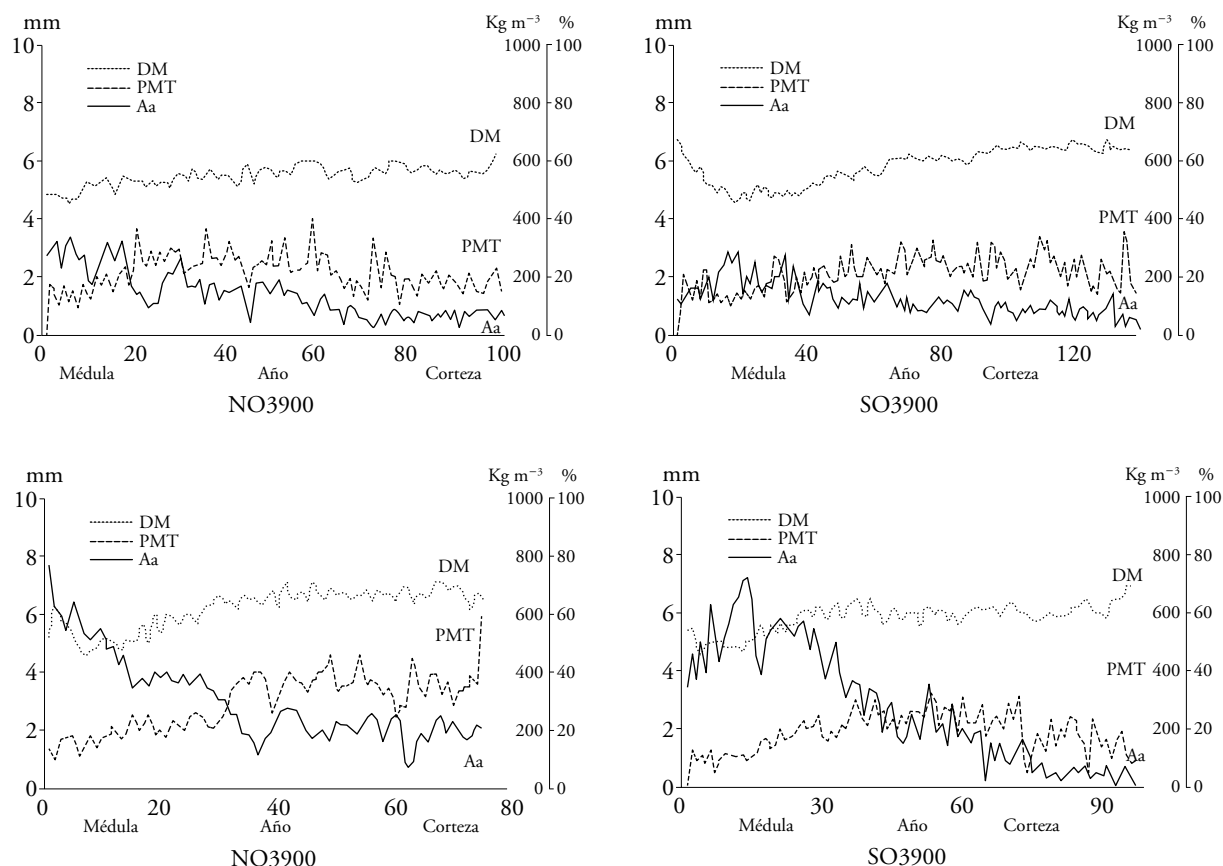


Figura 3. Tendencias de densidad de la madera (DM), proporción de madera tardía con respecto a la anchura de anillo total (PMT) y anchura de anillo total (Aa) por sitio. El prefijo NO significa Noroeste y SO es Suroeste, mientras que 3900 y 3500 corresponden a niveles de altitud.

Figure 3. Wood density (DM) trends, ratio of late wood in relation to total ring width (PMT), and total ring width (Aa) per site. The NO (NW) prefix means Northwest and the SO (SW) prefix means Southwest, while 3900 and 3500 mean altitude levels.

proceso de su formación. Una disminución en la proporción de madera tardía origina anillos más estrechos en mayores altitudes (menor temperatura), y ocasiona densidades de madera más bajas. Esto probablemente se debe a que la prioridad de la resistencia en la madera tardía se vuelva menos crucial que el crecimiento en diámetro (Rao *et al.*, 1997; Park y Spiecker, 2005), y el incremento de lignina a mayor altitud sea un mecanismo de compensación para mantener la estructura mecánica del xilema (Gindl *et al.*, 2001). Mientras que los sitios con baja elevación tienen anillos más anchos y mayor grosor de pared celular que los sitios con altitudes altas que presentan paredes secundarias más delgadas y menor densidad y por esa razón en el sitio NO3500 se combinó con buen crecimiento radial y mayor densidad.

Resultados de la tomografía computarizada

La medición de la densidad de la madera a partir de TCRX mostró ser un procedimiento viable ya que generó perfiles distintos de densidad en cada sitio, que sustentan el efecto significativo de la interacción Altitud*Exposición (Cuadro 3). Más aún, los valores de densidad obtenidos en este estudio fueron mayores a los consignado por otros autores con métodos gravimétricos. Así, Rojas y Villers (2005) determinaron valores de medios de 497 kg m^{-3} en muestras de madera de *P. hartwegii*. Aunque el propósito de Rojas y Villers (2005) no fue comparar densidades entre exposiciones, sus resultados muestran densidades mayores al norte en comparación al sureste, lo que coincide con nuestros resultados. Echenique y Becerra (1981) registraron 480 kg m^{-3} para la especie investigada. Las diferencias en parte podrían deberse a la variación natural de la especie en los diferentes sitios donde crece, o bien a que en los métodos destructivos las muestras se llevan a peso anhidro y se relacionan con el volumen en verde. Las muestras de nuestro estudio secadas al aire libre tenían un contenido de humedad promedio de 8 %, que pudo influir en los resultados, aunque no considerablemente. Por ejemplo, con el equipo de TCRX en *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco, hubo un aumento en la densidad estimada de la madera del 4.6 %, cuando cambió la humedad de las muestras desde 0 a 8.9 % (Osborne *et al.*, 2016). Al tomar como referencia los resultados de estos autores, las mediciones de nuestro estudio se ajustarían en no

compare densities between expositions, their results show higher densities in the North compared to the Southeast, which matches our results. Echenique and Becerra (1981) recorded 480 kg m^{-3} for the species under research. The differences could be partially caused by the natural variation of the species in the different sites where it grows, or rather because the samples obtained through destructive methods have an anhydrous weight and are related to the green volume. The outdoor dried samples used in our study had a mean moisture content of 8 %, which could have influenced the results, although not to a considerable degree. For example, when *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco was evaluated using the XRCT equipment, the estimated wood density increased by 4.6 %, when the sample humidity changed from 0 to 8.9 % (Osborne *et al.*, 2016). By taking as a reference the results of these authors, the measurements in our study would be adjusted by no more than 5 %. De Ridder *et al.* (2011) compared the density measurement of *Terminalia superba* Engl. & Diels wood using X-ray and gravimetric methods, and although the samples subjected to radiography were air-dried and had a 12-15 % humidity, this did not have an impact on the results of neither method and they were not statistically different. Therefore, when the XRCT is employed, an approximate adjustment of -5 % could be made, in the case of outdoor dried samples that contain 8 to 10 % moisture.

The additional factors—the neck reconstruction filter, a voltage of 120 kVp, and the intensity of 275 mA—used in this study were adapted to detect the variation in density, and although they are not exactly equal to those of any specific author, some of them tested those combinations. This highlights the importance of carrying out calibrations based on the brand and the medical equipment used (Lindgren, 1991; Freyburger *et al.*, 2009; Uner *et al.*, 2009; Steffenrem *et al.*, 2014; Osborne *et al.*, 2016).

CONCLUSIONS

The X-ray computed tomography medical equipment allowed to distinguish changes in wood density between sites with different altitude and exposition. Although the wood density values measured with this method are higher than those reported by gravimetric methods, statistical evidence of differences between sites was found.

más del 5 %. De Ridder *et al.*, (2011) compararon la medición de la densidad de la madera de *Terminalia superba* Engl. & Diels mediante métodos de rayos X y gravimétricos y, aunque las muestras sometidas a radiografía se secaron al aire y tenían una humedad entre el 12 y 15 %, esto no afectó los resultados entre los dos métodos, que no fueron estadísticamente diferentes. Lo anterior sugiere que para usar TCRX, se podría hacer un ajuste aproximado de -5 % si las muestras secadas al aire libre contienen de 8 a 10 % de humedad.

Los factores adicionales, el filtro de reconstrucción para cuello, un voltaje de 120 kVp y la intensidad de 275 mA, usados en este estudio, fueron adecuados para detectar la variación en densidad y aunque no son exactamente iguales a los de algún autor específico, sí son combinaciones probadas por algunos de ellos. Esto resalta la importancia de hacer calibraciones de acuerdo con la marca y el equipo médico usado (Lindgren, 1991; Freyburger *et al.*, 2009; Uner *et al.*, 2009; Steffenrem *et al.*, 2014; Osborne *et al.*, 2016).

CONCLUSIONES

El equipo médico de tomografía computarizada de rayos X permitió diferenciar los cambios en la densidad de la madera entre sitios con diferente altitud y exposición. Aunque los valores de densidad de madera medidos con este método son superiores a los reportados por métodos gravimétricos, hubo evidencia estadística de las diferencias entre sitios.

La estructura de la madera y sus componentes variaron con la altitud y exposición del sitio. Esto sugiere que también se deben esperar respuestas diferenciales en la densidad de la madera en el paisaje forestal y de acuerdo con los cambios climáticos que ocurran en el futuro.

En el futuro el monitoreo de densidad de la madera en sitios permanentes puede ser una herramienta que aporte evidencias de los cambios en el ciclo del carbono, así como en la productividad primaria neta, por efecto de variabilidad climática.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada a la primera autora.

The structure of the wood and its components varied based on the altitude and exposition of the site. This suggests that differential responses in wood density should be expected in the forest landscape, in accordance with future climate changes.

In the future, wood density monitoring in permanent sites can be a tool that provides evidence of changes in the carbon cycle, as well as net primary productivity, as a consequence of climate variability.

—End of the English version—



LITERATURA CITADA

- Acosta Mireles, M., F. Carrillo Anzures, D. Delgado, and E. Velasco Bautista. 2014. Establecimiento de parcelas permanentes para evaluar impactos del cambio climático en el Parque Nacional Izta-Popo. *Rev. Mex. Cien. For.* 5: 06-29.
- Adlard P. G., C. G. Bailey, and S. Austin. 1979. Wood density variation in plantation-grown *Pinus patula* from the Viphyra Plateau Malawi. Department of Forestry Commonwealth Institute, University of Oxford. C.F.I. Occas. pap. 5: 1-27.
- Benson-Cooper, D. M., Knowles, R. L., and Thomson, F. J. 1982. Computed tomographic scanning for the detection of defects within logs. *FRI Bulletin*, Forest Research Institute, New Zealand. 9 p.
- Bouriaud, O., J. M. Leban, D. Bert, and C. Deleuze. 2005. Intra-annual variations in climate influence growth and wood density of Norway spruce. *Tree Physiol.* 25: 651-660.
- Briffa, K. R., T. J. Osborn, and F. H. Schweingruber. 2004. Large-scale temperature inferences from tree rings: a review. *Glob. Planet. Change* 40: 11-26.
- Calzado A., y J. Geleijns. 2010. Tomografía computarizada. Evolución, principios técnicos y aplicaciones. *Rev. Física Médica* 11: 163-180.
- Correa-Díaz, A., L. Silva, W. Horwath, A. Gómez-Guerrero, J. Vargas-Hernández, J. Villanueva-Díaz, A. Velázquez-Martínez, and J. Suárez-Espinoza. 2019. Linking remote sensing and dendrochronology to quantify climate-induced shifts in high-elevation forests over space and time. *J. Geophys. Res. Biogeosci.* 124: 166-183.
- De Ridder, M., J. Van den Bulcke, D. Vansteenkiste, D. Van Loo, M. Dierick, B. Masschaele, Y. De Witte, D. Mannes, E. Lehmann, H. Beeckman, L. Van Hoorebeke, and J. Van Acker. 2011. High-resolution proxies for wood density variations in *Terminalia superba*. *Ann. Bot.* 107: 293-302.
- Diaconu, D., M. Wassenberg, and H. Spiecker. 2016. Variability of European beech wood density as influenced by interactions between tree-ring growth and aspect. *For. Ecosyst.* 3:1-9.
- Dufour, B., and H. Morin. 2010. Tracheid production phenology of *Picea mariana* and its relationship with climatic fluctuations and bud development using multivariate analysis. *Tree Physiol.* 30: 853-865.

- Düthorn, E., L. Schneider, B. Günther, S. Gläser, and J. Esper. 2016. Ecological and climatological signals in tree-ring width and density chronologies along a latitudinal boreal transect. *Scand. J. Forest Res.* 31: 750-757.
- Echenique, M. R., y M. J. Becerra. 1981. Algunas características fisicomecánicas de la madera de tres especies de la Cordillera Neovolcánica. Nota Técnica No. 27. INIF. México. 61 p.
- Esper, J., L. Schneider, J. E. Smerdon, B. R. Schöne, and U. Büntgen. 2015. Signals and memory in tree-ring width and density data. *Dendrochronologia* 35: 62-70.
- Fan, Z. X., A. Bräuning, B. Yang, and K. F. Cao. 2009. Tree ring density-based summer temperature reconstruction for the central Hengduan Mountains in Southern China. *Glob. Planet. Change* 65: 1-11.
- Freyburger, C., F. Longuetaud, F. Mothe, T. Constant, and J. M. Leban. 2009. Measuring wood density by means of X-ray computer tomography. *Ann. For. Sci.* 66(804): 1-9.
- Fritts, H. C. 1976. Chapter 2. Tree Rings and Climate. Academic Press. London. 553 p.
- Fromm, J. H., I. Sautter, D. Matthies, J. Kremer, P. Schumacher, and C. Ganter. 2001. Xylem water content and wood density in spruce and oak trees detected by high-resolution computed tomography. *Plant Physiol.* 127: 416-425.
- Funt, B. V., and E. C. Bryant. 1987. Detection of internal log defects by automatic interpretation of computer tomography images. *Forest Prod. J.* 37: 56-62.
- García, E. 2004. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen: (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). 2a ed. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Geografía. Serie Libros, No. 6. Mexico, D. F. 98 p.
- Gindl, W., M. Grabner, and R. Wimmer. 2001. Effects of altitude on tracheid differentiation and lignification of Norway spruce. *Can. J. Bot.* 79: 815-821.
- Gómez-Guerrero, A., L. Silva, M. Barrera-Reyes, B. Kishchuk, A. Velázquez-Martínez, T. Martínez-Trinidad, O. F. Plascencia-Escalante, and W. Horwath. 2013. Growth decline and divergent tree ring isotopic composition ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$) contradict predictions of CO_2 stimulation in high altitudinal forests. *Glob. Change Biol.* 19: 1748-1758.
- Grace, J., F. Berninger, and L. Nagy. 2002. Impacts of climate change on the tree line. *Ann. Bot.* 90: 537-544.
- Grissino-Mayer, H. D. 2001. Evaluating crossdating accuracy: a manual and tutorial for the computer program COFECHA. *Tree-Ring Res.* 57: 205-221.
- Hamada, J., A. Pétrissans, F. Mothe, J. Ruelle, M. Pétrissans, and P. Gérardin. 2016. Variations in the natural density of European oak wood affect thermal degradation during thermal modification. *Ann. For. Sci.* 73: 277-286.
- Hervé, V., F. Mothe, C. Freyburger, E. Gelhaye, and P. Frey-Klett. 2014. Density mapping of decaying wood using X-ray computed tomography. *Int. Biodeterior. Biodegradation* 86: 358-363.
- Holmes, R. 1983. Computer-assisted quality control in tree-ring dating and measurement. *Tree Ring Bull.* 43: 69-75.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2016. Continuo de Elevaciones Mexicano 3.0 (CEM 3.0). <http://www.beta.inegi.org.mx/app/geo2/elevacionesmex/index.jsp>. (Consulta: julio 2016).
- Jacquín, P., F. Longuetaud, J. M. Leban, and F. Mothe. 2017. X-ray microdensitometry of wood: A review of existing principles and devices. *Dendrochronologia* 42: 42-50.
- Lindgren, L. O. 1991. Medical CAT-scanning: X-ray absorption coefficients, CT-numbers and their relation to wood density. *Wood Sci. Technol.* 25: 341-349.
- Mendoza-Ponce, A., and L. Galicia. 2010. Aboveground and belowground biomass and carbon pools in highland temperate forest landscape in Central Mexico. *Forestry* 83: 497-506.
- Osborne, N. L., Ø. A. Høibø, and D. A. Maguire. 2016. Estimating the density of coast Douglas-fir wood samples at different moisture contents using medical X-ray computed tomography. *Comput. Electron. Agric.* 127: 50-55.
- Park, Y. I., and H. Spiecker. 2005. Variations in the tree-ring structure of Norway spruce (*Picea abies*) under contrasting climates. *Dendrochronologia* 23: 93-104.
- Pompa-García, M., and A. Venegas-González. 2016. Temporal variation of wood density and carbon in two elevational sites of *Pinus cooperi* in relation to climate response in northern México. *PLOS ONE* 11: e0156782.
- Poorter, L., S. J. Wright, H. Paz, D. D. Ackerly, R. Condit, G. Ibarra-Manríquez, K. E. Harms, J. C. Licona, M. Martínez-Ramos, S. J. Mazer, H. C. Muller-Landau, M. Peña-Claros, C. O. Webb, and I. J. Wright. 2008. Are functional traits good predictors of demographic rates? Evidence from five neotropical forests. *Ecology* 89: 1908-1920.
- Ramírez G., J. C., C. Arboleda C., y C. H. McCollough. 2008. Tomografía computarizada por rayos X: fundamentos y actualidad. *Rev. Ing. Biom.* 2: 14-31.
- Rao, R. V. D. P. Aebischer, and M. P. Denne. 1997. Latewood density in relation to wood fibre diameter, wall thickness, and fibre and vessel percentages in *Quercus robur* L. *IAWA Journal* 18: 127-138.
- Rathgeber, C. B. K., L. Misson, A. Nicault, A., and J. Guiot. 2005. Bioclimatic model of tree radial growth: Application to the French Mediterranean Aleppo pine forests. *Trees* 19: 162-176.
- Rojas, G. F., y L. Villers R. 2005. Comparación de dos métodos para estimar la densidad de la madera de *Pinus hartwegii* Lindl. del Volcán La Malinche. *Madera y Bosques* 11: 63-71.
- Rossi, S., A. Deslauriers, T. Anfodillo, and V. Carraro. 2007. Evidence of threshold temperatures for xylogenesis in conifers at high altitudes. *Oecologia* 152: 1-12.
- Sánchez, G. A., L. López, M., y H. Vibrans. 2006. Composición y patrones de distribución geográfica de la flora del bosque de oyamel del Cerro Tláloc, México. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 79: 67-78.
- Schweingruber, F. H., A. Börner, and E. D. Schulze. 2007. Atlas of Woody Plant Stems: Evolution, Structure and Environmental Modifications. Springer-Verlag. Berlin, Germany. 229 p.
- Schweingruber, F. H., H. C. Fritts, O. U. Bräker, L. G. Drew and E. Schär. 1978. The X-ray technique as applied to dendroclimatology. *Tree-Ring Bull.* 38: 61-91.
- Silva, L. C. R., A. Gómez-Guerrero, T. A. Doane, and W. R. Horwath. 2015. Isotopic and nutritional evidence for species and site-specific responses to N deposition and elevated CO_2 in temperate forests. *J. Geophys. Res. Biogeosci.* 120: 1110-1123.
- Steffenrem, A., H. Kvaalen, K. S. Dalen, and Ø. A. Høibø. 2014. A high-throughput X-ray-based method for measurements of

- relative wood density from unprepared increment cores from *Picea abies*. Scand. J. Forest Res. 29: 506-514.
- Stokes, M. A., and T. L. Smiley. 1968. An Introduction to Tree-Ring Dating. University of Chicago Press. Chicago, IL. USA. 73 p.
- Topaloglu, E. A., N., L. Altun, and B. Serdar. 2016. Effect of altitude and aspect on various wood properties of Oriental beech (*Fagus orientalis* Lipsky) wood. Turk. J. Agric. For. 40: 397-406.
- Uner, B., O. Oyar, A. Var, and O. Altnta. 2009. Effect of thinning on density of *Pinus nigra* tree using X-ray computed tomography. J. Environ. Biol. 30: 359-362
- Van der Maaten, E., M. van der Maaten-Theunissen, and H. Spiecker. 2012. Temporally resolved intra-annual wood density variations in European beech (*Fagus sylvatica* L.) as affected by climate and aspect. Ann. For. Sci. 55: 113-124.
- Villanueva-Diaz, J., D. W. Stahle, B. H. Luckman, J. Cerano-Paredes, M. D. Therrell, M. K. Cleaveland, and E. Cornejo-Oviedo. 2007. Winter-spring precipitation reconstructions from tree rings for northeast Mexico. Clim. Change 83: 117-131.
- Wei, Q., B. Leblon, and A. La Rocque. 2011. On the use of X-ray computed tomography for determining wood properties: A review. Can. J. For. Res. 41: 2120-2140.
- Wodzicki, T. J. 1971. Mechanism of xylem differentiation in *Pinus silvestris* L. J. Exp. Bot. 22: 670-687.