



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Germinación de semillas de *Pinus hartwegii* de
diferentes altitudes del Parque Nacional La
Malinche

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Saúl George Miranda

Director
Dra. Susana Guillén Rodríguez

Tlaxcala, Tlax.

Diciembre, 2019



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Germinación de semillas de *Pinus hartwegii* de
diferentes altitudes del Parque Nacional La
Malinche

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Saúl George Miranda

Comité Tutorial

Director

Dra. Susana Guillén Rodríguez

Tutores

Dr. Héctor Viveros Viveros

Dr. Jorge Vázquez Pérez

Tlaxcala, Tlax.

Diciembre, 2019

Financiamiento

Programa de Infraestructura Científica y Tecnológica 2016, proyecto “Dinámica de la regeneración de bosques de *Abies religiosa* y *Pinus hartwegii* en el Parque Nacional La Malinche” (clave 268720).

Beca de maestría CONACYT (Número:853889).



Universidad
Autónoma de
Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas
Coordinación de la División de Ciencias Biológicas
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado



**COORDINACIÓN POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
P R E S E N T E**

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que **Saúl George Miranda** realiza para la obtención del grado de Maestro en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es: **“Germinación de semillas de *Pinus hartwegii* de diferentes procedencias altitudinales del Parque Nacional La Malinche”**.

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., 19 DE JULIO 2019

DRA. SUSANA GUILLÉN RODRÍGUEZ

DR. HÉCTOR VIVEROS VIVEROS

DR. JORGE VÁZQUEZ PÉREZ

DR. JOSÉ LUIS MARTÍNEZ Y PÉREZ

DRA. GEMA LILIA GALINDO FLORES



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado bajo la Norma:
ISO 9001:2015-NMX-CC-9001-IMNC-2015



Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala por mi formación académica.

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada durante la maestría (853889).

A los miembros del comité tutorial Dra. Susana Guillén Rodríguez, Dr. Héctor Viveros Viveros, Dr. Jorge Vázquez Pérez por su tiempo y dedicación para que este proyecto fuera posible.

Agradecimientos a título personal

A mi familia por el apoyo que siempre me han dado en los proyectos que emprendo.

A mi director de tesis Dra. Susana Guillén Rodríguez por su dirección y apoyo para realizar este trabajo y por su paciencia en mi formación académica.

A mi comité tutorial por su dirección en este trabajo.

A Raúl y Claudia por su amistad y ayuda.

A Bélgica y Miguel Por su amistad y apoyo.

Dedicatoria

“Érase un verde bosque de eterna primavera,
y érase un niño iluso que vagaba al azar...

El niño entró en el bosque siguiendo una quimera;
entró en el bosque... Y nadie lo ha visto regresar.”

José Ángel Buesa

Dedicada a todas las personas que trabajan en la conservación de los bosques.

Resumen

Desde la época preindustrial la temperatura global ha aumentado entre 0.8 y 1.5°C y, se pronostica que seguirá en aumento aunado a una disminución importante de la precipitación. Los efectos del cambio climático están siendo más intensos en las altas montañas en comparación con regiones de menor elevación y se espera que sean aún más severos incrementando la probabilidad de que los ecosistemas de alta montaña se reduzcan y/o desaparezcan debido al desacoplamiento de sus poblaciones al hábitat climático. Para la región central de México, se espera que los bosques de alta montaña distribuidos por arriba de los 3500 m snm a lo largo de la Faja Volcánica Transmexicana sean los más impactados. En estos bosques domina *Pinus hartwegii*, encontrándose hasta los 4200 m snm, marcando el límite de la distribución arbórea. Modelos de distribución potencial indican que en 2030 las poblaciones de *P. hartwegii* se verán reducidas. Sin embargo, no se sabe cuál será el efecto que el cambio climático tendrá sobre las etapas tempranas de su ciclo de vida que son las más vulnerables y un cuello de botella que determina la persistencia de las poblaciones a largo plazo. En este estudio se evaluó el efecto de la temperatura y humedad en la germinación de semillas de *Pinus hartwegii* de diferentes procedencias altitudinales. Bajo la hipótesis de que: La exposición de individuos de *Pinus hartwegii* de diferentes altitudes a condiciones ambientales diferentes (asociadas a la elevación) ocasiona que las semillas generadas de estos individuos muestren diferencias significativas en las tasas de germinación. durante 41 días y dentro de cámaras de germinación se evaluó la tasa de germinación de semillas de *P. hartwegii* de seis procedencias altitudinales (de 3250 a 4000 m snm, separadas por 150 m) del Parque Nacional La Malinche, Puebla-Tlaxcala, en el centro de México. Considerando las condiciones de temperatura presentes en La Malinche se definieron cinco tratamientos de temperatura (10, 15, 20, 25 y 30°C) bajo los que se evaluó el efecto de la disponibilidad de humedad a través de un gradiente hídrico (0.0, -0.2, -0.4 y -0.6 Megapascuales) generado con soluciones de Polietilenglicol 8000 de diferente concentración. Para todas las procedencias altitudinales los análisis de devianza mostraron diferencias significativas en el inicio y velocidad de germinación asociadas a la temperatura y humedad. A diferencia de las semillas procedentes de las altitudes bajas y medias, las semillas procedentes de las elevaciones mayores (3700- 4000 m snm) tuvieron bajas tasas

de germinación a lo largo del gradiente térmico e hídrico probado registrando la mayor germinación en temperaturas más bajas que las requeridas por las semillas de altitudes bajas y medias, mostrando por un lado su adaptación a las condiciones presentes en las mayores elevaciones pero también su alta susceptibilidad ante condiciones de estrés hídrico y térmico.

Palabras clave: calentamiento global, estrés hídrico y térmico, Faja Volcánica Transmexicana, Polietilenglicol, Parque Nacional La Malinche.

Índice

1. Introducción	1
2. Antecedentes	5
2.3 Germinación en coníferas	5
2.3.1 Tratamientos pregerminativos	5
2.3.2 Efectos maternos en la germinación	6
2.4 Germinación en el género <i>Pinus</i>	7
2.5 Germinación en semillas <i>Pinus hartwegii</i>	10
2.6 <i>Pinus hartwegii</i> frente al cambio climático	10
2.7 Estado del bosque de <i>Pinus hartwegii</i> en el Parque Nacional La Malinche	11
3. Justificación	13
4. Hipótesis	14
5. Objetivos	14
6.1 Objetivo general	14
6.2 Objetivos específicos	14
6. Metodología	15
6.1 Área de estudio	15
6.2 Sitios de muestreo	16
6.3 Modelo de cambio climático	17
6.4 Colecta de estróbilos	17
6.6 Establecimiento de tratamientos de humedad y temperatura	20
6.7 Desinfección y tratamiento pregerminativo de semillas	20
6.8 Establecimiento experimento de germinación	21
6.8 Análisis de datos	23
7. Resultados	24
7.1 Tasa de germinación dentro de las procedencias	24
7.2 Modelo de cambio climático	33
8. Discusión	35
9. Conclusiones	38
10. Recomendaciones	39

11. Referencias	40
------------------------------	-----------

Índice de figuras

- Figura 1.** Muestreo de estróbilos de *Pinus hartwegii* en el Parque Nacional La Malinche (a) Vista panorámica de los árboles ubicados a 4000 m de altitud; (b) Recolecta de conos con ayuda de una pértiga de poda; (c) Árboles excluidos por su infestación de muérdago; (d) y (e) Vista panorámica y detalle de un árbol parasitado por roya en los conos (*Cronartium conigeum*); (f) Exclusión de conos dañados; (g) Saco de tela con conos debidamente etiquetado..... 18
- Figura 2.** Proceso de extracción manual de semillas de *P. hartwegii*. (a) Cono seco con brácteas abiertas; (b) Perforación del cono desde su base; (c) Corte longitudinal de cono para extraer las semillas; (d) Semillas aladas en el lado izquierdo y brácteas en el lado derecho..... 19
- Figura 3.** Proceso de desinfección y enfriamiento de semillas de *P. hartwegii*. (a) Semillas inmersas dentro de una solución de hipoclorito de sodio (NaClO); (b) Eliminación del exceso de NaClO; (c) Recipiente con semillas al interior listas para estratificación.21
- Figura 4.** Preparación de soluciones con diferente potencial hídrico (MPa) generados a partir de diferentes concentraciones de Polietilenglicol. (a) PEG 8000; (b) Disolución de PEG en agua tibia; (c) Matraces con diferentes soluciones de PEG.22
- Figura 5.** Siembra de semillas de *P. hartwegii*. (a) Vertido de la solución en la caja Petri; (b) Gasa estéril con solución de PEG; (c) Siembra de las semillas con ayuda de una pinza de disección; (d) Cajas Petri debidamente etiquetadas con semillas al interior; (e) Colocación aleatoria de cajas Petri dentro de cámara de germinación; (f) Cámara de germinación.22
- Figura 6.** Germinación de las semillas. (a) y (b) Protrusión de la radícula fuera de la testa....23
- Figura 7.** Modelo Lineal-Logarítmico de germinación de semillas de *Pinus hartwegii* procedentes de 3250 m de altitud bajo diferentes tratamientos de temperatura y humedad.29
- Figura 8.** Modelo Lineal-Logarítmico de germinación de semillas de *Pinus hartwegii* procedentes de 3400 m de altitud bajo diferentes tratamientos de temperatura y humedad.29
- Figura 9.** Modelo Lineal-Logarítmico de germinación de semillas de *Pinus hartwegii* procedentes de 3550 m de altitud bajo diferentes tratamientos de temperatura y humedad.30
- Figura 10.** Modelo Lineal-Logarítmico de germinación de semillas de *Pinus hartwegii* procedentes de 3700 m de altitud bajo diferentes tratamientos de temperatura y humedad.30
- Figura 11.** Modelo Lineal-Logarítmico de germinación de semillas de *Pinus hartwegii* procedentes de 3850 m de altitud bajo diferentes tratamientos de temperatura y humedad.31

Figura 12. Modelo Lineal-Logarítmico de germinación de semillas de *Pinus hartwegii* procedentes de 4000 m de altitud bajo diferentes tratamientos de temperatura y humedad.31

Figura 13. Modelo Lineal-Logarítmico de germinación de las semillas de *Pinus hartwegii* de diferentes procedencias altitudinales; a-d 4000 m, e-h 3850 m, i-l 3700 m, m-o 3550 m, p-s 3400 m, t-w 3250 m de altitud bajo diferentes tratamientos de temperatura (líneas de colores; azul rey 10° , azul cielo 15°, verde 20°, amarillo 25° y naranja 30° C) y humedad (ordenados por columnas de izquierda a derecha; 0.0, -0.2, -0.4 y -0.6 MPa) . Las líneas representan el estimado por el modelo, los puntos son el promedio del valor observado y las barras de error corresponden al error estándar.32

Índice de tablas

Tabla 1. Ubicación geográfica de los sitios de colecta de conos de <i>P. hartwegii</i> en el Parque Nacional La Malinche (Las coordenadas pertenecen al primer árbol muestreado en cada altitud)	16
Tabla 2. Análisis de devianza del número de semillas germinadas de <i>Pinus hartwegii</i> procedentes de seis altitudes del PNLN registradas en un gradiente de temperatura y humedad.	27
Tabla 3. Temperatura promedio anual (°C).....	33
Tabla 4. Temperatura promedio de los meses más cálidos (°C)	34
Tabla 5. Promedio de la temperatura máxima en los meses más cálidos (°C).....	34
Tabla 6. Precipitación promedio anual (mm)	34

1. Introducción

A partir del desarrollo industrial, actividades humanas como la deforestación y uso de combustibles fósiles aumentaron a grandes escalas y sin medida. Estas actividades se encuentran entre las que han tenido la mayor contribución al aumento de gases como CO₂ (Bióxido de Carbono) y CH₄ (Metano) en la atmosfera. La principal consecuencia del aumento de estos gases es que a nivel global la temperatura ambiental ha incrementado entre 0.8 y 1.5°C (IPCC 2013, IPCC 2018). La temperatura, además del agua, se encuentra entre los parámetros ambientales más importantes que determinan el desarrollo de procesos fisiológicos vitales para los organismos (Begon y cols. 2006 a,b), por lo que la alteración repentina de estos parámetros en el ambiente modifica la presencia de las especies dentro de un área (Hardy 2003). Las condiciones ambientales no son constantes y tienden a variar en el tiempo y el espacio, sin embargo, cuando los cambios ambientales ocurren lentamente, las plantas tienen oportunidad de acoplarse lentamente a las nuevas condiciones y así permanecer a lo largo del tiempo. Por ejemplo, las diversas regiones climáticas del planeta se asocian a determinados tipos de vegetación, y esto es producto de la continua adaptación que han tenido los organismos de sus ciclos de vida y formas de crecimiento a condiciones ambientales particulares (Begon y cols. 2006, Thomson y cols. 2009, Adams 2010, IPCC 2013). En consecuencia, la distribución de los diferentes biomas como, el bosque tropical, la sabana, el bosque templado, por mencionar algunos, no es aleatoria, puesto que su composición y distribución está fuertemente ligada a determinadas condiciones climáticas y ambientales (Adams 2010). La distribución actual de la vegetación es el resultado del cambio climático que ocurrió después de la última glaciación y la migración de las especies y sus poblaciones hacia sitios con un clima que les permitiera vivir, este proceso duró unos 18,000 años (Hardy 2003). Sin embargo, el proceso de cambio climático que se está experimentando en la actualidad está ocurriendo a gran velocidad por lo que las poblaciones vegetales difícilmente podrían adaptarse y migrar a la par de estos cambios (IPCC 2018).

Se ha documentado que el clima en las montañas está cambiando más rápido en comparación con regiones más bajas y se espera que en estos sitios los efectos del cambio climático sean

mayores en las siguientes décadas (Pepin y cols. 2015, Palazzi y cols. 2017). De ser así, los ecosistemas que se distribuyen en las partes altas de las montañas sufrirán cambios en cuanto a la composición de especies, así como una reducción del área que ocupan actualmente. Esto ocurrirá por desacoplamiento de las poblaciones a sus hábitats climáticos (Peñuelas y Boada 2003, Parmesan 2006, Burrows y cols. 2011, Langdon y Lawler 2015, Pepin y cols. 2015).

A raíz de los grandes cambios ambientales que se han registrado en las últimas décadas, se han generado modelos que predicen la modificación del hábitat climático de comunidades y especies bajo diferentes escenarios climáticos (Gutiérrez y Trejo 2014), por lo que actualmente se conoce un poco acerca de la vulnerabilidad que tienen algunas especies ante los cambios ambientales que se han pronosticado, sin embargo, los modelos predictivos no muestran a detalle cómo responderán las especies y sus poblaciones (Franklin y cols. 2016). Se sabe que las especies que restringen su distribución a las altas montañas muestran una mayor sensibilidad ante los cambios ambientales (Hampe y Petit 2005, Kullman 2005). Ante esta situación para las especies de alta montaña solo hay tres opciones; adaptarse al nuevo hábitat, migrar altitudinalmente, o desaparecer o extinguirse (Aitken y cols. 2008) aunque esto dependerá de que tan adaptada están las especies y sus poblaciones al hábitat que ocupan.

Dentro de una misma especie distribuida a lo largo de un gradiente altitudinal el efecto del cambio climático podría observarse mejor en los límites (menor y mayor) de su distribución, donde las condiciones ambientales se tornan más extremas para la especie (Körner 2012, Matías 2012). No obstante, es necesario evaluar cómo responderán las poblaciones de la parte media y baja, ya que éstas pueden ser la fuente de semillas para las altitudes mayores (Kueppers y cols. 2017).

La evidencia de que las poblaciones vegetales están migrando hacia mayores altitudes es la observación del reclutamiento de nuevos individuos por arriba de los límites hasta los que se conocía su distribución (Peñuelas y Boada 2003, Juntunen y Neuvonen 2006, Astudillo-Sánchez y cols. 2017). El éxito del establecimiento de nuevos individuos depende de que la germinación y la sobrevivencia de plántulas sean a su vez exitosas. Debido a que el establecimiento es la etapa dentro del ciclo de vida de las plantas que determina la permanencia de las especies a través del tiempo (Marañón y cols. 2004, Ernst-Detlef y cols. 2005), es necesario estudiarlo bajo

el contexto de cambio climático para poder discernir la vulnerabilidad y capacidad de persistencia que tienen diferentes especies arbóreas y sus poblaciones (Rickebusch y cols. 2007).

Las predicciones del cambio climático generadas para México y específicamente para la región centro del país, al igual que en otras partes del mundo sugieren que se experimentará un aumento en la temperatura y un decremento en la precipitación (Sáenz-Romero y cols. 2010, Stahle y cols. 2016). De suceder así, se espera que los bosques más impactados sean los que se distribuyen por arriba de los 3500 msnm a lo largo de la Faja Volcánica Transmexicana (Gutiérrez y Trejo 2014), los cuales en el país se caracterizan por el dominio de *Pinus hartwegii* (Endara-Agramont y cols. 2013). Esta es la única especie arbórea que se distribuye desde los 2800 msnm hasta los 4200 msnm, donde marca el límite superior del bosque por lo que es una especie adaptada a las bajas temperaturas de las altas montañas (Perry 1991, Endara-Agramont y cols. 2013, Alfaro-Ramírez y cols. 2017, Astudillo-Sánchez y cols. 2017). Sin embargo, esta misma adaptación convierte al llamado "Pino de las alturas" en una especie muy sensible a las condiciones generadas por el cambio climático y lo colocan en riesgo de desaparecer (Sáenz-Romero y cols. 2010, Gutiérrez y Trejo 2014). Se ha propuesto que las especies que sean más vulnerables a sufrir los efectos del cambio climático deben ser examinadas detalladamente con el fin de poder generar estrategias eficaces para su conservación (Viveros-Viveros y cols. 2009, Sáenz-Romero y cols. 2012).

Los bosques de *Pinus hartwegii* tienen una alta importancia desde el punto de vista ecológico, económico y social porque además de ser el resguardo de una importante biodiversidad proveen servicios ambientales, tanto hidrológicos como de captura de carbono que benefician de manera importante a los grandes asentamientos humanos del centro de México y que sin los cuales sería difícil asegurar su permanencia (Chapela 2012, Vázquez 2010).

Las predicciones generadas a partir de modelos de distribución potencial indican que para el año 2030 las poblaciones de *Pinus hartwegii* disminuirán considerablemente y que las poblaciones que habitan en las cotas más elevadas desaparecerán (Sáenz-Romero y cols. 2010) además, su área se verá disminuida hasta en un 80% para el año 2050 (Gutiérrez y Trejo 2014). Sin embargo, no se tiene información más detallada acerca de la dinámica de sus poblaciones,

particularmente de las condiciones en las que ocurre el reclutamiento de nuevos individuos a partir de semillas, que en este caso depende de la tasa de germinación y el establecimiento.

Diversos factores afectan la estructura y establecimiento de nuevos individuos del bosque de *Pinus hartwegii*, tales como la fragmentación del bosque y los incendios que influyen en la densidad del arbolado y en el reclutamiento de nuevos individuos (Endara-Agramont y cols. 2013, Castañeda y cols. 2015). También se ha observado un bajo reclutamiento de individuos asociado al gradiente altitudinal, encontrado nula o poca presencia de individuos en las partes bajas y mayor regeneración en las partes altas (Portillo-Díaz 2017), aunque la baja regeneración se asoció al estado fitosanitario del bosque, ya que los lugares con mayor infestación de muérdago enano (*Arceuthobium vaginatum* (Willd.) Presl.) son donde se registró el menor número de individuos juveniles. Sin embargo, el bajo establecimiento de individuos también podría ser el resultado de una baja germinación en campo. Y que las condiciones de temperatura y humedad necesarias para que la especie se establezca se encuentren a mayor altitud, como lo sugiere (Sáenz-Romero y cols. 2010) y se ha visto en otras especies (Peñuelas y Boada 2003).

Para *P. hartwegii* se tiene poca información acerca de las características de su etapa de establecimiento y no se conocen las condiciones en las que ocurre el proceso de germinación y mucho menos las respuestas de sus poblaciones que se encuentran distribuidas a lo largo de gradientes altitudinales ante los cambios ambientales que se esperan. Considerando que se ha observado diferencias adaptativas en plántulas de diferente altitud (Viveros-Viveros 2009) y que los individuos de diferente altitud crecen en diferentes condiciones de temperatura y humedad (Sáenz-Romero y cols. 2010, Lopez-Toledo y cols. 2017). Se espera que las semillas procedentes de diferentes sitios altitudinales tengan diferencias en la tasa de germinación, así como en los requerimientos de temperatura y humedad necesarios para germinar.

La germinación es una etapa crítica dentro del ciclo de vida de las plantas, porque es un proceso complejo y sensible, además puede ser fuertemente afectado por diversos factores externos, siendo la temperatura y la humedad del suelo los factores más importantes que la regulan (Oliver 2007, Bewley y cols. 2013, Pérez y cols. 2013). En la mayoría de las plantas, la germinación ocurre cuando se presentan condiciones de temperatura y humedad específicas (Bewley y cols. 2013, Baskin y Baskin 2014).

La información sobre la germinación de semillas de *Pinus hartwegii* es muy general a nivel de especie, principalmente son recomendaciones para producción en invernadero, y se menciona que la temperatura adecuada para la germinación fue de 20° a 30 °C (Musálen y Solís 2000). Existe un trabajo que evalúa la germinación de semillas con y sin estratificación en frío procedentes de diferentes sitios altitudinales, en el que se encontró diferencia significativa entre las altitudes y los tratamientos de germinación, en donde los menores valores de germinación media diaria fueron de semillas sin estratificar de los sitios de menor altitud (Tejeda 2018). Sin embargo, no se conoce ¿cómo varían los requerimientos de temperatura y humedad para la germinación de semilla procedente de diferentes sitios altitudinales? y ¿cómo responderán las semillas a las condiciones generadas por el cambio climático? El presente trabajo aporta información sobre las tasas de germinación de semillas de *Pinus hartwegii* considerando la altitud de procedencia como una variable importante en la ecología de sus poblaciones, así como el efecto de la temperatura y humedad sobre la germinación de semillas de cada sitio altitudinal. Conocer ¿cómo varían las tasas de germinación de semillas de *Pinus hartwegii* procedentes de diferentes sitios altitudinales en diferentes condiciones ambientales? es esencial para comprender la susceptibilidad que tienen sus poblaciones ante las condiciones que se generen por el cambio climático, y predecir que poblaciones se adaptarán mejor al cambio en las condiciones ambientales. Esto ayudará a entender los cambios y trayectorias que se esperan en la distribución para las poblaciones en las altas montañas de México.

2. Antecedentes

2.3 Germinación en coníferas

2.3.1 Tratamientos pregerminativos

Desde principios del siglo XX se ha tenido el interés de comprender en qué condiciones ocurre el proceso de germinación de semillas en coníferas. Por ejemplo, Barton en 1930, determina la importancia de someter a bajas temperaturas a las semillas de coníferas antes de ponerlas a germinar. En su experimento, este investigador observó que las semillas de menos de un año a

partir de su recolección tienen mayor tasa y porcentaje final de germinación al someterlas a un tratamiento pregerminativo de enfriamiento (1, 2 y 3 meses a 5° C) respecto a las no tratadas, registrando la mayor germinación en las semillas mantenidas en el tratamiento pregerminativo por un mes. Varias décadas después, Gosling (1988) agrega, que un tratamiento de estratificación (rango de 3-5° C por 21 días) además de aumentar el porcentaje de germinación, también extiende el rango de temperatura donde las semillas pueden germinar, su estudio fue realizado con semillas de *Pinus silvestris* L., *Picea sitchensis* (Bong) Carr. y *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco almacenadas por 2, 3 y 4 años, respectivamente, a 2° C. Si bien el tratamiento pregerminativo de estratificación es el más usado y recomendado para coníferas (Barton 1930, Campbell 1982, Dunlap y Barnett 1984, Skordilis y Thanos 1995, Gosling 1988, Escudero y cols. 2002, Tilki 2005, Varela y Arana 2011, Liu y El-Kassabi 2014, Sevik y Setin 2015, Topacoglu y cols. 2016) existen otros tratamientos pregerminativos como la escarificación mecánica a través de la sumersión de las semillas en agua tibia, agua a temperatura ambiente, y agua oxigenada, todos estos tratamientos han mostrado diferentes resultados (Meraz y Bonilla-Beas 2000). También se ha utilizado la escarificación química, aunque en coníferas como en semillas de otros grupos taxonómicos el mejor tratamiento pregerminativo dependerá del tipo de mecanismo que impide la germinación (Varela y Arana 2011, Bewley y cols. 2013, Baskin y Baskin 2014).

2.3.2 Efectos maternos en la germinación

La variación en el grado de germinabilidad entre semillas de diferentes poblaciones o entre individuos de una misma población, se explica en parte por la herencia genética. Otra parte se explica por el ambiente que experimenta la planta madre durante la maduración de la semilla (Ejemplo. Temperatura ambiental, disponibilidad de agua, horas de luz, etc.), la influencia de estos factores ambientales durante el desarrollo de la semilla sobre la germinación es parte de lo que se conoce como efectos maternos (Gutterman 2000). En las plantas los efectos maternos son considerados como plasticidad transgeneracional y son necesarios para favorecer el rendimiento de los descendientes en un ambiente similar al que experimenta la planta madre

(Galloway y Etterson 2007). Los efectos maternos ayudan a que las poblaciones puedan sobrevivir en diferentes condiciones ambientales cuando el movimiento de genes a través del polen y semillas es suficiente (Galloway y Etterson 2007), por el contrario, si el flujo de genes es limitado se favorece la adaptación local (Lascoux y cols. 2016). De acuerdo con algunos estudios el ambiente materno puede influir en la velocidad de germinación de las semillas (Galloway 2005) y en otros aspectos de la fenología como la temporada de pérdida de follaje (Lascoux y cols. 2016). En las coníferas los efectos maternos podrían tener un efecto mayor sobre las respuestas de sus descendientes debido a que el principal tejido de reserva de sus semillas conocido como megagametofito es exclusivamente de origen materno, además de que al tener un periodo de desarrollo que dura cerca de dos años podría haber una fuerte influencia de las condiciones ambientales que experimenta la planta madre (Misra 1994). Aunque en coníferas no existen muchos trabajos que aborden los efectos maternos sí se sabe que el tiempo necesario para que inicie la germinación está fuertemente correlacionado con el ambiente materno (Molina y cols. 1997, Mousseau y Fox 1998, Liu y El-Kassaby 2014).

2.4 Germinación en el género *Pinus*

Particularmente para la familia Pinaceae existen diversos estudios de germinación, siendo la temperatura un factor que ha sido evaluado de forma constante. Kamra y Simak (1968) germinaron semillas de *Pinus silvestris* de sitios latitudinales entre los 47° y 67° norte, en diferentes tratamientos de temperatura constante (20°, 25°, 30° y 35°C) y en un tratamiento alternado la temperatura (20°-30°), sus resultados sugieren que la mejor temperatura para germinar *Pinus silvestris* es a 20° C, por el contrario la germinación de todas las procedencias se vio disminuida a 35° C, además, sus resultados muestran que las semillas de sitios más al sur son más sensibles que las del norte a las diferentes temperaturas, ya que tuvieron una mayor variación en el porcentaje final de germinación entre las diferentes temperaturas. También se observa que la procedencia de mayor latitud tuvo los menores porcentajes de germinación en todas las temperaturas. En otro estudio, Escudero y cols. (2002) analizaron la germinación de diferentes poblaciones de siete especies de *Pinus* en un gradiente de temperatura (10, 15, 20, 25 y 25/15 °C) y en tratamientos de luz y oscuridad. Sus resultados muestran que hay una diferencia

en el porcentaje final de germinación entre temperaturas y entre poblaciones, también se observa que la tasa de germinación es más lenta a 10° C para todas las especies y procedencias, en el trabajo también se puede ver claramente como la germinación de semillas de unas especies son más sensibles que otras a la temperatura i.e. Las semillas de *Pinus halepensis* M. tienen una germinación cercana al 70% a 15°C y esta disminuye conforme se aumenta a 20° C llegando a ser cercana a 0 a los 25° C para algunas poblaciones, mientras que, *Pinus nigra* J.F. A. tiene un porcentaje de germinación entre el 60 a 90 % en todos los tratamientos de temperatura.

Las diferencias en germinación no sólo ha sido posible observarlas a nivel intraespecífico, pues también se han registrado diferencias en la velocidad de germinación de semillas de un mismo individuo, como se ha documentado para *P. pinaster* en el que se analizó la posición del cono en el árbol y su influencia sobre la germinación, observando que las semillas de los conos ubicados del lado sur registraron una mayor tasa de germinación respecto a los del norte, sin embargo, esta variación sólo pudo observarse al inicio de la germinación. Estas diferencias se relacionan con la mayor temperatura que experimentan las ramas en el lado sur de la copa durante el desarrollo de la semilla, en el mismo estudio se evaluó la germinación de semillas de diferente año de maduración y se observó que las semillas de años más cálidos germinan más rápido, esto podría indicar que hay fuerte influencia de la temperatura sobre la germinación durante la maduración de las semillas dentro del cono (Molina y cols. 1997).

En los ecosistemas de alta montaña, las condiciones ambientales presentan variaciones importantes en distancias relativamente cortas, por lo que las plantas madre experimentan condiciones de temperatura y humedad diferentes a lo largo del gradiente altitudinal y esto tiene un efecto importante en la germinación. Al evaluar el índice de salud de individuos de *Pinus pseudostrobus* distribuidos a lo largo de un gradiente altitudinal, se encontró al mayor número de individuos con los índices más altos en las elevaciones intermedias, donde encuentran todas las condiciones óptimas para su desarrollo. El índice de salud, a su vez, tuvo influencia en la capacidad germinativa de las semillas pues las semillas de las procedencias altitudinales intermedias fueron las que mostraron las mayores tasas de germinación (Lopez-Toledo y cols. 2017).

Los requerimientos necesarios para que ocurra la germinación parecen estar determinados por las características genéticas de los individuos y esto es posible observarlo al evaluar el desempeño germinativo que tienen las semillas de diferentes procedencias bajo diferentes condiciones ambientales (common garden). Boydak y cols. (2003), evaluaron la germinación de semillas de *Pinus brutia* T. bajo diferentes condiciones de disponibilidad de humedad, los resultados que obtuvieron están relacionados positivamente con las condiciones ambientales de los sitios en los que se desarrollan las semillas, i. e., las semillas procedentes de poblaciones con mayor estrés hídrico pueden germinar en un potencial hídrico más negativo (con menor disponibilidad de humedad), que las provenientes de lugares más húmedos. Esto mismo fue observado por Tilki (2005) para *P. silvestris* en un estudio de germinación donde utilizó semillas que provenían de seis sitios con diferente régimen de lluvias (770, 655, 575, 550, 515, 448 mm de lluvia anual). Las semillas de las diferentes procedencias se germinaron en un gradiente de potencial hídrico (0, -0.2, -0.4, -0.6 y -0.8 MPa), encontrando que las semillas procedentes de lugares donde las lluvias son escasas fueron menos afectadas por bajos potenciales hídricos. Por su parte, Zhu y cols. (2006) al analizar la germinación de semillas procedentes de una población natural y una plantación encontró que las semillas de la población natural soportaron los potenciales hídricos más bajos a pesar de que en la plantación el potencial hídrico en el suelo es menor al que se probó en las semillas, esto último puede explicarse por la diferencia en los requerimientos que presentan las plantas a lo largo del desarrollo de los individuos o por la influencia de otros factores que sólo estén presentes en condiciones silvestres.

La respuesta de germinación es adaptativa. Weber y Sorensen (1992) encontraron una asociación entre la velocidad de germinación de *Pinus ponderosa* D. ex L. y los sitios de los que provienen las semillas, para este trabajo se tomaron semillas de un amplio rango de latitud, longitud y altitud e hicieron inferencias sobre la cantidad de humedad de los sitios de muestreo con base en un mapa de precipitación y su cercanía con el mar. Ellos encontraron que las semillas de las zonas más xéricas germinan más rápido respecto a las de sitios más húmedos. Esto podría explicarse porque la selección natural favorece una germinación más rápida en semillas provenientes de sitios xéricos probablemente como una estrategia para optimizar la disponibilidad de agua en el ambiente que en este caso es intermitente, por el contrario, en

lugares más húmedos y fríos favorece una germinación lenta para poder evitar el daño por heladas tardías (Flint 1974, Campbell y Ritland 1982, Weber y Sorensen 1992). Si bien, la humedad es un factor crítico para que inicie el proceso de germinación, la temperatura también parece tener fuerte incidencia sobre este proceso.

2.5 Germinación en semillas *Pinus hartwegii*

Son pocos los trabajos de germinación que han sido realizados con *Pinus hartwegii*, sin embargo, parece que se han podido encontrar diferencias entre procedencias. Ortega y cols. (2003) han encontrado diferencias en el porcentaje de germinación entre semillas de diferentes procedencias del Estado de México y aunque el objetivo del trabajo no fue evaluar el efecto altitudinal, se observó que las altitudes menores e intermedias mostraron mayor porcentaje de germinación respecto a los registrados en las procedencias de altitudes mayores. En otro trabajo Tejeda (2018) evaluó el tratamiento de estratificación en la germinación de semillas procedentes de cuatro sitios altitudinales de la montaña "Cofre de Perote" (3400, 3600, 3800 y 4000 m snm) encontrando un efecto significativo en la interacción entre la altitud y tratamiento de estratificación. En este trabajo las semillas que registraron los promedios menores de germinación fueron las de la parte baja y que estuvieron sin estratificación.

Se sabe que *Pinus hartwegii* germina entre 15 y 30°C y descende su germinación a los 35°C. Además, la temperatura influye en el inicio de la germinación (Musalem y Solís 2000). Aunque hay información acerca de la germinación de *Pinus hartwegii* se desconocen los patrones de germinación de semillas procedentes de diferentes sitios altitudinales además de su vulnerabilidad ante altas temperaturas y sequía.

2.6 *Pinus hartwegii* frente al cambio climático

Pinus hartwegii es una especie adaptada a crecer en climas fríos, esta característica también provoca que sea muy sensible al aumento de temperatura ocasionado por el cambio climático como lo han documentado diversos trabajos (Viveros-Viveros y cols. 2009, Alfaro y cols. 2017, Astudillo-Sánchez y cols. 2017). Sin embargo, las diferentes poblaciones y procedencias altitudinales podrían responder de manera diferente frente a los cambios ambientales que se ha

pronosticado que ocurrirán. Al estudiar individuos de diferente procedencia altitudinal se encontró que la adaptación a bajas temperaturas no es una característica continua en toda la población, pues se ha encontrado que la resistencia de las plántulas a las bajas temperaturas aumenta conforme incrementa la altitud (Viveros – Viveros y cols. 2009). Estos resultados parecen estar relacionados con la adaptación de las plantas a la variación en las condiciones ambientales que experimentan a lo largo del gradiente altitudinal en las montañas, i. e., los individuos de la parte baja habitan un ambiente más cálido y seco en comparación con el ambiente de elevaciones mayores (Sáenz – Romero y cols. 2010).

Si bien se ha determinado que el límite superior del bosque de *Pinus hartwegii* no ha migrado de forma considerable hacia alturas mayores, ya se han registrado enclaves ubicados en partes más altas, y esto significaría un avance altitudinal de la especie (Alfaro y cols. 2017). Por otro lado, se registró que debido al aumento global de temperatura promedio ambiental de hasta 2°C entre 1970 y 2012 se favoreció un mayor reclutamiento de *P. hartwegii* por arriba de los 4000 m snm en el monte Tlaloc ubicado en el Estado de México (Astudillo-Sánchez y cols. 2017). Ambos registros estarían indicando que *P. hartwegii* podría estar encontrando las condiciones óptimas para su establecimiento en partes más altas que en décadas anteriores (Sáenz – Romero y cols. 2010, Alfaro y cols. 2017, Astudillo-Sánchez y cols. 2017). Considerando que conforme se asciende en las montañas la superficie disminuye (Körner 2007), se espera que el área boscosa de *P. hartwegii* disminuya considerablemente. Diversos modelos de cambio climático predicen una reducción de hasta un 80% del área donde *P. hartwegii* respecto de donde encuentra ahora las condiciones ambientales adecuadas para habitar (Gutiérrez y Trejo 2014). Aunque se necesitan estudios más detallados acerca de la respuesta de la especie y sus poblaciones para reafirmar los cambios predichos en los modelos.

2.7 Estado del bosque de *Pinus hartwegii* en el Parque Nacional La Malinche

El bosque de *P. hartwegii* en el Parque Nacional La Malinche (PNLM) hasta 2008 solo ocupaba un área muy pequeña de 657 ha que corresponden al 1.4% del área total del polígono del PNLM (Rojas-García y Villers-Ruíz 2008). Por muchos años se ha observado que hay una baja regeneración natural de la especie en el PNLM y en años recientes al evaluar la estructura del

bosque de *Pinus hartwegii* en tres diferentes pisos altitudinales se encontró que el reclutamiento de nuevos individuos (menores de 25 cm) es nula en las partes más bajas y que los pocos individuos que se encontraron fueron registrados en la altitud media y alta (Portillo-Díaz 2017). El autor de este trabajo relacionó el estado fitosanitario del bosque con la regeneración natural, encontrando que en las áreas con mayor cantidad de muérdago (*Arceuthobium vaginatum* (Willd.) Presl.) fueron las que no registraron individuos juveniles, por lo que el estado fitosanitario del bosque podría estar afectando los procesos reproductivos de las poblaciones, ocasionando un bajo reclutamiento de nuevos individuos, aunque esto también podría deberse al alto grado de fragmentación y/o perturbación que se observa en La Malinche, así como en otras Áreas Naturales Protegidas como el Parque Nacional Nevado de Toluca (Endara y cols. 2013).

Por otro lado, tampoco se puede descartar que los individuos de las partes bajas ya se encuentren en una condición de estrés, debida al cambio climático y esto podría estar ocasionando un bajo rendimiento reproductivo en los individuos que a su vez esté afectando la calidad de la semilla como se ha visto ocurre en otras especies como *Pinus pseudostrobus* (Lopez-Toledo y cols. 2017). El bajo reclutamiento de individuos podría ser consecuencia de una baja germinación en campo debido a que las condiciones ambientales del hábitat ya no son las adecuadas para que el proceso de germinación tenga éxito. Considerando que el gradiente altitudinal genera cambios ambientales en distancias relativamente cortas (Barton 1994, Sánchez y López 2003, Körner 2007, Sáenz – Romero y cols. 2010), y que, el flujo genético vía polen en una población distribución en las montañas se obstruye por barreras temporales (Premoli y Mathiasen 2011) *P. hartwegii* podría tener diferencias en los requerimientos para la germinación en las poblaciones que se distribuyen en las montañas del centro de México. Conocer sí existen diferencias de los requerimientos para que ocurra la germinación entre individuos de una población que se distribuye altitudinalmente ayudará a comprender ¿cómo ha sido afectado el proceso de regeneración del bosque a lo largo de un gradiente altitudinal?

El bosque de *P. hartwegii* es de alta importancia por los servicios ecosistémicos que brinda a las comunidades cercanas, además de ayudar a conservar la biodiversidad. Sin embargo, existe evidencia de que el hábitat climático de *Pinus hartwegii* se verá afectado por el cambio

climático, por lo tanto, el área donde se distribuye actualmente se podría ver reducida. Ante esta situación *P. hartwegii* deberá adaptarse, migrar o reducir su población. Sin embargo, los datos de su dinámica poblacional son insuficientes para saber cómo responderá ante el cambio climático, en particular se desconoce cómo afecta la temperatura y humedad el proceso de la germinación, proceso de vital importancia en el reclutamiento de nuevos individuos, ya sea para mantener su población o migrar. Con la finalidad de comprender más el efecto del cambio climático sobre la dinámica poblacional de *P. hartwegii* nos planteamos las siguientes preguntas: ¿Cuáles son los requerimientos de temperatura y humedad para la germinación de semillas de *P. hartwegii* procedentes de diferentes sitios altitudinales? ¿Qué semillas procedentes de los sitios a lo largo de un transecto altitudinal son más vulnerables ante las condiciones generadas por el cambio climático?

3. Justificación

Pinus hartwegii es una especie de alta montaña que marca el límite de la distribución arbórea en la parte superior de las montañas. Su adaptación a un clima frío y su distribución restringida a las altas montañas lo colocan en riesgo a desaparecer como consecuencia del cambio climático. Sin embargo, la especie habita un amplio rango altitudinal en el que las diferentes poblaciones se desarrollan bajo diferentes condiciones de temperatura y humedad asociadas con el gradiente altitudinal de las montañas. En su gradiente de distribución altitudinal se ha observado una baja regeneración natural en las partes bajas e intermedias y un mayor número de individuos juveniles en la parte alta de su distribución. Se sabe poco sobre los requerimientos de humedad y temperatura necesarios para la germinación de su semilla, mucho menos se conoce ¿Cómo varían los requerimientos para semillas recolectadas a lo largo de un gradiente? Al evaluar el efecto de la temperatura y humedad sobre la germinación de semillas de *P. hartwegii* procedentes de diferentes sitios altitudinales, este trabajo aportará importante información acerca de los requerimientos de cada procedencia, así como su susceptibilidad ante los cambios ambientales que se predice ocurrirán por el cambio climático. Esta información ayudará a elaborar mejores estrategias de manejo y conservación de *P. hartwegii*.

4. Hipótesis

En los ecosistemas de montaña existe variación ambiental asociada con la elevación. Al incrementar la altitud disminuye la temperatura y en algunos casos aumenta la humedad ambiental. Las especies arbóreas que se distribuyen en un rango altitudinal se adaptan a variación en diferentes parámetros ambientales, encontrando las condiciones óptimas en la distribución media y las condiciones más estresantes en los extremos de distribución, siendo xéricas en el límite inferior y méxicas en el límite superior. Como *Pinus hartwegii* tiene una amplia distribución altitudinal, los individuos de esta especie están expuestos a condiciones ambientales diferentes (asociadas a la elevación), lo que ocasiona que las semillas producidas por estos individuos muestren diferencias en las tasas de germinación. De tal forma que se espera que la germinación de semillas procedentes de elevaciones superiores sea más sensible a condiciones de mayor temperatura y menor humedad como se predice ocurrirá por el cambio climático ocasionando que disminuya el porcentaje de germinación.

H0: No existen diferencias en la tasa de germinación de semillas procedentes de diferentes sitios altitudinales y sometidas a diferentes tratamientos de temperatura y humedad.

Ha: La tasa de germinación es diferente entre semillas procedentes de diferentes sitios altitudinales y sometidas a diferentes tratamientos de temperatura y humedad.

5. Objetivos

6.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la temperatura y la humedad en la germinación de semillas de *Pinus hartwegii* procedentes de diferentes sitios altitudinales del Parque Nacional La Malinche.

6.2 Objetivos específicos

Evaluar el efecto de la temperatura y humedad en el inicio y velocidad de germinación en semillas de *Pinus hartwegii* procedentes de seis sitios altitudinales del Parque Nacional La Malinche.

Identificar que semillas procedentes de los seis sitios de muestreo son más vulnerables a las condiciones climáticas generadas por el cambio climático, mediante la modelación del clima de los sitios de procedencia de las semillas para el año 2030, 2060 y 2090.

6. Metodología

Con el fin de conocer el efecto de la temperatura y la humedad sobre la germinación de *P. hartwegii* en diferentes procedencias altitudinales, se realizó un experimento de germinación con diseño de "jardín común" donde se pusieron se evaluaron semillas de seis sitios: 3250, 3400, 3550, 3700, 3850 y 4000 m snm en diferentes tratamientos de temperatura (10°, 15°, 20°, 25° y 30° C) y humedad (0.0, -0.2, -0.4 y -0.6 MPa).

6.1 Área de estudio

El estudio se realizó en el Parque Nacional La Malinche, el cual se localiza entre los estados de Puebla y Tlaxcala (López y Bautista 2005, Rojas-García y Villers-Ruíz 2008). Debido a la accidentada fisiografía de la montaña en el área se han descrito diferentes climas: templado con lluvias en verano en la parte baja del parque (2500 a 2800 m snm) con una precipitación promedio anual de 800-1000 mm y una temperatura media anual de 12 - 18° C, el clima de la parte intermedia (2800 a 4300 m snm) es semifrío con verano fresco donde la precipitación media anual es de 1000 – 1200 mm con una temperatura media anual de 5 - 10° C y el clima de la cima (4300 a 4460 m snm) es frío con una temperatura media anual de 2 - 5° C y precipitación de 1000 – 1200 mm (Islas y cols. 2008). La fisiografía y variación climática de La Malinche ha favorecido el establecimiento de distintos tipos de vegetación como el bosque de *Pinus*, bosque de *Abies – Pinus*, bosque de *Quercus*, bosque de *Pinus – Quercus*, pastizal natural y páramo de altura (López y Bautista 2005, Rojas-García y Villers-Ruíz 2008).

6.2 Sitios de muestreo

Para establecer los sitios o altitudes de muestreo se realizó un recorrido en las laderas norte y sur del PNLN en el mes de octubre del 2017. Durante el recorrido sólo fue posible observar suficientes estróbilos maduros en la ladera sur, por esta razón el muestreo sólo se realizó en esta ladera. Para el establecimiento de los sitios se consideró el gradiente altitudinal completo en el que se distribuye *P. hartwegii* de forma natural en el área y se estableció una distancia mínima de 150 metros entre altitudes. Finalmente se establecieron los sitios en las altitudes (1) 3250, (2) 3400, (3) 3550, (4) 3700, (5) 3850 y (6) 4000 m snm, respectivamente (ver tabla 1). Para cada sitio de muestreo se estimó la temperatura y humedad usando el modelo Spline Climatic Model en el servidor <http://forest.moscowfsl.wsu.edu/climate/customData/> del VirginiaTech (Sáenz-Romero y cols. 2010).

Tabla 1. Ubicación geográfica de los sitios de colecta de conos de *P. hartwegii* en el Parque Nacional La Malinche (Las coordenadas pertenecen al primer árbol muestreado en cada altitud)

Sitio	Latitud N	Longitud O	Altitud (msnm)	Temperatura promedio anual (°C)	Precipitación promedio anual (mm)
1	19° 11' 48.8''	98° 03' 09.3''	3250	9.9	887
2	19° 12' 05.5''	98° 02' 45.7''	3400	9	945
3	19° 12' 27.8''	98° 02' 30.6''	3550	8.1	1017
4	19° 12' 40.2''	98° 02' 28.4''	3700	7.3	1097
5	19° 12' 54.6''	98° 02' 15.9''	3850	6.5	1181
6	19° 13' 07.5''	98° 02' 04.7''	4000	5.7	1266

6.3 Modelo de cambio climático

Las coordenadas de cada sitio fueron transformadas a coordenadas decimales para generar el modelo de cambio climático CGCM3 (Third Generation Coupled Global Climate Model) con un escenario A1B el cuales un escenario intermedio entre el escenario pesimista y el escenario optimista en cuanto a emisiones de gases de efecto invernadero para el año 2030, 2060 y 2090, realizado en el servidor <http://charcoal.cnre.vt.edu/climate/customData/>. Consideramos los datos de temperatura y precipitación media anual arrojados por el modelo de cambio climático.

6.4 Colecta de estróbilos

La colecta de estróbilos o conos para obtener la semilla se realizó durante el mes de diciembre del año 2017. En cada sitio previamente establecido se seleccionaron diez árboles con una abundante producción de conos femeninos y libres de parásitos (Figura. 1a) como muérdago (Figura. 1c) y hongos (Figura. 1d y e) en sus ramas y, que sus conos no estuvieran parasitados o dañados (Figura. 1e y f). Para evitar el parentesco se tuvo cuidado de que entre individuos hubiera una distancia mínima de 30 m. En la altitud de 3850 m snm solo se encontraron 8 árboles con las características deseadas y a 3250 m snm dos árboles en pie el día de la colecta, ya que en el área hay presencia de tala ilegal. Una vez seleccionados los individuos se tomaron 17 conos por árbol con ayuda de una pértiga telescópica de poda (figura. 1b). Los conos se guardaron en sacos de tela y se etiquetaron para su traslado al laboratorio.

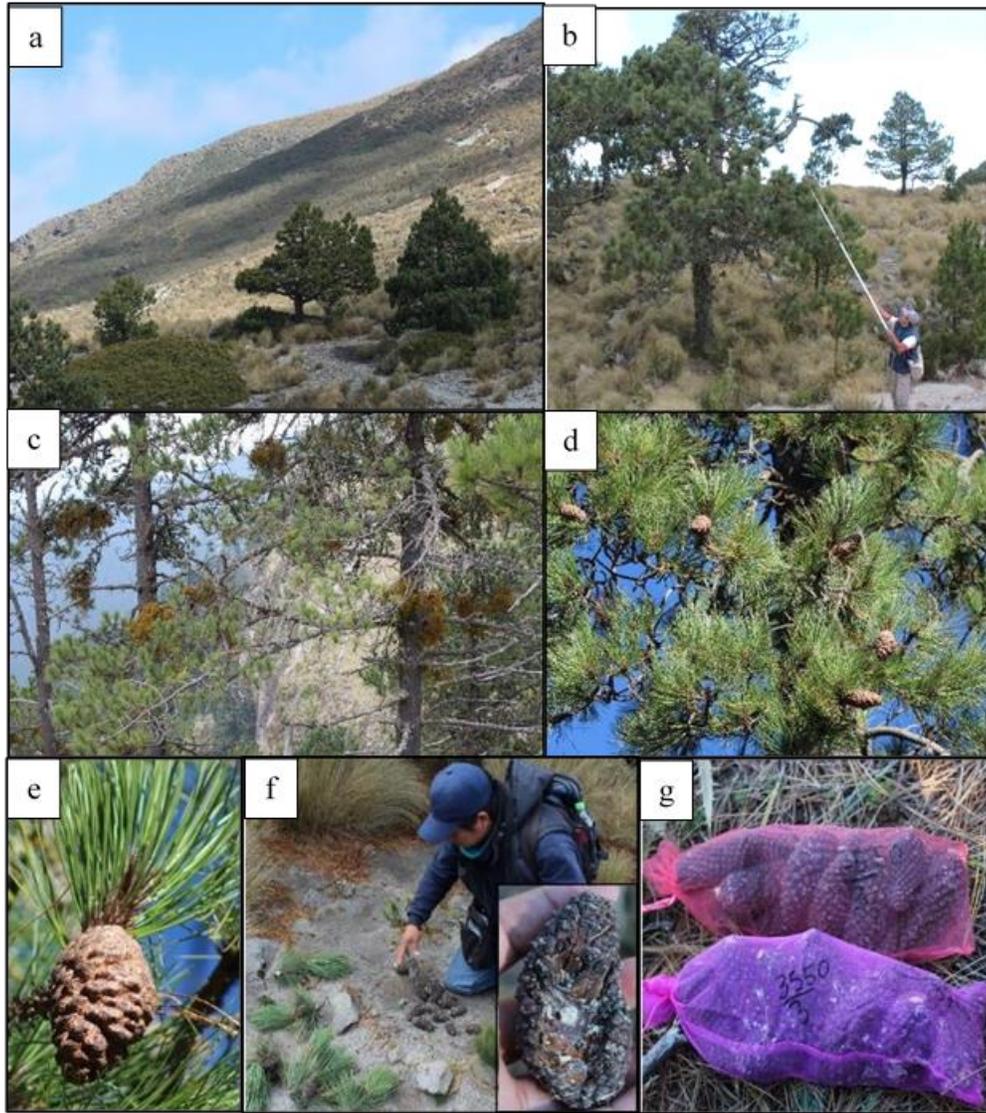


Figura 1. Muestreo de estróbilos de *Pinus hartwegii* en el Parque Nacional La Malinche (a) Vista panorámica de los árboles ubicados a 4000 m de altitud; (b) Recolección de conos con ayuda de una pértiga de poda; (c) Árboles excluidos por su infestación de muérdago; (d) y (e) Vista panorámica y detalle de un árbol parasitado por roya en los conos (*Cronartium conigeum*); (f) Exclusión de conos dañados; (g) Saco de tela con conos debidamente etiquetado.

6.5 Extracción de semillas

Los sacos con conos se mantuvieron dentro de un invernadero con condiciones de temperatura ambiente (Promedio 14 °C, mínima -2.3 °C y máxima 34.8 °C). En la primera semana de febrero de 2018 se observó la apertura de las brácteas (Figura. 3a) por lo que se inició con la extracción manual de las semillas con ayuda de un taladro (Taladro M0600G, 3/8", 350W, Makita, Japón) y pinzas (Figura. 2b, c y d). Las semillas de cada procedencia altitudinal se almacenaron por separado. Posteriormente, se separaron las semillas llenas (con embrión) o fértiles de las vanas o vacías mediante una columna de aire (Seedburo South Dakota Seed Blower, Seedburo Equipment Company, Estados Unidos) ubicada en el banco de germoplasma forestal "Xocoyucan" de CONAFOR.

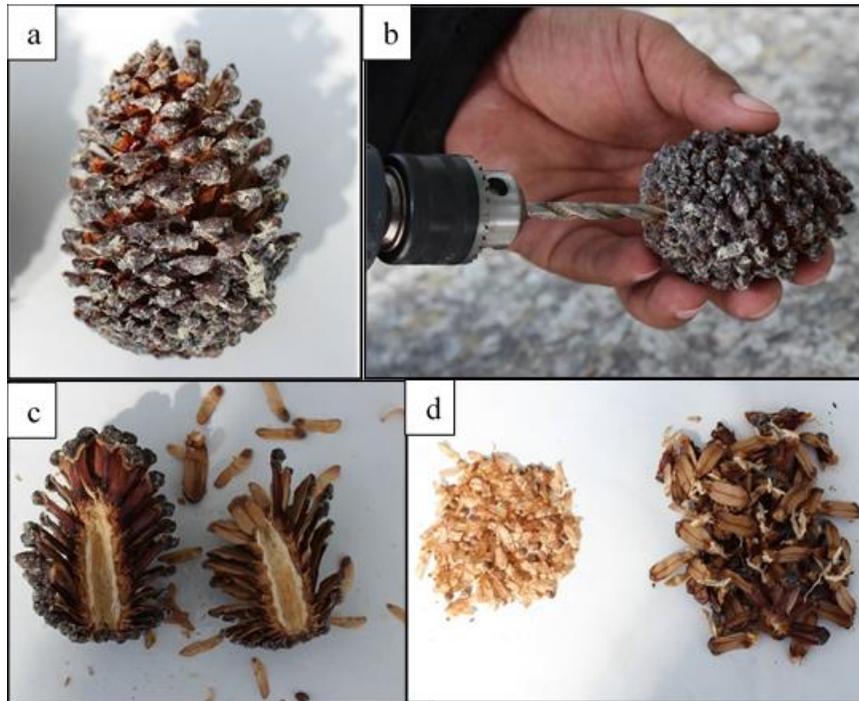


Figura 2. Proceso de extracción manual de semillas de *P. hartwegii*. (a) Cono seco con brácteas abiertas; (b) Perforación del cono desde su base; (c) Corte longitudinal de cono para extraer las semillas; (d) Semillas aladas en el lado izquierdo y brácteas en el lado derecho.

6.6 Establecimiento de tratamientos de humedad y temperatura

Con las semillas de cada procedencia se evaluó la tasa de germinación bajo diferentes escenarios ambientales mediante un gradiente de (a) temperatura y (b) humedad generado en cámaras de crecimiento, bajo un diseño experimental de "jardín común" (Harper 1977, Lascoux y cols., 2016). Los tratamientos de humedad se crearon a partir de soluciones de diferente concentración de Polietilenglicol (PEG 8000, Sigma). Las concentraciones de PEG y su potencial hídrico se determinaron utilizando el programa Solute Potential and Molar-Molal-g Solute/g Water Interconversion (Michel and Radcliffe 1985, Guillén y cols. 2009,). Las soluciones probadas dadas en Megapascuales (MPa) fueron (1) 0.0 MPa (control, con agua destilada), (2) -0.2 MPa , 10°C [0.019 M], 15 y 20°C [0.020 M], 25 y 30 °C [0.021 M]. (3) -0.4 MPa, 10°C [0.026 M], 15 y 20°C [0.027 M], 25 °C [0.028 M] y 30°C [0.029 M] y (4) -0.6 MPa, 10°C [0.031 M], 15 y 20°C [0.032 M], 25 °C [0.033 M] y 30°C [0.034 M].a

Los tratamientos de temperatura se establecieron dentro de cámaras de crecimiento ambiental (Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos) que se mantuvieron a una temperatura constante de (1) 10, (2) 15, (3) 20 (4) 25 y (5) 30 °C. Para establecer las diferentes temperaturas utilizadas en el experimento se consideraron las temperaturas que ocurren en las poblaciones en campo registradas de febrero del 2017 y mayo del 2018 en la ladera sur del PNLN, en las altitudes de 3550, 3700 y 4000 msnm, además se consideraron las temperaturas generadas por el modelo de cambio climático.

6.7 Desinfección y tratamiento pregerminativo de semillas

Las semillas se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 5% por cinco minutos en agitación constante (Figura 3a), después se dejaron en agua destilada por cinco minutos más con agitación constante para eliminar los residuos del hipoclorito de sodio, también se enjuagaron varias veces con agua destilada (Figura 3b). Posteriormente las semillas se colocaron dentro un recipiente plástico con tapa sobre papel filtro y se asperjaron con 15 ml de una solución fungicida (Captan 2 g/ l de agua) (Figura 3c). El recipiente se colocó dentro de una

cámara de germinación que se mantuvo a una temperatura constante de $5^{\circ} \pm 1$ C durante 30 días (Gosling 1988).

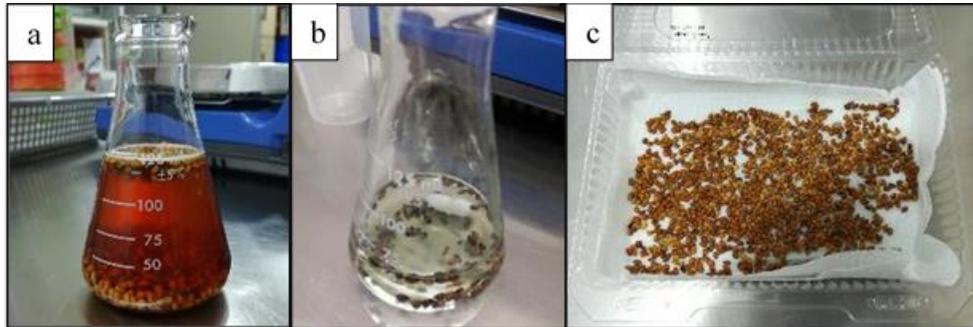


Figura 3. Proceso de desinfección y enfriamiento de semillas de *P. hartwegii*. (a) Semillas inmersas dentro de una solución de hipoclorito de sodio (NaClO); (b) Eliminación del exceso de NaClO; (c) Recipiente con semillas al interior listas para estratificación.

6.8 Establecimiento experimento de germinación

Posterior al tratamiento de enfriamiento se prepararon soluciones con diferente potencial hídrico a partir de diferentes concentraciones de PEG 8000 (Polietilenglicol 8000, SIGMA, Estados Unidos). Las soluciones fueron preparadas un día antes de la siembra (Figura. 4). Dentro de cajas de Petri se colocó una gasa estéril (Figura. 5a), después se vertieron 18 ml de solución con ayuda de una jeringa (Figura. 5b). Una vez preparadas las cajas con sus correspondientes soluciones se procedió a sembrar las semillas (Figura. 5c y d). Después de la siembra las cajas fueron selladas y almacenadas en cámaras de crecimiento de manera aleatoria en diferentes niveles. Las cámaras mantuvieron un fotoperiodo constante de 12 h de luz (Figura. 5 e y f) (Boydak y cols. 2003).

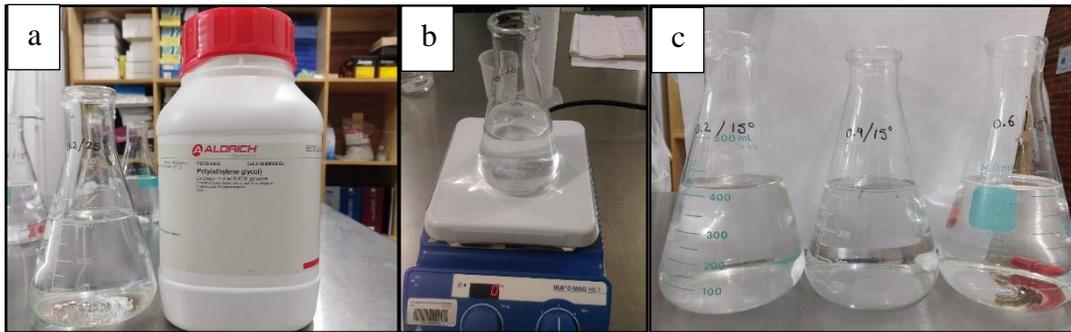


Figura 4. Preparación de soluciones con diferente potencial hídrico (MPa) generados a partir de diferentes concentraciones de Polietilenglicol. (a) PEG 8000; (b) Disolución de PEG en agua tibia; (c) Matracas con diferentes soluciones de PEG.

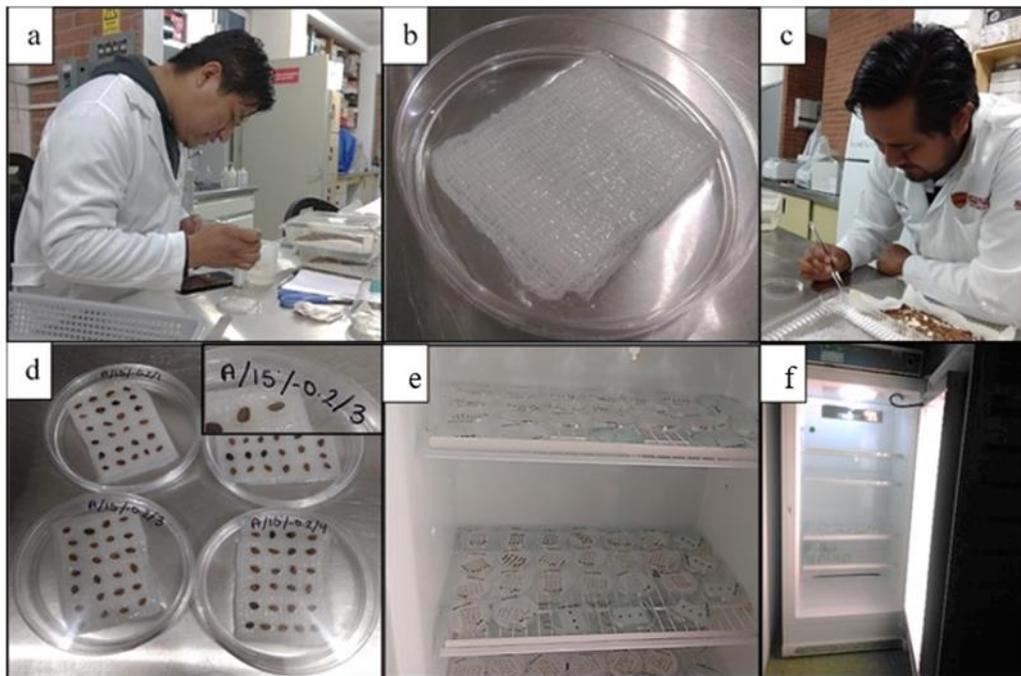


Figura 5. Siembra de semillas de *P. hartwegii*. (a) Vertido de la solución en la caja Petri; (b) Gasa estéril con solución de PEG; (c) Siembra de las semillas con ayuda de una pinza de disección; (d) Cajas Petri debidamente etiquetadas con semillas al interior; (e) Colocación aleatoria de cajas Petri dentro de cámara de germinación; (f) Cámara de germinación.

En total se evaluó las semillas de seis sitios altitudinales, cuatro condiciones de humedad y cinco de temperatura lo que resulta en un total de 120 tratamientos. El experimento se realizó en dos etapas porque solo se contó con tres cámaras de germinación, además las semillas no fueron suficientes en todas las altitudes, por lo que, no todos los tratamientos tuvieron la misma cantidad de semillas, para los tratamientos a 15°, 25° y 30° C de las semillas procedentes de 3400, 3550, 3700, 3850 y 4000 m de altitud se sembraron 25 semillas por cada caja de Petri, en las mismas temperaturas solo se colocaron 15 semillas de la altitud de 3250 m. Cada tratamiento estuvo conformado por cuatro réplicas. En los tratamientos a 10° y 20° C se colocaron 20 semillas en cada caja Petri de las procedencias 3400, 3550, 3700 y 4000 m, además, en esos tratamientos la altitud de 4000 m solo tuvo tres réplicas, en esas mismas temperaturas de la procedencia de 3850 m tuvo 15 semillas y en la de 3250 m tuvo 11 semillas en cada caja Petri y solo se pudieron realizar tres réplicas por tratamiento.

Una vez que la primera semilla germinó al día tres después de la siembra, la germinación se registró cada tercer día hasta el día 41. En este trabajo se consideró como germinación cuando se observó la protrusión de la radícula fuera de la testa (Figura. 6) (Bewley y cols., 2013, Guillén y cols., 2009).



Figura 6. Germinación de las semillas. (a) y (b) Protrusión de la radícula fuera de la testa

6.8 Análisis de datos

La germinación máxima fue definida como el porcentaje acumulativo a los 41 días después de la fecha de siembra. Se evaluó el efecto del sitio altitudinal, el potencial hídrico y la temperatura

sobre la tasa de germinación por medio de un análisis de devianza con base en un Modelo Lineal Generalizado (Crawley 2013a). La proporción acumulada de semillas fue la variable dependiente. El tiempo (días después de la siembra) fue la variable independiente continua. La procedencia altitudinal (factor con seis niveles), el potencial hídrico (factor con cuatro niveles) y la temperatura (factor con cinco niveles) fueron variables categóricas independientes. Se usó un error de tipo quasibinomial y una función de vinculo link logit, indicados para variables dependientes de proporción (Crawley 2013a). El Modelo Lineal Generalizado con error binomial permite analizar muestras de diferentes tamaños (Crawley 2013b) por lo que es el adecuado para nuestros datos. En este tipo de error la devianza explicada por las variables independientes puede ser considerada como una aproximación a X^2 (Crawley 2013a). El porcentaje de semillas germinadas por temperatura (y) el día t fue dada por el siguiente modelo:

$$y = 100 * \frac{e^{[(a+(bt)-(ct^2))]}{1 + e^{[(a+(bt)-(ct^2))]}}$$

En la formula a es el intercepto que indica el inicio de la germinación, b es la tasa de germinación inicial, c indica el incremento de la tasa de germinación (c tiene valores negativos) o el decremento (c adquiere valores positivos) a través del tiempo. El análisis se realizó con el programa R versión 3.5.2. La proporción de semillas germinadas dadas por el modelo se obtuvo con la función genérica fitted, y esto se multiplicó por cien. Los valores de a , b y c se observaron con la función summary.

7. Resultados

7.1 Tasa de germinación dentro de las procedencias

A lo largo de 41 días en casi todos los tratamientos de temperatura y humedad que se probaron (10, 15, 20, 25 y 30 °C y 0.0, -0.2, -0.4 y -0.6 MPa) se registró germinación de semillas de las seis altitudes estudiadas, excepto en los tratamientos de 10°C en 0.0 MPa para 4000 m, en -0.4 MPa para 3850 y 4000 m y -0.6 MPa para 3700, 3850 y 4000 m (Figuras 10-12).

Los modelos logísticos ajustados explican en más del 92% la variación de la germinación a través del tiempo para todas las elevaciones evaluadas. El tiempo explicó un alto porcentaje de la variación total en la germinación de las semillas de la especie en cada una de las procedencias estudiadas (mayor de 37%, Tabla 1). El tiempo cuadrático mostró diferencias significativas en todos los casos, indicando que la tasa de germinación declinó a través del tiempo. En todas las procedencias analizadas el efecto de la temperatura fue altamente significativo, explicando un alto porcentaje de la variación total del modelo (de 15.8% en los 3250 m snm a 28% en los 3550 m). El Potencial hídrico explicó el mayor porcentaje de la variación en la procedencia de 3850 m snm (25.3%) mientras que en las otras procedencias explicó menos del 14% (Tabla 1).

En las procedencias de 3550 y 3400 m snm se registró la mayor variación en cuanto al día de inicio de la germinación entre las diferentes temperaturas (Figuras. 8 y 9). En la procedencia de 3850 msnm fue claro el retraso en el inicio de la germinación conforme disminuyó la disponibilidad de humedad. Para todas las procedencias se observó que a los 10°C las semillas demoraron más en germinar, mientras que a los 25 y 30 °C la germinación inició más temprano, excepto para 4000 msnm donde no se registró germinación en el tratamiento de menor disponibilidad de humedad. En cuanto a la humedad en la mayor parte de las procedencias se encontró que conforme fue disminuyendo la disponibilidad de humedad las semillas demoraron más en iniciar la germinación (Figuras. 7-12).

Particularmente, las procedencias de mayor elevación (3850 y 4000 m) fueron las que demoraron más tiempo en iniciar la germinación en todo el gradiente térmico e hídrico que se probó. Sin embargo, solo en estas procedencias se observó que al disminuir un poco la disponibilidad de humedad (-0.2 MPa) la germinación inició en menor tiempo en todas las temperaturas excepto en 10 °C (Figuras. 11 y 12). En las procedencias del nivel altitudinal menor y medio (de 3250 a 3550 msnm) conforme disminuyó la humedad se retrasó el inicio de la germinación, sin embargo, el lapso fue mínimo, siendo en 25 y 30°C en los tratamientos en los que inició en un lapso más corto (menos de 7 días) a partir de la siembra de semillas (Figuras. 7 a 9).

La importancia del efecto en conjunto que tienen la temperatura y el régimen de humedad en la germinación de semillas de *P. hartwegii*, quedó en manifiesto en la interacción significativa de la Temperatura x Potencial hídrico en las procedencias de 3250 y 3550 m snm (Tabla 1).

La interacción Tiempo x Temperatura fue significativa para las procedencias de 3250 y 3550 m snm, además la interacción Tiempo x Potencial hídrico fue significativa para la altitud 3550 m snm, indicando que las pendientes de las curvas de germinación (velocidad de germinación) estuvieron afectadas por la acción en conjunto de la temperatura y el potencial hídrico (Tabla 1, Fig. 1-6). La triple interacción Tiempo x Temperatura x Potencial hídrico mostró diferencias significativas en todas las procedencias a excepción de las de 3250 y 3550 m snm.

En todas las procedencias se alcanzó la máxima germinación en menor tiempo a los 25 y 30 °C (menos de 22 días) y demoraron más a los 10 y 15°C (hasta los 41 días que duró el experimento) (Fig. 7-12).

Con respecto a las interacciones Tiempo² x Temperatura, fue significativa sólo para la elevación menor (3250 m snm) y las mayores (3850 y 4000 m snm), mientras que la interacción Tiempo² x Potencial hídrico sólo fue significativa para las elevaciones mayores 4000 y 3700 m snm indicando variación significativa en el punto de inflexión de las curvas (día en que se alcanzó la máxima germinación) debido a los tratamientos de temperatura y humedad (Tabla 1, Fig. 7, 11 y 12). Adicionalmente, en la procedencia de 3400 m snm existe interacción significativa entre Tiempo² x Temperatura x Potencial hídrico (Tabla 2), lo que indica que para esta procedencia el cambio de inflexión de la curva de germinación estuvo determinado por la temperatura y el gradiente de humedad, presentándose un poco más tarde conforme disminuyó la temperatura y con el aumento de la humedad.

La máxima germinación para la procedencia de 3250 m snm se alcanzó a los 20 °C en todos los tratamientos de humedad. Para 3700, 3850 y 4000 m snm el máximo porcentaje de germinación se alcanza en 25, 20 y 15 °C, respectivamente, pero en -0.2 MPa, también para estas procedencias de elevaciones mayores se observa variación significativa entre los puntos de inflexión de las curvas de los diferentes tratamientos de temperatura y/o humedad probados

(Tabla 2, Figuras. 10-12). Para las procedencias de la parte media (3400 y 3550 m snm) alcanzan el máximo porcentaje de germinación en 0.0 MPa entre los 20 y 30°C (Figuras. 8 y 9).

Tabla 2. Análisis de devianza del número de semillas germinadas de *Pinus hartwegii* procedentes de seis altitudes del PNLN registradas en un gradiente de temperatura y humedad.

Procedencia	Factor	Devianza($\sim x^2$)	df	r ²	p
3250 msnm	Temperatura	342.291	4	0.1580	< 0.001
	Potencial hídrico	296.115	3	0.1367	< 0.001
	Tiempo	932.089	1	0.4303	0
	Tiempo ²	198.105	1	0.0915	< 0.001
	Temperatura x Potencial hídrico	80.100	12	0.0370	< 0.001
	Tiempo x Temperatura	144.361	4	0.0666	< 0.001
	Tiempo ² x Temperatura	27.355	3	0.0126	< 0.001
	Modelo	2020.416	28	0.9328	
	Residual	145.667	263	0.0672	
	Total	2166.083	291		
3400 msnm	Temperatura	1001.780	4	0.2552	0
	Potencial hídrico	519.930	3	0.1324	< 0.001
	Tiempo	1630.194	1	0.4152	0
	Tiempo ²	247.234	1	0.0630	< 0.001
	Temperatura x Potencial hídrico	93.843	12	0.0239	< 0.001
	Tiempo x Temperatura	184.485	4	0.0470	< 0.001
	Tiempo x Potencial hídrico	42.094	3	0.0107	< 0.001
	Tiempo x Temperatura x Potencial hídrico	21.163	12	0.0054	< 0.001
	Tiempo ² x Temperatura x Potencial hídrico	17.163	19	0.0044	0.0377
	Modelo	3757.886	59	0.9572	
Residual	168.018	244	0.0428		
Total	3925.904	303			
3550 msnm	Temperatura	1045.582	4	0.2800	< 0.001
	Potencial hídrico	318.550	3	0.0853	< 0.001
	Tiempo	1393.373	1	0.3732	0
	Tiempo ²	254.524	1	0.0681	< 0.001
	Temperatura x Potencial hídrico	141.456	12	0.0378	< 0.001
	Tiempo x Temperatura	236.641	4	0.0633	< 0.001
	Tiempo x Potencial hídrico	49.862	3	0.0133	< 0.001
	Modelo	3439.987	28	0.9215	

	Residual	293.015	275	0.0784	
	Total	3733.002	303		
3700 msnm	Temperatura	593.56	4	0.2042	< 0.001
	Potencial hídrico	411.36	3	0.1415	< 0.001
	Tiempo	1206.44	1	0.4152	0
	Tiempo ²	214.58	1	0.0738	< 0.001
	Temperatura x Potencial hídrico	115.59	12	0.0397	< 0.001
	Tiempo x Temperatura	161.19	4	0.0554	< 0.001
	Tiempo x Potencial hídrico	49.36	3	0.0169	< 0.001
	Tiempo ² x Potencial hídrico	6.79	3	0.0023	< 0.001
	Tiempo x Temperatura x Potencial hídrico	10.67	12	0.0036	0.0112
	Modelo	2769.55	43	0.9531	
	Residual	136.00	260	0.0468	
	Total	2905.55	303		
3850 msnm	Temperatura	306.30	4	0.1603	< 0.001
	Potencial hídrico	484.48	3	0.2536	0
	Tiempo	709.70	1	0.3715	0
	Tiempo ²	103.44	1	0.0541	< 0.001
	Temperatura x Potencial hídrico	72.47	12	0.0379	< 0.001
	Tiempo x Temperatura	125.36	4	0.0656	< 0.001
	Tiempo x Potencial hídrico	21.33	3	0.0111	< 0.001
	Tiempo ² x Temperatura	4.27	4	0.0022	0.0013
	Tiempo x Temperatura x Potencial hídrico	7.29	12	0.0038	0.0024
	Modelo	1834.65	44	0.9605	
	Residual	75.35	259	0.0394	
	Total	1910.00	303		
4000 msnm	Temperatura	227.56	4	0.2027	0
	Potencial hídrico	154.96	3	0.1380	< 0.001
	Tiempo	502.83	1	0.4481	0
	Tiempo ²	82.04	1	0.0731	< 0.001
	Temperatura x Potencial hídrico	64.54	12	0.0575	< 0.001
	Tiempo x Temperatura	39.77	4	0.0354	< 0.001
	Tiempo x Potencial hídrico	8.94	3	0.0079	< 0.001
	Tiempo ² x Temperatura	1.09	4	0.0009	0.0341
	Tiempo ² x Potencial hídrico	2.33	3	0.0020	< 0.001
	Tiempo x Temperatura x Potencial hídrico	4.06	12	0.0036	0.00011
	Modelo	1088.12	303	0.9697	
	Residual	34.00	256	0.0303	
	Total	1122.12			

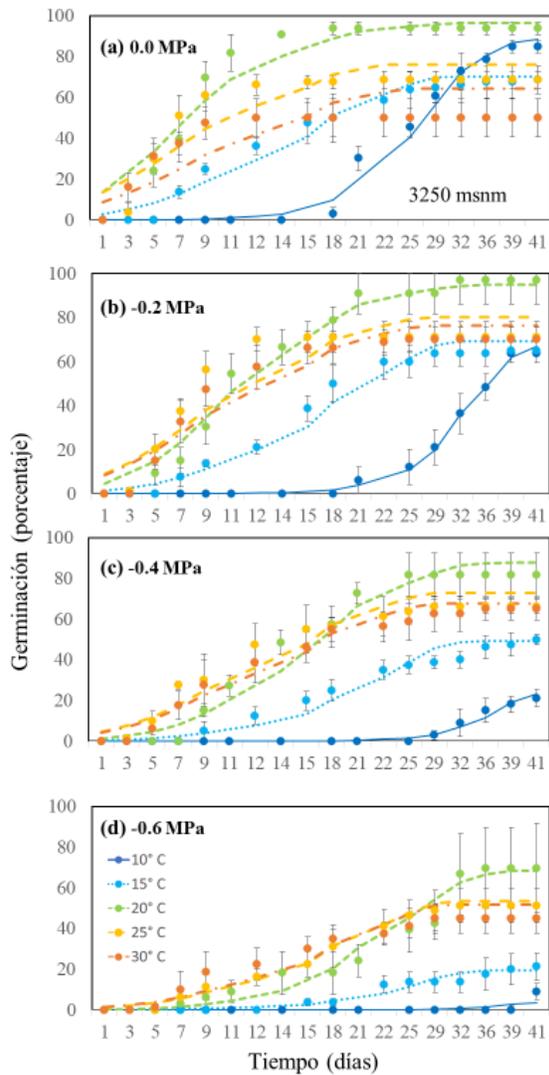


Figura 7. Modelo Lineal-Logarítmico de germinación de semillas de *Pinus hartwegii* procedentes de 3250 m de altitud bajo diferentes tratamientos de temperatura y humedad.

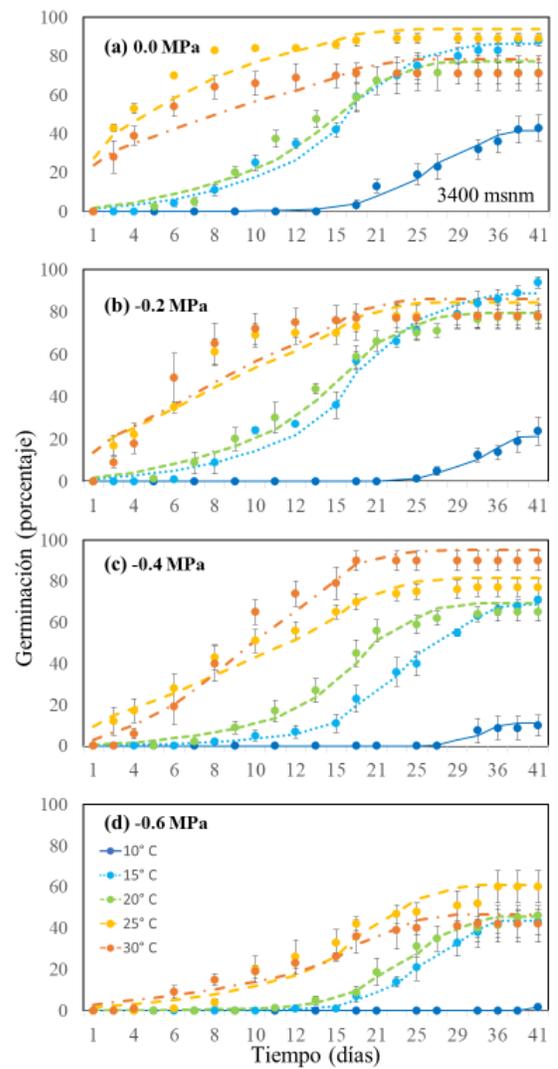


Figura 8. Modelo Lineal-Logarítmico de germinación de semillas de *Pinus hartwegii* procedentes de 3400 m de altitud bajo diferentes tratamientos de temperatura y humedad.

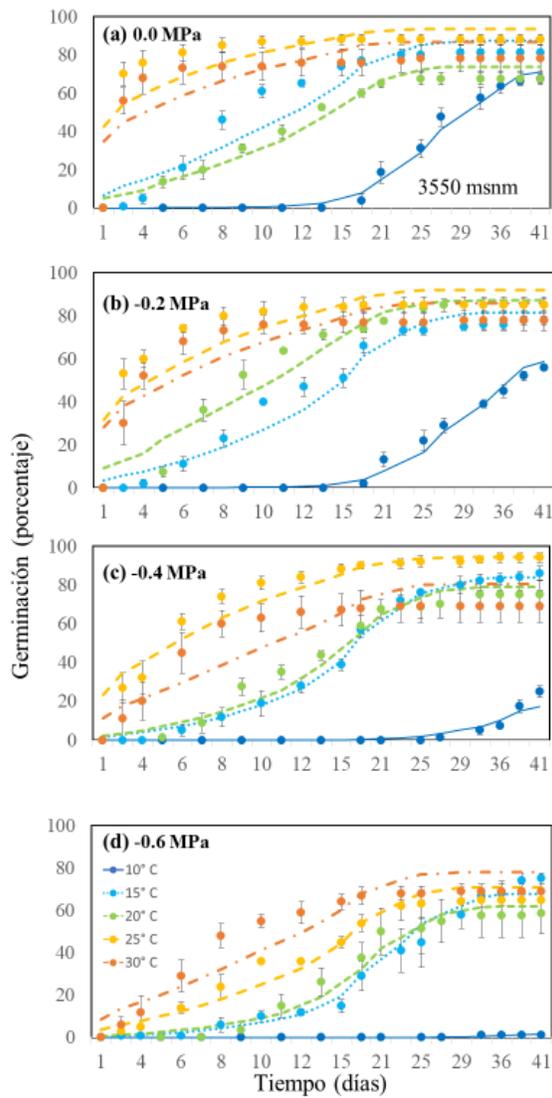


Figura 9. Modelo Lineal-Logarítmico de germinación de semillas de *Pinus hartwegii* procedentes de 3550 m de altitud bajo diferentes tratamientos de temperatura y humedad.

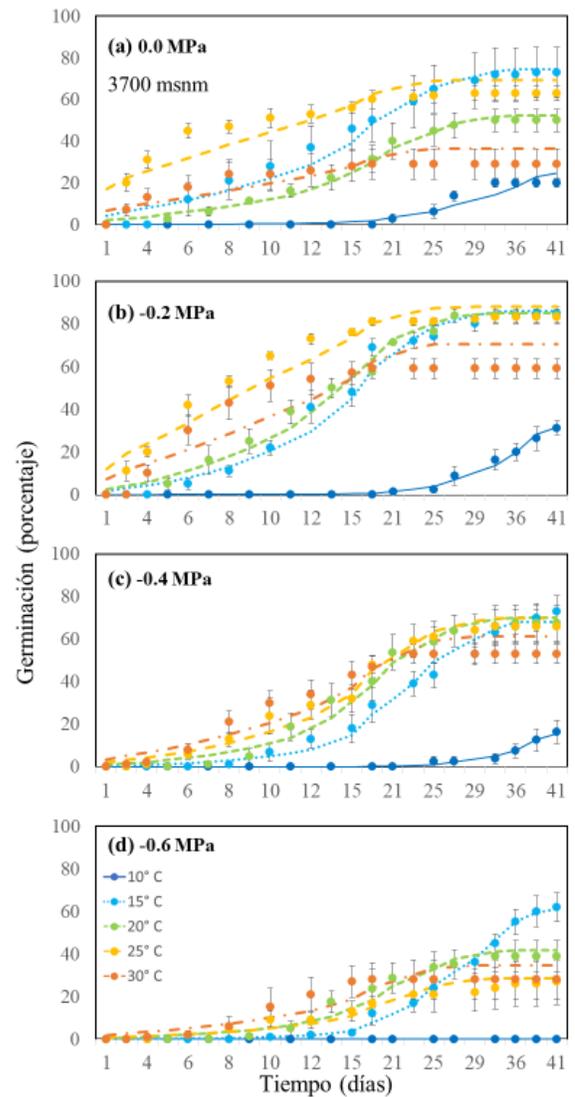


Figura 10. Modelo Lineal-Logarítmico de germinación de semillas de *Pinus hartwegii* procedentes de 3700 m de altitud bajo diferentes tratamientos de temperatura y humedad.

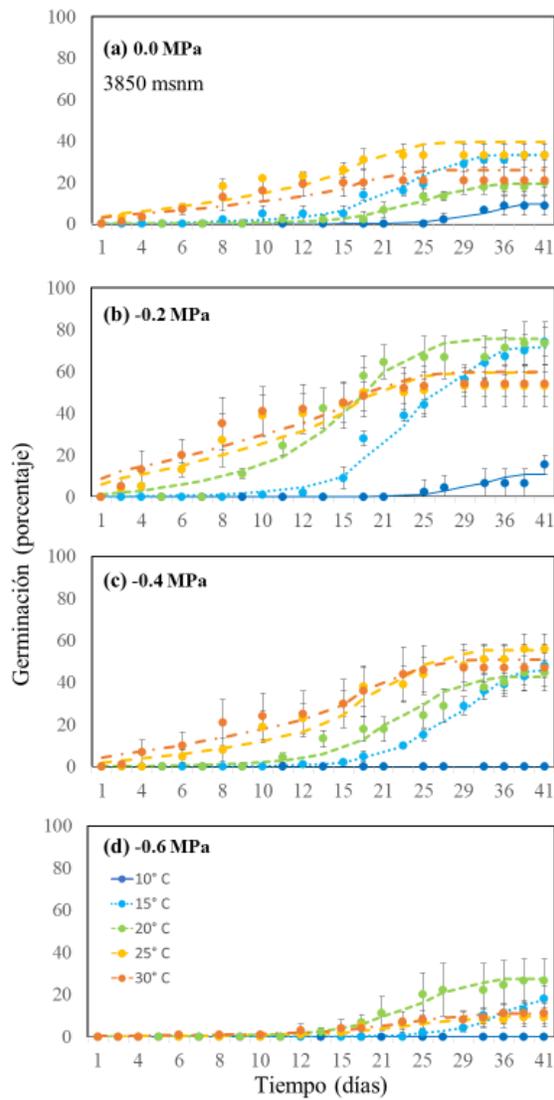


Figura 11. Modelo Lineal-Logarítmico de germinación de semillas de *Pinus hartwegii* procedentes de 3850 m de altitud bajo diferentes tratamientos de temperatura y humedad.

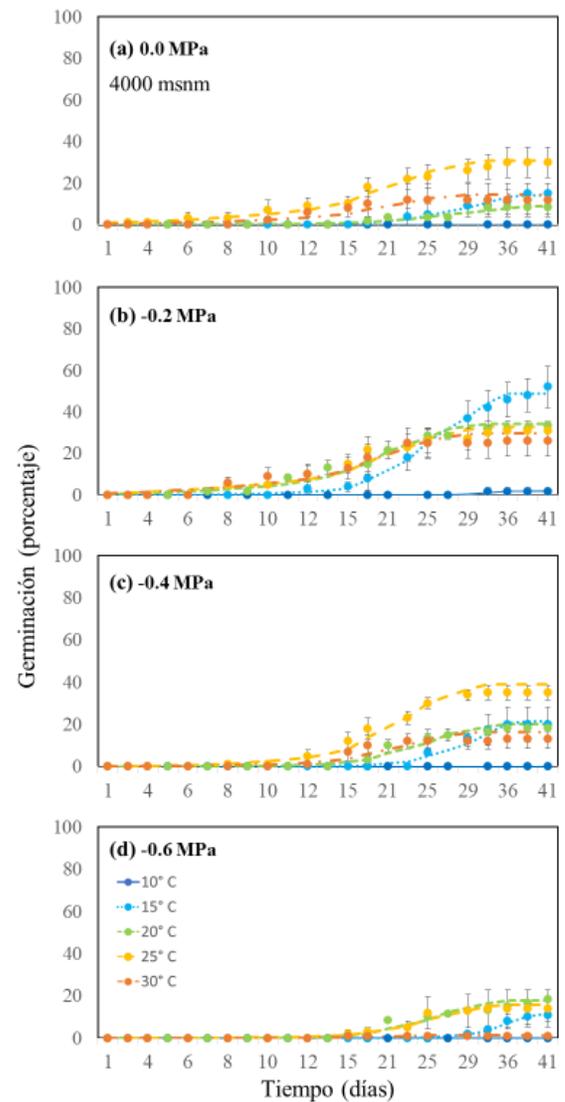


Figura 12. Modelo Lineal-Logarítmico de germinación de semillas de *Pinus hartwegii* procedentes de 4000 m de altitud bajo diferentes tratamientos de temperatura y humedad.

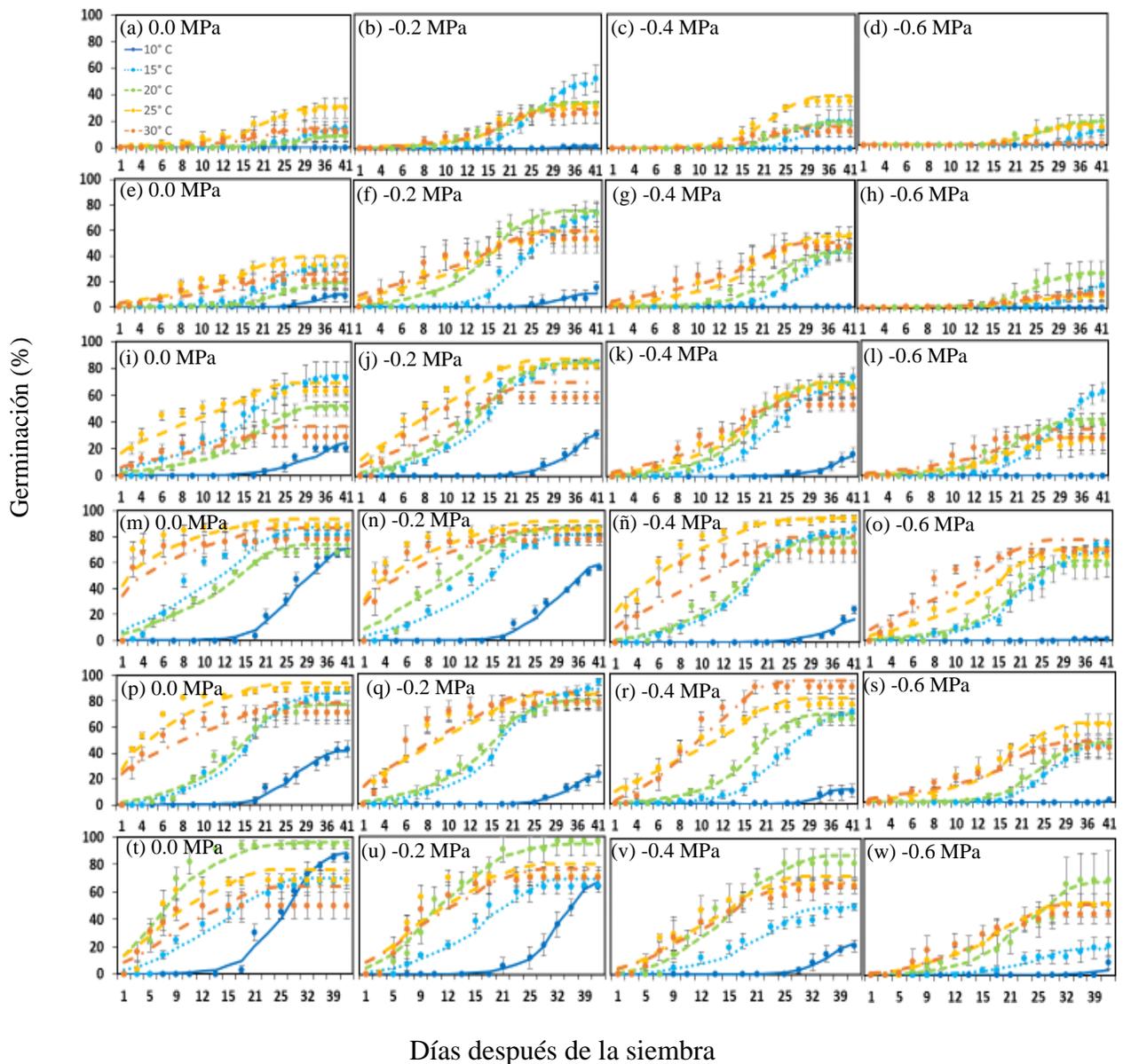


Figura 13. Modelo Lineal-Logarítmico de germinación de las semillas de *Pinus hartwegii* de diferentes procedencias altitudinales; a-d 4000 m, e-h 3850 m, i-l 3700 m, m-o 3550 m, p-s 3400 m, t-w 3250 m de altitud bajo diferentes tratamientos de temperatura (líneas de colores; azul rey 10°, azul cielo 15°, verde 20°, amarillo 25° y naranja 30° C) y humedad (ordenados por columnas de izquierda a derecha; 0.0, -0.2, -0.4 y -0.6 MPa). Las líneas representan el estimado por el modelo, los puntos son el promedio del valor observado y las barras de error corresponden al error estándar.

7.2 Modelo de cambio climático

El modelo de cambio climático predice un aumento de la temperatura media anual de 1.5 °C para el 2030 en todos los sitios donde se colectaron los conos, un aumento de 2.6 °C en el año 2060 y de 3.7 °C para el año 2090 (Tabla 3). En cuanto a la temperatura promedio de los meses más cálidos se espera un aumento de entre 1.6 a 1.7 °C para el 2030, de 2.5 °C para el 2060 y un incremento de 3.8 a 3.9 °C para el año 2090 (Tabla 4). Se espera un aumento en la temperatura máxima de 2.1 a 2.2 °C para el 2030, para el año 2060 se espera un incremento 2.9 a 3 °C y para el año 2090 se espera que aumente en 4.8 °C (Tabla 5).

En cuanto a la precipitación, para el año 2030 se espera una reducción de 133 mm en el sitio de 3250 m y de 187 mm para el sitio de 4000 m lo que correspondería a una reducción del 15% en las precipitaciones, En el año 2060 se espera que la precipitación disminuya 238 mm en el sitio de menor altitud y una reducción de 323 mm para el sitio de 4000 m, esto equivale a una disminución en las lluvias de 26 a 27%. Para la década de 2090 el modelo predice una reducción en las lluvias de 286 mm en el sitio de 3250 m y de 408 mm en el sitio de mayor altura, lo que equivale a una disminución de 33% en las precipitaciones (Tabla 6).

Tabla 3. Temperatura promedio anual (°C)

Altitud (msnm)	Actual	Año 2030	Año 2060	Año 2090
3250	9.9	11.4	12.5	13.6
3400	9	10.5	11.6	12.7
3550	8.1	9.6	10.7	11.8
3700	7.3	8.8	9.9	11
3850	6.5	8	9.1	10.2
4000	5.7	7.2	8.4	9.4

Tabla 4. Temperatura promedio de los meses más cálidos (°C)

Altitud (msnm)	Actual	Año 2030	Año 2060	Año 2090
3250	12	13.7	14.5	15.9
3400	11.1	12.7	13.6	14.9
3550	10.2	11.8	12.7	14
3700	9.3	11	11.8	13.1
3850	8.5	10.1	11	12.3
4000	7.6	9.3	10.2	11.5

Tabla 5. Promedio de la temperatura máxima en los meses más cálidos (°C)

Altitud (msnm)	Actual	Año 2030	Año 2060	Año 2090
3250	19.5	21.7	22.4	24.3
3400	18.2	20.3	21.1	23
3550	16.9	19	19.8	21.7
3700	15.6	17.8	18.6	20.4
3850	14.4	16.5	17.4	19.2
4000	13.2	15.4	16.2	18

Tabla 6. Precipitación promedio anual (mm)

Altitud (msnm)	Actual	Año 2030	Año 2060	Año 2090
3250	887	754	649	601
3400	945	801	693	634
3550	1017	862	747	682
3700	1097	932	809	738
3850	1181	1006	874	795
4000	1266	1079	943	858

8. Discusión

Como se esperaba, de acuerdo con estudios previos realizados en especies coníferas de bosques templados y boreales, la temperatura y la humedad del suelo tienen fuerte influencia en la germinación (Kaufmann 1977, Flannigan 1993). Sin embargo, el proceso de germinación de semillas de *P. hartwegii* (inicio y velocidad) de cada procedencia (altitud) ocurre bajo condiciones de temperatura y humedad muy específicas. De acuerdo con Green (2005) la germinación de las semillas de coníferas varía entre procedencias, esto pudiera deberse a diferencias en la adaptación de las semillas ante diferentes factores climáticos (Allen y Breshears 1998). Los requerimientos específicos para la germinación de semillas de diferentes procedencias pueden estar asociados con las condiciones ambientales presentes en los sitios de origen de éstas, ya sea durante el desarrollo de las semillas o bien a lo largo de su adaptación a dichos sitios, es decir, con las condiciones que han venido experimentado las plantas madre, esto es consistente con lo reportado en algunos estudios donde se ha encontrado que las condiciones de temperatura y humedad al que están expuestas las plantas influyen en más de una generación de sus descendientes en características como la cantidad de semillas producidas, su longevidad, latencia y velocidad de germinación (Weber y Sorensen 1992, Lacey y Herr 2000, Kochanek y cols. 2011, Liu y El-Kassaby 2014). Estos resultados sustentan la alta importancia de las condiciones ambientales durante el desarrollo de las semillas y las de su historia de vida.

En este estudio las semillas de *Pinus hartwegii* procedentes de las elevaciones bajas y medias germinaron en un gradiente amplio de condiciones de temperatura y humedad, mostrando su plasticidad ante un escenario de cambio climático con condiciones de estrés hídrico y térmico. Por el contrario, las semillas de las elevaciones mayores (3700, 3850 y 4000 m) mostraron requerimientos más específicos durante la germinación. En éstas, conforme aumentó la altitud de las procedencias se registró mayor germinación de semillas al disminuir la temperatura, es decir, las semillas de mayor elevación encuentran su óptimo de germinación a menor temperatura, estos resultados confirman que en las altitudes elevadas las bajas temperaturas son el principal factor regulador de los procesos fisiológicos de los árboles, entre los que se

encuentra la germinación (Tranquillini 1964). Además de la influencia de la temperatura, en estas procedencias se observó mayor germinación cuando la disponibilidad de humedad disminuyó un poco (-0.2 MPa), estos resultados indican que las condiciones óptimas para la germinación de las mayores elevaciones no ocurren cuando la cantidad de humedad en el suelo está a capacidad de campo. Este resultado podría explicarse por adaptaciones a las condiciones de humedad del suelo de las partes altas de La Malinche. Aunque en las partes altas del PNLM se registró mayor humedad relativa que en las partes bajas (Franquiz-Domínguez, 2018) y una mayor precipitación anual estimada por el modelo CGCM3, la disponibilidad de humedad en el suelo podría ser menor en estos sitios debido a las características estructurales del suelo y a la pendiente de los terrenos. Los suelos de los ecotonos bosque-pastizal se caracterizan por ser pobres y altamente permeables (Astudillo-Sánchez *et al.*, 2017).

Las semillas de *Pinus hartwegii* procedentes de las mayores elevaciones (3850 y 4000 m) demoraron más en germinar y registraron las tasas más bajas de germinación en todo el gradiente térmico e hídrico que se probó. Asimismo, estas procedencias además de la menor elevación (3250 m), fueron las únicas que registraron variación significativa en la germinación final entre los tratamientos de temperatura, además de esto las de la parte alta mostraron variación significativa en cuanto a los tratamientos de humedad. Estos resultados indican que estas semillas que corresponden a los límites inferior y superior del rango de distribución de la especie germinan en un rango estrecho de condiciones y esto podría ser debido a que su desarrollo ocurrió bajo las condiciones de estrés que caracterizan a los hábitats correspondientes a los límites de distribución de las especies. Al respecto, Bykova y cols. (2012) y Kueppers y cols. (2017) sugieren que la baja germinación en semillas del límite superior se debe a que en estos sitios hay una reducción en la calidad de las semillas, debido a que la presencia de algunos recursos y condiciones para estos sitios es limitada. De acuerdo con diferentes autores, las condiciones del ecotono del límite superior arbóreo presentan condiciones de estrés adicionales a las que se presentan en el núcleo del bosque o en la parte media del rango de distribución altitudinal de las especies reduciendo la producción de semillas, la germinación y supervivencia de plántulas (Coop y Givnish 2008, Viveros-Viveros y cols. 2009)

El cambio climático forzar  a que las especies arbóreas se adapten, migren o se extingan (Aitken y cols. 2008). Se espera que la distribución de especies de *Pinus* en México tenga un decremento del 64% (Gómez-Mendoza y Arriaga 2007). Entre las especies con mayor probabilidad de desaparecer podrá encontrarse a *Pinus hartwegii*, ya que la predicción de su hábitat estima una pérdida de hasta el 80% respecto a su área de distribución actual para el año 2050 (Gutiérrez y Trejo 2014). El modelo de cambio climático generado predice un aumento de la temperatura cercano los 5  C para el año 2090, y una reducción de hasta un 35% de la precipitación para el mismo año por lo que las semillas con poca plasticidad a las condiciones ambientales estarían en riesgo de desaparecer más rápido, en esta especie la baja germinación de las semillas de las procedencias de elevaciones mayores las pone en desventaja no sólo frente a las condiciones que se esperan con el cambio climático, sino también ante las condiciones actuales. Estudios previos reportan un bajo número de renuevos de *P. hartwegii* en el Parque Nacional La Malinche (Portillo-Díaz 2017). Los patrones observados reflejan la variación genética de las poblaciones, por lo que estos resultados sugieren que el calentamiento en las elevaciones mayores reducir  drásticamente la germinación (Kueppers y cols. 2017). Además, el que las poblaciones de las elevaciones mayores de *P. hartwegii* presenten actualmente un rango tan estrecho de temperatura y humedad óptima sugiere que un cambio mínimo en estos factores podrá impactar significativamente la dinámica poblacional de la especie.

Las semillas de *Pinus hartwegii* provenientes de elevaciones bajas y medias muestran mayor velocidad al inicio de la germinación en 25 y 30 C, este rango es relativamente alto respecto a lo reportado para otras especies subalpinas que registran mayor germinación a aproximadamente 22 C (Loranger y cols. 2016) pero es consistente con lo reportado por Musalem y Solís (2000) quienes mencionan que una temperatura entre 15  y 30 C favorece la germinación, no obstante esto no sucede así con las semillas de las procedencias superiores. Por otro lado, en este estudio se encontró que a 10 C la tasa de germinación es muy baja o no ocurre. Estos resultados no coinciden con los reportados por K rner y Paulsen (2004) quienes encontraron que temperaturas inferiores a 5 C y superiores a 12 C reducen el éxito de germinación y de crecimiento de *P. hartwegii* en el Nevado de Toluca y Pico de Orizaba. Sin embargo, en el estudio citado sólo analizan la tendencia de cambio en la temperatura de diferentes montañas alrededor del mundo.

Esto resalta la importancia de nuestro estudio que genera información detallada de las respuestas de las poblaciones ante diferentes escenarios ambientales.

La germinación más rápida y en mayor porcentaje a través de un gradiente amplio de condiciones de las procedencias centrales del rango de distribución de *Pinus hartwegii* sugieren una estrategia más competitiva de estas procedencias frente al cambio climático (Green, 2005), también sugieren que las condiciones ambientales de temperatura y humedad en la parte intermedia aún se encuentran dentro de los rangos tolerables por la especie, lo que le permite producir semilla de mejor calidad (Lopez-Toledo y cols. 2017). De acuerdo con Kueppers y cols. (2017) estas semillas podrían ser la fuente de semillas de las poblaciones ubicadas en las elevaciones mayores.

De acuerdo con Walck y cols. (2011) el grado de adaptación local de las especies observadas en las características relacionadas con la regeneración puede variar, ocurriendo por ejemplo más rápido en las especies anuales que en las perennes. El grado de adaptación a los climas presentes permite hacer una evaluación acerca de las limitaciones que las especies y sus poblaciones tendrán para persistir (Shimono y Kudo, 2003). Bajo este contexto, las semillas de *Pinus hartwegii* procedentes de las elevaciones bajas y medias podrían tener mayor posibilidad de germinar que las semillas de las elevaciones mayores y con ello sus poblaciones también tendrían mayor posibilidad de persistir en las condiciones de cambio que se esperan. Sin embargo, esto no se puede asegurar hasta analizar bajo el contexto del cambio climático otros procesos que forman parte del ciclo de la regeneración natural (por ejemplo, la latencia y la sobrevivencia de plántulas) y que determinan el curso de la dinámica poblacional de las especies.

9. Conclusiones

Existieron diferencias en las tasas de germinación entre las distintas procedencias altitudinales de *Pinus hartwegii* ante diferentes tratamientos de temperatura y humedad.

Los requerimientos de temperatura y humedad para alcanzar la máxima germinación fueron diferentes entre altitudinales.

Las semillas procedentes de las elevaciones superiores son más susceptibles a condiciones de alta temperatura (25° y 30° C). Por lo que las poblaciones de mayor altitud podrían desaparecer ante el aumento de la temperatura aumentan como se ha pronosticado para las altas montañas de México con el cambio climático. Además, a pesar de que estas procedencias se desarrollan en condiciones de baja temperatura, sus semillas no lograron germinar a 10° C en condiciones de estrés hídrico (-0.4 y -0.6 MPa) y fueron afectadas por la alta humedad (0.0 MPa). Esto, pone en riesgo a las poblaciones no solo por un aumento de temperatura sino también por un cambio en las condiciones de humedad.

Las semillas de las procedencias 3500 msnm y de altitudes inferiores fueron menos afectadas por el estrés térmico e hídrico en el momento de la germinación. Ya que lograron germinar en todos los tratamientos. Por lo que serían la mejor opción para obtener plántulas que resistan las condiciones ambientales que se esperan por el cambio climático.

10. Recomendaciones

Nuestro estudio tuvo diversas limitantes como la recolección de semillas sesgada a sólo una ladera del PNLM. Este hecho nos ayudó a comprender que un cambio de 150 m en altitud es suficiente para generar diferencias en los requerimientos de temperatura y humedad para la germinación de semillas de *Pinus hartwegii* que proceden de una población continua en lo que podría considerarse un ambiente similar. Sin embargo, se sugiere hacer un muestreo más amplio donde se puedan contrastar otras semillas procedentes de otras orientaciones. Ya que se sabe que en esta latitud las laderas con una orientación al norte son más húmedas y frías en comparación con las laderas expuestas al sur. Por lo que podríamos esperar que también haya diferentes requerimientos de temperatura y humedad para la germinación entre laderas.

Otra limitación es que solo se contó con tres cámaras de crecimiento de plantas y se tuvieron cinco tratamientos de temperatura, por lo que el experimento se realizó en dos partes. Si bien se tuvo el mayor cuidado de dar el mismo tratamiento pregerminativo.

Este estudio generó información muy importante acerca de los requerimientos que tienen las semillas de diferente procedencia altitudinal al tener control de las condiciones de temperatura y humedad. Los resultados obtenidos son muy relevantes para conocer la susceptibilidad que tienen las diferentes procedencias ante futuros escenarios de cambio climático. Sin embargo, el experimento es necesario evaluar la germinación *in situ* bajo un diseño de translocación que permitan analizar el efecto de otros factores ambientales. Para entender mejor el mecanismo de la adaptación local y su influencia en el establecimiento de nuevos individuos como parte del proceso de regeneración natural del bosque se sugiere un experimento en campo de traslocación de plántulas,

Por último, se recomienda realizar un experimento de germinación en campo por arriba del límite del bosque, con semillas de diferente procedencia altitudinal y observarlas hasta su establecimiento, con la finalidad de conocer si las condiciones ambientales ya han cambiado lo suficiente para que las plantas de las partes bajas e intermedias se puedan establecer.

11. Referencias

- Adams J. 2010. Vegetation-climate interaction: how plants make the global environment. Springer Science & Business Media.
- Aitken SN, Yeaman S, Holliday JA, Wang T y Curtis-McLane S. 2008. Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations. *Evolutionary applications*, 1(1): 95-111.
- Alfaro-Ramírez FU, Arredondo-Moreno JT, Pérez-Suárez M y Endara-Agramont ÁR. 2017. *Pinus hartwegii* Lindl. treeline ecotone: structure and altitudinal limits at Nevado de Toluca, Mexico. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 23(2): 261-273.
- Allen CD y Breshears DD. 1998. Drought-induced shift of a forest–woodland ecotone: rapid landscape response to climate variation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(25): 14839-14842.

- Astudillo-Sánchez CC, Villanueva-Díaz J, Endara-Agramont AR, Nava-Bernal GE y Gómez-Albores MÁ. 2017. Influencia climática en el reclutamiento de *Pinus hartwegii* Lindl. del ecotono bosque-pastizal alpino en Monte Tláloc, México. *Agrociencia*, 51(1): 105-118.
- Barton LV. 1930. Hastening the germination of some coniferous seeds. *American Journal of Botany*, 17(1): 88-115.
- Barton AM. 1994. Gradient analysis of relationships among fire, environment, and Vegetation in a southwestern USA mountain range. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 121: 251-265.
- Baskin CC y Baskin JM. 2014. Germination ecology of seeds with physical dormancy. En: *Seeds: / Baskin CC y Baskin JM. Elsevier. USA. pp145-185.*
- Begon M, Colin R. Townsend y John L. Harper. 2006a. Conditions En: *Ecology from individuals to ecosystems / Michael Begon, Colin R. Townsend, John L. Harper. —4th ed. Editorial. Blackwell Publishing. United Kingdom. pp. 32.*
- Begon M, Colin R. Townsend y John L. Harper. 2006b. Resources En: *Ecology from individuals to ecosystems / Michael Begon, Colin R. Townsend, John L. Harper. —4th ed. Editorial. Blackwell Publishing. United Kingdom. pp. 32.*
- Bewley JD, Bradford K, Hilhorst H y Nonogaki H. 2013. *Seeds: physiology of development, germination and dormancy. Springer Science & Business Media. London.*
- Boydak M, Dirik H, Tilki F y Çalikoğlu M. 2003. Effects of water stress on germination in six provenances of *Pinus brutia* seeds from different bioclimatic zones in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 27(2): 91-97.
- Burrows M T, Schoeman DS, Buckley LB, Moore P, Poloczanska ES, Brander KM, Brown C, Bruno JF, Duarte CM, Halpern BJ, y Holding J. 2011. The pace of shifting climate in marine and terrestrial ecosystems. *Science*, 334(6056): 652-655.

- Bykova O, Chuine I, Morin X y Higgins SI. 2012. Temperature dependence of the reproduction niche and its relevance for plant species distributions. *Journal of Biogeography*, 39(12): 2191-2200.
- Campbell RK y Ritland SM. 1982. Regulation of seed-germination timing by moist chilling in western hemlock. *New Phytologist*, 92(2): 173-182.
- Castañeda Rojas MF, Endara Agramont AR, Villers Ruiz MDL y Nava Bernal EG. 2015. Evaluación forestal y de combustibles en bosques de *Pinus hartwegii* en el Estado de México según densidades de cobertura y vulnerabilidad a incendios. *Madera y bosques*, 21(2), 45-58.
- Chapela F. 2012. Estado de los bosques de México. Consejo civil mexicano para la silvicultura sostenible AC. DF.
- Coop JD y Givnish TJ. 2008. Constraints on tree seedling establishment in montane grasslands of the Valles Caldera, New Mexico. *Ecology*, 89(4): 1101-1111.
- Crawley JM. 2013a. General Linear Models. En: *The R book*. Crawley JM. Editorial. Wiley. London
- Crawley JM. 2013b. Proportion Data. En: *The R book*. Crawley JM. Editorial. Wiley. London
- Dunlap JR y Barnett JP. 1984. Manipulating loblolly pine (*Pinus taeda* L.) seed germination with simulated moisture and temperature stress. In *Seedling physiology and reforestation success*. Springer, Dordrecht. pp. 61-74.
- Endara-Agramont AR, Calderón-Contreras R, Nava-Bernal G y Franco-Maass S. 2013. Analysis of fragmentation processes in high-mountain forests of the centre of Mexico. *American Journal of Plant Sciences*, 4(03): 697.
- Ernst-Detlef S, Erwin B y Müller-Hohenstein K. 2005. Synchorology: Basis of Spatial Distribution of plants. En: *Plant Ecology/ Ernst-Detlef S, Erwin B y Müller-Hohenstein K*. Editorial. Springer. Berlin.

- Escudero A, Pérez-García F y Luzuriaga AL. 2002. Effects of light, temperature and population variability on the germination of seven Spanish pines. *Seed Science Research*, 12(4): 261-271.
- Flannigan MD. 1993. Fire regime and the abundance of red pine. *International Journal of Wildland Fire*, 3(4), 241-247
- Flint HL. 1974. Phenology and genecology of woody plants. In *Phenology and seasonality modeling* (pp. 83-97). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Franklin J, Serra-Diaz JM, Syphard AD y Regan HM. 2016. Global change and terrestrial plant community dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(14): 3725-3734.
- Franquiz-Domínguez F., 2018. Factores asociados a la fenología de *Pinus hartwegii* Lindl. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala.
- Galloway LF y Etterson JR. 2007. Transgenerational plasticity is adaptive in the wild. *Science*, 318(5853): 1134-1136.
- Galloway LF. 2005. Maternal effects provide phenotypic adaptation to local environmental conditions. *New Phytologist*, 166(1): 93-100.
- Gómez-Mendoza L y Arriaga L. 2007. Modeling the effect of climate change on the distribution of oak and pine species of Mexico. *Conservation Biology*, 21(6): 1545-1555.
- Gosling PG. 1988. The effect of moist chilling on the subsequent germination of some temperate conifer seeds over a range of temperatures. *Journal of Seed Technology*, 90-98.
- Green DS. 2005. Adaptive strategies in seedlings of three co-occurring, ecologically distinct northern coniferous tree species across an elevational gradient. *Canadian Journal of Forest Research*, 35(4): 910-917.
- Guillén S, Benítez J, Martínez-Ramos M y Casas A. (2009). Seed germination of wild, in situ-managed, and cultivated populations of columnar cacti in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Journal of Arid Environments*, 73(4-5), 407-413.

- Guitérrez E y Trejo I. (2014). Efecto del cambio climático en la distribución potencial de cinco especies arbóreas de bosque templado en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(1): 179-188.
- Gutterman, Y. (2000). Maternal effects on seeds during development. En: *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. Editorial. CABI publishing UK. 2, 59-84.
- Hampe A, Petit RJ. 2005. Conserving biodiversity under climate change: the rear edge matters. *Ecology letters*, 8(5): 461-467.
- Harper JL. 1977. *Population biology of plants*. London: Academic press. Vol. 892
- Hardy JT. 2003. *Effects on Terrestrial Ecosystems* En: *Climate change: causes, effects, and solutions*. John Wiley & Sons. John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex PO19 8SQ, England
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change), 2013: *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 1535 pp.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change), 2018. *Global Warming of 1.5°C: An IPCC special report on the impacts of global warming of 1.5°C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty*. Intergovernmental Panel on Climate Change. Switzerland.
- Islas GJ, Magaña-Torres OS y Buendía RE. 2008. Entorno físico, político-administrativo, social y económico de la actividad forestal. En: *Tlaxcala sus recursos Forestales: Conservación, Aprovechamiento y bases para su Manejo Sustentable/ Guerra de la CV y C. Mallén R*. INIFAP-CENID-COMEF. México. Cap. 1. pp.

- Juntunen V y Neuvonen S. 2006. Natural regeneration of Scots pine and Norway spruce close to the timberline in northern Finland. *Silva Fennica* 40(3): 443–458.
- Kamra SK y Simak M. 1968. Germination studies on Scots pine (*Pinus silvestris* L.) seed of different provenances under alternating and constant temperatures. *Studia Forestalia Suecia*. (No. 62).
- Kaufmann MR. 1977. Soil temperature and drying cycle effects on water relations of *Pinus radiata*. *Canadian Journal of Botany*, 55(18): 2413-2418.
- Kochanek J, Steadman KJ, Probert RJ y Adkins SW. 2011. Parental effects modulate seed longevity: exploring parental and offspring phenotypes to elucidate pre-zygotic environmental influences. *New Phytologist*, 191(1): 223-233.
- Körner C y Paulsen J. 2004. A world-wide study of high altitude treeline temperatures. *Journal of Biogeography*, 31(5): 713-732.
- Körner C. 2007. The use of ‘altitude’ in ecological research. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(11): 569-574.
- Körner C. 2012. *Alpine treelines: functional ecology of the global high elevation tree limits*. Springer Science & Business Media. Basel Switzerland
- Kueppers LM, Conlisk E, Castanha C, Moyes AB, Germino MJ, De Valpine P y Mitton JB. 2017. Warming and provenance limit tree recruitment across and beyond the elevation range of subalpine forest. *Global Change Biology*, 23(6):2383-2395.
- Kullman L. 2005. Pine (*Pinus sylvestris*) treeline dynamics during the past millennium—a population study in west-central Sweden. *Annales Botanici Fennici* 42:95-106.
- Lacey EP y Herr D. 2000. Parental effects in *Plantago lanceolata* L. III. Measuring parental temperature effects in the field. *Evolution*, 54(4): 1207-1217.
- Langdon JGR y Lawler JJ. 2015. Assessing the impacts of projected climate change on biodiversity in the protected areas of western North America. *Ecosphere* 6(5): 1-14.
- Lascoux M, Glémin S y Savolainen O. 2016. *Local Adaptation in Plants*. *eLS*.

- Liu Y El-Kassaby YA. (2015). Timing of seed germination correlated with temperature-based environmental conditions during seed development in conifers. *Seed Science Research*, 25(1): 29-45.
- López DJC y Bautista SC. 2005. Biodiversidad del Parque Nacional Malinche-Tlaxcala. En: Tlaxcala sus recursos Forestales: Conservación, Aprovechamiento y bases para su Manejo Sustentable/ Guerra de la CV y C. Mallén R. INIFAP-CENID-COMEF. México. Cap. 7. pp. 110-115.
- Lopez-Toledo L, Heredia-Hernández M, Castellanos-Acuña D, Blanco-García A y Saénz-Romero C. 2017. Reproductive investment of *Pinus pseudostrobus* along an altitudinal gradient in Western Mexico: implications of climate change. *New Forests*, 48(6): 867-881.
- Loranger H, Zotz G y Bader MY. 2016. Early establishment of trees at the alpine treeline: idiosyncratic species responses to temperature-moisture interactions. *AoB Plants*, 8.
- Marañón T, Camarero JJ, Castro J, Díaz M, Espelta JM, Hampe A, Jordano P, Valladares F, Verdú M y Zamora R. 2004. Heterogeneidad ambiental y nicho de regeneración. *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*, 69-99.
- Matías L. 2012. Cambios en los límites de distribución de especies arbóreas como consecuencia de las variaciones climáticas. *Revista Ecosistemas*, 21(3): 91-96.
- Meraz G y Bonilla-Beas R. 2000. Análisis y tratamientos pregerminativos en semillas de *Pinus arizonica* Engelm. y *Pinus durangensis* Mart. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 6(1): 15-20.
- Michel BE y Radcliffe D. 1985. A computer program relating solute potential to solution composition for five solutes. *Agronomy Journal* 87, 126–130.
- Misra S. 1994. Conifer zygotic embryogenesis, somatic embryogenesis, and seed germination: biochemical and molecular advances. *Seed Science Research*, 4(4): 357-384.

- Molina C, Tapias R y Gil L. 1997. Influencia de la posición en la copa y del año de maduración en la germinación de las semillas de *Pinus pinaster* Ait. de la Sierra del Teleno (León, Noroeste de España). *Forest Systems*, 6(1): 53-65.
- Mousseau TA y Fox CW. 1998. The adaptive significance of maternal effects. *TREE*, 13(10): 403-407.
- Musalem SMA y Solís MA. 2000. Monografía de *Pinus hartwegii*. SAGAR. INIFAP.CIRCE Campo experimental valle de México. Libro técnico número 3. Chapingo. Estado de México. 96 p.
- Oliver PT. 2007. Dinámica de regeneración de *Pinus nigra* subsp. *salzmannii* al sur de su área de distribución: etapas, procesos y factores implicados. *Forest Systems*, 16: 124-135
- Ortega Mata A, Mendizábal Hernández L, Alba Landa J y Aparicio Rentería, A. 2003. Germinación y crecimiento inicial de *Pinus hartwegii* Lindl. De siete poblaciones del Estado de México. *Foresta Veracruzana*, 5(2).
- Palazzi E, Filippi L y Von Hardenberg J. 2017. Insights into elevation-dependent warming in the Tibetan Plateau-Himalayas from CMIP5 model simulations. *Climate Dynamics*, 48(11-12): 3991-4008.
- Parmesan C. 2006. Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 37: 637-669.
- Peñuelas J y Boada M. (2003). A global change-induced biome shift in the Montseny mountains (NE Spain). *Global Change Biology*, 9(2): 131-140.
- Pepin N, Bradley RS, Diaz HF, Baraër M, Caceres EB, Forsythe, N y Miller JR. 2015. Elevation-dependent warming in mountain regions of the world. *Nature Climate Change*, 5(5): 424. <http://dx.doi.org/10.1038/nclimate2563>.
- Pérez LP, López BF, García OF, Cuevas-Reyes P. y González RA. 2013. Procesos de regeneración natural en los bosques de encinos: factores facilitadores y limitantes.. *Biológicas*. 1:18-24.

- Perry Jr JP. 1991. The pines of Mexico and Central America. Portland. Editorial. Tiber Press USA
- Portillo-Díaz CI. 2017. Estructura vertical y horizontal de bosques de *Pinus hartwegii* Lindl. en el Parque Nacional La Malinche: análisis de la regeneración natural y los factores que la afectan. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala.
- Premoli AC y Mathiasen P. 2011. Respuestas ecofisiológicas adaptativas y plásticas en ambientes secos de montaña: *Nothofagus pumilio*, el árbol que acaparó los Andes australes. *Ecología Austral*, 21(3): 251-269.
- Rickebusch S, Lischke H, Bugmann H, Guisan A y Zimmermann NE. 2007. Understanding the low-temperature limitations to forest growth through calibration of a forest dynamics model with tree-ring data. *Forest Ecology and Management*, 246(2-3): 251-263.
- Rojas-García F y Villers-Ruíz L. 2008. Estimación de la biomasa forestal del Parque Nacional Malinche Tlaxcala-Puebla. *Ciencia Forestal en México*, 33(104): 59-86.
- Sáenz-Romero C, Rehfeldt GE, Duval P y Lindig-Cisneros RA, 2012. *Abies religiosa* habitat prediction in climatic change scenarios and implications for monarch butterfly conservation in Mexico. *Forest Ecology and Management*, 275: 98-106.
- Sáenz-Romero C, Rehfeldt GE, Crookston NL, Duval P, St-Amant R, Beaulieu J y Richardson BA. 2010. Spline models of contemporary, 2030, 2060 and 2090 climates for Mexico and their use in understanding climate-change impacts on the vegetation. *Climatic Change*, 102(3-4): 595-623.
- Sánchez A y López ML. 2003. Clasificación y ordenación de la vegetación del norte de la Sierra Nevada, a lo largo de un gradiente altitudinal. *Anales del Instituto de Biología. Serie Botánica*, 74(1).
- Sevik H y Cetin M. 2015. Effects of water stress on seed germination for select landscape plants. *Pol. J. Environ. Stud*, 24(2): 689-693.

- Shimono Y y Kudo G. 2003. Intraspecific variations in seedling emergence and survival of *Potentilla matsumurae* (Rosaceae) between alpine fellfield and snowbed habitats. *Annals of Botany*, 91(1): 21-29.
- Skordilis A y Thanos CA. 1995. Seed stratification and germination strategy in the Mediterranean pines *Pinus brutia* and *P. halepensis*. *Seed Science Research*, 5(3): 151-160.
- Stahle DW, Cook ER, Burnette DJ, Villanueva J, Cerano J, Burns JN y Szejner P. 2016. The Mexican Drought Atlas: Tree-ring reconstructions of the soil moisture balance during the late pre-Hispanic, colonial, and modern eras. *Quaternary Science Reviews*, 149: 34-60.
- Tejeda LM. 2018. Dinámica de semillas de *Pinus hartwegii* Lindl. en un gradiente altitudinal del Cofre de Perote, Veracruz, México Tesis de Maestría en Ecología Forestal. Universidad Veracruzana. Veracruz.
- Thomson AM, Riddell CL y Parker WH. 2009. Boreal forest provenance tests used to predict optimal growth and response to climate change: 2. Black spruce. *Canadian Journal of Forest Research*, 39(1), 143-153.
- Tilki F. 2005. Seed germination and radicle development in six provenances of *Pinus sylvestris* L. under water stress. *Israel Journal of Plant Sciences*, 53(1): 29-33.
- Topacoglu OS, Sevik H y Akkuzu E. 2016. Effects of water stress on germination of *Pinus nigra* Arnold. *Seeds. Pakistan Journal of Botany*, 48(2): 447-453.
- Tranquillini W. 1964. The physiology of plants at high altitudes. *Annual Review of Plant Physiology*, 15(1), 345-362.
- Varela SA y Arana V. 2011. Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. *Sistema Forestal Integrado*, 1-10.
- Vázquez MG. 2010. Estudio de la factibilidad para un mercado local de servicios ambientales hidrológicos en la cuenca Valle de Bravo-Amanalco. Doctoral dissertation, tesis de

Licenciatura en Ciencias Ambientales, Facultad de Planeación Urbana y Regional,
Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca.

- Viveros-Viveros H, Saenz-Romero C, Vargas-Hernández JJ, López-Upton J, Ramírez-Valverde G y Santacruz-Varela A. 2009. Altitudinal genetic variation in *Pinus hartwegii* Lindl. I: Height growth, shoot phenology, and frost damage in seedlings. *Forest Ecology and Management*, 257(3): 836-842.
- Wade MJ. 1998. The evolutionary genetics of maternal effects. *Maternal effects as adaptations*, 21: 827-839.
- Walck JL, Hidayati SN, Dixon KW, Thompson KEN y Poschlod P. 2011. Climate change and plant regeneration from seed. *Global Change Biology*, 17(6): 2145-2161.
- Weber JC y Sorensen FC. 1992. Geographic variation in speed of seed germination in central Oregon ponderosa pine (*Pinus ponderosa* Dougl. ex Laws.). Res. Pap. PNW-RP-444. Portland, OR: US Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station. 12 p, 444.
- Zhu J, Kang H, Tan H y Xu M. 2006. Effects of drought stresses induced by polyethylene glycol on germination of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* seeds from natural and plantation forests on sandy land. *Journal of Forest Research*, 11(5): 319-328.