



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA

---

---

Posgrado en Ciencias Biológicas

Diferenciación entre poblaciones a lo largo de un gradiente altitudinal de indicadores reproductivos de *Pinus hartwegii* en el 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  
Raúl Miguel Montero Nava

Directora:  
Dra. Susana Guillén Rodríguez

Tlaxcala, Tlax.

Enero, 2020



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA

---

---

Posgrado en Ciencias Biológicas

Diferenciación entre poblaciones a lo largo de un gradiente altitudinal de indicadores reproductivos de *Pinus hartwegii* en el Parque Nacional La Malinche

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Raúl Miguel Montero Nava

Directora:

Dra. Susana Guillén Rodríguez

Codirector:

Dr. Arturo Estrada Torres

Comité Tutorial:

Dr. Fernando Pineda García

Dr. Cuauhtémoc Sáenz Romero

Tlaxcala, Tlax.

Enero, 2020

## **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:859970).



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 **Raúl Miguel Montero Nava** 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: **“Diferenciación entre poblaciones a lo largo de un gradiente altitudinal de indicadores reproductivos de *Pinus hartwegii* en el Parque Nacional La Malinche”.**

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
TLAXCALA, TLAX., 24 DE ENERO 2020

DRA. SUSANA GUILLÉN RODRÍGUEZ

DR. JORGE VÁZQUEZ PÉREZ

DRA. BARBARA CRUZ SALAZAR

DR. JOSÉ LUIS MARTÍNEZ Y PÉREZ

DR. CUAUHTÉMOC SÁENZ ROMERO



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 (859970).

A los miembros del comité tutorial: Dra. Susana Guillén Rodríguez, Dr. Arturo Estrada Torres, Dr. Fernando Pineda García y al Dr. Cuauhtémoc Sáenz Romero por su tiempo y dedicación para que este proyecto fuera posible.

## **Agradecimientos a título personal**

A mi directora de tesis, Dra. Susana Guillen por el apoyo y su dedicación para guiar este proyecto.

A mi codirector, Dr. Arturo Estrada por sus consejos y su valioso aporte a esta investigación.

A mis amigos, Saúl George y Claudia Portillo por su ayuda en campo.

A mis amigos, Bélgica Porras y Miguel Godoy por sus enseñanzas.

A mi familia, por ser mi pilar fundamental.

A todos ellos, mil gracias.

## **Diferenciación entre poblaciones a lo largo de un gradiente altitudinal de indicadores reproductivos de *Pinus hartwegii* en el Parque Nacional La Malinche**

### Resumen:

En los ecosistemas de montaña, las condiciones ambientales difieren a lo largo del gradiente altitudinal, y con ello, la distribución de las especies vegetales. Las poblaciones que se desarrollan en las altitudes medias, alcanzan sus mejores desempeños debido a que experimentan las condiciones óptimas de humedad y temperatura, en contraste con las poblaciones de las altitudes de los extremos. Estas condiciones se ven reflejadas en la producción de semillas, la germinación e incluso en el establecimiento de plántulas. Para determinar la viabilidad de las poblaciones, se evaluó los rasgos de estróbilos y semillas como indicadores reproductivos de *Pinus hartwegii* y su asociación con la densidad del arbolado adulto en un gradiente altitudinal (rango de 3400 a 4000 m snm) en el Parque Nacional La Malinche, Puebla. Los resultados muestran que los indicadores reproductivos difieren entre altitudes; las poblaciones que se encuentran en la parte media del gradiente altitudinal (3400, 3550 y 3700 m snm), presentan los valores más altos en cuanto al número de semillas desarrolladas, semillas llenas y la eficiencia de las semillas, en comparación con las altitudes altas (3850 y 4000 m snm), de igual forma, en las altitudes altas se presentó el mayor índice de endogamia. La diferencia en estos valores puede estar explicado por las condiciones de estrés ambiental que se produce a lo largo de su distribución altitudinal, principalmente por temperaturas bajas. En cuanto a la asociación de los indicadores reproductivos con la densidad del arbolado, no se presentó ninguna diferencia significativa, sin embargo, es posible que tales efectos todavía no puedan ser observados y consecuentemente disminuya la eficiencia de las semillas y aumente los niveles de endogamia, teniendo un impacto negativo en la germinación y el establecimiento de plántulas. Finalmente, el porcentaje de germinación mostró que las altitudes medias (3400 y 3550 m snm) presentan los mayores valores a diferencia de las altitudes altas (3700, 3850 y 4000 m snm), lo cual, puede estar relacionado con el alto índice de endogamia que se observó a mayores altitudes.

Palabras clave: *Pinus hartwegii*, gradiente altitudinal, indicadores reproductivos, Parque Nacional La Malinche.

# ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN .....	1
2.	ANTECEDENTES.....	3
2.1	Ecosistemas templados en México.....	3
2.2	Variación de los indicadores reproductivos .....	5
2.3	Variación en los gradientes altitudinales.....	6
3.	PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN E HIPÓTESIS.....	7
4.	JUSTIFICACIÓN.....	7
5.	OBJETIVOS .....	8
5.1	Objetivo general .....	8
5.2	Objetivos específicos.....	8
6.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	8
6.1	Parque Nacional La Malinche .....	8
6.2	<i>Pinus hartwegii</i> .....	10
6.3	Selección de los sitios de muestreo .....	11
6.4	Selección de los individuos de estudio.....	12
6.5	Densidad del arbolado a través del gradiente altitudinal.....	12
6.6	Colecta de estróbilos .....	13
6.7	Disección de los estróbilos y clasificación de las escamas .....	13
6.8	Indicadores reproductivos .....	15
6.9	Tratamiento pregerminativo de las semillas.....	17
6.10	Siembra de semillas.....	19
6.11	Análisis de los datos.....	20
7.	RESULTADOS .....	22
7.1	Semillas desarrolladas .....	22
7.2	Semillas llenas.....	23
7.3	Semillas vanas .....	23
7.4	Eficiencia de producción de semillas .....	24
7.5	Índice de Endogamia.....	25
7.6	Indicadores reproductivos y su asociación con la densidad de la población.....	26
7.7	Porcentaje de germinación .....	29
8.	DISCUSIÓN .....	30



9.	CONCLUSIONES .....	33
10.	RECOMENDACIONES PARA SU CONSERVACIÓN .....	34
11.	ANEXO.....	35
12.	LITERATURA CITADA.....	36

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Actividades antropogénicas que afectan al Parque Nacional La Malinche .....	9
Figura 2. Individuo de <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. a 4000 m snm en la ladera Sur en el Parque Nacional La Malinche .....	10
Figura 3. Colecta de estróbilos de <i>Pinus hartwegii</i> en el Parque Nacional La Malinche ....	13
Figura 4. Disección de los estróbilos de <i>Pinus hartwegii</i> .....	14
Figura 5. Clasificación de las escamas de <i>Pinus hartwegii</i> : (b) Escamas fértiles e infértiles superiores e inferiores (a) y (c).....	15
Figura 6. Proceso para la estratificación de semillas de <i>Pinus hartwegii</i> .....	18
Figura 7. Proceso para la siembra y germinación de semillas de <i>Pinus hartwegii</i> .....	20
Figura 8. Número promedio de semillas desarrolladas por cono de <i>Pinus hartwegii</i> en un gradiente altitudinal del Parque Nacional La Malinche .....	22
Figura 9. Número promedio de semillas llenas por cono de <i>Pinus hartwegii</i> en un gradiente altitudinal del Parque Nacional La Malinche .....	23
Figura 10. Número promedio de semillas vanas por cono de <i>Pinus hartwegii</i> en un gradiente altitudinal del Parque Nacional La Malinche .....	24
Figura 11. Eficiencia de producción de semillas por cono de <i>Pinus hartwegii</i> en un gradiente altitudinal del Parque Nacional La Malinche .....	25
Figura 12. Índice de endogamia de semillas por cono de <i>Pinus hartwegii</i> en un gradiente altitudinal del Parque Nacional La Malinche .....	26
Figura 13. Asociación de indicadores reproductivos con el número de individuos de <i>Pinus hartwegii</i> en un gradiente altitudinal del Parque Nacional La Malinche .....	29
Figura 14. Porcentaje de germinación de <i>Pinus hartwegii</i> de un gradiente altitudinal del Parque Nacional La Malinche .....	30

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Localización geográfica de las poblaciones de <i>Pinus hartwegii</i> en la ladera Sur del Parque Nacional La Malinche. ....	12
Tabla 2. Número de semillas sembradas de <i>Pinus hartwegii</i> de un gradiente altitudinal del Parque Nacional La Malinche. ....	19
Tabla 3. Datos generales sobre la ubicación geográfica de <i>Pinus hartwegii</i> y su densidad del arbolado reproductivo en un gradiente altitudinal del Parque Nacional La Malinche. ....	35

## 1. INTRODUCCIÓN

En México, los bosques templados presentan la mayor cobertura forestal con alrededor del 20% de la superficie, de esta proporción, el 15% está representada por bosques de *Pinus* (Rzedowski, 2006), cuyas especies tienen una gran importancia ecológica, económica y social (Velázquez y Bocco, 2003). Sin embargo, a pesar de su alta importancia, diversas actividades antropogénicas como la extracción ilegal, el cambio de uso de suelo y los incendios, han provocado que la mayor parte de los bosques de pino en México se encuentren fragmentados, deteriorados, amenazados y/o en peligro de extinción (Iglesias y Tivo, 2006, y Rojas y cols., 2008).

Para determinar la funcionalidad de los bosques y de los atributos que requieren ser mejorados en las poblaciones para su conservación, se han estudiado los indicadores del éxito reproductivo en estróbilos y semillas evaluando el número de escamas fértiles e infértiles, el potencial de producción de semillas, las semillas desarrolladas, semillas llenas y vanas, los óvulos abortados durante el primer y el segundo año de desarrollo, la eficiencia de las semillas e índice de endogamia (Bramlett y cols., 1977, Mosseler y cols., 2000). Con este tipo de análisis, se obtiene información que ayuda a determinar la capacidad que tienen los individuos en cuanto a la productividad de semillas, la cual se expresa en términos del potencial y la eficiencia de las semillas (Bramlett y cols., 1977, Mosseler y cols., 2000). Del mismo modo, la evaluación de la germinación y el establecimiento de plántulas se ha utilizado para determinar la viabilidad a nivel de especie y de población (Castilleja y cols., 2016).

La fragmentación de los bosques representa una amenaza importante, debido a la reducción de las poblaciones y a la pérdida de su conectividad, lo cual, provoca cambios en la composición y la estructura del ecosistema ocasionando una disminución importante de la biodiversidad (Cayuela, 2006). En las poblaciones que se encuentran altamente fragmentadas o con una baja densidad del arbolado adulto, disminuye el flujo génico intrapoblacional y aumenta la autofecundación. En poblaciones pequeñas, se ha demostrado la presencia de depresión por endogamia debido al mayor porcentaje de polinización entre árboles

emparentados, provocando un bajo número de semillas fértiles y una reducción en la tasa de germinación, sobrevivencia y el desarrollo de las plántulas (Husband y Schemske 1996).

En los ecosistemas de montaña, las condiciones ambientales difieren a lo largo del gradiente altitudinal y con ello, la distribución de las especies vegetales. De acuerdo con Korner (2007) los principales factores que varían con la altitud son la presión atmosférica, la temperatura y la radiación solar. Generalmente, las altitudes de las partes bajas están asociadas con temperaturas mayores y un estrés hídrico, en contraste con las poblaciones de las partes altas, mientras que, en las partes medias las especies alcanzan sus mejores desempeños debido a que experimentan las condiciones óptimas de humedad y temperatura (Sáenz y cols., 2006). En las coníferas, a nivel intrapoblacional se han encontrado diferencias significativas en cuanto a los recursos que invierten los individuos en reproducción (semillas viables y tasas de germinación) y en el desempeño durante las primeras etapas del ciclo de vida (sobrevivencia y crecimiento), estas diferencias se asocian a las condiciones ambientales que se presentan a lo largo del gradiente altitudinal. La variación de las condiciones, además de limitar la distribución de las especies, pueden dar origen a diferencias genéticas y/o fenotípicas, por lo que las plantas pueden desarrollar una adaptación local, de tal manera que las poblaciones procedentes de ciertas altitudes están adaptadas a un intervalo de condiciones ambientales específicas, ya sea de humedad, temperatura o luz (Sáenz y cols., 2006, Viveros y cols., 2005 y López y cols., 2017). Las especies forestales han evolucionado en conjunto con el entorno en el que se desarrollan, por ejemplo, el tipo de suelo y a los factores de perturbación que prevalecen donde crecen. Llegando a presentar adaptaciones morfológicas, fisiológicas y genéticas que les permiten sobrevivir, crecer y competir en sitios donde se distribuyen naturalmente (Alfaro y cols., 2014, Vitasse y cols., 2009, Viveros y cols., 2009 y Lascoux y cols., 2016).

La cantidad y la calidad de las semillas que las plantas producen son características muy importantes que determinan la historia de vida de las poblaciones, sus estrategias y su distribución espacial, entre otros procesos (Grime y Hillier, 2000). Las semillas de mayor calidad tendrán mayor capacidad de reclutamiento (Leishman y cols., 2000), ventajas adaptativas (Bazzas y cols., 2000) y mayor capacidad de sobrevivir bajo condiciones estresantes (Walter y Reich, 2000). Sin embargo, entre especies y poblaciones hay una gran

variación en cuanto a la cantidad y calidad de semillas producidas debido a factores evolutivos y ecológicos (Castilleja y cols., 2016).

En las montañas más altas de México y América Central se distribuye *Pinus hartwegii* en un rango altitudinal que va de los 2800 a los 4200 m snm. Esta especie constituye el límite de la distribución arbórea, por lo cual, está adaptada a temperaturas bajas, por lo que es altamente susceptible al calentamiento global (Perry, 1991). Los bosques de *P. hartwegii* se encuentran sometidos a diversos factores que amenazan su adecuación, principalmente por la extracción ilegal, incendios y plagas. Estos factores generan poblaciones fragmentadas y reducidas, las cuales, ocasionan desequilibrios ecosistémicos y una reducción en la biodiversidad (Iglesias y Tivo, 2006 y Rojas y cols., 2006). Aunado a esto, las predicciones generadas a partir de diferentes modelos de cambio climático para esta especie indican que su hábitat podría reducirse hasta en un 80% para el año 2050 (Gutiérrez y Trejo, 2014).

Para *P. hartwegii* se ha registrado una disminución en la producción de semillas y bajo porcentaje de germinación, situaciones que ponen en riesgo la variabilidad genética que pudiera hacer frente al calentamiento global (Iglesias y cols., 2006). Al evaluar la estructura de las poblaciones de *P. hartwegii* en diferentes pisos altitudinales, se encontró que el reclutamiento de nuevos individuos ha sido casi nulo en los últimos años y que los pocos individuos juveniles se encontraron en las elevaciones mayores (Portillo, 2017).

Bajo todo este contexto, es necesario que para *P. hartwegii* se realice una evaluación de la capacidad reproductiva de sus poblaciones y del desempeño de los individuos durante las primeras etapas de su ciclo de vida a lo largo de un gradiente altitudinal, con la finalidad de conocer el estado de conservación de sus bosques y la permanencia de sus poblaciones a futuro, principalmente ante los pronósticos de cambio climático que son inminentes.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 Ecosistemas templados en México**

En México, los bosques templados se distribuyen principalmente a lo largo de cadenas montañosas, en altitudes que oscilan entre los 1500 hasta los 4200 m snm, cubriendo el 23.4% del territorio mexicano (Rzedowski, 2006, Gómez y cols., 2011). Los principales tipos de

vegetación que conforman los bosques templados son los de *Pinus*, *Quercus*, *Abies* y *Juniperus* (Velázquez y Bocco, 2003), los cuales, la mayoría se distribuyen en las montañas más altas de México, como El Volcán de Colima, El Popocatepetl-Iztaccíhuatl, La Malinche, El Cofre de Perote y El Pico de Orizaba (Perry, 1991). El género *Pinus* en México, presenta una amplia diversidad biológica, con alrededor de 94 especies (Rzedowski, 2006), además forman bosques que tienen una gran importancia ecológica, económica y social ya que albergan una alta biodiversidad, abastecen los mantos acuíferos, retienen y forman suelo, proporcionan madera, resina y pulpa para la industria papelera y sirven como medio de recreación. Sin embargo, a pesar de su importancia, la mayor parte de ellos están fragmentados, deteriorados, amenazados o en peligro de extinción, provocando desequilibrios ecosistémicos y una reducción en la biodiversidad como resultado de actividades antropogénicas (Iglesias y Tivo, 2006, Rojas y cols., 2008 y Perroni y cols., 2015). Aunado a esto, el cambio climático representa una amenaza adicional para la distribución de las especies. En México, se han implementado modelos predictivos de cambio climático, pronosticando que habrá un aumento en la temperatura promedio anual de 1.5 °C para el 2030, 2.3 °C en el 2060 y 3.7 °C para el 2090 y un decremento de la precipitación anual de 6.7, 9.0 y 18.2 %, respectivamente (Sáenz y cols., 2010, Sáenz y cols., 2016). Este fenómeno causará un desacoplamiento entre poblaciones de especies forestales y clima al cual están adaptadas, induciendo a una disminución en la cubierta forestal. Además, se espera que algunos hábitats se contraigan y otros se expandan a distintas escalas geográficas o en el peor de los casos que desaparezcan (Sáenz y cols., 2010, Gutiérrez y Trejo, 2014). Los cambios en las condiciones ambientales producidas por el cambio climático ponen en riesgo la distribución y permanencia de las poblaciones. En los últimos años se ha reportado en varios estudios un declive forestal en el límite inferior de su distribución de las poblaciones, por ejemplo, *Pinus edulis* en el suroeste de Estados Unidos tuvo una declinación forestal de más de 12,000 km<sup>2</sup> después de un periodo de sequía que ocurrió entre los años 2000 y 2003 (Breshears y cols., 2005). Otros casos parecidos se reportaron en poblaciones de *Populus tremuloides* en las Montañas Rocosas también en Estados Unidos (Rehfeldt y cols., 2009); *Cedrus atlantica* en la Cordillera del Atlas Medio, Marruecos (Mátyás, 2010) y en *Fagus sylvatica* en el suroeste de Hungría (Mátyás y cols., 2010), mientras que otras especies están

siendo desplazadas por otras con mayor tolerancia a la sequía, como es el caso de *Fagus sylvatica* que está siendo sustituida por *Quercus ilex* (Peñuelas y cols., 2007).

## 2.2 Variación de los indicadores reproductivos

En las coníferas se pueden evaluar los indicadores reproductivos a través del análisis de estróbilos y semillas (Bramlett y cols., 1977 y Quiroz y cols., 2017). Este procedimiento consiste en separar de manera sistemática las escamas de los estróbilos y evaluar ciertas características como el número de escamas fértiles e infértiles, el potencial de semillas, semillas desarrolladas, semillas llenas y vanas, óvulos abortados del primer y segundo año, eficiencia de las semillas e índice de endogamia (Bramlett y cols., 1977, Mosseler y cols., 2000).

Con la finalidad de hacer frente a la pérdida y disminución de los ecosistemas forestales, se han llevado a cabo diversos estudios en los que se han evaluado los indicadores reproductivos para determinar la cantidad y la calidad de las semillas producidas en un área determinada, esto para conocer la productividad de las áreas utilizadas como fuentes productoras de semillas para los programas de producción forestal (Bustamante y cols., 2012, Bustamante y cols., 2014).

En otros estudios, se han evaluado en poblaciones naturales con el fin de conocer la variación que hay entre conos y semillas y permitir elaborar alternativas específicas de manejo y conservación (Sánchez y cols., 2002, Vázquez y cols., 2004, Morante y cols., 2005, Sánchez y cols., 2005, Alba y cols., 2006, Mendizábal 2010 y Morales y cols., 2010).

En poblaciones fragmentadas y de baja densidad también se han analizado los indicadores reproductivos, por ejemplo, Flores y cols. (2004) encontraron en *Picea mexicana* una mayor eficiencia de semillas (18%) y menor índice de endogamia (0.73) en poblaciones con mayor densidad de árboles adultos ( $143 \text{ ha}^{-1}$ ) respecto a poblaciones con baja densidad ( $84 \text{ ha}^{-1}$ ) donde la eficiencia fue menor (9%) y el índice de endogamia mayor (0.84). En otro estudio, Castilleja y cols. (2016) determinaron que en poblaciones pequeñas y de distribución restringida como *Pinus rzedowskii* además de registrar baja eficiencia de semillas (5%) y altos índices de endogamia (0.80), también se registraron bajos porcentajes de germinación (17%) y establecimiento de plántulas (28%). Por otro lado, poblaciones abundantes como la de *Pinus ayacahuite* que presentan una moderada eficiencia de semilla (55%), bajos índices



de endogamia (0.33), alto porcentaje de germinación (71%) y mayor establecimiento de plántulas (84 – 97%). Estos estudios difirieron significativamente entre poblaciones donde el tamaño de los rodales pequeños parece limitar el flujo génico vía de polen y que esto, afecte la producción de semillas y el establecimiento de plántulas.

En otro estudio, Quiroz y cols. (2017) mencionan una variación en los indicadores reproductivos entre los años de muestreo 2001, 2002 y 2003 en poblaciones fragmentadas de *Pinus pinceana*. Sin embargo, estos resultados probablemente se deben a la variación natural entre años de producción, y no por efectos de depresión por endogamia, pues la variación aunque fue en aumento (0.13, 0.24 y 0.33) no mostró diferencias significativas.

### **2.3 Variación en los gradientes altitudinales**

Son pocos los estudios en los que se han evaluado los indicadores del éxito reproductivo respecto al gradiente altitudinal. Recientemente, López y cols. (2017), evaluaron los indicadores reproductivos de *Pinus pseudostrobus* a lo largo de su distribución altitudinal (2300, 2400, 2700 y 2900 m snm), encontrando que las poblaciones que se desarrollan en el límite inferior y superior de su distribución, disminuyen la producción y la eficiencia de las de semillas en comparación con poblaciones de las partes intermedias, en donde la especie encuentra las condiciones óptimas de humedad y temperatura. De igual forma, Tejeda (2018) evaluó los indicadores reproductivos de *Pinus hartwegii* en cuatro altitudes (3400, 3600, 3800 y 4000 m snm), encontrando que los valores más altos en cuanto al potencial y la eficiencia de las semillas se presentaron en los límites superiores, en contraste con el sitio de menor altitud.

Se ha visto que algunas características asociadas a los indicadores reproductivos varían entre montañas. Por ejemplo, al comparar el potencial y la eficiencia de las semillas de poblaciones de *Pinus hartwegii* del Parque Nacional la Malinche y del Parque Nacional Cofre de Perote, se encontraron mayores porcentajes de eficiencia para la Malinche (75%) respecto al Cofre de Perote (68%), detectando problemas de desarrollo para este último sitio, sin embargo, en este estudio no se tomó en cuenta la orientación de la ladera y mucho menos algún intervalo altitudinal (Alba y cols., 2003).

### 3. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN E HIPÓTESIS

Bajo el contexto mencionado se abordan las siguientes preguntas de investigación:

1. ¿Cómo difiere la población de *Pinus hartwegii* sobre los indicadores reproductivos a lo largo de un gradiente altitudinal en el PNLM?

Las condiciones ambientales subóptimas de los extremos del gradiente altitudinal, afectan los indicadores del éxito reproductivo.

2. ¿Cuál es el efecto de la densidad poblacional de *Pinus hartwegii* sobre los indicadores del éxito reproductivo en el PNLM?

La disminución de la densidad poblacional afecta los indicadores del éxito reproductivo.

3. ¿Cómo difiere el porcentaje de germinación de semillas de *Pinus hartwegii* provenientes de diferentes altitudes del PNLM?

Las condiciones ambientales estresantes de los extremos, afectan los porcentajes de germinación.

### 4. JUSTIFICACIÓN

El éxito reproductivo de las poblaciones se asocia directamente con la cantidad y la calidad en la producción de semillas, a su vez, tiene fuerte influencia en el mantenimiento y la conservación de los bosques. Sin embargo, el éxito puede ser afectado por las variaciones ambientales que se producen a lo largo de la distribución de las especies en un gradiente altitudinal y por la fragmentación de las poblaciones causada por actividades antropogénicas que se traduce en la baja densidad del arbolado. Por lo tanto, es importante conocer la variación que pueda existir en el éxito reproductivo en un gradiente altitudinal de *Pinus*

*hartwegii* en el PNLN con la finalidad de inferir el estado de conservación de sus poblaciones, así como los patrones de diferenciación genética y así, poder proponer un modelo de manejo y conservación que pueda ser aplicado a bosques templados.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo general**

Evaluar los indicadores del éxito reproductivo y su asociación con la densidad del arbolado y el porcentaje de germinación de *Pinus hartwegii* en un gradiente altitudinal en el Parque Nacional La Malinche.

### **5.2 Objetivos específicos**

1. Evaluar los indicadores reproductivos (semillas desarrolladas, semillas vanas, semillas llenas, eficiencia de semilla e índice de endogamia) de *Pinus hartwegii* en un gradiente altitudinal en el PNLN.
2. Evaluar la asociación entre los indicadores reproductivos de *Pinus hartwegii* con la densidad del arbolado adulto en un gradiente altitudinal en el PNLN.
3. Evaluar el porcentaje de germinación de semillas de *Pinus hartwegii* de un gradiente altitudinal del PNLN.

## **6. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.1 Parque Nacional La Malinche**

El estudio se llevó a cabo en el Parque Nacional La Malinche (PNLN), ubicado entre los estados de Tlaxcala y Puebla en las coordenadas 19° 06' 30'' -19° 20' 19'' latitud Norte y los

97° 55' 32'' -98° 09' 55'' longitud Oeste, con un rango altitudinal de 2300 a 4461 m snm (López y Acosta, 2005). Este rango altitudinal ha favorecido el establecimiento de diferentes comunidades vegetales, conformadas principalmente por bosque de *Pinus*, *Abies* y *Quercus* (Rojas, 2008). Los climas que se presentan en la montaña son: (1) templado, con una precipitación promedio anual de 800 – 1000 mm y una temperatura promedio de 12 – 18 °C; (2) semifrío, con una precipitación promedio anual de 1000 – 1200 mm y una temperatura promedio de 5 – 10 °C; y (3) frío, con una precipitación promedio anual de 1000 – 1200 mm y una temperatura promedio de 2 – 5 °C (Islas y cols., 2008). La Malinche tiene una gran importancia ecológica, económica y social, principalmente por los tipos de bosques que la conforman, siendo los más sobresalientes los del género *Pinus*, *Quercus* y *Abies*, además, alberga una gran diversidad de hongos, plantas, anfibios, reptiles, aves, mamíferos y mixomicetos y provee diversos servicios ecosistémicos a las comunidades aledañas (López y Acosta, 2005). Sin embargo, a pesar de su importancia, la cobertura vegetal desaparece año con año como resultado de actividades antropogénicas, así como extracción ilegal de la madera (Figura 1a) e incendios (Figura 2b), lo cual, promueven la fragmentación del bosque, la baja regeneración natural y la pérdida de la biodiversidad, así como de los servicios ecosistémicos (Portillo, 2017 y Rojas y Villers, 2008).



Figura 1. Actividades antropogénicas que afectan al Parque Nacional La Malinche: (a) extracción ilegal de madera, (b) incendios forestales de bosques de *Pinus hartwegii* en la ladera Sur a 3700 y 3550 m snm respectivamente.

## 6.2 *Pinus hartwegii*

*Pinus hartwegii* es la única especie de pino que se distribuye en las montañas más altas de México y América Central; es conocido como “pino de alturas” debido al rango altitudinal en el que se desarrolla que va de los 2800 hasta los 4200 m snm y está adaptada a temperaturas bajas (Figura 2) (Perry, 1991). En el Parque Nacional La Malinche, Rojas y Villers (2008) mencionan que esta especie se encuentra en un área de 657 ha, lo que corresponde al 1.4% del territorio del parque.



Figura 2. Individuo de *Pinus hartwegii* Lindl. a 4000 m snm en la ladera Sur en el Parque Nacional La Malinche.

*P. hartwegii* es una especie de gran importancia ecológica por ser el pino más tolerante al frío; sin embargo, su distribución única y extrema hace que sea una especie sensible al calentamiento global. Para México, los estudios de cambio climático estiman un aumento de la temperatura promedio anual de 1.5 °C para el 2030, 2.3 °C para el 2060 y 3.7 °C, con una disminución en la precipitación anual de 6.7, 9.0 y 18.2%, respectivamente, lo que podría reducir su hábitat exclusivo en un 80% para el año 2050 (Sáenz, y cols., 2016, Gutiérrez y

Trejo, 2014). Actualmente, se ha visto una mayor regeneración natural de plántulas de *P. hartwegii* a mayores altitudes, lo cual, podría estar presentando las condiciones óptimas para el avance de la especie, este fenómeno se ha reportado en montañas como el Monte Tláloc y el Parque Nacional La Malinche (Astudillo y cols., 2017 y Portillo, 2017). Además, se ha documentado una disminución en las tasas de germinación, lo cual, pone en riesgo la variabilidad genética que pudiera hacer frente al calentamiento global (Iglesias y cols. 2006). A pesar de su corta distribución, se han observado diferencias intrapoblacionales a lo largo de su distribución altitudinal, donde las plantas originadas de bajas altitudes tienen mayor potencial de crecimiento y menos resistencia a heladas, en contraste con las que se originan en altitudes mayores (Viveros y cols., 2009).

En general, los bosques de *P. hartwegii* se encuentran sometidos a diversos factores que amenazan su adecuación, principalmente por la tala ilegal, incendios, cambio de uso de suelo y plagas, teniendo como consecuencia poblaciones reducidas y aisladas, provocando desequilibrios ecosistémicos y una reducción en la biodiversidad (Iglesias y Tivo, 2006 y Rojas y cols., 2006).

### **6.3 Selección de los sitios de muestreo**

La población de *Pinus hartwegii* que se estudió, se ubicó en la ladera Sur del PNLN y que corresponde al municipio de San Miguel Canoa, Puebla.

Siguiendo la distribución natural de la especie, se estableció una zonificación altitudinal desde su punto más bajo hasta el más alto, estableciendo cinco zonas; (1) 3400, (2) 3550, (3) 3700 (4) 3850 y (5) 4000 m snm, cada una separada por un intervalo altitudinal aproximado de 150 m (Tabla 1). Debido a las condiciones de perturbación en que se encuentra el bosque de *P. hartwegii* en esta área, no fue posible establecer otras zonas altitudinales más bajas, ya que han sido reducidas por la tala ilegal.

Las zonas se georreferenciaron con un geoposicionador marca Garmin e-Trex 20 (EUA).

Tabla 1. Localización geográfica de las poblaciones de *Pinus hartwegii* en la ladera Sur del Parque Nacional La Malinche.

Altitudes (m snm)	Localización geográfica	
	Latitud N	Longitud O
3400	19° 12' 05.5''	-98° 02' 45.7''
3550	19° 12' 27.8''	-98° 02' 30.6''
3700	19° 12' 40.2''	-98° 02' 28.4''
3850	19° 12' 54.6''	-98° 02' 15.9''
4000	19° 13' 07.5''	-98° 02' 04.7''

#### 6.4 Selección de los individuos de estudio

En cada altitud fueron seleccionados al azar 10 árboles, excepto en la altitud de 3850 m snm (ocho arboles). Todos los árboles seleccionados se caracterizaron por ser sobresalientes en altura, con fustes rectos, sanos y una abundante producción de estróbilos. Con la finalidad de reducir posible cercanía genética, se cuidó que los individuos seleccionados tuvieran una separación mínima de 30 m.

Cada árbol seleccionado se midió en altura y diámetro a la altura del pecho (DAP) con ayuda de un altímetro con relascopio y cintas métricas. Finalmente, todos los individuos fueron marcados para su futura identificación y se registraron sus coordenadas geográficas con un geoposicionador (Garmin e-Trex 20, EUA).

#### 6.5 Densidad del arbolado a través del gradiente altitudinal

Para evaluar la densidad del arbolado en cada altitud, se establecieron 10 cuadrantes de 20 x 20 m (400 m<sup>2</sup>), separados con una distancia como mínimo de 30 m. En cada cuadrante se midió y registró el número total de árboles reproductores y cada árbol se midió en altura y DAP (Mostacedo, 2000).

## 6.6 Colecta de estróbilos

La recolección de estróbilos se realizó en el mes de noviembre del 2017. De cada árbol previamente seleccionado, se colectaron 22 estróbilos maduros y cerrados utilizando una tijera de poda con extensión de aluminio (Figura 3a). Posteriormente, fueron colocados en bolsas de tela y etiquetados con la altitud y el número de árbol para su correcta identificación (Figura 3b).

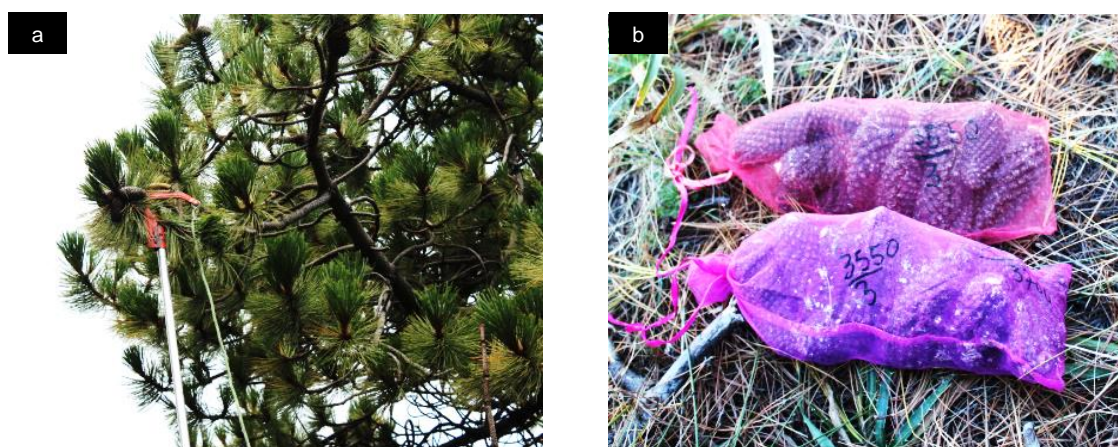


Figura 3. Colecta de estróbilos de *Pinus hartwegii* en el Parque Nacional La Malinche: (a) con tijera de poda y (b) etiquetados con el número de árbol y la altitud para su correcta identificación.

Posteriormente, cada estróbilo se guardó por separado en bolsas de papel estraza, los cuales, se etiquetaron con el número de altitud y árbol. Finalmente, las bolsas de papel se colocaron bajo una malla sombra a una temperatura promedio de 20 °C por 30 días para la apertura de las brácteas.

## 6.7 Disección de los estróbilos y clasificación de las escamas

Para determinar el análisis de los indicadores reproductivos, se tomó una muestra aleatoria de cinco de los 22 estróbilos colectados por árbol. Posteriormente, fueron disectados mediante la perforación de su eje central con un taladro eléctrico (M0600G, 3/8 350W, Makit,



Japón) (Figura 4a), esta acción permitió la extracción de semillas y el desprendimiento de las brácteas al deshacer los puntos de unión (Figura 4b). Una vez separadas las escamas, se clasificaron en escamas fértiles (Figura 5b) e infértiles (Figura 5a y c). Los estróbilos fueron disectados en la primera semana de febrero de 2018.



Figura 4. Disección de los estróbilos de *Pinus hartwegii*: (a) Perforación del eje central y (b) desprendimiento de las brácteas.

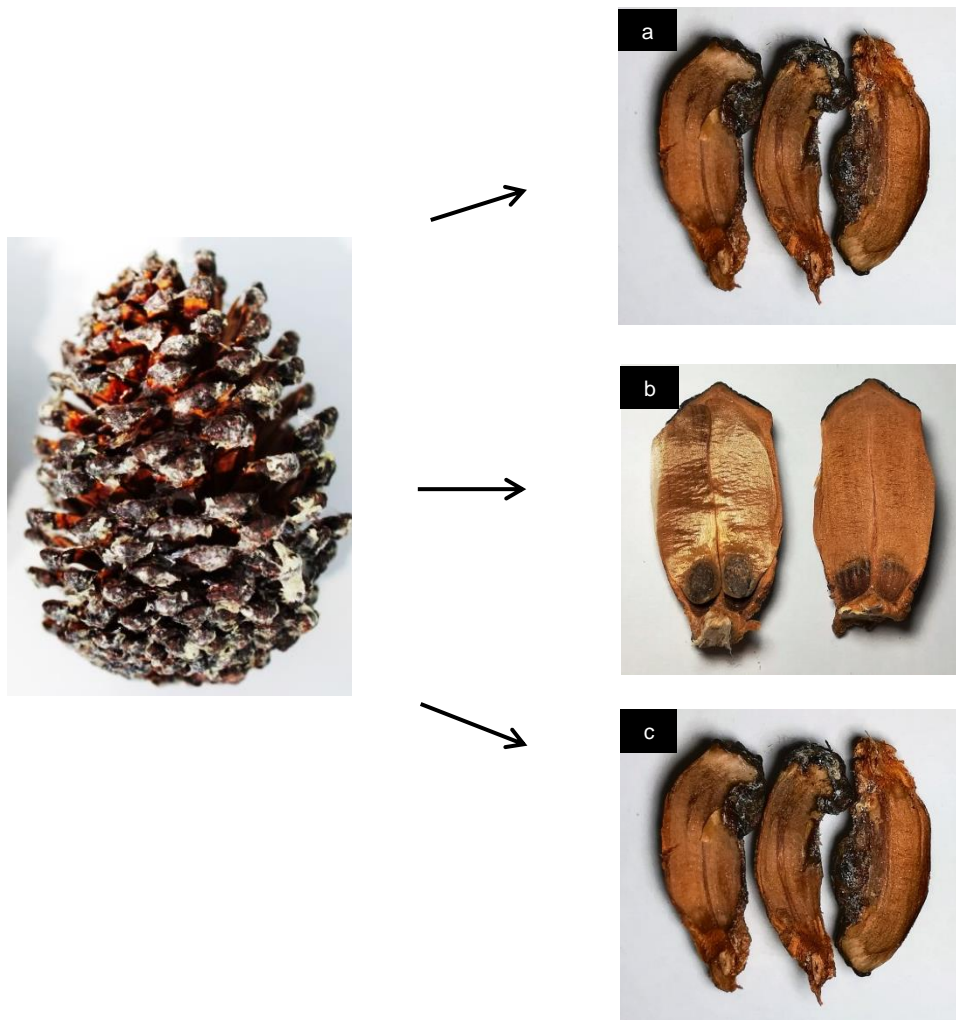


Figura 5. Clasificación de las escamas de *Pinus hartwegii*: (b) Escamas fértiles e infértiles superiores e inferiores (a) y (c).

## 6.8 Indicadores reproductivos

Se analizaron cinco indicadores reproductivos de acuerdo con la metodología propuesta por Bramlett (1977) y Mosseler (2000), considerando los siguientes aspectos:

1. Número de escamas fértiles (EF): Ubicadas en la parte central del cono con una o dos semillas desarrolladas. Las escamas infértiles se ubican principalmente en el ápice y la base del cono.

2. Potencial de producción de semilla (PPS): Define el límite biológico de las semillas que puede producir cada cono. Para obtenerlo se toma en cuenta el número total de escamas fértiles multiplicado por dos, ya que estas escamas tienen la capacidad de producir dos semillas. El PPS se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{PPS} = \text{EF} \times 2$$

3. Porcentaje de óvulos abortados por primer año (OA1): Se identifican como semillas pequeñas y rudimentarias (menor a 2 mm). El porcentaje de OA1 se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{OA1} = \text{OA} / \text{PPS} \times 100$$

4. Número de semillas desarrolladas (SD): Son aquellas semillas que presentaron un tamaño normal, llenas o vanas. El número de SD se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{SD} = \text{SV} + \text{SLL}$$

5. Porcentaje de semillas vanas por cono (SV): Son semillas maduras que no contienen un embrión o tienen un embrión dañado. El número de SV se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{SV} = (\text{SV} / \text{PPS}) \times 100$$

6. Porcentaje de semillas llenas (SLL): Presentan un embrión sin daños y tienen la capacidad para germinar. Las semillas llenas y vanas se identificaron mediante una columna de aire con un set de tubos marca Intermatic en el Laboratorio de Germoplasma de la Comisión Nacional Forestal, Tlaxcala. El número de SLL se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{SLL} = (\text{SLL} / \text{PPS}) \times 100$$

7. Porcentaje de eficiencia de semilla (ES): Es la medida más importante de la viabilidad de la semilla. El porcentaje de ES se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\%ES = (SLL/PS) \times 100$$

8. Índice de endogamia (IE): Es la producción de semillas vanas como resultado de la autofecundación o cruzamientos emparentados, lo cual tiene efectos genéticos perjudiciales en el desarrollo embrionario, germinación de la semilla y la supervivencia de plántulas. El IE se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$IE = SV / SD$$

## **6.9 Tratamiento pregerminativo de las semillas**

Antes de poner a germinar las semillas, fueron sometidas a un tratamiento de estratificación. Las semillas procedentes de las cinco altitudes (3400, 3550, 3700, 3850 y 4000 m snm) fueron desinfectadas por inmersión en una solución de cloro al 5% durante cinco minutos (Figura 6a y b). Posteriormente, se colocaron en charolas con papel filtro y se rociaron con una solución de captan (3 g/l) con la finalidad de prevenir la proliferación por hongos (Figura 6c). Posteriormente, las charolas fueron colocadas dentro de una cámara de crecimiento de plantas que mantuvo una temperatura de  $5^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . El tratamiento pregerminativo tuvo una duración de 20 días (Gosling, 1988).



Figura 6. Proceso para la estratificación de semillas de *Pinus hartwegii*: (a) Semillas en solución de cloro al 5%, (b) enjuague de semillas con agua destilada para eliminar el exceso de cloro y (c) colocación de semillas en charolas para el tratamiento de estratificación.

## 6.10 Siembra de semillas

Una vez que terminó el tratamiento pregerminativo de las cinco altitudes, se procedió a sembrar las semillas en la primera semana de agosto de 2018. Debido a que la producción de semillas no fue la misma para las cinco altitudes hubo una diferencia en cuanto al número de repeticiones por altitud (Tabla 2).

Tabla 2. Número de semillas sembradas de *Pinus hartwegii* de un gradiente altitudinal del Parque Nacional La Malinche.

Altitudes (m snm)	No. de contenedores por repetición	No. de repeticiones	No. total de semillas
3400	49	18	882
3500	49	18	882
3700	49	17	833
3850	49	16	784
4000	49	12	588

Las semillas fueron sembradas en charolas con 49 contenedores de plástico rígidos con una capacidad de 200 g (20 cm de largo), los cuales, contenían sustrato de una mezcla de turba de musgo (peat moss) y perlita en proporción 3:1 (Figura 7a), por cada contenedor se sembró una semilla (Tabla 2). Posteriormente, los contenedores fueron mantenidos dentro de un vivero con malla sombra (50%) y una temperatura promedio de 22 °C (Figura 7b). Una vez que la primera plántula emergió, se comenzó a registrar la germinación cada dos días durante un periodo de 41 días (Figura 7c). Los contenedores fueron regados cada tercer día con agua de pozo.



Figura 7. Proceso para la siembra y germinación de semillas de *Pinus hartwegii*: (a) Charola compuesta de 49 contenedores (1 semilla por contenedor). (b) Colocación de charolas bajo vivero y (c) Emergencia de plántulas.

### 6.11 Análisis de los datos

Para determinar si había diferencias en los indicadores reproductivos, se llevó a cabo un análisis del Modelo Lineal Generalizado Mixto (GLMM), en el cual, las altitudes se consideraron como efectos fijos y los árboles como efectos aleatorios. Para las variables como el potencial de producción de semillas, semillas llenas y semillas vanas, se utilizó un error de tipo Poisson, mientras que para la eficiencia de semillas y el índice de endogamia se utilizó un error de tipo binomial y una función de vinculo link logit. Para conocer cuales

altitudes contribuyeron más a la variación observada, se utilizó una prueba de comparación de medias Tukey. Las pruebas se realizaron con un nivel de significancia de  $\alpha=0.05$

Para determinar si había alguna asociación entre la densidad del arbolado y los indicadores reproductivos (semillas desarrolladas, semillas llenas, semillas vanas, eficiencia de la semilla e índice de endogamia), se realizó una correlación de Pearson.

Los datos de capacidad germinativa se transformaron con la función arcoseno de la raíz cuadrada de  $p$  ( $\Theta = \arcseno \sqrt{p}$ , donde  $\Theta$  es el dato transformado y  $p$  es la capacidad germinativa sin transformar) para así mejorar su distribución normal (Sokal y Rohlf, 1981), posteriormente se aplicó una prueba de ANOVA.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software de cómputo estadístico Rstudio versión 3.5.0.



## 7. RESULTADOS

### 7.1 Semillas desarrolladas

Para las semillas desarrolladas en función de la altitud existió una diferencia significativa ( $gl = 4$ ,  $\chi^2 = 42.15$ ,  $p < 0.05$ ). En la altitud de 3550 m snm se registró el mayor promedio de semillas desarrolladas de  $128 \pm 5.19$  (media  $\pm$  EE), mientras que la altitud de 4000 m snm se presentó el menor promedio de producción de semillas con  $67 \pm 6.36$  (media  $\pm$  EE) (Figura 8). La prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ) indicó que existen diferencias significativas para las semillas desarrolladas entre los sitios de menor (3400 y 3550 m snm) y mayor altitud (3850 y 4000 m snm) (Figura 8).

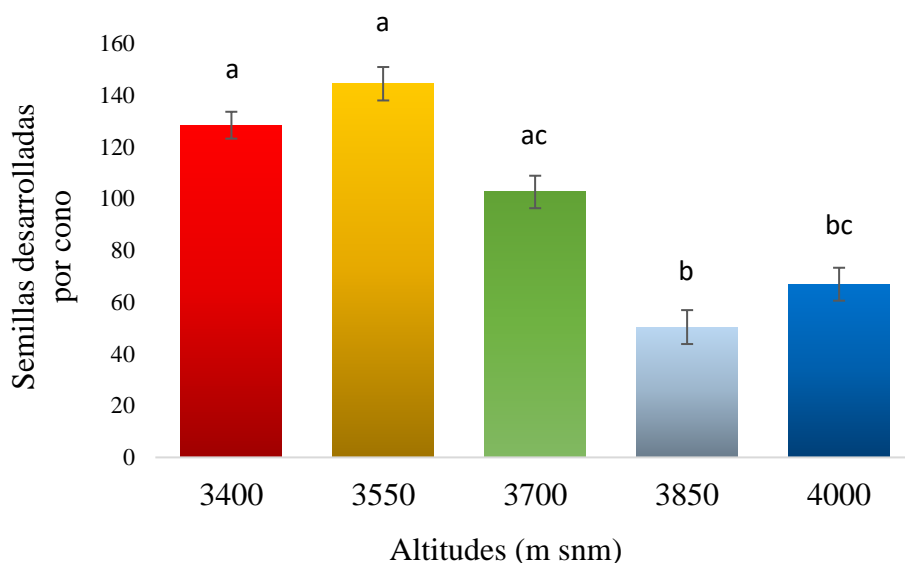


Figura 8. Número promedio de semillas desarrolladas por cono de *Pinus hartwegii* en un gradiente altitudinal del Parque Nacional La Malinche.

GLMM ( $\chi^2_{214} = 42.15$ ,  $gl = 4$ ,  $p < 0.05$ ). Letras diferentes significan diferencias significativas según la prueba de Tukey. La barra vertical representa el error estándar.

## 7.2 Semillas llenas

Para las semillas llenas en función de la altitud existieron diferencias significativas ( $gl = 4$ ,  $\chi^2 = 27.31$ ,  $p < 0.05$ ). En la altitud de 3550 m snm se registró el mayor promedio de semillas llenas de  $88 \pm 5.16$  (media  $\pm$  EE), mientras que la altitud de 3850 m snm presentó el menor promedio de semillas llenas con  $32 \pm 4.0$  (media  $\pm$  EE) (Figura 9). La prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ) indicó que existen diferencias significativas para las semillas llenas entre los sitios de menor (3400 y 3550 m snm) y mayor altitud (3850 y 4000 m snm) (Figura 9).

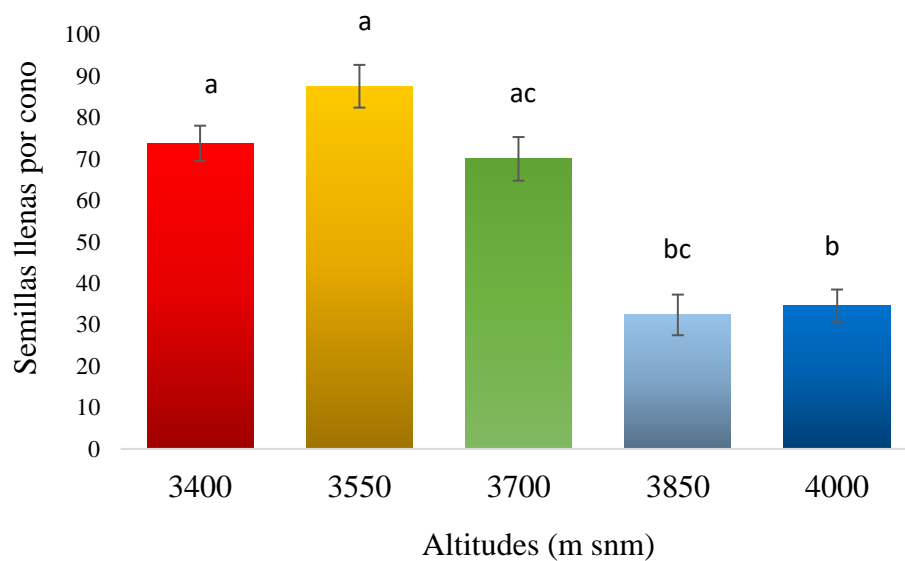


Figura 9. Número promedio de semillas llenas por cono de *Pinus hartwegii* en un gradiente altitudinal del Parque Nacional La Malinche.

GLMM ( $\chi^2_{214} = 27.31$ ,  $gl = 4$ ,  $p < 0.05$ ). Letras diferentes significan diferencias significativas según la prueba de Tukey. La barra vertical representa el error estándar.

## 7.3 Semillas vanas

Para las semillas vanas en función de la altitud existieron diferencias significativas ( $gl = 4$ ,  $\chi^2 = 26.26$ ,  $p < 0.05$ ). En la altitud de 3550 m snm se presentó el mayor promedio de semillas

vanas de  $57 \pm 6.87$  (media  $\pm$  EE), mientras que la altitud de 3800 m snm presentó el menor promedio de semillas vanas con  $18 \pm 3.64$  (media  $\pm$  EE) (Figura 10). La prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ) indicó que existen diferencias significativas para las semillas vanas en los sitios de menor altitud (3400 y 3550 m snm) entre las altitudes más altas (3850 m snm) (Figura 10).

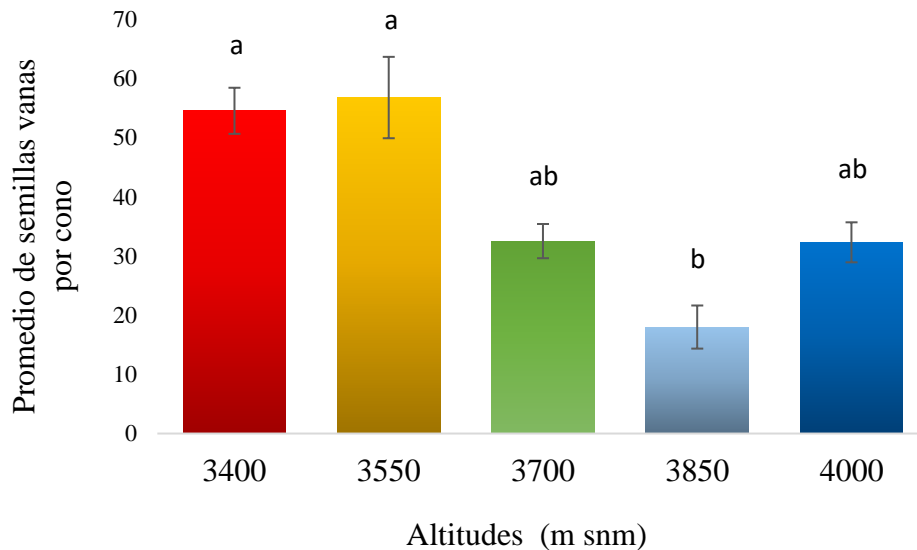


Figura 10. Número promedio de semillas vanas por cono de *Pinus hartwegii* en un gradiente altitudinal del Parque Nacional La Malinche.

GLMM ( $\chi^2_{214} = 26.26$ ,  $gl = 4$ ,  $p < 0.05$ ). Letras diferentes significan diferencias significativas según la prueba de Tukey. La barra vertical representa el error estándar.

#### 7.4 Eficiencia de producción de semillas

La eficiencia de las semillas en función de la altitud mostró diferencias significativas ( $gl = 4$ ,  $\chi^2 = 90.48$ ,  $p < 0.05$ ). En las altitudes de 3400, 3550 y 3700 m snm se registró la mayor eficiencia de semillas (35, 40 y 34% respectivamente), mientras que las altitudes de 3850 y 4000 m snm se presentó la menor eficiencia (19 y 16% respectivamente) (Figura 12). La prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ) indicó que existen diferencias significativas para las semillas

desarrolladas entre los sitios de menor (3400 y 3550 m snm) y mayor altitud (3850 y 4000 m snm) (Figura 11).

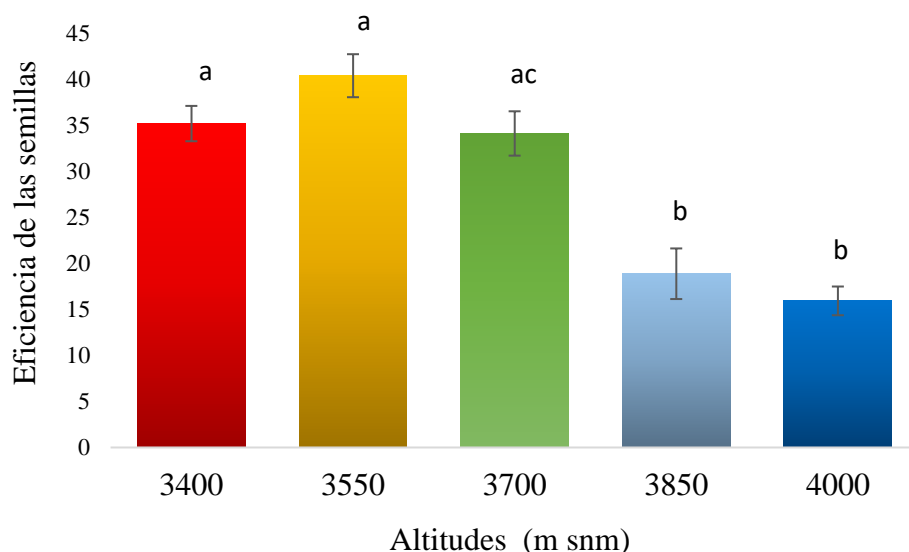


Figura 11. Eficiencia de producción de semillas por cono de *Pinus hartwegii* en un gradiente altitudinal del Parque Nacional La Malinche.

GLMM ( $\chi^2_{213} = 90.48$ ,  $gl = 4$ ,  $p < 0.05$ ). Letras diferentes significan diferencias significativas según la prueba de Tukey. La barra vertical representa el error estándar.

## 7.5 Índice de Endogamia

El índice de endogamia en función de la altitud mostró diferencias significativas ( $gl = 4$ ,  $\chi^2 = 19.67$ ,  $p < 0.05$ ). En la altitud de 4000 m snm se registró el mayor índice de endogamia con valores de 0.52, mientras que la altitud intermedia de 3700 m snm mostró el menor índice con 0.35 (valores cercanos a 1, indican mayor endogamia). La prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ) indicó que existen diferencias significativas en el índice de endogamia entre los sitios de menor (3400, 3550, 3700 y 3850 m snm) y mayor altitud (4000 m snm) (Figura 12).

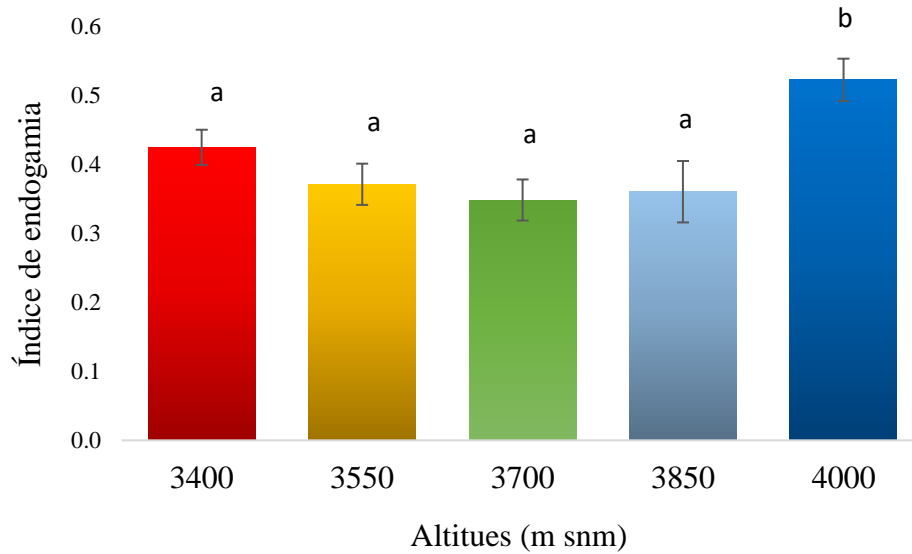


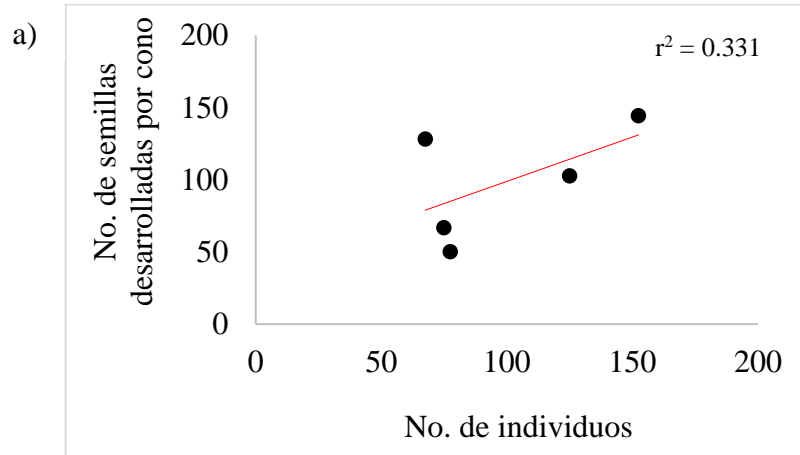
Figura 12. Índice de endogamia de semillas por cono de *Pinus hartwegii* en un gradiente altitudinal del Parque Nacional La Malinche.

GLMM ( $\chi^2_{213} = 42.158$ ,  $gl = 4$ ,  $p < 0.05$ ). Letras diferentes significan diferencias significativas según la prueba de Tukey. La barra vertical representa el error estándar.

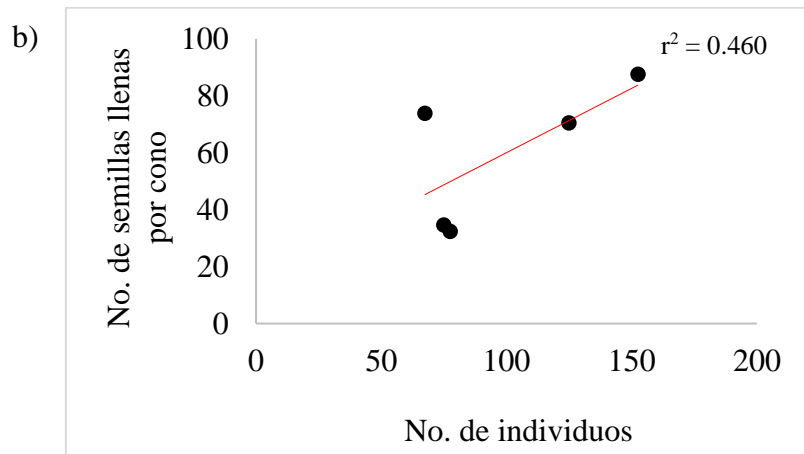
### 7.6 Indicadores reproductivos y su asociación con la densidad de la población

Los indicadores reproductivos como el número de semillas desarrolladas ( $r^2 = 0.331$ ,  $p = 0.309$ ), semillas llenas ( $r^2 = 0.210$ ,  $p = 0.207$ ), semillas vanas ( $r^2 = 0.030$ ,  $p = 0.778$ ) y eficiencia de semillas ( $r^2 = 0.507$ ,  $p = 0.176$ ) mostraron una asociación positiva, aunque no significativa (Figura 13a, b, c y d). Por otro parte, el índice de endogamia ( $r = -0.3797$ ,  $p = 0.2684$ ) presentó una asociación negativa pero no significativa (Figura 13e).

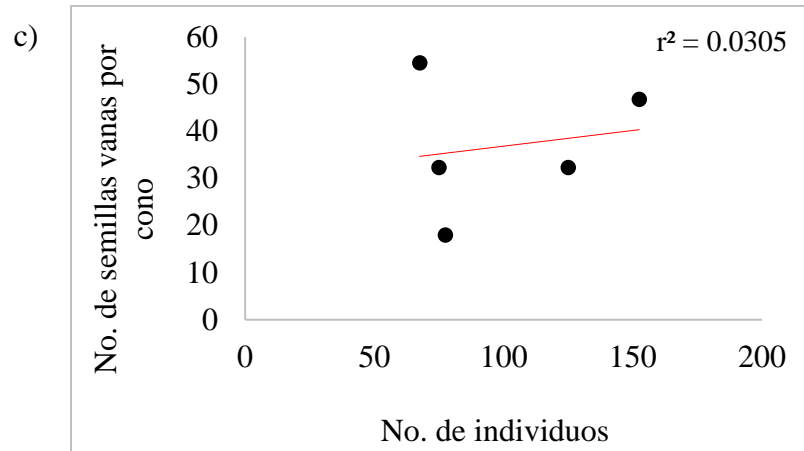
De los cinco indicadores reproductivos, ninguno se correlacionó significativamente con el número de individuos.



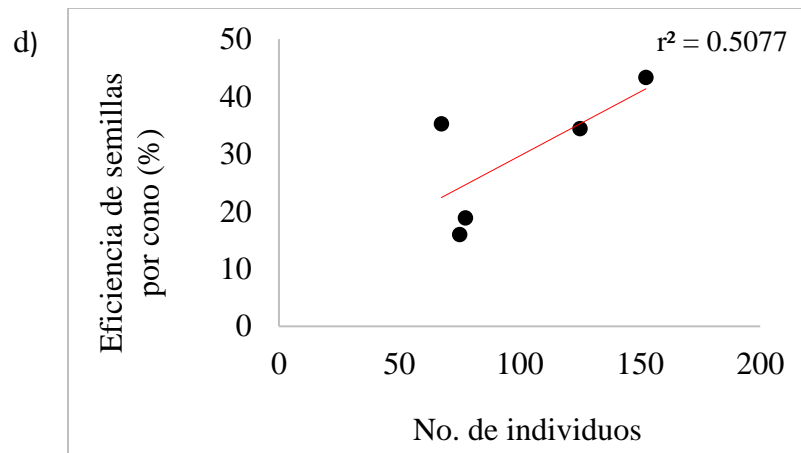
$t = 1.219, df = 3, p = 0.309$



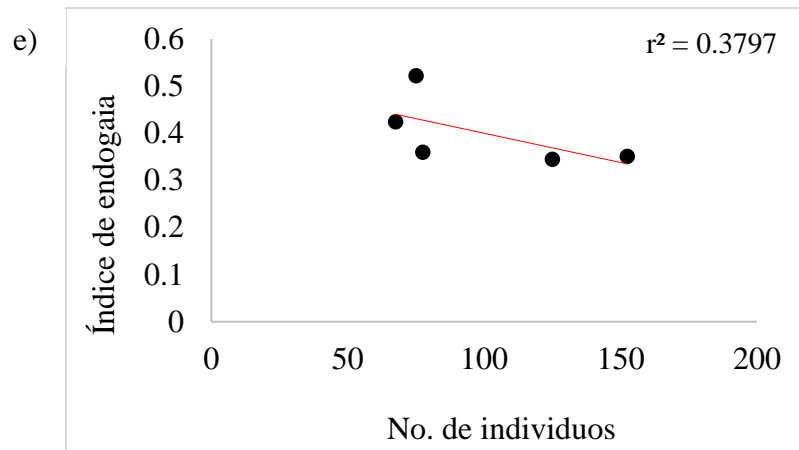
$t = 1.600, df = 3, p = 0.207$



$t = 0.307, df = 3, p = 0.778$



$t = 1.759, df = 3, p = 0.176$



$$t = -1.355, df = 3, p = 0.268$$

Figura 13. Asociación de indicadores reproductivos con el número de individuos de *Pinus hartwegii* en un gradiente altitudinal del Parque Nacional La Malinche.

- a) Relación entre el número de individuos y el número medio de semillas desarrolladas ( $y = 0.6137x + 37.487$ ,  $r^2 = 0.3313$ ); b) semillas llenas ( $y = 0.4519x + 14.783$ ,  $r^2 = 0.4607$ ); c) semillas vanas ( $y = 0.0666x + 30.176$ ,  $r^2 = 0.0305$ ); d) eficiencia de las semillas ( $y = 0.2227x + 7.3769$ ,  $r^2 = 0.5077$ ) e d) índice de endogamia ( $y = -0.0012x + 0.5241$ ,  $r^2 = 0.3797$ ).

### 7.7 Porcentaje de germinación

A lo largo de 41 días se registró el porcentaje de germinación de las cinco altitudinales (3400, 3550, 3700, 3850 y 4000 m snm). La germinación en función de la altitud mostró diferencias significativas. La mayor parte de la germinación ocurrió en la altitud de 3400 m snm con valores del 89% mientras que el menor porcentaje ocurrió en la altitud más alta de 4000 m snm con el 55% (Figura 14). Con forme aumenta la altitud el porcentaje de germinación descende.



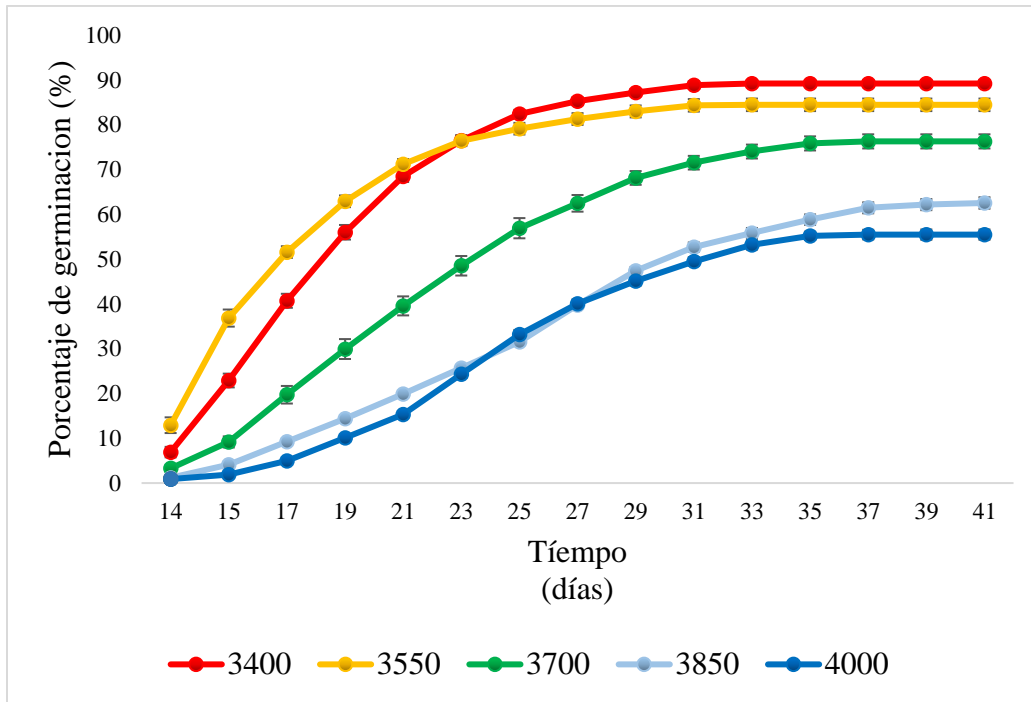


Figura 14. Porcentaje de germinación de *Pinus hartwegii* de un gradiente altitudinal del Parque Nacional La Malinche.

Letras diferentes significan diferencias significativas según la prueba de Tukey. La barra vertical representa el error estándar.

## 8. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que los indicadores reproductivos de *Pinus hartwegii* en La Malinche varían en función de su distribución altitudinal. En general las zonas de baja altitud se asocian a eventos de baja humedad y en zonas altas a temperaturas bajas extremas provocando estrés en las poblaciones, esto se refleja en los valores bajos de los indicadores reproductivos (semillas desarrolladas, semillas llenas, semillas vanas, eficiencia de las semillas y el índice de endogamia). Resultados similares se observan en individuos de *Pinus pseudostrobus*, donde se discute que los bajos valores de sus indicadores reproductivos probablemente se deban a un estrés ambiental continuo, especialmente a bajas altitudes (López y cols., 2017). Aunado a esto, los modelos de cambios climáticos predicen que en un

futuro cercano habrá temperaturas más altas y una disminución en la precipitación, lo que podría elevar el estrés de los individuos y verse reflejado en la inversión de recursos en su reproducción (Sáenz y cols., 2010, Sáenz y cols., 2016) y probablemente los individuos de *P. hartwegii* podrían ser desplazados por especies de bajas altitudes.

Previos estudios realizados en poblaciones de *Pinus hartwegii* del Parque Nacional La Malinche y el Cofre de Perote, obtuvieron una eficiencia de semillas del 75.93 y 68.89% respectivamente (Alba y cols., 2003), mientras que este estudio se encontró una eficiencia promedio de las cinco altitudes del 29%. Estas diferencias pueden deberse a que en el estudio previo no hubo una separación de conos por ladera ni por gradiente altitudinal. En otro estudio en el que se sí tomaron en cuenta la distribución altitudinal de *Pinus hartwegii* en el Cofre de Perote, se encontró el mayor porcentaje de eficiencia de semillas en las altitudes más altas (3800 y 4000 m snm) de 33 y 36%, mientras que para las altitudes bajas (3400 y 3600 m snm) fue del 20 % para ambos sitios (Tejeda, 2018). En el presente trabajo se observó lo contrario, la mayor eficiencia de semillas fue en las partes bajas (3400 y 3550 m snm) 35 y 40% mientras que en las partes más altas (3700, 3850 y 4000 m snm) se encontró la menor eficiencia con 34, 19 y 16% respectivamente. Estos contrastes pueden ser explicados debido a que no se tomó en cuenta la orientación de la ladera, ya que éstas pueden variar en cuanto a las características físicas y climáticas, la estructura del suelo, los nutrientes, la dirección del viento con aspectos de polinización y fertilización, entre otros. En otro estudio realizado con *Pinus pseudostrobus* en Nuevo San Juan Parangaricutiro, se encontró que los indicadores reproductivos varían respecto a la distribución de una especie a lo largo del gradiente altitudinal, ya que las poblaciones de altitudes intermedias (2700 m snm) presentaron los valores más altos en comparación con el resto de las altitudes (2300, 2400, y 2900 m snm), lo que indica un mayor rendimiento en altitudes medias debido a las condiciones óptimas en los que se encuentran (López y cols., 2017).

La distribución más alta de *Pinus hartwegii* se caracteriza por ser pequeña, por lo cual, los valores de endogamia (0.52) son similares al de poblaciones pequeñas y fragmentadas como *Pinus rzedowski* (0.79), *Pinus ayacahuite* (0.33) y *Picea mexicana* (0.84) (Castilleja y cols., 2016 y Flores y cols., 2005). Una posible causa de la producción de semillas vanas es la endogamia. El establecimiento de árboles que están genéticamente relacionados sobre todo en poblaciones pequeñas aumenta la probabilidad del cruce entre parientes, mientras que en

poblaciones amplias presentan suficiente flujo de genes (Flores y cols., 2005 y Castilleja y cols., 2016). La baja disponibilidad de polen en poblaciones pequeñas y aisladas, puede causar la producción de semillas vanas, ya que al ser insuficiente puede aumentar la autopolinización causando la producción de semillas vanas (Owens y cols., 2007 y Castilleja y cols., 2016).

De los cinco indicadores reproductivos de *Pinus hartwegii*, ninguno se correlacionó significativamente con el tamaño de la población, sin embargo, en *Pinus rzedowskii* se encontró que hay una asociación negativa entre la producción de semillas vanas con el tamaño de la población, es decir, entre más pequeña sea la población, hay un aumento en la cantidad de semillas vanas, mientras que en *Pinus ayacahuite* se mostró lo contrario, una asociación positiva en la eficiencia de las semillas (Castilleja y cols., 2016). Es posible que los indicadores reproductivos de *Pinus hartwegii* no hayan tenido una asociación con la población, debido principalmente a la extracción ilegal de la madera, sin embargo, los análisis muestran una tendencia positiva en cuando a la eficiencia de las semillas y una tendencia negativa en el índice de endogamia.

En el experimento de germinación se demostró diferencias entre las poblaciones relacionadas con el gradiente altitudinal, algunos estudios (López y cols., 2017) han encontrado que la mayor proporción de germinación de *Pinus pseudostrobus* ocurre en poblaciones medias (2400 y 2700 m snm), mientras que en las poblaciones de ambos extremos altitudinales (2300 y 2900 m snm) se presentan los menores porcentajes. Caso similar ocurrió para *Pinus hartwegii*, donde los mayores porcentajes se dan en las altitudes medias (3400, 3550 y 3700 m snm). Estas similitudes pueden deberse a las condiciones óptimas que prevalecen en determinados sitios, los cuales, les permiten alcanzar el mayor éxito reproductivo. En otro estudio (Tejeda, 2018) y contrario a lo esperado, se encontró que para *Pinus hartwegii* la mayor proporción de germinación corresponde para las altitudes altas (3800 y 4000 m snm), sin embargo, la germinación puede variar ampliamente dependiendo de la población y del tratamiento pregerminativo. Por otro lado, los menores porcentajes de germinación de semillas de *Pinus hartwegii* (55.48%) en las altitudes más altas, pueden estar relacionadas con los niveles de endogamia, ya que hubo mayor presencia de plántulas cloróticas, tallos deformados, entre otros. Lo cual, es un indicativo del efecto de la depresión endogámica. Este efecto podría actuar a nivel de desarrollo embrionario, la germinación y la supervivencia

de las plántulas. Un estudio realizado en *Pinus rzedowskii* obtuvo una germinación del 5% y cerca del 72% de plántulas anormales. *Pinus ayacahuite* (71.5 %), lo que podría sugerir poco intercambio genético entre altitudes y zonas o su posible aislamiento.

## 9. CONCLUSIONES

- La población de *Pinus hartwegii* en la ladera Sur del Parque Nacional La Malinche, presentó los valores más altos en el desarrollo de semillas, semillas llenas y la eficiencia de las semillas en las altitudes bajas; mientras que en las altitudes más altas se presentaron los mayores índices de endogamia. La diferencia en estos valores puede estar explicado por las condiciones de estrés ambiental que se produce a lo largo de su distribución altitudinal, principalmente temperaturas bajas
- La especie estudiada, se encuentra sometida a graves problemas de extracción ilegal y aunque su población presenta un bajo número de individuos reproductores, parece no estar relacionado con las diferencias significativas de los indicadores reproductivos. Posiblemente en la ladera sur, tales efectos todavía no puedan ser observados, pero de continuar con la extracción ilegal, consecuentemente disminuya la eficiencia de las semillas y aumente los niveles de endogamia, teniendo un impacto negativo en la germinación y el establecimiento de plántulas.
- La germinación de *Pinus hartwegii* muestra que las mayores tasas de germinación se encuentran en la parte baja, mientras que en las partes altas hay un bajo porcentaje, lo cual, puede estar relacionado con el alto índice de endogamia que se observó a mayores altitudes.

## 10. RECOMENDACIONES PARA SU CONSERVACIÓN

- Con base en nuestros resultados, es necesario que la población de *Pinus hartwegii* en la ladera sur del Parque Nacional La Malinche, se mantenga libre de perturbaciones antropogénicas, principalmente la tala ilegal y hacer hincapié en actividades de reforestación con plántulas que se originan en las altitudes medias, donde la eficiencia de las semillas es mayor, y así, favorecer el entrecruzamiento de individuos no emparentados en las siguientes generaciones.
- Es necesario continuar monitoreando los indicadores reproductivos de *Pinus hartwegii* a lo largo de su distribución altitudinal, tomando en cuenta la orientación de las laderas.
- Se sugiere realizar muestreos en otras laderas donde se pueda contrastar poblaciones de *Pinus hartwegii* conservadas versus poblaciones perturbadas.

## 11. ANEXO

Tabla 3. Datos generales sobre la ubicación geográfica de *Pinus hartwegii* y su densidad del arbolado reproductivo en un gradiente altitudinal del Parque Nacional La Malinche.

Altitudes (m snm)	Localización geográfica		Densidad de individuos en 400 m <sup>2</sup>	Densidad de individuos en 1 ha
	Latitud N	Longitud O		
3400	19° 12' 05.5''	-98° 02' 45.7''	2.7	67.5
3550	19° 12' 27.8''	-98° 02' 30.6''	6.1	152.5
3700	19° 12' 40.2''	-98° 02' 28.4''	5	125
3850	19° 12' 54.6''	-98° 02' 15.9''	3.1	77.5
4000	19° 13' 07.5''	-98° 02' 04.7''	3	75

## 12. LITERATURA CITADA

- Alba, L. J., Aparicio, R. A. Márquez, R. J. 2003. Potencial y eficiencia de producción de semillas de *Pinus Hartwegii* lindl. de dos poblaciones de México. *Foresta Veracruzana* 5 (1): 285-296.
- Alba, L. J., Ramirez, G. E. O. y Rojas, P. G. 2006. Variación en semillas de *Pinus greggii* Engelm. en el municipio de Naolinco, Veracruz, México. *Foresta Veracruzana*, Vol. 8 (2): 7-12.
- Alfaro, R. I., Fady, B., Vendramin, G. G., Dawson, I. K., Fleming, R. A., Sáenz, R. C., Lindig, C. R. A., Murdock, T., Vinceti, B., Navarro, C. M., Skråppa, T., Baldinelli, G., El-Kassaby, Y. A. and Loo, J. 2014. The role of forest genetic resources in responding to biotic and abiotic factors in the context of anthropogenic climate change. *Forest Ecology and Management*, 333(1), 76–87.
- Astudillo, S. C. C., Villanueva, D. J, Endara, A. A. Nava, B. G. E. y Gómez, A. M. 2017. Influencia climática en el reclutamiento de *Pinus hartwegii* Lindl. del ecotono bosque-pastizal alpino en Monte Tláloc, México. *Agrociencia*, 51(1): 105-118.
- Bazzaz, F. A., Ackerly, D. D. and Reekie, E. G. 2000. Reproductive allocation in plants. *Seeds the ecology of regeneration in plant communities*, 2<sup>nd</sup> edition.
- Bonifacio Mostacedo, B. y Fredericksen, T. S. 2000. Manual de métodos básicos de muestreo y análisis en ecología vegetal.
- Bramlett, D. L., Belcher J. E. W., DeBarr, G. L., Hertel, G. D., Karrfalt, R. P., Lantz, C.W., Miller, T., Ware, K. D. and Yates, H. O. 1977. Cone analysis of southern pines: a guidebook. Gen. Tech. Rep. SE-13. USDA For. Serv., Southeastern For. Exp. Stn. Asheville, N.C. USA. 28 p.
- Breshears, D. D., Cobb, N. S., Rich, P. M., Price, K. P., Allen, C. D., Balice, R. G. and Anderson, J. J. 2005. Regional vegetation die-off in response to global-change-type drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102 (42), 15144-15148.

- Bustamante, G. V., Prieto, R. J. A., Carrillo, P. A., Álvarez, Z. R. González, R. H. 2014. Seed production and quality of *Pinus durangensis* mart., from seed areas and a seed stand in Durango, México. Pak. J. Bot., 46 (4): 1197-1202.
- Bustamante, G. V., Prieto, R. J. A., Merlín, B. E., Álvarez, Z. R., Carrillo, P. A. y Hernández, D. J. C. 2012. Potencial y eficiencia de producción de semilla de *Pinus engelmannii* Carr. en tres rodales semilleros del estado de Durango, México. Madera y bosques 18 (3): 7-21.
- Castilleja, S. P., Delgado, V. P., Sáenz, R. C. and Herrerías, D. Y. 2016. Reproductive Success and Inbreeding Differ in Fragmented Populations of *Pinus rzedowskii* and *Pinus ayacahuite* var. *veitchii*, Two Endemic Mexican Pines under Threat. Forests 7(8), 178.
- Cayuela, L. 2006. Deforestación y fragmentación de bosques tropicales montanos en los Altos de Chiapas, México. Efectos sobre la diversidad de árboles. Ecosistemas 15 (3): 192-198.
- Crnokrak, P. and Barrett, S. C. H. 2002. Perspective: purging the genetic load: a review of the experimental evidence. Evolution 56:2347-2358.
- Flores, L. C., López, U. J. y Vargas, H. J. J. 2005. Indicadores reproductivos en poblaciones naturales de *Picea mexicana* Martínez. Agrociencia 39: 117-126.
- Gómez, D. J. D., Monterroso, R. A. I., Tinoco, R. J. A., Toledo, M. M. I., Conde, A. C. and Gay, G. C. 2011. Assessing current and potential patterns of 16 forest species driven by climate change scenarios in México. Atmósfera 24(1), 31-52.
- Grime, J. P. and Hillier, S. H. 2000. The contribution of seedling regeneration to the structure and dynamics of plant communities, ecosystems and larger units of the landscape. Seeds the ecology of regeneration in plant communities, 2nd edition.
- 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: 179-188.



- Husband, B. C. and Schemske, D. W. 1996. Evolution of the magnitude and timing of inbreeding depression in plants. *Evolution*. 50(1): 54-70.
- Iglesias, A. L. y Tivo, F. Y. 2006. Caracterización morfométrica de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. del cofre de Perote, Veracruz, México. *Revista Ra Ximhai* 2 (2): 449-468.
- Islas, G. J., Magaña, T. O. S. y Buendía, R. E. 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. Cap. 1. pp.
- Körner, C. 2007. The use of 'altitude' in ecological research. *Trends in ecology & evolution*, 22 (11), 569-574.
- Lascoux, M., Glémin, S. and Savolainen, O. 2016. Local Adaptation in Plants. *Plant Science*.
- Leishman, M. R., Wright, I. J., Moles, A. T. and Westoby, M. 2000. The evolutionary ecology of seed size. *Seeds the ecology of regeneration in plant communities*, 2nd edition.
- López, D. J. C. y Acosta, P. R. 2005. Biodiversidad Parque Nacional Malinche, Tlaxcala, México. Primera edición.
- López, T. L., Heredia, H. M., Castellanos, A. D., Blanco, G. A. and Sáenz, R. C. 2017. Reproductive investment of *Pinus pseudostrobus* along an altitudinal gradient in Western Mexico: implications of climate change. *New Forests*.
- Mátyás, C. 2010. Forecasts needed for retreating forests. *Nature*, 464 (7293), 1271-1271.
- Mátyás, C., Berki, I., Czúcz, B., Gálos, B., Móricz, N. and Rasztoivits, E. 2010. Future of beech in Southeast Europe from the perspective of evolutionary ecology. *Acta Silvatica et Lignaria Hungarica*, 6, 91-110.
- Mendizábal, H. L. C., Alba, L. J., Cruz, J. H. y Tejeda, L. V. M. 2010. Potencial de producción de semillas de *Pinus pseudostrobus* Lindl. en El Paso, municipio de La Perla, Veracruz, México. *Foresta Veracruzana*, Vol. 12 (2), 21-26.

- Morales, V. M. G., Ramírez, M. C. A., Delgado, V. P. y López, U. J. 2010. Indicadores reproductivos de *Pinus leiophylla* Schltl. et Cham. en la Cuenca del río Angulo, Michoacán. Rev. Mex. Cien. For. Vol. 1 (2).
- Morante, C. J., Alba, L. J. y Mendizábal, H. L. C. 2005. Estudio de conos, semillas y plántulas de *Pinus greggii* engelm. de una población del estado de Veracruz, México. Foresta Veracruzana, Vol. 7 (2), 23-31.
- Mosseler, A., Major, J. E., Simpson, J. D., Daigle, B., Lange, K., Park, Y. S., Johnsen, K. H. and Rajora, O. P. 2000. Indicators of population viability in red spruce, *Picea rubens*. I. Reproductive traits and fecundity. Can. J. Bot. 78: 928-940.
- Owens, J. N. and Fernando, D. D. 2007. Pollination and seed production in western white pine. Can. J. For. Res. 37: 260–275.
- Peñuelas, J., Oyaga, R., Boada, M. and Jump, A. S. 2007. Migration, invasion and decline: changes in recruitment and forest structure in a warming-linked shift of European beech forest in Catalonia (NE Spain). Ecography 30:830-838.
- Perry, J. P. 1991. The pines of Mexico and Central America. Timber Press. Portland, Oregon, USA. 231 p.
- Portillo, D. C. I. 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. Licenciatura en Biología. Facultad de Agrobiología, Universidad Autónoma de Tlaxcala.
- Quiroz, V. R. I., López, U. J., Cetina, A. V. M. y Ángeles, P. G. 2017. Capacidad reproductiva de *Pinus Pinceana* gordon en el límite sur de su distribución natural. Agrocencia 51: 91-104.
- Rehfeldt, G. E., Ferguson, D. E. and Crookston, N. L. 2009. Aspen, climate, and sudden decline in western USA. Forest Ecology and Management, 258 (11), 2353-2364.
- Rojas, G. F. y Villers, R. L. 2008. Estimación de la biomasa forestal del Parque Nacional Malinche: Tlaxcala-Puebla. Rev. Ciencia Forestal en México. 33.

- Ruíz, F. D. G., López, U. J., Ramírez, H. C. y Rodríguez, T. D. A. 2015. Fenología reproductiva en un ensayo de progenies de *Pinus greggii* var. *australis*. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 38 (3): 285 – 296.
- Rzedowski, J. 2006. Vegetación de México. México: Limusa.
- Sáenz, R. C., Guzmán, R. R. and Rehfeldt, E. G. 2006. Altitudinal genetic variation among *Pinus oocarpa* populations in Michoacán, México. Forest Ecology and Management 229:340–350.
- Sáenz, R. C., Lindig, C. R. A., Joyce, D. G., Beaulieu, J. S., Clair, J. B. and Jaquish, B. C. 2016. Assisted migration of forest populations for adapting trees to climate change. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente. 22(3): 303-323.
- Sáenz, R. C., Rehfeldt, G. E., Crookston, N. L., Pierre, D., Amart, R. S., Bealieu, J. and Richarrdson, B. A. 2010. Splíne models of contemporary, 2030, 2060 and 2090 climates for Mexico and their use in understanding. Climatic Change 102:595-623.
- Sánchez, T. V., Mendizábal, H. L. C. y Rebolledo, C. V. 2002. Variación en conos y semillas de *Pinus cembroides* subsp. *orizabensis* D.K. Bailey de las Cuevas. Foresta Veracruzana, Vol. 4 (1) 25-30.
- Tejeda, L. V. M. 2018. Dinámica de semillas de *Pinus hartwegii* Lindl. en un gradiente altitudinal del Cofre de Perote, Veracruz, México. Tesis de Maestría.
- Vázquez, C. O. G., Ramírez, G. E. O. y Alba, L. J. 2004. Variación de conos y potencial de producción de semillas de *Pinus oaxacana* Mirov en una población del Estado de Tlaxcala, México. Foresta Veracruzana 6(2):31-36.
- Velasco, G. M. V., López, U. J., Ángeles, P. G., Vargas, H. J. y Guerra de la Cruz, V. 2007. Dispersión de semillas de *Pseudotsuga menziesii* en poblaciones del centro de México. Agrociencia 41: 121-131.
- Velásquez, A. y Bocco. G. 2003. La ecología del paisaje y su potencial para acciones de conservación de ecosistemas templados de montaña. En Sánchez, O., E. Vega, E. Peters y O, Monroy, Conservación de ecosistemas templados de montaña en México. Instituto Nacional de Ecología, México, D.F.

- Vitasse, Y., Delzon, S., Bresson, C. C., Michalet, R. and Kremer, A. 2009. Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. *Canadian Journal of Forest Research*. 39:1259-1269.
- Viveros, V. H., Sáenz, R. C., López, U. J. y Vargas, H. J. J. 2005. Variación genética altitudinal en el crecimiento de plantas de *Pinus pseudostrobus* Lindl. en campo. *Revista Agrociencia* 39: 575-587.
- Viveros, V. H., Sáenz, R. C., Vargas, H. J. J., López, U. J., Ramírez, V. G. and Santacruz, V. A. 2009. Altitudinal genetic variation in *Pinus hartwegii* Lindl. I: Height grown, shoot phenology, and frost damage in seedlings. *Forest Ecology and Management*. 257: 836-842.
- Wang, H., Sork, V. L., Wu, J. C. and Ge, J. 2010. Effect of patch size and isolation on mating patterns and seed production in an urban population of Chinese pine (*Pinus tabulaeformis* Carr.) *Forest Ecology and Management* 260: 965–974.