

Informe final* del Proyecto B156
Distribución, estructura poblacional y variación genética de algunas especies de pinos en peligro de extinción en México

Responsable: Dra. Elena Álvarez Buylla
Institución: Universidad Nacional Autónoma de México,
Instituto de Ecología
Departamento de Ecología Evolutiva
Dirección: Apartado Postal 70-275, Copilco-Universidad, México, DF, 04510 ,
México
Correo electrónico: eadvarez@biomail.ucsd.edu abuylla@servidor.unam.mx
Teléfono/Fax: Tel: 5622 9013 Fax: 616 1976
Fecha de inicio: Noviembre 30, 1994
Fecha de término: Noviembre 25, 1996
Principales resultados: Base de datos, Informe final
Forma de citar el informe final y otros resultados:** Álvarez Buylla, E. y F. Medina Freaner. 1997. Distribución, estructura poblacional y variación genética de algunas especies de pinos en peligro de extinción en México. Universidad Nacional Autónoma de México . Instituto de Ecología. **Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. B156.** México D. F.
Resumen: Durante este proyecto se pretende actualizar la distribución geográfica, documentar la estructura poblacional y estudiar la variación y estructura genética de cuatro especies de pinos en peligro de extinción en México

-
- * El presente documento no necesariamente contiene los principales resultados del proyecto correspondiente o la descripción de los mismos. Los proyectos apoyados por la CONABIO así como información adicional sobre ellos, pueden consultarse en www.conabio.gob.mx
 - ** El usuario tiene la obligación, de conformidad con el artículo 57 de la LFDA, de citar a los autores de obras individuales, así como a los compiladores. De manera que deberán citarse todos los responsables de los proyectos, que proveyeron datos, así como a la CONABIO como depositaria, compiladora y proveedora de la información. En su caso, el usuario deberá obtener del proveedor la información complementaria sobre la autoría específica de los datos.

INFORME FINAL DEL PROYECTO B156

"Distribución, estructura poblacional y variación genética de algunas especies de pinos en peligro de extinción en México"

Responsables: Dra. Elena Alvarez Buylla
Dr. Francisco Medina Frenaner

noviembre 1996

Proyecto: B156 "Distribución, estructura poblacional y variación genética de algunas especies de pinos en peligro de extinción en México".

Descripción de la información que contiene *el archivo* **datCONABIO** de la base de datos.

En los *informes anteriores* se habían elaborado cuatro archivos, los cuales contenían de manera separada la información demográfica y genética pero se presentaron algunos problemas en la relación e interpretación de los datos. En *este* informe se realizó una base de datos general, con lo cual los datos quedaron relacionados en un solo archivo. En total se tiene 47 campos con 636 datos. Existen campos para los cuales no se obtuvo información, se escribe con SI) cuando falta algún dato con letra y 9999 cuando falta un dato con número. Otra observación pertinente, es que en los estudios poblacionales *se tiene* un registro del número de individuos más que del número *de colecta* por lo que en la base de datos se optó por dejar el campo número de poblaciones y no el número de colecta.

dat.CONABIO.XLS. El archivo contiene los datos tanto de la demografía como de la genética de las cuatro especies analizadas.

Descripción de la base de datos.

Del campo A al AF se tiene los datos de ubicación y demográficos de las especies. Aunque el nombre de cada campo es muy claro se incluyó un diccionario con la información que contiene cada uno de los campos. También se describen los campos de la *parte genética*, se enlistan de el campo AG al BD los nombres de los diferentes genes o loci que se usaron. Siglas que corresponden al *nombre de la* enzima con la cual se pudo detectar un loci o gen, por ejemplo, en el campo AG y AH que sería el gen 2 con el alelo 1 en el campo AG y el mismo gen 2 con el otro alelo 2, en el campo AH. Esta secuencia se repite en todos los

demás campos lo que varía es la enzima, el gen y el número de alelos que se presentan en determinado gen.

Diccionario:

A. Clave C: Clave Curi. B.

Familia: Familia

C. Género: Género

D. Especie: Especie

E. Autor: Autor

F. Año: Año

G. Población: Población

H. Colectores: Colectores

I. N_ind: Número de individuo, que equivale al número de colecta. J. Día

Colecta: Día de Colecta.

K. Mes-Colecta-Mes de Colecta. L.

Año Colecta: Año de Colecta.

M. Nomb Deter: Nombre del que determinó la especie.

N. Cali Deter: Calidad de quien determinó D. Estado:

O. Estado.

P. Municipio: Municipio.

Q. Clave_Mun Inegi. Clave de INEGI para el Municipio.

R. Lat Grad: Grados de latitud.

S. Lat Min: Minutos de S. latitud.

T. Lat_Seg: Segundos de latitud.

U. Long_Grad. Grados de longitud.

V. long_Min: Minutos de longitud. W.

W.Long_Seg. Segundos de longitud. X.

Altitud: Altitud.

Y. Tipo_Lect. Tipo de lectura.

Z. Aparato: Tipo de aparato de medición. AA.

Prec LL: Presición del aparato.

AB. Perim cm: *Perímetro en centímetros*.

AC. Edad Años: Edad en años.

AD. Altura m: Altura en metros

AE. Reprod: Reproducción.

AF. MNR2_1; Loci o gen 2, alelo 1.

AG. MNR2_2: Loci o gen 2, alelo 2.

AH. APX 1 _ 1 (peroxidasa anódica) : Loci o gen 1, alelo 1. Al.

APX1_1 (peroxidasa anódica): Loci o gen 1, alelo 2. A7.

APX2_1 (peroxidasa anódica): Loci o gen 2, alelo 1. AK. APX2

2 (peroxidasa anódica): Loci o gen 2, alelo 2.

AL. EST1_1 (esterasa): *Loci o gen 1, alelo 1.*

AM. EST1 2 (esterasa): Loci o gen 1, alelo2.

AN. EST2_1 (esterasa): Loci o gen 2, alelo 1.

AO. EST2_2 (esterara): Loci o gen 2, alelo 2.

AP. GOT1_1 (glutamato oxalacetato transaminasa) : Loci o gen 1, alelo 1.

AQ. GOT1 2 (glutamato oxalacetato transaminasa): Loci o gen 1, alelo 2. A

R. LAPI_1 2 (leucina aminopeptidasa): Loci o gen 1, alelo 1.

AS. LAP12 (leucina aminopeptidasa): Loci o gen 1, alelo 2.

AT. SDH2_1 (shkimato deshidrogenasa): Loci o gen 2, alelo 1. AU.
SDH2_2 (shkimato deshidrogenasa): Loci o gen 2, alelo2. AC. IDH2_1
(isocitrato deshidrogenasa): Loci o gen 2, alelo 1. AW. IDH2_2
(isocitrato deshidrogenasa): Loci o gen 2, alelo 2. AX. GDH2_1
(glutamato deshidrogenasa): Loci o gen 2, alelo 1. AY. GDH2_2
(glutamato deshidrogenasa): Loci o gen 2, alelo 2. AZ. RUB1_1
(rubisco): Loci o gen 1, alelo 1. BA. RUB1_2 (rubisco): Loci o gen 1,
alelo 2. BB. FEST1_1 (esterasa flourescente): Loci o gen 1, alelo 1.
BC. FEST12 (esterasa flourescente): Loci o gen 1, alelo2.

Informe final a la CONABIO

Proyecto "Distribución, estructura poblacional y variación genética de algunas especies de *pinos en peligro de extinción en México*"

Número de ref: B156

Responsables: Dra. Elena Alvarez-Buylla
Dr. Francisco Molina Frenaner

En este reporte se describen en general para *P. rzedowskii*, *P. pinceana*, *P. lagunae* y *P. muricata*, los métodos y los resultados obtenidos. De manera particular se presenta un informe para cada una de las especies con los resultados y discusión más *específicos*. También, *se anexa un diccionario o clave con la descripción de los campos incluidos en la base de datos, un documento con algunos lineamientos para la conservación de estas especies con base en los resultados obtenidos en este proyecto. Finalmente anexamos una lista de presentaciones en congresos y publicaciones derivadas de este proyecto hasta la fecha.*

Las actividades que se realizaron fueron las siguientes: a) Ubicación de las poblaciones actualmente reportadas y otras que se descubrieron durante las inspecciones. b) Determinación de la densidad y la estructura de edades de algunas poblaciones. c) Colecta de material foliar para hacer los estudios de variación genética utilizando la técnica de electroforesis en geles de almidón. e) Análisis electroforeticos con isoenzimas obteniendo un promedio de 14 a 16 loci por población.

Metodología general

Demografía

Se visitaron las poblaciones que habían sido reportadas por Perry (1991). Para las especies estudiadas se tomaron datos de su localización geográfica con la ayuda de un

posicionador topográfico (marca Magellan modelo ProMARKVGPS). Estos datos serán útiles en la elaboración de mapas topográficos detallados de las diferentes poblaciones.

En cada población se estimó la densidad por un método con o sin área, basado en recorridos y observaciones preliminares en cada una de ellas. Para cada árbol se tomaron los siguientes datos; altura y perímetro, son una forsiplula y cinta diamétrica. La estimación de edades en principio se basó en el conteo de anillos de crecimiento. Para lo que se uso un taladro de Pressley. Se *estimó un* índice de correlación entre el perímetro, la altura y la edad para conocer si la altura o el perímetro podían servir como estimadores de la edad de los árboles. La correlación entre el perímetro y la edad fue altamente significativa ($r = 0.860$; $p = 0.0001$) por lo que el perímetro se utilizó como indicador de la edad en los demás árboles muestreados.

Genética

Se colectó material foliar *de las partes terminales de las ramas, así como yemas en desarrollo*, ya que pruebas preliminares nos mostraron que la actividad enzimática es mayor en las yemas foliares. Las acículas colectadas se utilizarán posteriormente para estudios son ADN. También fueron colectados conos maduros para obtener semillas que serán analizadas en otros estudios. El material fue etiquetado con los datos respectivos de lugar, fecha, población, número de replica, y observaciones generales del árbol (si está infectado, dañado, quemado etc). Se colectaron también ejemplares de herbario las cuales fueron debidamente depositados en el Herbario del Instituto de Biología de la UNAM (MEXU).

Electroforesis:

La parte experimental para hacer el montaje de los sistemas enzimáticos se realizó son la técnica de electroforesis en geles de almidón. Anteriormente, reportamos 4 sistemas de corrimiento y 16 enzimas. Sin embargo, algunas de ellas no tuvieron buena resolución

para algunas poblaciones e individuos por lo que finalmente se analizaron 12 enzimas en tres sistemas de corrimiento. Hasta ahora se han obtenido 25 loci para los diferentes pinos estudiados (6PGD, IDH, MDH-2, MDH-3, PGM, SDH-1, SDH-2, MNR-1, MNR-2, GDH-2, PGI-1, PGI-2, PGI-3, RUB-1, NADHHDH-1, NADHHDH-2, GOT-1, APX-1, APX-2, APX-3, F-EST-1, LAP-1, ACO, ACPH-2) (ver Tabla 1). En *P. rzedowskii* se trabajó con 14 loci con muy buena resolución y 15 loci en *P. lagunae*, *P. pinceana* y 16 en *P. rnuricata*. Para estas tres especies el número de loci (genes) varía por lo que en la base de datos se reportan 13 loci isoenzimáticos iguales a los de *P. rzedowskii*, y 3 más que tuvieron resolución en las otras tres especies (6PGD-1, ACPH-1 y MDH). Sin embargo, para estas especies no tuvo resolución la enzima F-EST. Espacios que en la base de datos aparecen como datos no disponibles (DN).

Para la extracción de las proteínas se molieron las partes vivas de la yema con un buffer de extracción que se prepara con tres partes de buffer *CegII* de Cheliack (1984) y una parte del buffer O'Malley (1980) (Tabla 2). Los geles se prepararon al 12% p/v de almidón hidrolizado (SIGMA S-4501). Se usaron tres sistemas de corrida (Mitton et al., 1977; Miles 1977; Conkle et al., 1982) obteniendo 12 a 14 enzimas con buena resolución. En total se analizaron de 14 a 16 loci según la especie. Para la tinción de las enzimas se usaron recetas de Hakim Elahi (1976), para APX-1 APX-2, CPX-2, de Conkle et al (1982) para MNR-1, GDH-2, Soltis et al (1983), IDH-2. Selander (1986), para EST2, F-EST-1, y Wyatt (1989) para LAP-1, una modificación de Callejos (1983), para MDH, de Hakim-Elahi (1976) para ACPH y de Wyatt (1989) para 6PGD. La designación de los loci y alelos se realizó con base en la movilidad relativa de las proteínas.

4.2.2 Análisis de datos

A partir de los datos electroforéticos se obtuvieron los siguientes estimadores:

1) Frecuencias alélicas:

$$p = (N_{11} + (N_{12}/2))/N \quad q = (N_{22} + (N_{12}/2))/N \quad z = (N_{33} + (N_{13}/2 + N_{23}/2))/N$$
 donde N_{11} , N_{12} ,

N_{22} son las frecuencias absolutas de los tres genotipos y N el tamaño de muestra.

2) Proporción de loci polimórficos P . Este índice se define como la presencia de polimorfismos genéticos en una o más poblaciones (más de un alelo en un locus) y que son apreciablemente frecuentes (Cavalli-Esforza y Bodmer 1971). Este índice toma valores entre 0 y 1. Si no existe variación genética. Entre más alto, es mayor la variación genética *hasta llegar a 1*, donde todos los genes analizados son polimórficos, es decir, todos los genes tienen dos o más formas alternativas de un gen (Hedrick 1983).

$$P = x/m$$

donde x = al número de loci polimórficos y m = al número de loci analizados.

3) La heterocigosis promedio esperada H . Este índice se obtiene a partir del promedio de la *heterocigosis* esperada en el equilibrio Hardy-Weinberg para todos los genes estudiados en las poblaciones (Brown y Weir, 1983). Se puede definir de la siguiente manera:

$$H = 1 - \sum p_i^2$$

donde p_i es la frecuencia alélica para cada locus y cada alelo. Este índice toma valores que van de 0, cuando *no se* registra variación en ninguno de los genes estudiados, hasta 1, cuando todos los loci son polimórficos.

4) El promedio del número de alelos por locus, A , que es simplemente el número de alelos promedio para un locus.

De las muestras que se analizaron para el estudio de la variación genética se obtuvieron las frecuencias alélicas y a partir de éstas se realizaron todos los análisis de la estructura genética de *P. rzedowskii*. Se utilizaron los siguientes índices y estimadores:

1) Índice de fijación F, propuesto por Sewall Wright (1921).

$$F = 2pq - H_o/2pq = 1 - H_o/2pq$$

donde H_o es la proporción de heterócigos observados y H_e la proporción de heterócigos esperados .

Este índice tiene un valor de 0 si la población se encuentra en equilibrio de Hardy - Weinberg, dado que la heterocigosis observada es igual que la heterocigosis esperada, y puede tomar valores entre -1 a +1, alcanzando un valor de -1 si existen exclusivamente individuos heterócigos, hasta +1 si todos los individuos son homócigos. Este índice puede ser dividido en varios niveles geográficos, lo que genera los estadísticos F;

a) F_{IS} que es la desviación del equilibrio Hardy - Weinberg a nivel local- subpoblación y toma valores de --1 a+1.

$$F_{IS} = H_s - H_o/H_s$$

Donde, H_s es la heterocigosis promedio observada sobre todos los loci, a nivel subpoblación; H_o es la heterocigosis promedio esperada sobre todos los loci a nivel subpoblación (Hedrick 1983)

b) F_{IT} representa la correlación entre unidades gaméticas relativas al total de la población. Toma valores de -1 a + 1.

$$F_{IT} = H_T - H_o/H_T$$

Donde H_o es la heterocigosis promedio observada sobre todos los loci, a nivel subpoblación; H_T es la heterocigosis promedio esperada sobre todos los loci a nivel subpoblación (Hedrick 1983)

$$F_{ST} = H_T - H_s / H_T$$

c) F_{ST} estima el grado de diferenciación genética entre las diferentes poblaciones. Toma valores de 0 y 1

Donde H_s es la heterocigosis promedio esperada sobre todos los loci, a nivel subpoblación; H_T es la heterocigosis promedio esperada sobre todos los loci a nivel de la población (Hedrick 1983)

2) *Las relaciones* genéticas entre poblaciones se evaluaron por el estimador de la identidad y distancia genética (Nei, 1978) para todos los pares de poblaciones posibles. La identidad I toma valores que van de 0, si ambas poblaciones de cada *pareja no* comparten ni un solo alelo, a 1 si las dos poblaciones tienen frecuencias alélicas idénticas. La distancia D ($D = -\ln(I_N)$) varía entre 0 hasta infinito. De 0 si las poblaciones tienen frecuencias alélicas idénticas, y de infinito si no comparten ningún alelo (Hedrick, 1983).

Para el análisis de los datos se usaron tres programas: el programa BIOSYS-1 se usó para obtener las frecuencias alélicas y genotípicas, las identidades y distancias genéticas (Neis 1975, 1977), y el índice de fijación F para cada loci y población analizada (Wright, 1965). Los estadísticos F de Wright, así como los intervalos de confianza al 95% de su valor medio, se calcularon con el método de "jackknife" propuesto por Weir y Cockerham (1984) a través de un programa de computación modificado de Weir e implementado por Chaos et al (en prensa). Para ver si los valores de F , F_s , F_{ST} de cada loci, son significativamente diferentes de 0, se obtuvo el estadístico $\chi^2 = F^2 N (K-1)$, para $K(K-1)/2$ grados de libertad, donde N es el tamaño de la muestra y K es el número de alelos (Li y Horvitz, 1953). Para la significancia de los valores de F_{ST} por locus, se aplicó $\chi^2 = 2N F_{ST}^2 (K-1)$ con $(K-1)(s-1)$ grados de libertad, donde N es el tamaño de la muestra (número de individuos), K el número de alelos y s , el número de subpoblaciones (Workman y Niswander, 1970). Para el análisis de aislamiento por distancia se usó el programa ISO (Slatkin, 1994).

Resultados y discusión general

Localización geográfica.

Durante los recorridos que efectuamos en las poblaciones de *P. rzedowskii* y *P. muricata* detectamos dos aspectos muy generalizados. El primero, es que las dos especies se encuentran en afloramientos de roca, en el caso de la primera especie asociada a roca caliza y la segunda especie a afloramientos de rocas rojas (tobas). La relación con el sustrato parece ser fuerte, pues sólo una de las poblaciones de *P. rzedowskii* se encontró en un suelo más formado y profundo (andosol). El segundo aspecto que pudimos detectar es la influencia del fuego sobre la estructura de edades de las poblaciones. Para *P. rzedowskii* la base de los troncos de un 40% de los árboles presentan quemaduras. Perry (1991), menciona que es probable que durante la estación de secas muchas poblaciones juveniles puedan ser destruidas por los incendios, ya que se encuentran pocos individuos juveniles y muchos de ellos tienen menos de 12 cm en su fuste. En contraste, en los sitios donde habita *P. muricata*, se observó evidencias de incendios recientes y en estos se detectó una gran cantidad de individuos jóvenes. Esto parece indicar que el fuego es un componente muy importante de la regeneración de las poblaciones de *P. muricata* y que de manera contraria limita la regeneración de árboles de *P. rzedowskii*.

Como característica particular de *P. muricata* se puede mencionar que las poblaciones que la representan siempre se encuentran a una distancia de 2 a 8 km de la zona costera. Nunca se detectaron poblaciones a mayores distancias de la línea costera, a pesar de que existen afloramientos de tobas tierra adentro similares a los que se presenta en una de las poblaciones (Ejido Eréndira) donde encontramos a *P. muricata*. Para esta especie se han detectado 2220 individuos, lo que nos da una idea de la rareza de esta especie en la región.

P. pinceana está representada por 5 poblaciones que están conformadas cada una por más de 1000 individuos maduros. Los sitios donde se encuentran al igual que *P. rzedowskii* también están formados por roca caliza, y solo una de las poblaciones (Cuauhtémoc 1) se asocia a *P. cembroides*. Las demás especies son típicas de zonas ácidas como *Agave lechiguilla*, *Opuntia rastrera*, *Euphorbia* sp, etc. Algo muy interesante que se observó es que todas las poblaciones tienen representantes reproductivos por lo que todos los árboles contenían estróbilos femeninos (conos). En

general para esta especie se observaron tres puntos importantes i) El número de individuos para cada población y para la especie es mucho mayor que lo reportado por Perry (1991), más de 6000 individuos maduros. ii) Todas las poblaciones se encuentran con producción de conos, lo cual indica que la poca pérdida de semillas y posteriormente de plántulas, no se debe a la fenología de la especie (posible alteración de la fase reproductiva). Más bien a algún aspecto extrínsecos de los árboles como podría ser la depredación. iii) Técnicamente la época del año más propicia para hacer colecta de semillas se presenta entre los meses de septiembre a noviembre. Finalmente, de las poblaciones mencionadas, la población Cuauhtémoc 1 es la más accesible y podría tomarse como la más representativa de la especie para realizar trabajos de conservación *insitu*. En realidad falta hacer una discusión más profunda a cerca de los resultados obtenidos, pero en términos generales la conclusión para las cuatro especies apunta hacia una mayor probabilidad de que las especies se encuentren amenazadas de extinción debido más a problemas demográficos que genéticos, tal como lo señala Lande (1989). La variación genética que presentan es suficiente por lo que no pueden ser consideradas en peligro de extinción genéticamente pero sí no se logra implementar alguna estrategia de conservación *insitu* y *exsitu*, el efecto de factores demográficos podría acelerar la pérdida de varias de las poblaciones.

Finalmente, queremos pedirles la restricción de los datos por lo menos durante un año (1997), como se mencionó anteriormente, falta afinar o depurar los resultados.

Tabla 1. Sistemas de Corrimiento y Expresión Enzimática.

Buffer del gel	Buffer del electrodo	Enzimas
Mitton PP (Mitton et al, 1977)		
0.015M Tris 0.05M Acido Cítrico	0.031M NaOH 0.2195M Ac. Bórico	APX- Peroxidasa anódica (Hakim, Elahi, 1976)
pH=7.6 con NaOH ó/ pH= 7.5		CPX-Peroxidasa (Hakim, Elahi, 1976).
Ac. Cítrico	Ac. bórico	GOT-Glutamato oxaloacetato transaminasa (Wyatt, 1989) MNR- Menadion reductasa
(Cheliak y Pipet,1984)		
Conkle RR (Conkle, 1982)		NADHDH-Nicotidamina adenina dinucleotido
0.03M Trizma base 0.005 Ac. cítrico 10 ml del buffer del elec- trodo en 990ml del Buffer del gel. pH= 8.5 1 % del buffer del electrodo pH= 8.5 a una concentración de 10X del buffer del gel.	deshidrogenas 0.06M LiOH LAP-Leucina aminopeptidaca 0.3M Ac.bórico (Werth, 1985). llevar a 1 lt. pH= 8.1	F-EST- Ecteraca fluorecente (Cheliak y Pipet, 1984) EST- Ecteraca (Cheliak y Pipet, 1984)
SIS#2 (Miles 1977) 1 parte del B. electródo	GDH-Glutamato dehidrogenaca (Cheliak y Pipet, 1984)	

9 partes de agua destilada
Para el B. del electrodo se pesó
0.15 Tris (T-1378) 18.77g
0.0075M Ac.cítrico monoh
1.58g
Agua destilada 100ml (aforar)

IDH-Isocitrato deshidrogenasa
deshidrogenasa (Modificado de
Callejo, 1983). SDH-Shikimato
deshidrogenasa
(Modificado de Wert 1985)

pH = 9.0

Morfolina (Wendel y Weeden, 1989)

B. del gel.

B. del electrodo.

0.040M Ac. cítrico
monoh. 8.41 gr
0.068M (3-amino-
propil) morfolina
10 ml

1 parte del buffer del
electródo.
19 partes de agua
destilada. Llevar a
400 ml.

MDH- Malato deshidrogenasa
(Mod. de Callejo 1983)
6-PGD- 6-fosfogluconato
deshidrogenasa (Wyatt 1989)
ACP- Fosfatasa acida (Hakim
Helahi, 1976)

Agua destilada
1000 ml (aforar)
pH 6.1

Tabla 2. Buffer de extracción.

Y'Omalley (para 100ml)

10 ml solución de tris-ácido cítrico (1.57g de trisma base,

0.83 g de ácido cítrico, llevar a 100ml de agua y pH 7.0)

0.05 g NADP

0.05 g NAD

0.018 g Acido ascórbico

0.034 g EDTA

0.10 g Bovine serum albimin

0.33 ml 2-mercaptoethanol

llevar a 100ml con agua destilada

VEGII

0.31g Acido bórico

2 ml Tergitol 15-S

10.27g Sacarosa

2g PEG 8000

0.005g Fosfato de piridoxal

7g PCP 40

1 g PCP 360

0.88g Acido ascórbico

0.02g NAD

0.1 g Bobine serum albumin

0.66 ml 2-mercaptohetanol

llevar a 100 ml con agua destilada ajustar el pH a 7.1 con NaOH.

Pinus muricata

P. muricata forma parte del grupo californiano de pinos de conos serotinos de la subsección *Oocarpae* (Millar 1986). *P. muricata* tiene un rango de distribución restringido a la costa del pacífico en el estado de California en Estados Unidos y una población en la zona de San Vicente en el estado Mexicano de Baja California (Millar y Crichfield 1988; Perry 1991). Esta especie *crece muy* cerca de la línea costera (no más de 10-12 km de la costa), a bajas altitudes y en poblaciones pequeñas y disyuntas (Millar 1986; Minnich 1987). *Se estima que* existen al rededor de 9 grupos de poblaciones de esta especie a lo largo de su distribución (Millar y Crichfield 1988).

Dado que *P. muricata* crece en una amplia franja altitudinal, la vegetación varía desde chaparrales mediterráneos hasta bosques de Sequoia (Volg et al., 1977). Se le *encuentra* comúnmente en substratos ácidos y con drenaje pobre. Las poblaciones de *P. muricata* están comúnmente compuestas por individuos de la misma edad ya que el reclutamiento ocurre después del fuego (Volg et al., 1977). Los conos se abren con el fuego y las semillas germinan aun cuando estén expuestas a temperaturas muy altas por periodos cortos de tiempo (Linhart 1978). De ahí que se considere que el fuego es uno de los factores más críticos en la regeneración y mantenimiento de las poblaciones de esta especie (Cogl et al., 1977).

P. muricatata posee una gran variación morfológica y fitoquímica (Millar y Critchfield 1988). Los caracteres más variables incluyen a el tipo de estomas, la composición de monoterpenos y la forma de los conos. Esta variación tiene un claro componente latitudinal. Este patrón de variación geográfica está asociado a barreras reproductivas entre grupos de poblaciones (Millar y Critchfield 1988). Las poblaciones del norte están completamente aisladas reproductivamente de las poblaciones del sur, lo cual ha hecho pensar que probablemente se trate de más de una especie (Millar y Critchfield 1988).

Al parecer el grupo Californiano de pinos con conos serotinos tiene un origen monofilético (Millar et al., 1988). La estructura genética de varias poblaciones Californianas de *P. muricata* han sido previamente analizadas usando isoenzimas (Millar 1983, 1985). El análisis de la estructura reveló que el 78% de la variación se encuentra dentro de poblaciones y el 22% entre poblaciones (Millar et al., 1988). Sin embargo, usando marcadores del genoma del cloroplasto y de la mitocondria, el grado de diferenciación entre poblaciones es mucho mayor (Strauss et al., 1993; Hong et al., 1993).

Ubicación geográfica de las poblaciones de *P. muricata*

Nuestra labor con *P. muricata* consistió en visitar el área de San Vicente y localizar el máximo número de poblaciones de esta especie. La tabla 1 muestra las poblaciones que logramos detectar en el área de San Vicente con sus respectivas coordenadas geográficas. Detectamos un total de 6 poblaciones en el área, un número mayor que el reportado anteriormente (Minnich 1978; Perry 1991). Las poblaciones de San Quintin, reportada anteriormente por Martínez (1948), al parecer ya no existe (Richard A. Minnich, com. pers. 1995). En algunas poblaciones detectamos varias subpoblaciones como en el caso de la población Cerro Colorado (Tabla 1). En estos casos tratamos de determinar las coordenadas del mayor número de subpoblaciones posibles. Sin embargo, la dificultad de acceso a varios sitios, nos impidió determinar las coordenadas de todas las subpoblaciones. La inclinación de las pendientes donde vive *P. muricata* nos impidió obtener con precisión las densidades. Sin embargo, optamos por estimar visualmente el número total de individuos vistos fue de 2220. Dado que el fuego es un elemento muy importante en la regeneración de esta especie, la Tabla 1 muestra las evidencias de fuego en cada población. En algunos casos, los ejidatarios del Ejido Erendira nos proporcionaron la información sobre el último fuego en cada población y nosotros visualmente buscamos evidencias de fuego en cada sitio.

Estructura de edades y tasas de reclutamiento.

Solo documentamos la estructura poblacional de una subpoblación de la población Cerro Colorado. La figura 1 muestra la distribución de diámetros basales en esta subpoblación. En esta población, el último fuego ocurrió hace aproximadamente 25-30 años. La distribución observada muestra que no ha existido un fuerte reclutamiento de individuos recientemente en este sitio, se sabe que los conos pueden abrir durante el verano y las plántulas establecerse en ausencia de fuego (Vogl et al., 1977). Aunque la gran mayoría de los adultos no tienen plántulas asociadas (Figura 2), algunas de las plántulas pueden haber sido originadas por esa vía. La población Las Pinitas tuvo fuego en 1989 y fue muy evidente la enorme cantidad de juveniles que logramos detectar en este sitio. Aunque no documentamos la estructura poblacional, fue evidente el contraste de la distribución de tamaños con respecto a la población Cerro Colorado. La población La Hedionda tuvo fuego hace 15-20 años y pudimos detectar visualmente una distribución de tamaños similar a la del Cerro Colorado.

Variación y estructura genética de las poblaciones de *P. muricata*.

Colectamos ejemplares de herbario de las poblaciones Cerro Colorado, Las Pintas y La Hedionda, los cuales fueron depositados en el Herbario del Instituto de Biología de la UNAM (MEXU). También colectamos tejido foliar (yemas) y conos cerrados en cada una de las poblaciones para hacer el análisis de la estructura genética. *Las yemas foliares* fueron guardadas en hielo en el campo y enviadas en hielo seco a la ciudad de México para su análisis electroforético. Se emplearon 4 sistemas de buffers para ensayar un total de 16 loci. La Tabla 2 muestra los genotipos detectados para los 16 loci en cada una de las tres poblaciones. De igual forma, la Tabla 3 muestra las frecuencias de cada uno de los loci analizados. La tabla 4 muestra algunas medidas de variación genética en las

cuatro poblaciones analizadas. El promedio de alelas por locus varió de 2 a 2.3 y el porcentaje de loci polimórficos de 78.9 a 100%. La heterocigosis promedio observada fue muy similar *entre* poblaciones. Dado que la heterocigosis esperada bajo Hardy-Weinberg fue consistentemente superior a lo observado, el índice de fijación fue positivo en todos los casos (Tabla 4). Este resultado indica un exceso de homócigos con respecto a lo *esperado* bajo Hardy-Weinberg.

El análisis de la estructura genética se muestra en la Tabla 5. La mayoría de los valores de F_1 son positivos y en algunos casos significativamente diferente de cero. Este resultado indica un exceso de homocigos por endogamia a nivel de la población local. Por otra parte, el valor global de F_{st} revela que el 16% de la variación total se encuentra entre las tres poblaciones y el resto dentro de las poblaciones. A pesar de que las poblaciones Cerro Colorado y Los Pinitos son las más *cercanas*, la distancia genética entre ellas fue la más alta, lo cual indicaría que la distancia genética y física entre poblaciones no está estrechamente relacionada.

Discusión

A pesar de que detectamos 6 poblaciones de *P. muricata* en el área de San Vicente, el número total de individuos que pudimos observar fue muy pequeño (2220). Aunque si este número representa una subestimación, creemos que el número total en el área no rebasan los cuatro o cinco mil individuos. No obstante que esta especie está presente en los Estados Unidos, nuestras observaciones indican que quedan realmente muy pocos individuos de *P. muricata* en México.

Nuestras observaciones también indican que el fuego juega un papel muy importante en la regeneración de esta especie. Observamos como en sitios donde hubo fuego recientemente, el reclutamiento fue exitoso. En contraste, también pudimos observar

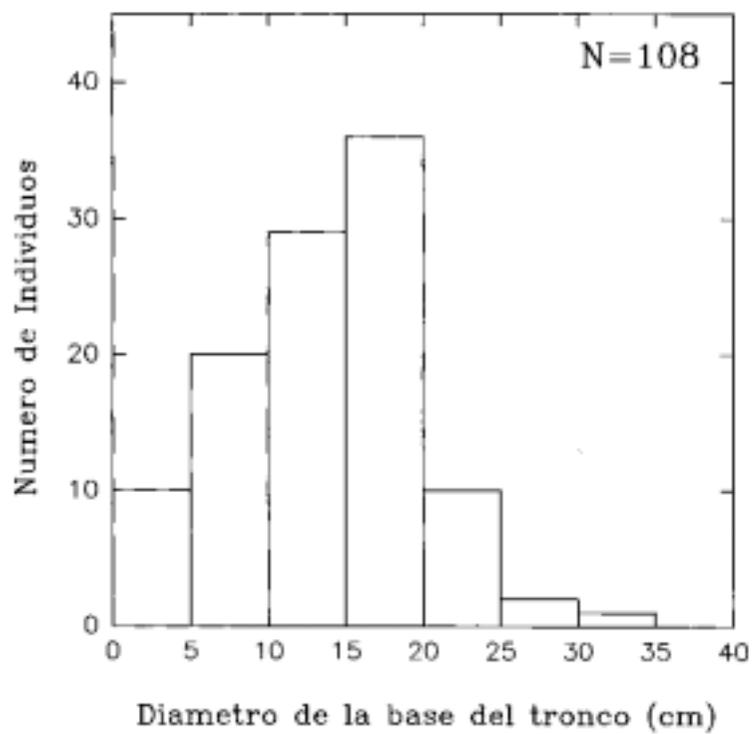
sitios donde no se observaron muchos juveniles debido a la ausencia de fuego reciente. En los sitios más cercanos a zonas con asentamientos humanos, también pudimos *detectar* evidencia de tala de los individuos más accesibles. La pendiente de algunos sitios donde habita *P. muricata* dificulta mucho su posible explotación. Sin embargo, pudimos constatar que la actividad agrícola de la región está ejerciendo una fuerte presión sobre las pocas poblaciones que quedan en esta área. *Los lomeríos cercanos a* donde habita esta especie están siendo cultivados con hortalizas para la explotación hacia el mercado estadounidense. Esta actividad está creando grandes asentamientos humanos con jornaleros que usan a esta especie para la leña y madera. Nuestras observaciones indican que si esta presión de los jornaleros continua, pondrá en serio peligro la persistencia de esta especie en el área de San Vicente. Por lo anterior creemos que esta especie requiere de protección especial. Dado que pudimos observar gran interés de algunos ejidatarios por esta especie de pino, no sería difícil involucrarlos en su protección.

Los datos de genética indican que los niveles de variación presentes en las poblaciones de *P. muricata* no representan un problema serio en términos de viabilidad. La riqueza de alelos y los polimorfismos detectados muestran valores que se han encontrado en otras coníferas. Los datos de la estructura genética revela que la variación presente dentro y entre las tres poblaciones estudiadas es similar a la detectada para las poblaciones californianas. Por lo anterior creemos que el tamaño poblacional *representa el* problema más serio para las poblaciones detectadas en san Vicente.

Tabla 1.- Poblaciones de *Pinus muricata* detectadas en el Ejido Erendira, en el municipio de San Vicente, Baja California.

POBLACION	SUBPOBLACIONES	LOCALIZACIÓN	N	EVIDENCIA FUEGO
Cerro Colorado	8	$31^{\circ} 17.51' N - 116^{\circ} 20.65' W$	38	No
		$31^{\circ} 17.62' N - 116^{\circ} 20.11' W$	290	No
		$31^{\circ} 17.99' N - 116^{\circ} 19.58' W$	115	Si
		$31^{\circ} 18.07' N - 116^{\circ} 19.76' W$	140	Si
		???	160	??
		???	97	??
		???	175	??
		???	25	??
Las Pinitas	1	$31^{\circ} 11.48' N - 116^{\circ} 19.00' W$	390	Si, hace 6 años
La Hedionda	2	$31^{\circ} 11.428' N - 116^{\circ} 20.49' W$	100	Si
		???	87	??
Sin nombre	1	$31^{\circ} 14.43' N - 116^{\circ} 19.01' W$	90	??
Sin nombre	1	$31^{\circ} 14.70' N - 116^{\circ} 19.59' W$	480	Si
Sin nombre	1	???	33	??
TOTAL=			2220	

Pinus muricata
Poblacion del Cerro Colorado



Distribución del número de plántulas por individuo de Pinus muricata en la población del Cerro Colorado.

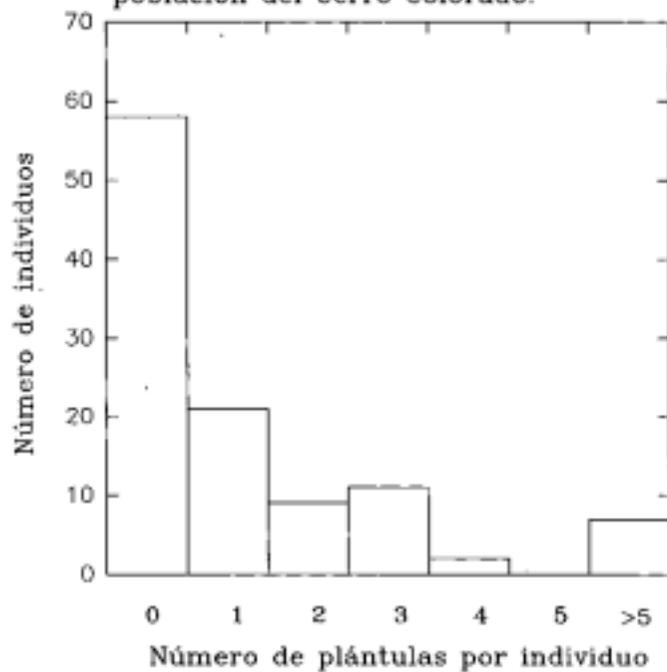


Tabla 2.- Genotipos detectados en las tres poblaciones de *Pinus muricata* para cada uno de los 16 loci analizados. Los loci son (en orden):
 ACP-1 ACP-2 ACP-4 APX-1 APX-3 GDH-1 GOT-1 GOT-2 IDH-1 LAP-1 MDH-1
 MDH-3 MNR-1 6PG-1 6PG-2 SDH-1

POBLACIÓN	CERRO COLORADO															
PM-1	22	00	13	22	22	11	22	11	11	22	22	11	00	11	11	11
PM-1	22	12	13	22	22	11	22	11	11	22	22	12	22	11	11	12
PM-1	00	00	00	12	22	11	22	12	11	12	22	22	22	11	11	11
PM-1	12	22	11	12	22	12	22	33	12	12	12	22	12	11	11	12
PM-1	12	22	13	22	22	12	22	33	12	12	12	22	12	11	11	11
PM-1	12	11	13	22	22	12	22	33	12	22	22	12	12	11	11	11
PM-1	22	22	22	12	22	12	22	11	22	22	12	11	22	11	11	11
PM-1	22	22	22	22	22	12	12	33	12	12	22	22	22	11	11	12
PM-1	22	22	22	12	22	12	12	22	12	22	22	22	12	11	11	11
PM-1	11	22	12	12	22	11	22	33	22	22	22	11	22	11	11	11
PM-1	22	12	22	22	22	22	22	12	22	22	22	22	12	11	11	12
PM-1	12	22	22	22	22	22	12	12	22	22	22	11	12	11	11	11
PM-1	22	11	12	22	12	22	22	33	12	22	22	11	12	11	11	11
PM-1	22	11	12	22	22	22	22	11	12	22	22	11	12	11	11	11
PM-1	22	00	11	12	22	22	22	33	11	22	22	12	22	11	11	12
PM-1	22	00	00	22	12	23	22	00	23	12	22	00	22	11	11	11

POBLACIÓN	LOS PINITOS															
PM-2	22	00	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11	22	22	22	11
PM-2	22	11	22	23	22	22	12	12	22	12	22	11	12	22	22	11
PM-2	12	12	22	23	23	12	12	12	23	22	22	11	12	22	22	11
PM-2	11	00	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	11
PM-2	12	00	12	13	22	12	12	22	23	22	12	11	12	22	22	11
PM-2	22	00	22	22	22	22	22	22	23	12	22	22	22	22	22	11
PM-2	11	00	22	23	23	22	12	22	23	11	22	12	22	22	22	11
PM-2	22	00	22	22	22	22	22	22	22	11	22	11	22	22	22	11
PM-2	12	00	22	23	22	22	12	22	22	11	12	12	22	22	22	11
PM-2	22	00	22	23	22	22	22	22	22	11	22	12	22	22	22	11
PM-2	22	00	22	23	22	22	22	22	22	12	22	11	22	22	22	11
PM-2	22	00	22	23	23	22	11	22	22	12	12	11	12	22	22	11
PM-2	22	00	22	22	22	22	11	22	22	11	22	12	12	22	22	11
PM-2	12	00	22	23	23	22	12	12	22	11	22	11	12	22	22	11
PM-2	22	00	22	23	22	22	12	22	22	11	22	11	12	22	22	11
PM-2	22	00	22	22	22	22	22	22	22	11	22	11	22	22	22	11

POBLACIÓN	LA HEDIONDA															
PM-3	22	22	22	12	22	22	22	22	11	22	11	11	22	22	22	22
PM-3	22	22	22	12	12	22	22	22	11	22	11	11	22	22	22	22

PM-3	22	13	22	12	22	23	12	12	13	12	22	22	22	12	22	12	
PM-3	22	12	23	23	22	23	22	12	13	12	1	11	122	12	12	11	
PM-3	12	22	23	12	22	22	22	22	1	12	22	1	112	1	112	22	
PM-3	22	22	22	12	22	22	12	1	112	22	22	1	122	1	11	12	
PM-3	22	12	22	1	122	22	22	22	1	22	1	111	122	00	11	12	
PM-3	22	22	12	12	22	23	12	23	13	12	1	111	122	22	1	112	
PM-3	22	12	1	11	11	122	22	22	22	22	22	1	22	22	12	12	
PM-3	22	12	33	1	22	22	22	22	22	22	22	1	12	12	22	22	
PM-3	22	1	23	11	11	23	12	12	13	12	22	11	22	12	22	22	
PM-3	22	1	00	11	11	22	12	22	12	22	22	22	22	12	22	1	1
PM-3	22	22	23	11	11	22	22	22	22	22	22	22	22	1	122	22	
PM-3	22	22	22	22	22	12	22	22	22	22	22	22	1	112	22	22	
PM-3	12	22	22	1	12	1	122	12	13	22	22	22	22	12	22	1	1
PM-3	22	22	33	12	1	112	22	12	1	122	22	1	122	12	12	22	
PM-3	22	22	23	22	1	22	12	22	22	22	22	1	111	122	22	12	
PM-3	12	22	23	12	1	122	22	22	23	22	22	1	1	22	22	22	
PM-3	12	22	33	12	12	23	22	22	12	22	22	11	11	12	22	11	
PM-3	22	22	23	12	11	22	12	22	22	12	22	1	11	22	12	11	
PM-3	22	22	33	11	11	22	22	22	22	22	1	22	1	111	122	1	1
PM-3	12	22	22	23	22	22	22	22	22	22	22	12	22	22	22	12	
PM-3	22	22	22	1	12	1	122	22	22	22	22	12	1	100	00	00	
PM-3	22	22	22	11	11	22	11	22	22	11	22	11	22	11	11	22	
PM-3	12	22	23	12	1	122	22	12	22	1	22	1	112	1	11	122	
PM-3	12	22	22	12	1	122	12	22	23	22	22	12	22	12	1	122	
PM-3	12	22	33	11	22	1	122	22	13	22	22	12	22	22	1	122	
PM-3	22	12	00	11	22	22	22	22	22	22	22	1	122	22	1	11	1
PM-3	22	22	1	112	22	12	22	12	22	22	22	11	11	22	11	12	
PM-3	22	1	12	12	22	22	12	22	22	12	12	22	22	12	1	112	
PM-3	22	22	12	12	22	1	111	122	13	22	22	22	22	12	1	122	
PM-3	22	22	22	1	22	22	1	22	22	22	22	1	22	22	22	22	
PM-3	22	23	11	11	22	11	11	22	22	22	22	11	22	12	22	22	
PM-3	22	23	22	11	22	11	11	22	13	22	22	12	22	22	22	22	

Tabla 3.- Frecuencias de los 16 loci analizados en las tres poblaciones de Pinus muricata. N =tamaño de muestra, CC = Cerro Colorado, LP = Los Pinitos, LH = La Hedionda.

Población	Locus			
		CC	LP	LH
	ACP-1			
(N)		17	34	
1		.235	.118	
2		.765	.882	
	ACP-2			
(N)		17	34	
1		.265	.176	
2		.471	.779	
3		.265	.044	
	ACP-4			
(N)		17	32	
1		.029	.141	
2		.971	.578	
3		.000	.281	
	APX-1			
(N)		17	34	
1		.029	.662	
2		.647	.309	
3		.324	.029	
	APX-3			
(N)		17	34	
1		.000	.412	
2		.882	.588	
3		.118	.000	
	EST-1			
(N)		16	34	
1		.656	.765	
2		.344	.235	
	EST-2			
(N)		16	34	
1		.406	.206	

2	.438	.794
3	.156	.000

GDH-1

(N)	17	34
1	.059	.221
2	.941	.706
3	.000	.074

GOT-1

(N)	17	34
1	.353	.279
2	.647	.721

GOT-2

(N)	17	34
1	.088	.132
2	.912	.853
3	.000	.015

IDH-1

(N)	17	34
1	.000	.309
2	.882	.544
3	.118	.147

LAP-1

(N)	17	34
1	.647	.162
2	.353	.838

MDH-1

(N)	17	34
1	.088	.191
2	.912	.809

MDH-3

(N)	17	34
1	.735	.691
2	.265	.309

MNR-1

(N)	17	34
1	.235	.279
2	.765	.721

6P
(N) 16 17 32
1 1.000 .000 .391
2 .000 1.000 .609

6
(N) 16 17 33
1 1.000 .000 .409
2 .000 1.000 .591

RU
B-1 15 16 34
1 1.000 .594 .868
2 .000 .406 .132

SD
H-1 16 17 33
1 .844 1.000 .348
2 .156 .000 .652

Tabla 4.- Variación genética en las tres poblaciones analizadas de *Pinus muricata* en el Ejido Erendira, municipio de San Vicente. Los errores estándar aparecen entre paréntesis.

Población	Tamaño de muestra por locus	No. medio de alelos por locus	Porcentaje de loci polimorficos	Heterocigosis promedio		F*
				Observ.	Esp (HW)	
CERRO COLORADO	15.3 (.2)	2.1 (.1)	84.2 (.040)	.272 (.048)	.333	0.183
PINITOS	16.8 (.1)	2.0 (.1)	78.9 (.042)	.241 (.049)	.304	0.207
HEDIONDA	33.7 (.2)	2.3 (.1)	100. (.029)	.248 (.025)	.402	0.383

* F = índice de fijación.

Tabla 5.- Estadísticos F de Wright para las poblaciones de *Pinus muricata*. La desviación típica (DT) fue obtenida con un método de remuestreo (jackknife).

Locus	F(1S)	DT	F(II)	DT	F(ST)	DT
ACP-1	0.122	0.168	0.130	0.148	0.016	0.038
ACP-2	0.382	0.132	0.324	0.099	0.088	0.227
ACP-4	0.386	0.120	0.425	0.091	0.100	0.191
APX-1	-0.125	0.113	0.377	0.255	0.429	0.146
APX-3	0.864	0.486	1.020	0.515	0.324	0.128
GDH-1	0.414	0.169	0.411	0.044	0.050	0.163
GOT-1	0.253	0.186	0.240	0.117	0.005	0.094
GOT-2	0.375	0.282	0.805	0.458	0.528	0.337
IDH-1	0.314	0.171	0.326	0.072	0.066	0.180
LAP-1	0.283	0.141	0.595	0.322	0.381	0.275
MDH-1	0.833	0.518	0.847	0.538	0.005	0.018
MDH-3	0.586	0.109	0.585	0.101	0.001	0.058
MNR-1	0.438	0.509	0.415	0.514	-0.033	0.009
Todos	0.307	0.058	0.418	0.044	0.161	0.040

Tabla 6.- Matriz de similitud entre poblaciones de *Pinus muricata*. Los valores mostrados son la distancia genética de Nei (1978) sobre la diagonal y la identidad genética por debajo de la diagonal.

Población	1	2	3
1 CERRO COLORADO	****	.321	.161
2 LOS PINITOS	.726	****	.159
3 LA HEDIONDA	.851	.853	***

Pinus lagunae

Ubicación de las poblaciones de *P. lagunae*.

Pinus lagunae se encuentra restringida a el único bosque de pino-encino del estado de Baja California Sur, en la parte alta *de la Sierra de la Laguna* (Arriaga et al., 1994). El estatus taxonómico de esta especie de la subsección *Cembroides* (Malusa 1994), ha cambiado de *P. cembroides* (Martínez 1948) a una subespecie de *P. cembroides* (Bailey 1983) hasta llegar a la actual designación como *P. lagunae* (Passini 1987). Los criterios que se han usado para determinar el estatus taxonómico han sido estrictamente morfológicos y fitoquímicos (Bailey 1983; Passini y Pinel 1987). Sin embargo, no existe ningún estudio de sistemática formal que valide la situación actual *de P. lagunae*.

P. lagunae crece desde los 1200 a los 2000 msnm en la Sierra de la Laguna (Passini & Pinel, 1989). Este pino crece junto con varias especies del género *Quercus* en bosques que ocupan una área de aproximadamente 20, 000 ha, (Villa-Salas 1968), Varios atributos de esta comunidad *forestal han sido* documentados por el grupo de la Dra. Laura Arriaga del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (Arriaga 1988: Arriaga et al., 1994; Díaz 1995). La densidad de la especie en el área varía de 1180 a 2132 pinos por hectárea con un promedio de 1734, incluyendo todas las categorías de tamaño (Díaz 1995; Arriaga et al., 1994). Díaz (1995), estudio varios aspectos de la estructura poblacional y demografía de este pino en cuatro localidades situadas en el extremo de su distribución en la Sierra de la Laguna, y no detecto diferencias significativas en la estructura demográfica de las poblaciones. Los individuos mejor representados son juveniles con alturas menores a los 2 metros. La distribución de tamaños presenta disrupciones en las categorías intermedias, llegando a tener individuos con alturas de 22 metros y edades estimadas de 150 años (Díaz 1995).

Dados los antecedentes generados por el grupo de la Dra. Arriaga, se decidió no documentar la estructura poblacional de *P. lagunae*. Nuestra labor consistió en recorrer

el área de pino-encino de la Sierra de la laguna, visitar las poblaciones estudiadas por Díaz (1995), y tomar las coordenadas geográficas con un geoposicionador, tomar muestras para herbario, las cuales fueron depositadas en el Herbario del Instituto de Biología de la UNAM (MEXU), y coleccionar tejido foliar para el análisis de la variación y estructura genética de cada una de las poblaciones. La figura 1, muestra las coordenadas geográficas así como la altitud de los sitios estudiados por Díaz (1995).

Variación y estructura genética de *P. lagunae*.

Se emplearon 4 sistemas de buffer para ensayar un total de 14 loci enzimáticos. La Tabla 2 muestra los genotipos detectados para 15 loci en las cuatro poblaciones muestreadas. De igual forma, la Tabla 3 muestra las frecuencias alélicas de cada uno de los loci analizados en las cuatro poblaciones de *P. lagunae*. La Tabla 4 muestra *varias* medidas de variación genética para las poblaciones analizadas. En términos del número de alelos por locus, no parece haber diferencias notables entre poblaciones. En términos de polimorfismos, el porcentaje de loci polimórficos varió de 80 a 100% entre poblaciones. La heterocigosis observada varió de 0.14 a 0.22 entre poblaciones. Dado que la heterocigosis esperada bajo el equilibrio Hardy-Weinberg fue consistentemente más alta que la observada, los índices de fijación *fueron positivos* (Tabla 4). Este resultado indica un exceso de homocigos con respecto a lo esperado bajo HardyWeinberg.

La Tabla 5 muestra los estadísticos F de Wright para cada loci y los promedios. Los valores de los índices de F_{IS} son todos positivos y en la mayoría de los loci significativamente diferentes de cero. Este resultado indica un exceso de homocigos por endogamia a nivel de la población local. Los valores del índice F_{ST} tienden a *ser* menores, aunque en algunos casos significativamente diferentes de cero. El promedio de F_{ue} indicaría que el 18% de la variación total se encuentra entre poblaciones. La Tabla 6 muestra la matriz de distancias e identidades genéticas entre poblaciones. La

comparación de la Tabla 6 con la figura 1, revela que la distancia genética no está estrechamente correlacionada con la distancia física que se logra apreciar en la figura.

Discusión

Dado que el bosque de pino-encino donde encontramos a *P. lagunae* tiene una extensión de 20,000 Has. y su densidad promedio es de 1734 individuos por hectárea, podemos inferir que el número total de pinos en la Sierra de la Laguna es del orden de millones. Por otra parte, la falta de acceso vehicular al bosque de donde habita *P. lagunae* ha sido un factor que ha restringido en gran medida el impacto de la perturbación humana. El acceso actual a la Sierra de la Laguna es solo a través de veredas y esto frena en gran medida todo intento por tratar de explotar esta especie de pino. Además, los estudios realizados por Arriaga et al (1994) señalan que claramente que el recurso forestal de la zona no tiene una vocación maderera debido a que el área que cubre es muy pequeña y a que los árboles poseen un diámetro y volumen reducido que hacen poco rentable su explotación comercial (Arriaga et al., 1994). Por lo anterior, creemos que el estatus actual de *P. lagunae* no es de un peligro inminente de extinción. Más bien, se trata de una especie con distribución restringida y debido a la falta de acceso vehicular a la zona donde habita, la especie se ha conservado debido a que no existe impacto humano de consideración.

En cuanto a los datos de genética, la evidencia muestra que existen niveles de variación genética que aparentemente no representan un problema serio en términos de viabilidad de las poblaciones. los polimorfismos son realmente altos, aunque normales para coníferas. El análisis de la estructura genética revela que la diferenciación genética entre poblaciones es mayor que la reportada para coníferas a pesar de tener una distribución restringida. Los datos de estructura también revelan la existencia de endogamia a nivel de la población local. La deficiencia de heterocigos a nivel local es realmente considerable, aunque los datos no permiten hacer inferencias solidas sobre la base causal de este fenómeno.

UBICACION DE LOS SITIOS DE MUESTREO.

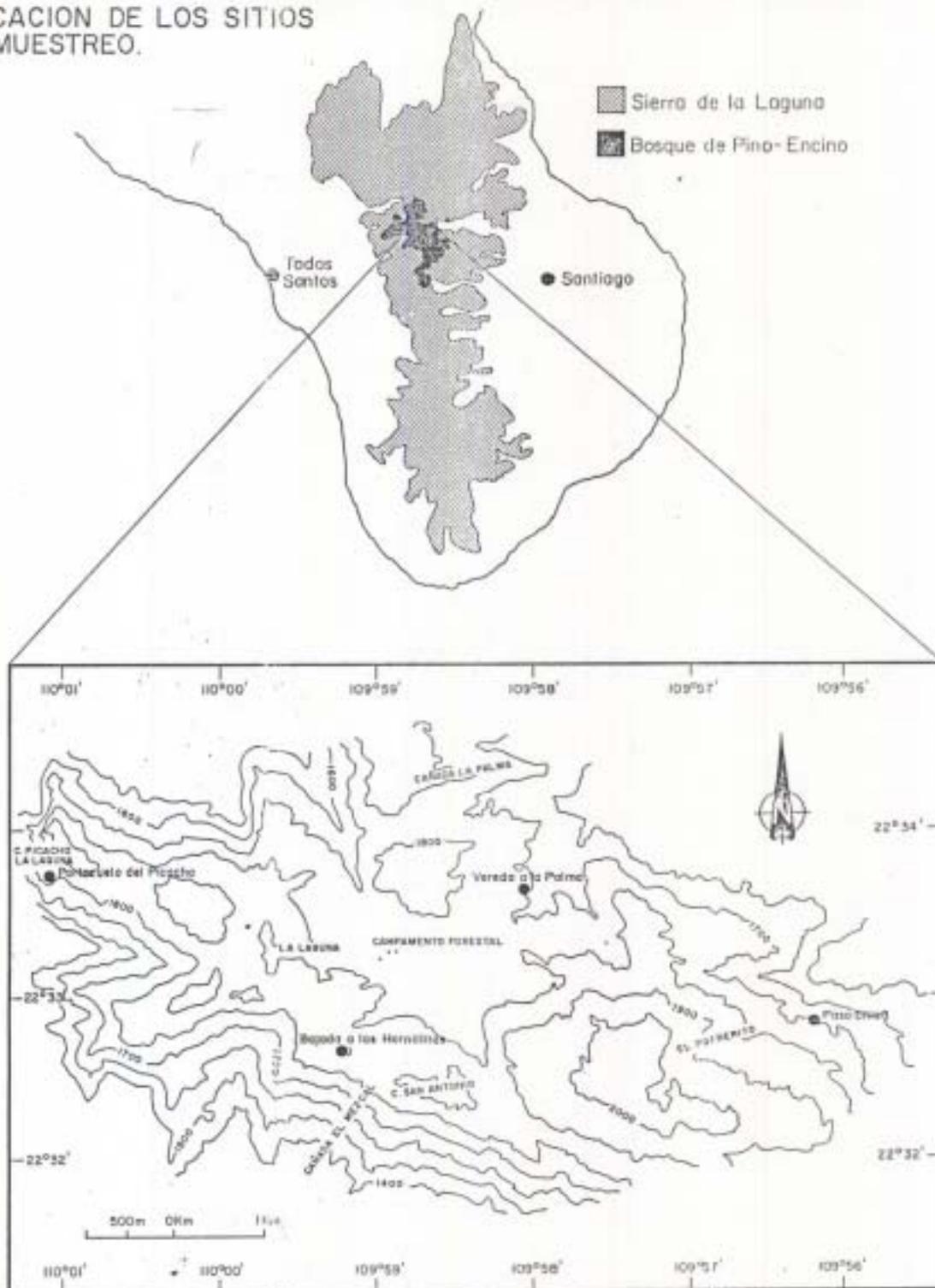


Tabla 1.- Ubicación de los sitios de estudio de *Pinus lagunae*.

Población	Latitud	Longitud		Altitud
Vereda a la Palma	23°33.21 ' N	109°	58.80' W	1720 msnm
Bajada a las Hornillitas	23°32.37' N	109°	58.93' W	1790 msnm
Paso Chico	23°32.94' N	109°	56.53' W	1675 msnm
Portezuelo del Picacho	23°33.72' N	110°	00.60" W	1800 msnm

Tabla 2.- Genotipos detectados en las cuatro poblaciones de *Pinus lagunae* para cada uno de los 15 loci analizados. Los loci son (en orden):
 APX-1 APX-2 APX-3 CPX-1 EST-1 EST-2 GDH-1 IDH-1 LAP-1 MDH-3 MNR-1
 MNR-2 6PG-1 RUB-1 SDH-1

POBLACIÓN	PASO CHICO																			
0001 PL1	1	1	22	22	22	22	00	22	22	23	00	1	1	33	00	1	1	12		
0002 PL1	11	22	22	22	22	00	22		11	22	00	11	22	00	1	1	33			
0003 PL1	13	22	23	22	22	00	1	1	1	1	22	00	1	1	22	00	1	1	22	
0004 PL1	22	22	22	22	12	00	1	1	1	1	22	00	12	33	00	1	1	1	1	
0005 PL1	1	1	12	23	22	22	00	1	1	1	1	22	00	1	1	11	00	1	1	12
0006 PL1	11	22	22	22	22	00	22	22	23	00		12	11	00	1	1	33			
0007 PL1	1	1	22	22	22	22	00	22	22	22	00		1	1	33	00	1	1	22	
0008 PL1	1	1	22	22	22	12	00	22	22	22	00		1	1	22	00	1	1	22	
0009 PL1	11	22	22	22	22	00	22	22	22	00		11	22	00	1	1	22			
0010 PL1	12	22	22	22	22	00	12	23	22	00		12	33	00	1	1	13			
0011 PL1	22	22	22	22	22	00	22	23	22	00		11	22	00	1	1	11			
0012 PL1	11	00	22	22	12	00	22	22	23	00		11	33	00	1	1	11			
0013 PL1	1	1	12	22	22	22	00	22	22	22	00	1	1	11	00	1	1	11		
0014 PL1	22	22	22	22	23	00	22	23	22	00	1	1	22	00	1	1	12			
0015 PL1	22	22	22	22	33	00	22	1	1	22	00	22	22	00	1	1	13			
0016 PL1	23	22	22	22	00	22	22	1	1	00	13	22	22	1	1	1	1	1	23	
0017 PL1	22	22	22	22	00	22	22	12	00	22	22	22	33	1	1	1	1	1	22	
0018 PL1	22	22	22	22	00	22	1	1	12	00	13	22	33	12	1	1	1	1	22	
0019 PL1	22	22	22	22	12	22	22	11	00	22	22	22	33	1	1	1	1	1	22	
0020 PL1	22	22	12	22	1	1	22	11	11	00	22	22	33	1	1	1	1	1	22	
0021 PL1	22	1	1	12	22	12	22	1	1	00	00	00	22	23	00	1	1	1	12	
0022 PL1	22	1	1	1	22	1	1	23	1	1	00	00	00	22	22	00	1	1	1	
0023 PL1	22	1	1	12	22	1	1	22	1	1	00	00	00	22	23	00	00	1	1	
0024 PL1	22	1	1	12	22	22	33	1	1	00	00	00	22	12	00	00	1	1	12	
0025 PL1	22	1	1	12	22	22	13	11	00	00	00	22	13	00	00	1	1	1	11	
0026 PL1	22	11	33	22	12	12	11	00	00	00	22	23	00	00	1	1	1	1	11	
0027 PL1	22	12	22	22	22	13	11	00	00	00	22	11	00	00	1	1	1	1	12	
0028 PL1	22	13	22	22	22	22	1	1	1	00	00	00	22	23	00	00	1	1	1	
0029 PL1	22	11	22	22	22	22	11	00	00	00	22	11	00	00	23					
0030 PL1	23	1	1	22	22	12	23	1	1	00	00	00	22	1	1	00	00	1	1	
0031 PL1	22	13	12	22	22	33	1	1	00	00	00	33	1	1	00	00	1	1	1	
0032 PL1	22	11	22	22	11	22	22	00	00	00	22	13	00	00	22					
0033 PL1	22	1	1	22	22	12	22	1	1	00	00	00	22	23	00	00	22			
0034 PL1	22	1	1	12	22	22	22	1	1	00	00	00	22	23	00	00	33			
0035 PL1	22	1	1	12	22	1	1	22	1	1	00	00	00	22	12	00	00	1	1	
0036 PL1	22	1	1	22	22	22	22	1	1	00	00	00	22	1	1	00	00	22		
0037 PL1	22	11	12	22	12	12	11	00	00	00	22	11	00	00	12					
0038 PL1	22	11	22	22	22	00	11	00	00	00	22	11	00	00	11					

POBLACIÓN

VEREDA A LA PALMA

0001	PL2	22	22	1	1	22	00	00	00	22	00	13	1	1	33	12	22	1	1	
0002	PL2	22	22	1	1	22	00	00	00	22	00	44	1	1	1	12	22	13		
0003	PL2	22	22	22	22	1	1	23	1	1	22	22	1	1	1	11	22	1	1	
0004	PL2	22	22	22	22	1	1	23	1	1	22	23	13	22	33	1	1	22	22	
0005	PL2	00	22	22	22	1	1	12	1	1	1	1	22	13	22	1	1	22	23	
0006	PL2	12	22	23	22	11	11	11	22	23	22		1	1	11	11	22	11		
0007	PL2	22	22	22	22	1	1	1	1	1	1	1	23	22	1	1	11	22	23	
0008	PL2	12	22	22	22	11	12	1	1	22	23	11	1	1	33	12	22	33		
0009	PL2	22	22	22	22	11	12	1	1	11	22	11	1	1	33	11	22	33		
0010	PL2	22	22	22	22	11	12	22	22	22	11		1	1	33	11	22	22		
0011	PL2	22	22	22	22	12	22	1	1	22	22	1	1	1	1	33	1	1	22	22
0012	PL2	22	22	22	22	00	00	00	22	00	1	1	1	1	22	1	1	22	22	
0013	PL2	22	22	22	22	00	00	00	22	00	1	1	1	1	22	1	1	22	23	
0014	PL2	22	22	22	22	00	00	00	1	1	00	22	1	1	1	1	1	22	33	
0015	PL2	22	22	22	22	00	00	00	22	00	22		1	1	22	1	1	22	22	
0016	PL2	22	22	22	22	00	00	00	22	00	13		1	1	33	1	1	22	22	
0017	PL2	22	22	22	22	12	22	22	1	1	22	13	1	1	1	1	22	22	23	
0018	PL2	12	22	22	22	11	22	11	22	22	11		1	1	13	12	22	22		
0019	PL2	12	22	22	22	00	00	00	22	00	22		1	1	22	1	1	22	22	
0020	PL2	22	22	22	22	00	00	00	22	00	1	1	1	1	13	1	1	22	22	
0021	PL2	22	22	22	22	00	00	00	22	00	33		1	1	22	1	1	22	23	
0022	PL2	11	11	22	22	22	23	22	1	1	22	00	1	1	22	00	00	1	1	
0023	PL2	22	22	22	22	22	23	22	1	1	22	00	1	1	33	00	00	12		
0024	PL2	23	22	13	22	22	23	1	1	00	22	00	1	1	22	00	00	00		
0025	PL2	22	22	22	22	00	23	1	1	12	00	00	1	1	22	00	00	22		
0026	PL2	22	22	22	22	22	23	1	1	1	1	22	00	1	1	22	00	22		
0027	PL2	22	22	22	22	22	23	1	1	12	22	00	1	1	33	00	00	12		
0028	PL2	23	22	13	22	22	22	1	1	1	1	22	00	1	1	11	00	00	12	
0029	PL2	22	22	22	22	23	23	1	1	22	1	1	00	1	1	33	00	00	12	
0030	PL2	23	22	22	22	22	22	1	1	1	1	22	00	1	1	12	1	00	00	12
0031	PL2	22	22	22	22	22	22	1	1	1	1	22	00	1	1	1	00	00	12	
0032	PL2	22	22	13	22	22	22	1	1	1	1	22	00	1	1	1	00	00	33	
0033	PL2	22	22	22	22	22	22	1	1	1	1	22	00	1	1	1	00	00	12	
0034	PL2	23	22	22	22	22	22	1	1	1	1	22	00	1	1	12	33	00	00	22
0035	PL2	22	22	13	22	33	22	1	1	1	1	22	00	1	1	11	00	00	22	
0036	PL2	23	22	22	22	33	22	1	1	1	1	22	00	1	1	22	00	00	22	
0037	PL2	23	22	22	22	33	22	1	1	1	1	33	00	1	1	22	00	00	22	
0038	PL2	22	22	22	22	00	00	00	23	00	22		1	1	1	12	22	33		
0039	PL2	12	22	22	22	00	00	00	22	00	1	1	1	1	33	12	22	23		
0040	PL2	12	22	22	22	00	00	00	22	00	1	1	1	1	1	1	22	22	23	
0041	PL2	22	22	22	22	00	00	00	22	00	1	1	1	1	1	1	1	22	22	
0042	PL2	22	22	22	22	12	22	22	22	22	22		1	1	13	12	22	33		
0043	PL2	22	22	22	22	00	00	00	22	00	1	1	1	1	33	1	1	22	22	
0044	PL2	22	22	22	22	00	00	00	22	00	1	1	1	1	22	1	1	22	22	
0045	PL2	22	22	22	22	00	00	00	23	00	1	1	1	1	22	1	1	22	23	

0046 PL2	22	22	22	22	22	23	1	1	22	22	1	1	1	1	1	1	1	22	22
0047 PL2	22	22	22	22	00	00	00	22	00	13	11	33	11	22	22				

POBLACIÓN BAJADA A LAS HORNILLITAS

0001	PL3	11	11	12	22	22	22	22	00	33	44	1	1	22	11	11	22		
0002	PL3	11	11	12	22	22	22	22	00	33	22	11	22	11	11	23			
0003	PL3	13	1	12	22	22	22	11	00	22	22	11	12	11	11	23			
0004	PL3	11	11	12	22	12	23	11	00	22	11	11	22	00	11	22			
0005	PL3	11	11	13	22	22	22	11	00	23	11	11	23	12	11	22			
0006	PL3	11	11	12	22	22	23	11	00	22	11	11	22	22	11	11	1		
0007	PL3	13	1	11	22	11	00	22	00	23	22	11	22	22	11	11			
0008	PL3	13	1	11	22	11	22	11	00	22	11	11	12	11	11	23			
0009	PL3	13	1	11	32	11	22	22	00	22	12	11	22	22	11	22			
0010	PL3	11	11	13	22	22	22	11	00	22	00	11	22	12	11	22			
0011	PL3	11	11	12	22	22	22	11	00	22	12	11	22	22	11	33			
0012	PL3	11	12	11	22	22	23	22	00	22	11	11	22	12	11	12			
0013	PL3	13	1	11	12	22	22	22	00	22	11	11	12	22	11	22			
0014	PL3	13	1	11	12	22	22	22	00	22	11	11	22	22	11	22			
0015	PL3	11	11	11	22	22	23	11	00	22	22	11	23	12	11	33			
0016	PL3	13	1	11	12	22	22	22	11	00	22	11	11	22	12	11	22		
0017	PL3	11	22	11	22	11	22	22	00	22	12	11	22	12	11	22			
0018	PL3	00	22	13	22	11	23	11	00	22	11	11	22	22	11	22			
0019	PL3	13	22	11	22	11	22	22	00	22	11	11	12	22	11	34			
0020	PL3	33	1	11	22	11	12	22	00	23	11	11	11	11	11	22			
0021	PL3	11	11	12	22	11	12	11	00	11	44	11	11	11	11	22			
0022	PL3	22	11	11	22	11	11	22	00	22	11	11	23	11	11	24			
0023	PL3	22	11	12	22	22	22	22	00	22	11	12	22	12	11	33			
0024	PL3	11	11	13	22	22	22	22	00	22	12	11	23	11	11	25			
0025	PL3	12	11	13	22	12	12	11	00	22	11	12	12	11	11	22			
0026	PL3	11	11	11	12	12	22	11	00	22	11	11	23	22	11	22			
0027	PL3	11	11	11	11	11	12	22	22	00	22	11	11	22	22	11	22		
0028	PL3	11	11	11	12	11	22	22	00	22	11	12	22	12	11	23			
0029	PL3	11	11	11	11	22	22	12	11	00	22	44	11	23	11	11	22		
0030	PL3	11	11	11	11	22	22	22	22	00	22	11	11	23	22	11	22		
0031	PL3	13	11	11	11	22	12	22	11	00	22	11	11	22	22	11	22		
0032	PL3	11	11	11	11	22	12	22	11	00	22	11	11	22	22	11	22		
0033	PL3	00	22	22	00	12	22	22	11	00	00	00	00	22	00	11			
0034	PL3	00	12	22	00	12	11	11	11	00	00	00	00	22	00	11			
0035	PL3	00	12	22	00	12	11	11	12	00	00	00	00	22	00	12			
0036	PL3	00	22	12	00	13	22	11	11	00	00	00	00	22	00	11			
0037	PL3	00	22	13	00	22	11	11	12	00	00	00	00	22	00	12			
0038	PL3	00	22	12	00	22	11	11	22	00	00	00	00	11	00	22			
0039	PL3	00	11	12	00	22	22	11	11	00	00	00	00	22	00	11			
0040	PL3	00	22	22	00	13	22	11	33	00	00	00	00	11	00	33			
0041	PL3	00222200				13	12	22	33	00	00	00	00	12	00	33			
0042	PL3	00	22	22	00	11	22	11	11	00	00	00	00	12	00	11			

0043 PL300	12 22 00 22 22	11 11 00 00 00 00	11 00 11
0044 PL3	00 12 23 00 22 22	1 1 1 1 00 00 00 00	12 00 11
0045 PL3	00 12 23 00 22 22	1 1 12 00 00 00 00	22 00 12
0046 PL3	00 11 22 00 22 22	1 1 12 00 00 00 00	1 1 00 12
0047 PL3	00 11 23 00 23 22	22 33 00 00 00 00	12 00 33
0048 PL3	00 11 23 00 23 1 1	1 1 1 1 00 00 00 00	1 1 00 11
0049 PL3	00 11 22 00 13 1 1	22 22 00 00 00 00	12 00 22
0050 PL3	00 23 00 22 12	1 1 1 1 00 00 00 00	12 00 11
0051 PL3	00 11 1 1 00 1 1 12	22 22 00 00 00 00	12 00 22
0052 PL3	00 11 1 1 00 1 1 22	22 33 00 00 00 00	1 1 00 33
0053 PL3	00 12 22 00 1 1 22	22 12 00 00 00 00	1 1 00 12
0054 PL3	00 11 22 00 1 1 22	22 12 00 00 00 00	1 1 00 12

POBLACIÓN

PORTEZUELO DEL PICACHO

0001 PL4	1 1 1 1 22 22 22	1 1 1 1 33 22 1 1 22 22	00 22 22
0002 PL4	1 1 1 1 12 22 12	1 1 1 1 33 22 1 1 22 22	00 22 12
0003 PL4	1 1 1 1 12 22 12	1 1 1 1 33 12 33 22 22	1 1 22 11
0004 PL4	11 12 22 22 13 12	11 22 11 12 22 22	22 22 11
0005 PL4	1 1 12 12 22 22 22	1 1 22 12 22 22 22	22 22 11
0006 PL4	11 11 12 22 12 11	11 22 1 1 33 22 11	33 22 33
0007 PL4	22 12 22 22 12 22	1 1 1 1 1 33 22 23	23 22 23
0008 PL4	22 22 12 22 12 12	22 22 1 1 12 22 11	33 22 33
0009 PL4	22 22 22 22 22 12	22 22 13 33 22 23	23 22 23
0010 PL4	22 22 22 22 12 1 1	22 1 1 13 12 12 33	22 22 33
0011 PL4	22 11 12 22 12 1 1	22 1 1 12 22 1 1 1 1	22 22 33
0012 PL4	22 11 11 22 23 12	1 1 22 1 1 33 22 23	33 22 22
0013 PL4	22 11 12 22 1 1 12	1 1 22 1 1 12 22 12	1 1 22 23
0014 PL4	22 11 22 22 22 22	1 1 22 13 1 1 22 22	33 22 22
0015 PL4	22 11 22 22 22 22	1 1 22 22 12 22 23	22 22 23
0016 PL4	22 11 22 22 22 12	22 22 22 12 22 22	23 22 23
0017 PL4	22 22 12 22 22 12	22 22 22 33 22 22	22 22 22
0018 PL4	22 1 1 12 22 12 22	22 33 22 13 22 22	23 22 22
0019 PL4	22 1 1 22 22 22 1 1	22 22 22 33 22 22	23 22 22
0020 PL4	22 11 12 22 13 11	22 22 23 12 22 23	13 22 22
0021 PL4	22 11 22 22 12 1 1	22 22 1 1 22 12	33 22 1 1
0022 PL4	22 22 12 22 22 1 1	1 1 22 23 12 22 12	22 22 22
0023 PL4	22 1 1 12 22 12 1 1	22 12 22 12 22 22	23 22 22
0024 PL4	22 1 1 22 22 13 12	1 1 12 23 12 22 23	23 22 22
0025 PL4	22 22 22 22 22 1 1	22 22 1 1 22 22	33 22 22
0026 PL4	22 22 12 22 12 22	1 1 22 22 1 1 22 22	22 22 22
0027 PL4	22 22 12 22 22 1 1	22 1 1 12 1 1 22 23	23 22 23
0028 PL4	22 22 22 22 13 12	1 1 12 12 1 1 22 23	23 22 22
0029 PL4	22 22 22 22 22 1 1	1 1 1 1 22 1 1 1 1 22 12	23 22 23
0030 PL4	12 22 12 22 13 12	11 22 11 11 22 22	22 22 23
0031 PL4	11 22 22 22 12 22	1 1 11 12 11 22 12	22 22 33
0032 PL4	1 1 1 1 12 22 22 22	1 1 22 1 1 13 22 22	22 22 33

Tabla 3.- Frecuencias de alelicas de los 15 loci analizados en las cuatro poblaciones de Paso Chico, Vereda a la Palma, Hornillitas, PP = Portezuela del Picacho.

Locus	Población			
	PC	VP	BH	PP
APX-1				
(N)	38	46	31	32
1	.263	.087	.742	.266
2	.697	.848	.081	.734
3	.039	.065	.177	.000
APX-2				
(N)	37	47	54	32
1	.473	.021	.731	.578
2	.500	.979	.269	.422
3	.027	.000	.000	.000
APX-3				
(N)	38	47	54	32
1	.145	.085	.509	.281
2	.803	.862	.380	.719
3	.053	.053	.111	.000
CPX-1				
(N)	38	47	32	32
1	.000	.000	.016	.000
2	1.000	1.000	.984	1.000
EST-1				
(N)	35	28	54	32
1	.271	.375	.407	.297
2	.686	.500	.537	.609
3	.043	.125	.056	.094
EST-2				
(N)	22	29	53	32
1	.091	.138	.208	.594
2	.727	.690	.745	.406
3	.182	.172	.047	.000

	GDH-1				
	(N)	38	29	54	32
1		.592	.828	.556	.594
2		.408	.172	.444	.406
	IDH-1				
	(N)	20	46	22	32
1		.450	.391	.545	.203
2		.475	.587	.273	.672
3		.075	.022	.182	.125
	LAP-1				
	(N)	15	28	32	32
1		.000	.036	.031	.438
2		.900	.857	.859	.469
3		.100	.107	.109	.094
	MDH-3				
	(N)	5	31	31	32
1		.200	.581	.710	.531
2		.600	.258	.194	.219
3		.200	.129	.000	.250
4		.000	.032	.097	.000
	MNR-1				
	(N)	38	47	32	32
1		.329	.936	.953	.047
2		.645	.064	.047	.953
3		.026	.000	.000	.000
	MNR-2				
	(N)	38	47	32	32
1		.316	.394	.141	.172
2		.342	.277	.750	.672
3		.342	.330	.109	.156
	6PG-1				
	(N)	5	31	53	30
1		.900	.790	.481	.083
2		.100	.210	.519	.533
3		.000	.000	.000	.383
	RUB-1				
	(N)	22	31	32	32
1		1.000	.000	1.000	.000
2		.000	1.000	.000	1.000

	SDH-1 (N)	38	46	54	32
1		.461	.174	.269	.141
2		.408	.598	.528	.547
3		.132	.228	.176	.313
4		.000	.000	.019	.000
5		.000	.000	.009	.000

Tabla 4.- Variación genética en las cuatro poblaciones analizadas de *Pinus lagunae* en la Sierra de la Laguna. Los errores estándar aparecen entre paréntesis.

Población por locus	Tamaño de muestra	No. medio de alelos por locus	Porcentaje de loci polimorficos	Heterocigosis promedio		
				Observ.	Esp.(HW)	
1. PASO CHICO	28.5 (3.2)	2.5 (.2)	80.0 (.032)	.186 (.056)	.404	0.539
2. VEREDA	38.7 (2.3)	2.5 (.2)	80.0 (.038)	.144 (.059)	.332	0.566
3. HORNIL	41.3 (3.2)	2.7 (.2)	100.0 (.037)	.198 (.053)	.389	0.491
4. PICACH	31.9 (.1)	2.3 (.2)	87.5 (.051)	.227 (.055)	.419	0.458

F = índice de fijación

Tabla 5.- Matriz de similitud entre poblaciones de Pinus lagunae. Los valores mostrados son la distancia genética de Nei (1978) sobre la diagonal y la identidad genética por debajo de la diagonal.

Población	1	2	3	4
1 PASO CHICO	* * * *	.208	.171	.288
2 VEREDA	.812	* * * *	.317	.235
3 HORNILLITAS	.843	.728	* * * *	.385
4 PICACHO	.750	.790	.680	* *

Tabla 5.- Estadísticos F de Wright para las poblaciones de *Pinus lagunae*. La desviación típica fue obtenida con un método de remuestreo (jackknife). DT= desviación típica.

Locus	F(IS)	DT	F(IT)	DT	F(ST)	DT
APX-1	0.52	0.20	0.67	0.09	0.40	0.28
APX-2	0.74	0.04	0.85	0.08	0.44	0.30
APX-3	0.17	0.10	0.38	0.17	0.25	0.14
CPX-1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
EST-1	0.43	0.14	0.43	0.14	0.00	0.00
EST-2	0.30	0.09	0.41	0.13	0.15	0.13
GDH-1	0.98	0.01	0.98	0.01	0.02	0.05
IDH-1	0.73	0.07	0.74	0.06	0.05	0.05
LAP-1	0.43	0.06	0.59	0.09	0.29	0.19
MDH-3	0.56	0.10	0.57	0.10	0.02	0.05
MNR-1	0.79	0.19	0.90	0.04	0.67	0.20
MNR-2	0.60	0.19	0.64	0.17	0.10	0.04
SDH-1	0.51	0.04	0.52	0.04	0.02	0.03
Todos	0.54	0.06	0.63	0.05	0.18	0.05

Tabla 6.- Matriz de similitud entre poblaciones de *Pinus lagunae*. Los valores mostrados son la distancia genética de Nei (1978) sobre la diagonal y la identidad genética por debajo de la diagonal..

Población	1	2	3	4
1 PASO CHICO	****	.208	.171	.288
2 VEREDA	.312	****	.317	.236
3 HORNILLITAS	.843	.728	****	.385
4 PICACHO	.750	.790	.680	****

Pinus pinceana.

Ubicación geográfica de las poblaciones de *P.pinceana.*

En la Tabla 1 se presentan datos de ubicación de las diferentes poblaciones de *P.pinceana*. La distribución de la especie comprende un *área entre* las coordenadas geográficas de 99° 38' y 100°35' de longitud Oeste y 20°55' y 23°52' de latitud Norte. En total se encontraron 6 poblaciones aunque la población El Puerto se considera como parte de la población San Joaquín. Las poblaciones están separadas por distancias mayores de 40 km. En algunas de las poblaciones la topografía es accidentada, con pendiente entre 80 hasta 90% y en su mayoría se presentan con una exposición sureste. La especie solo se *asocia a P. cembroides* en la población Cuauhtémoc 1. Las demás *especies* son representantes típicas de clima seco, como son *Opuntia sp. Euphorbia sp* y *Agave sp.*

Densidad y tamaño de las poblaciones de *P. pinceana*

La densidad de las poblaciones osciló de 1000 hasta alrededor de 6500 individuos por sitio (Tabla 1). Perry (1991), reporta que la especie está representada por *menos de 3000* individuos, sin embargo, nosotros consideramos que la densidad es superior a los 7000 individuos ya que en varias de las *poblaciones se* observaron más de tres laderas cubiertas por esta especie.

Estructura de edades y tasas de reclutamiento.

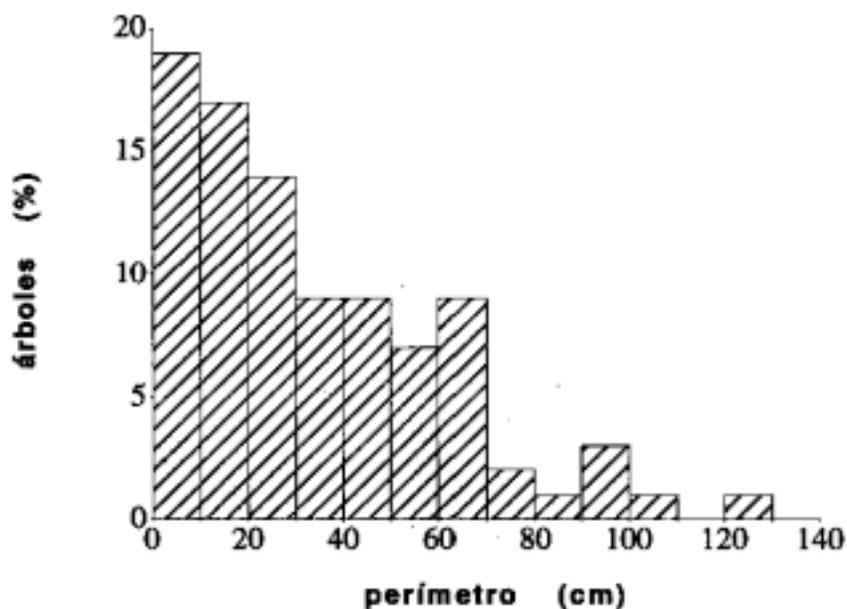
Los individuos medidos tuvieron entre 1 y 200 años de edad. Aproximadamente el 40% de los árboles son mayores de 50 años. En las poblaciones de Cuauhtémoc se encuentra el mayor número de representantes de todas las categorías de edad. El análisis de la estructura de edades, usando los valores del perímetro como *categorías o clases* (con intervalos de 25 años) reflejó una distribución regular para la especie, es decir, que están representadas todas las categorías de edad, con mayor proporción de plántulas y

Tabla 1. Datos generales de la ubicación las poblaciones de *P. pinceana*

Población (N)	Estado	Exposición	Ubicación geográfica		Altitud (msnm)	Individuos (N)	Densidad por ha. aprox.
			Long.	Norte Lat.Oeste			
1 S. Joaquín	Querétaro	NW	2055'00"	9938'00"	1900	1000	400
2 Huizache	Zacatecas	NE	2242'33"	10029'20"	1480	1500	600
3 Cuahutemoc1	Coahuila	SE	2355'22"	10034'20"	2250	3000	1000
4 Cuahuternoc2	Coahuila	SE	2352'23"	10035'20"	2250	2000	1000
5 Guadalcazar	San Luis Potosí	SE	2240'00"	100 30'00"	2275	3000	1200

Total de individuos 700-11000 aprox.

juveniles que de adultos (Figura 1). El mayor número de individuos se encuentran entre las clases 1-25 años (59%) seguido de las clases entre 26 a 50 años (30%) y de 100 a 150 años (12%). Esto



nos indica que existen una estructura de edades semejante entre las poblaciones y la especie.

Figura 1. Estructura de edades estimadas con el perímetro en 110 árboles de *P. pinceana*

En total se cuantificaron 210 conos en 108 árboles. Por tanto, el reclutamiento es superior a un individuo por árbol. La pérdida de plántulas en este caso, no se debe a la baja reproducción, se puede deber a otros factores como depredación o incidencia de fuego.

Con los resultados obtenidos podemos hacer algunas inferencias a cerca de su condición poblacional. *P. pinceana* es una especie que está representada por un mayor

número de individuos que los reportados por Perry (1991), tiene suficiente reclutamiento y reproducción por lo que *demográficamente* no puede ser catalogada en peligro de extinción. Con base en las observaciones del lugar, se piensa que el tamaño pequeño de las poblaciones se debe ha algún evento geológico que al igual que *P. rzedowskii* originó su fragmentación y aislamiento. La perturbación antropogénica con fines agrícolas o la depredación de semillas y plántulas son factor que no fueron evidentes. Sin embargo, *como es una zona muy seca* las probabilidades de incendios tanto inducidos como naturales son altas. En conclusión, consideramos que demográficamente *P. pinceana* puede ser considerada como una especie rara pero que sus poblaciones pueden mantenerse e incrementar de manera natural.

Variación genética de las poblaciones de *P. pinceana*.

La resolución enzimática se *obtuvo en cuatro sistemas* de corrida para las diferentes enzimas. En el sistema Morfolina (Wendel y Weeden, 1989) se detectaron la fosfatasa ácida (ACP) y la 6 fosfogluconato deshidrogenasa (6PGD). En el sistema de Mitton et al. (1977) se resolvió la peroxidasa anódica (APX), la peroxidasa catódica (CPX) la glutamato oxalato transaminasa (GOT) y la menadione reductasa (MNR). En *el sistema* de Conkle (1984) se resolvió la leucina aminopeptidasa (LAP), la Esterasa (EST) y la nicotinamida adenina dinucleótido (NADHHDH), las cuatro enzimas restantes en el sistema #2 de Miles *et al.* (1972). Estas son la shkimato deshidrogenasa (SDH), la glutamato deshidrogenasa (GDH), la isocitrato deshidrogenasa (IDH) y la malato deshidrogenasa (MDH).

Se analizaron 13 loci polimórficos siguiendo el criterio del alelo más común (cuando las frecuencia de los alelos más comunes son menores a 0.95) (Tabla 2). Se cuantificaron 35 alelos en total y el promedio de alelas por locus fue igual a 2.32. La proporción de loci polimorficos es de 100% y solo en dos poblaciones se presentan valores de 92.3, con un promedio de 96.92%. La heterocigosidad observada dentro de las

poblaciones varió de 0.169 a 0.323 con un valor promedio igual a 0.217, y la heterocigosidad esperada varió entre 0.301 y 0.412 con promedio de 0.374. Estos resultados indican que la especie contiene gran variación genética superior a la reportada para otras especies de pino con distribución amplia. Por tanto, el tamaño reducido de las poblaciones no actúa como un buen predictor de la variación genética en esta especie.

Tabla 2. ESTIMADORES DE LA VARIACIÓN GENÉTICA EN CINCO POBLACIONES DE *P. pinceana*.

Población (No)	Ind	Alelos por (No) locos	% de alelos polimórficos	Heterocigosis observada	promedio esperada
1 San Joaquín	15	2.38 (0.14)	100	0.328 (0.058)	0.412 (0.035)
2 Huizache	32	2.23 (0.12)	100	0.196 (0.045)	0.397 (0.031)
3 Cuauhtemoc 1	17	2.38 (0.14)	100	0.198 (0.43)	0.387 (0.047)
4 Cuauhtemoc 2	15	2.23	92.3	0.169 (0.27)	0.301 (0.035)
5 Guadalcazar	36	2.38	92.3	0.193 (0.045)	0.373 (0.037)
Promedio	23	2.32	46.8	0.217 (0.163)	0.374 (0.037)

Entre paréntesis el error estándar

Estructura genética de las poblaciones de *P. pinceana*.

Los estadísticos F de Wright para los loci polimórficos de *P. pinceana* se presentan en la Tabla 3. Los valores de los tres estadísticos son positivos y estadísticamente significativos al 99% de confiabilidad en todos los loci. Este resultado indica que *P. pinceana* contiene en general, menos heterócigos de los esperados bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg, que existen diferencias genéticas tanto a nivel intrapoblacional como entre poblaciones y que *P. pinceana* tiene una estructuración genética entre sus poblaciones muy marcada con un 25% de la variación genética explicada por diferencias entre poblaciones.

Tabla 3. Estimación de F_s , F_{st} , F_{IT} para 13 loci polimórficos de *P. pinceana*

Locos	F_s	F_{st}	F_{IT}
ACP-1	0.3475	0.0147	0.357
APX-1	0.5206	0.1485	0.5918
APX-2	0.4720	0.2685	0.6137
CPX-2	0.3540	0.4857	0.6678
EST-2	0.1128	0.3424	0.4166
GDH	0.6053	0.3539	0.7450
GDT-1	0.1687	0.0415	0.2032
LAP	0.4220	0.3911	0.6481
MNR	0.9431	0.1137	0.9496
NADH	0.1687	0.1415	0.2032
IDH	0.6622	0.4537	0.8155
6PGD	-0.0124	0.0397	0.0278
SDH	0.6068	0.0210	0.7031
Media	0.5920	0.2470	0.4583
Límites de confianza	(0.3070-0.6034)	(0.1574-0.3313)	(0.4540-0.7022)
(Weir y Cockerhan 1993)			

χ^2 Hipótesis nula $F=0$ ($P<0.001$)

En cuanto a la identidad genética entre pares de poblaciones, se encontró valores que van desde 0.907 unidades entre las poblaciones San Joaquín y Huizache hasta un valor de 0.671 entre las poblaciones Guadalcazar y Cuauhtémoc 2. Resultados semejantes se obtuvieron con las distancias genéticas. Las poblaciones más diferentes genéticamente son Guadalcazar y Cuauhtémoc 2, con un valor de 0.398 y las poblaciones más parecidas genéticamente son San Joaquín y Huizache con un valor de 0.098. Estos resultados indican nuevamente, que existen diferenciación genética entre las poblaciones y que probablemente se deba al aislamiento geográfico entre las mismas (Figura 2).

Figura 2. Matriz de distancia genética (arriba de la diagonal) e identidad genética (abajo de la diagonal) de Nei (1978), encontradas en 5 poblaciones de *P. pinceana*.

Población	1	2	3	4	5
San Joaquín	-	0.098	0.218	0.140	0.208
Huizache	0.907		0.145	0.195	0.281
Cuauhtemoc1	0.804	0.865 _u		0.095	0.342
Cuauhtémoc2	0.869	0.823	0.909	_	0.398
Guadalcazar	0.812	0.755	0.710	0.671	

En general, podemos mencionar que *P. pinceana* presenta importantes niveles de variación genética pero ésta al igual que *P. rzedowskii* se distribuye de diferente manera entre las poblaciones. En este sentido *P. pinceana* demográfica y genéticamente no se encuentra en peligro de extinción, sin embargo sus poblaciones son pequeñas y fragmentadas, factores que podrían promover la pérdida de variación genética y consecuentemente ocasionar alteraciones en la demografía de ésta especie. Al existir pérdida

dé variación genética por él efecto de la deriva génica (que es una fuerza evolutiva que actúa de manera azarosa cuando las poblaciones son pequeñas y promueve la fijación y pérdida de alelos diferentes entre las poblaciones) las posibilidades de autofecundación o de fecundación entre individuos emparentados aumentan originando por un lado, individuos con cargas genética iguales con mayores probabilidades de fijar genes deletéreos en su genoma y por tanto individuos menos resistentes, y por otro lado disminuir él tamaño poblacional. Esto es, como sé originan individuos menos resistentes, en determinadas generaciones puede ocasionar qué menos individuos se establezcan en los sitios y a través del tiempo las poblaciones tiendan a disminuir hasta desaparecer localmente.

El posible escenario evolutivo qué podemos deducir de los resultados es que probablemente estamos analizando pequeños parches de una sola población continúa qué al quedar aisladas por algún evento geológico se fragmentó donde algunas poblaciones han mantenido en común algunas variantes alélicas y otras variantes se han perdido, posiblemente por efecto de la deriva génica. La fragmentación y consecuente aislamiento dé las poblaciones, el tamaño pequeño de las mismas, así como la acción dé la deriva genética pueden explicar gran parte de los procesos históricos y evolutivos qué han generado gran parte dé la variación genética encontrada en las poblaciones de *P. pinceana*.

Pinus rzedowskii.

Ubicación geográfica de las poblaciones de *P. rzedowskii.*

En la Tabla 1 se presentan datos de ubicación y características de las diferentes poblaciones de *P. rzedowskii*. La distribución de la especie comprende un área entre las coordenadas geográficas de 102° 55" y 103°00" de longitud Oeste y 18°54" y 18°39" de latitud Norte. En total se encontraron 12 poblaciones y la mayor distancia se encontró a 22.6 km de distancia lineal entre La Alberca (5) y Chiqueritos (6) (figura 2). Las poblaciones están separadas por laderas muy pronunciadas, siguiendo una topografía muy accidentada con pendientes de hasta 90%. Es común observar la porción noreste de estas formas fisiográficas cubiertas por otras especies de pino o latifoliadas; entre las especies de pino se encuentran *P. leiophylla*, *P. pseudostrobus*, pero en la parte donde habita *P. rzedowskii* solo se asocia con algunas especies de Cactáceas y Agaváceas. En las partes marginales de las poblaciones de *P. rzedowskii*, como en la población del Predio Varaloso, forma ecotono con *P. douglasiana* y *P. pseudostrobus*, en la población El Fresno con *P. leiophylla* y *P. michoacana*.

Densidad y tamaño de las poblaciones de *P. rzedawskii*

La densidad de las poblaciones osciló de 1 hasta al rededor de 3500 individuos por sitio (Tabla 1) Se calcula que la especie está representada por un total de 6000 a 6500 individuos maduros. En los párrafos siguientes presento la caracterización general de cada una de las poblaciones visitadas.

Descripción de las poblaciones de *P. rzedowskii.*

Sitio 1. Vaca Pinta (VP): esta población está representada por 200 árboles aislados de otro tipo de vegetación arbórea. Se encuentra en un peñasco y a una altitud de 200[3 msnm, que cubre un área de 400m² aprox., con una pendiente de **85-90°**. Los

Sitio 3. La Soledad o Cerro Octoso (SOL): en esta población sólo existen nueve árboles maduros pero se observó producción de conos del año pasado (15 a 20 conos/m² del año de 1992). Además, se observaron cuatro plántulas (individuos menores de un año) provenientes probablemente de semillas del año pasado. Esta población se encuentra entre rocas calizas muy grandes las cuales forman un acantilado. En la base de los troncos hay la evidencia de incendios probablemente provocados para el uso agrícola de los terrenos adyacentes.

Sitio 4. El Fresno (FRE): esta población tiene una distribución agregada, pero es la que presenta una mayor extensión (90 has aproximadamente). Se observan manchones de árboles y después de un tramo, individuos aislados. Se pueden encontrar árboles con una escala amplia de variación en cuanto a forma, tamaño y edad, desde 40 hasta 300 o 400 años, con diámetros hasta de 2.5 m y alturas de 50-55 m. Además esta es la población con el mayor número de plántulas. La dificultad para coleccionar muestras de estos individuos radica precisamente en que son de gran altura y cobertura reducidas, localizados en las faldas de barrancas húmedas y cubiertas de vegetación, a diferencia de las poblaciones descritas con anterioridad las cuales se encuentran en las partes altas de las lomas donde la radiación solar es directa. Esta es una de las dos poblaciones (la otra población es AG (9)) en las que *P. rzedowskii* se encontró en ecotono con *P. oocarpa*, *P. pseudostrobus*, *P. douglasiana* y *P. leiophylla*.

Sitio 5. La Alberca (ALB): es conformada por 1700-2000 árboles, con una densidad aprox de 40 árboles por hectárea y edades entre 65-90 años. Se observa alta variación en su forma y tamaño. La población se encuentra ubicada muy cerca de la población PIN (2 km), pero ambas poblaciones están separadas por *P. pseudostrobus* y *P. douglasiana*, y por la barranca del Choncho.

Sitio 6. Chiqueritos (CHIQ): la población se localiza en el predio de Chiqueritos, está representada por 60 o 65 individuos/ha, donde la mayoría son *juveniles* entre 18-25 años, con solo *cuatro adultos mayores* de 60 años estos presentan conos, pero muy escasos, entre 15 a 25 conos por árbol, los cuales se han observado durante 1993 y 1995. Nuevamente esta población se encuentra aislada de otras en este caso de DUR (1 1) y SOL (3), por *P. pseudostrobus* y por *barreras topográficas*.

Sitio 7. El Varaloso (VAR): representada por 40-50 árboles en dos grupos de edad promedio uno de 15-26 años y otro de 100-150 años. En esta población se observa producción de conos pero también del año de 1992 (15 conos/m²). Esta población al igual que PRED (2) también es húmedo y con suelo más desarrollado.

Sitio 8. Puerto del Pinabete (PI): esta población se encuentra en la parte SW de la población la Alberca, separadas sólo por una barranca profunda que no presenta individuos de *P. rzedowskii*, pero si de *P. douglasiana* y *P. pseudostrobus*. En la parte baja de la población se observó un manchón de árboles juveniles menores de 15 años. (aproximadamente, 20-30 árboles). Esta es una de las poblaciones descritas por Madrigal y Caballero (1969).

Sitio 9. La Aguacatera (AG): esta población es la que se encuentra a menor altitud (1714 msnm). Está representada por más de 500 individuos con edades mayores a los 100 años. No se observaron conos abiertos de años pasados o en desarrollo. También, es un sitio muy rocoso aunque sus pendientes no son muy pronunciadas (aproximadamente de 10°). Algo particular que se observó en esta población fue la presencia de mayor densidad de especies de encino y menor densidad de especies de pino, entre las cuales se encuentran *P. oocarpa*, *P. herrerae* y *P. leiophylla*.

Sitio 10. El Tejamanil (TEJ): aquí sólo existe un individuo de 65 años de edad, pero presenta conos en desarrollo, (5 en 1993) y la base de su tronco se encuentra quemada. El pino está aislado en el filo de una barranca rocosa y asociado a gran cantidad de magueyes. Es un *sitio muy seco*. Se hace mención de este sitio, aunque sea un solo individuos por que puede ser útil como dato del área de distribución de la *especie* y como antecedente para inspecciones posteriores.

Sitio 11. El Durazno (DUR): se muestrearon 12 árboles *de 15 que* conforman esta población; es un área muy rocosa y los árboles se establecen en los espacios libres entre las rocas. Esta población también se encuentra muy cerca del poblado de Dos Aguas y nuevamente se observa la base de los árboles quemada.

Sitio 12. Forma parte del Predio de las Tabernas (TAB): es encontraron 4 árboles dentro de una barranca con pendiente de 80' a 90'. No se obtuvieron los anillos de crecimiento para estos árboles ya que era demasiado peligroso llegar a las bases de los troncos para medirlos. Pero con el canteo de los entrenudos de las ramas se estimó su edad entre 60-70 años aproximadamente. Los árboles se encuentran en una barranca que divide el camino hacia TAB (12) lugar que nos informaron es posible que se encuentre otra población de la especie en un sitio denominado Las Palmas (lugar que no se logró visitar).

Estructura de edades y tasas de reclutamiento.

Los individuos medidos tuvieron entre 1 y 400 años de edad. Aproximadamente el 55% de los árboles son mayores de 50. En las poblaciones SOL (3) y DUR (11) se presentaron los árboles más viejos con edad de 183 y 149 años, respectivamente. Por el contrario en las poblaciones SOL (3) y DUR (11) el número de individuos que se *muestreo fue de 7 y 9* individuos respectivamente, por lo que los datos se vieron

Tabla 2. Valores promedio del perímetro, edad y altura entre las poblaciones deP. rzedowskii, con un tamaño de muestra de 314 individuos en Michoacán, México.

No Población	Perímetro (cm)	Edad (años)	Altura (m)
1 Vaca Pinta	114.32 (41.109)	52.90	18.92
2 Pred. Varaloso	138.35 (87.833)	60.32 (56.118)	14.76 (9.783)
3 La Soledad	247.71 (53.263)	183.32 (57.847)	19.22 (57.694)
4 El Fresno	147.440 102.389)	75.437 (41.7735)	27.156 (13.50)
5 La Alberca	114.068 (65.679)	76.343 (49.797)	17.88 (21.489)
6 Chiqueritos	48.28 (40.766)	31.190 (24.453)	8.619 (16.247)
7 El Valaroso	77.00 (74.410)	44.45 (25.653)	18.87 (19.740)
8 El Pinabete	138.84 (74.410)	60.53	18.52
9 La Aguacatera	126.75 (95.109)	123.47 (48.189)	34.58 (12.135)
10 El Tejamanil	120.00	60.23	13.00
11 El Durazno	236.56 (39.525)	148.92 (5.052)	10.25 (8.120)
Media	137.207	83.374	18.343
Varianza	3518.121	2276.149	54.4373
Desv. Estándar	59.313	47.090	7.37816

sesgados. Por otro lado, en la población CHIQ (6) se encontraron los individuos de menor edad con promedio de 40 años, esto si tomamos en cuenta a los 4 árboles maduros mayores de 50 años; si se excluyen del conteo el promedio de edad disminuye a 25 años por lo que es la población representada por árboles más jóvenes.

El análisis de la estructura de edades, usando los valores del perímetro como categorías o clases (con intervalos de 25 años) reflejó una distribución regular para la especie. Es decir que la especie esta representada por todas las categorías o clases de edad (figura 3). Pero para algunas poblaciones en particular la distribución de edades fue muy irregular. Para la especie, el mayor número de individuos se encuentran entre las clases 1-25 años seguido de las clases entre 26 a 50 años, y de 100 a 150 años. Solo se nota disminución de individuos de las edades entre 51 a 100 años y en las edades mayores de 200 años. Si analizamos de manera particular la estructura de edades en las diferentes poblaciones vemos que en los casos más extremos se encuentran las poblaciones AG (9) y FRE (6), representadas mayormente por individuos mayores de 80 años, y en el caso de la segunda población se encontraron tanto plántulas (individuos menores de un año) como individuos mayores de 400 años. En contraste, la población CHIQ (6) está representada esencialmente por árboles juveniles, menores de 10 años y entre 20-25 años. Esto nos indica que existen diferente estructura de edades entre las poblaciones estudiadas y que la estructura de edades obtenida para la especie en general podría estar presentando una distribución regular debido al efecto que algunas poblaciones con mayor número de individuos en determinada categoría de edad ejercen sobre la estructura de la especie.

En total se cuantificaron 133 plántulas dentro de los transectos estudiados, lo que indica que existe un reclutamiento pobre y menor a 1. por individuo adulto (314 individuos). La distribución de las plántulas es heterogénea, 88 plántulas fueron reclutadas en la población FRE (4), con un promedio de 5 plántulas por árbol. Esta población FRE (4) es la que contiene el mayor número de individuos, y *aproximadamente, el 66%* de las plántulas reclutadas se encontraron en esta población

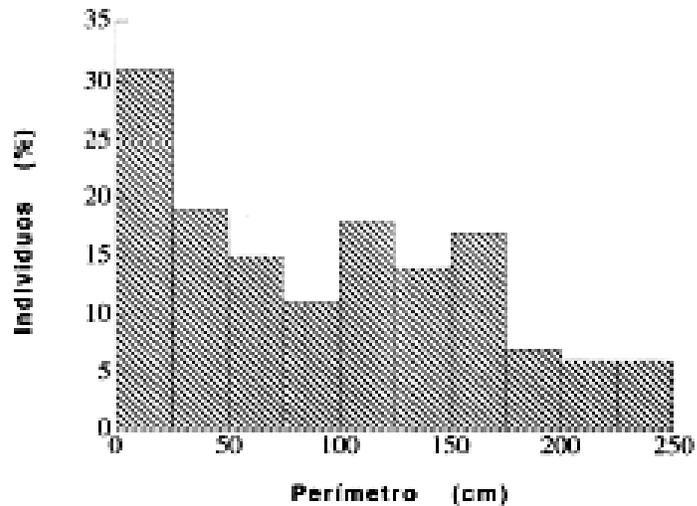


Figura 3. Estructura de edades estimadas con el perímetro en 314 árboles de *P. rzedowskii* en Michoacán, México.

Basándonos en las observaciones del lugar, se piensa que existen dos factores que están influyendo en la estructura de la especie: 1) que existen pocos árboles reproductores, o que por lo menos de cada ciclo reproductivo pocos árboles producen conos. Es decir, que se dan años donde determinados árboles son productores y años en que no lo son, existiendo un desajuste en el ciclo reproductivo de la especie. Es probable que 1991 fue un año semillero, evidenciado por la presencia de conos abiertos en varias de las poblaciones. Si este fuera el caso, se podría calcular el tiempo que *P. rzedowskii* requiere para tener un ciclo reproductivo regular que sería de 6 años como mínimo. Esto puede estar influenciando la estructuración de edades tan abierta y 2) que en general, todas las poblaciones presentan evidencias de incendios, ya que la base de los troncos de un 40% de los

árboles están quemadas. Perry (1991) menciona que es probable que durante la estación de sequía muchas poblaciones juveniles puedan ser destruidas por los incendios, ya que es muy difícil encontrar individuos juveniles y los pocos que se encuentran tienen menos de 12 cm de diámetro en su fuste. Se puede concluir que factores como el clima, la especificidad de sustrato y la influencia del fuego han estado jugando un papel fundamental en el tamaño y estructuración de las poblaciones.

Variación genética de las poblaciones de *P. rzedowskii*.

Se ensayaron 17 enzimas, de las cuales 5 no presentaron actividad. De las 12 enzimas resueltas 14 loci isoenzimáticos son analizados. La resolución enzimática se obtuvo en tres sistemas de corrida para las diferentes enzimas. En el sistema de Mitton *et al.* (1977) se resolvió la peroxidasa anódica (APX), la peroxidasa catódica (CPX) la glutamato oxalato transaminasa (GOT) y la menadione reductasa (MNR). En el sistema de Conkle (1984) se resolvió la leucina aminopeptidasa (LAP), la Esterasa (EST) la esterasa fluorescente (EST-F), la nicotinamida adenina dinucleótido (NADHDH) y la rubisco (RUB), las cuatro enzimas restantes en el sistema #2 de Miles *et al.* (1972). Estas son la shkimato deshidrogenasa (SDH), la glutamato deshidrogenasa (GDH), la isocitrato deshidrogenasa (IDH) y la malato deshidrogenasa (MDH).

Del total de los 14 loci analizados, nueve fueron polimórficos siguiendo el criterio del alelo más común (cuando la frecuencia de los alelos más comunes son menores a 0.95) (Tabla 1). Se cuantificaron 32 alelos en total y el promedio de alelos por locus fue igual a 1.8, dentro de un intervalo de valores entre 1.6 a 2.4. La proporción de loci polimórficos varía ampliamente, desde 35.7 hasta 64.3% con un valor promedio de 46.8%.

Tabla 1. ESTIMADORES DE LA VARIACIÓN GENÉTICA EN NUEVE POBLACIONES

DEP. *rzedowskii*.

Población (No) Ind		Alelos por	% de alelos	Heterocigosis		
(No) locus	(No)			polimórficos observada	promedio esperada	
1	Vaca pinta	28	1.8	50.0	0.239 (0.071)	0.230 (0.066)
2	Pred. Varaloso	25	1.8	42.9	0.141 (0.058)	0.183 (0.070)
3	La Soledad	6	1.6	35.7	0.143 (0.060)	0.211 (0.081)
4	El Fresno	66	2.1	57.1	0.175 (0.051)	0.272 (0.067)
5	La Alberca	52	1.9	50.0	0.141 (0.049)	0.222 (0.066)
6	Chiqueritos	34	2.4	64.3	0.168 (0.073)	0.304 (0.079)
7	El Varaloso	30	1.6	35.7	0.129 (0.057)	0.144 (0.057)
8	El Pinabete	25	1.6	42.9	0.148 (0.060)	0.208 (0.071)
9	La Aguacatera	29	1.6	42.9	0.174 (0.060)	0.203 (0.072)
Promedio		33	1.8	46.8	0.162 (0.059)	0.219 (0.069)

La heterocigosidad observada dentro de las poblaciones varió de 0.129 a 0.239 con un valor promedio igual a 0.162, y la heterocigosidad esperada varió entre 0.183 y 0.304 con promedio de 0.219. Las frecuencias alelicas para cada locus por población no son muy similares entre sí. Los valores van desde 0.043 en SDH-2 hasta 0.953 en CPX-1. La mayoría de los loci presentaron un alelo claramente común con frecuencias superiores al 90%.

Tabla 2. Número de loci de las poblaciones de *P. rzedowskii* que se desvían del equilibrio Hardy-Weinberg (prueba de χ^2 corregida de Hedrick, 1981)

Población	Número de loci				
	1	2	3	4	5
V. Pinta	SDH-2*#				
La Soledad	SDH-2*=/=				
El Fresno	APX-2***=	GOTI**=	LAP-1***=	SSDH-2*HDIDH-2***=	
La Alberca	APX-2***=	GOT-1***=	LAP-1***TEST-2*#		
Chiqueritos	SDH-2* * * =	GQT*	LAP 1 ***=/=		
P. Pinabete	GOT-1**=				
La Aguacatera	SDH-2 * =				

= homocigos comunes; ; heterocigos comunes; =H-- homocigos y heterocigos raros (NS= no significativos, 1 = $P < 0.10$. 2 = $p < 0.05$: 3 = $p < 0.001$, 4 = $p < 0.001$).

Los resultados de las pruebas de χ^2 realizados para ver si existía heterogeneidad en las frecuencias alélicas por locus (Workman y Niswander, 1970), demostraron que existen diferencias significativa ($p < 0.001$) en las frecuencias alélicas para los diferentes loci polimórficos y las diferentes población. El análisis de las frecuencias genotípicas reveló que los valores para la mayoría de los genotipos de cada locos tienen una frecuencia que también se desvía consistentemente de los valores esperados en Hardy-Weinberg (Tabla 2). Por tanto en estas dos poblaciones se encuentra el mayor número de loci polimórficos con frecuencias genotípicas que se desvían más del equilibrio Hardy-Weinberg.

Estructura genética de las poblaciones de *P. rzedowskii*.

El índice de fijación por locus por población fue significativamente diferente ($p < 0.05$) de los esperados en el equilibrio Hardy-Weinberg en veintiocho ocasiones (Tabla 3). Veinticuatro de estos índices son positivos y cuatro negativos. Esto indica, que existe un exceso de homocigos para varios loci y en varias de las poblaciones. El índice de fijación es estadísticamente diferente de cero y se desvían de los valores esperados bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg, por lo que la variación genética está estructurada de diferente manera entre las poblaciones.

Tabla 3. Índices de fijación (F) para 9 loci de las poblaciones estudiadas de *P. rzedowskii*

Locus	Población								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
APX-1	0.14*	0.1	0.33*	0.37*	0.21	0.53*	-0.22	0.63*	-0.35
APX-2	0.16*	-0.6	0.33*	0.39*	0.32*	0.07	-0.06*	-0.06*	0.09
CPX-2	0.2					1.00*			
EST-2	0.06	0.1	-0.33*	0.07	0.18	-0.12	-0.19	0.1	-0.39
GOT-2	0.27*	0.23	-0.02	0.2*	0.27	0.01	0.11	0.16	0.31
LAP-1	0.23	1.00*		0.82*	0.96*	1 *		1 *	1
SDH-2	-0.36	0.17	0.76	0.22	-0.05	0.68*	0.67*	0.3	0.34
IDH-2				0.39*		1			
GDH-2				0.5*	0.67	1 *			

x'. Hipótesis nula $F = 0$ $P < 0.05$

Los estadísticos F de Wright para los loci polimórficos de *P. rzedowskii* se presentan en la Tabla 4. Los valores de los tres estadísticos son positivos y estadísticamente significativos al 99% de confiabilidad en todos los loci, a excepción del locus EST-1 de el estadístico F_{IS} y F_{IT} con una significancia de 95%. Este resultado indica que *P. rzedowskii* contiene en general, menos heterocigos de los esperados bajo el equilibrio de Hardy Weinberg, que existen diferencias genéticas tanto a nivel intrapoblacional como entre poblaciones y que *P. rzedowskii* tiene una estructuración genética entre sus poblaciones muy marcada con un 17.5% de la variación genética explicada por diferencias entre poblaciones.

Tabla 4. Estimación de F_{IS} , F , F_{ST} , y N_m , para 9 loci en 9 poblaciones de

P.rzedowskii

Locus	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}
APX-1	0.3642*	0.1401*	0.2666*
APX-2	0.3269*	0.1433*	0.2161
CPX-2	0.3730*	0.3595*	0.2381*
EST-2	0.0834	0.0834*	0.0009
GOT-1	0.2462*	0.1229*	0.1415*
LAP	0.9022*	0.3881*	0.8400*
SDH	0.3834*	0.1569*	0.2712*
IDH	0.5427*	0.0965*	0.5023*
GDH	0.5016*	0.2414*	0.4171
Media	0.4048*	0.1753*	0.2736*
Limites de confianza(Weir y Cockerhan 1993)	(0.2557- 0.8159)	(0.1209-0.2606)	(0.1507-0.4821)

χ^2 . Hipótesis nula $F=0$ ($P<0.001$)

Las relaciones genéticas entre poblaciones son analizadas utilizando los estadístico de distancia y similitud genética (Nei 1978). La estimación de la identidad y distancia genética entre todos los pares de poblaciones son muy heterogéneos (figura 1). Se puede apreciar que la identidad genética más alta es de 0.981 y el valor más bajo es de 0.870 (5). La distancia genética más baja (cercana a 0) es de 0.024 y el valor más alto (alejado de 0) es de 0.1390 entre las poblaciones ALB (5) y SOL (3). No se encontró un patrón específico que concuerde con la distancia que separa a las poblaciones, pues las poblaciones que comparten un mayor porcentaje de alelos no son las más cercanas y viceversa. Esto indica que no hay un patrón de aislamiento por distancia y que algunas poblaciones son genéticamente muy diferentes.

Figura 1. Matriz de distancias genéticas (arriba de la diagonal) e identidad genética (abajo de la diagonal) de Nei (1978) para las poblaciones de *P. rzedowskii* en Michoacán, México.

Población	1	2	3	4	5	b	7	8	9
C. Pinta	**	0.915	0.934	0.938	0.931	0.941	0.016	0.903	0.015
El Varaloso	0.089	***	0.977	0.956	0.903	0.918	0.944	0.899	0.899
LaSoledad	0.068	0.024	***	0.922	0.870	0.910	0.918	0.898	0.892
El Fresno	0.065	0.045	0.082	***	0.959	0.960	0.048	0.933	0.935
La Alberca	0.072	0.102	0.139	0.042	***	0.957	0.902	0.962	0.968
Chiquerito	0.061	0.085	0.094	0.041	0.044	***	0.938	0.953	0.960
P. Varaloso	0.088	0.058	0.086	0.053	0.103	0.064	***	0.886	0.911
P. Pinabete	0.102	0.107	0.108	0.070	0.039	0.049	0.121	***	0.986
L. Aguacatera	0.089	0.107	0.114	0.067	0.033	0.040	0.093	0.014	***
I promedio =	0.929.	<i>D promedio = 00173</i>							

Discusión

La más importante conclusión de este análisis es que *P. rzedowskii*, contiene una apreciable cantidad de variación genética, pero ésta se distribuye de una manera en la cual se sugiere que está ocurriendo mucha diferenciación entre poblaciones.

La mayoría de las especies de coníferas presentan valores de variación genética semejantes al valor obtenido en *P. rzedowskii* (0.219). Hamrick et al (1981) hacen una recopilación de datos isoenzimáticos para 113 taxa de plantas y reporta que aproximadamente el 67.7% de los loci estudiados de 21 especies de coníferas son polimórficos (rangos de 0-100%), con un número medio de *alelos* por locus de 2.29 rangos de 1.00-3.87) y un promedio de heterocigocidad esperada de 0.21 (rangos de 0.00-0.37). Con los datos

obtenidos para *P. rzedowskii*, lo que encontramos es que tanto la heterocigosis esperada como el número de alelos efectivos se encuentran dentro de los valores promedio del espectro de variación de Hamrick et al (1981).

Los niveles de heterocigocidad observados en la especie, pueden tener varias explicaciones, en parte se debe a la historia de vida y a las condiciones ecológicas características del lugar. A diferencia de especies de pino de otros países como E.U. y Canadá, en México los pinos generalmente crecen a elevaciones entre 1800 a 3000 msnm y las agrupaciones de individuos usualmente tienen tamaños pequeños y con distribución discontinua (Yeaton et al, 1983). *P. rzedowskii* se encuentra dentro de la Sierra Madre occidental y en esta zona la topografía es muy accidentada, donde se pueden apreciar elevaciones muy pronunciadas que pasan a través de distancias muy cortas de 1000 a 3000 msnm, lo cual resulta en cambios muy drásticos principalmente de clima y suelo. Esto por un lado, limita la distribución de las especies a zonas muy particulares, como es el caso de *P. rzedowskii* que habita solo en suelos que son afloramientos de tipo calizo, y por otro lado, al existir fluctuaciones climáticas, alteran de una manera directa a la fenología de la especie. La asincronía floral es un

fenómeno comúnmente observado en muchas especies de pino mexicanas, donde existe liberación de polen en épocas en que no se encuentran los estrobilos femeninos receptivos. *P. rzedowskii* parece tener un ciclo fenológico muy largo y asincrónico. En 4 años consecutivos, (1992-1995). Solo se ha observado una escasa producción de conos, máximo 15 conos por árbol y en pocos individuos (de 3000, solo 6 tienen conos, aprox). Aún no se conoce cuanto tiempo necesita la especie para tener un año semillero, pero podríamos aproximarnos a 6 años, tiempo que *es mayor que* cualquier otra especie de pino mexicana. Hasta ahora se pensaba *P. leiophylla* era la especie de más amplio ciclo fenológico (de 5 años aprox). El desfase en la fenología de *P. rzedowskii*, y la especificidad en el tipo de suelo, podrían ser dos de los principales factores que influyen en los sistemas reproductivos y concretamente guiados en dos vías alternativas. Primeramente, el intercambio genético se puede presentar entre individuos muy cercanamente emparentados con lo que las poblaciones eventualmente pueden llegar a ser conformadas por individuos muy relacionados genéticamente, es decir presencia de endogamia en las poblaciones. Segundo, es que el acervo génico se mueva dentro de varios grupos reproductivos (efecto Wahlund), y podría explicarse por la diferencia estacional de la fenología de la especie. Sincronía temporal en años reproductivos de individuos y otros años representados por otros individuos. Esto promueve la expresión de variantes alélicas en determinado grupo de individuos, favoreciendo la presencia de heterocigos y al mismo tiempo la consanguinidad local..

El análisis de la estructura genética de las poblaciones de *P. rzedowskii* indica que existen importantes niveles de diferenciación entre las poblaciones. Los valores de F_{st} , obtenidos son comparables con algunas especies de pino reportadas para diferentes lugares , como *P. rigida* de 13.5% (Nicolé y Tucicé, 1983), *P. cembra* con 32.0% (Szmids 1982), *P. engelmannii* de 13.0% (Vermejo 1993). Para la mayoría de las especies los valores de F_{ST} son menores a los mencionados, pero esto se debe a que muchas de ellas se caracterizan por tener rangos de distribución muy amplios y fundamentalmente continuos, además de que el ambiente donde habitan es muy homogéneo

(Hamrick et al, 1982; Hiebert y Hamrick, 1983). En contraste, *P. rzedowskii* es una especie de distribución muy restringida (22.6 Km lineales aprox). Sus poblaciones están contenidas en refugios muy aislados e inaccesibles, donde la topografía de los sitios es muy accidentada (85-90%). Por lo que al quedar los individuos de *P. rzedowskii* aislados de otros individuos de la especie se favorece la reproducción por autofecundación en esa población, dirigiéndose hacia la disminución de heterócigos y el aumento de individuos homócigos hasta llegar a un valor alto de endogamia. En consecuencia, promueven la diferenciación genética a nivel local, por lo que encontramos diferentes alelas fijos y en diferentes poblaciones.

Lo mencionado nos sugiere que existe importante diferenciación a nivel local y que probablemente estamos analizando pequeños parches de una sola población continua que al quedar aisladas por algún evento geológico se fragmentó donde algunas poblaciones han mantenido en común algunas variantes alélicas y otras variantes se han perdido, posiblemente por efecto de la deriva génica. La fragmentación y consecuente aislamiento de las poblaciones, el tamaño pequeño de las mismas, así como la acción de la deriva genética pueden explicar gran parte de los procesos históricos y evolutivos que han generado gran parte de la variación genética encontrada en *P. rzedowskii*.

**CRITERIOS PARA ESTABLECER UN PLAN DE
CONSERVACIÓN DE LAS ESPECIES DE PINO ESTUDIADAS
CON BASE EN LOS RESULTADOS OBTENIDOS**

Tanto la demográfica como la genética de las poblaciones son importantes para planear la conservación de especies en condiciones naturales. Los resultados de genética de poblaciones son muy importantes para diseñar planes de colecta de germoplasma ya que en general los genotipos de las poblaciones no se encuentran al azar sino que presentan una estructura espacial y temporal (Brown et al., 1978; Hamrick y Holden, 1979). La estructura genética de las poblaciones es el resultado conjunto de la acción de las *fuerzas de* mutación, selección, migración y deriva genética.

La mayor parte de los estudios previos de genética de poblaciones de pinos han encontrado que la variación genética que presentan es alta, y la variación genética encontrada dentro de las poblaciones es mucho mayor que la encontrada entre las poblaciones. Esto es, la estructuración genética de las poblaciones es muy pequeña. Estas características de estructura genética se habían atribuido a la polinización abierta por viento y dispersión por viento de los pinos. Sin embargo, las especies que se estudiaron en este proyecto presentan mayor variación genética que la esperada teóricamente y una estructura genética muy marcada. La hipótesis que se plantea para explicar estos resultados es que en especies que están representadas por poblaciones pequeñas y aisladas geográficamente las probabilidades de estructuración genética son mayores, porque *se promueve la fijación* y pérdida de alelas entre las diferentes poblaciones por deriva genética (por muestreo aleatorio). Estos resultados son novedosos en el sentido de que hasta ahora no se habían encontrado niveles altos de estructura genética (*superiores a 17%*) y *niveles tan altos* de variación genética en especies con poblaciones tan fragmentadas y reducidas. Además, no se habían realizado estudios con especies de pino mexicanas que además estuvieran consideradas en peligro de extinción.

Los patrones demográficos y genéticos encontrados nos pueden sugerir algunas ideas generales acerca de la conservación de estas especies, así como otras especies con características similares.

En el caso particular de especies raras o amenazadas de extinción el criterio de conservación de toda la especie es posible a través de la protección del hábitat y por la preservación "*ex situ*" (Holsinger y Gottlib, 1991). Los tamaños efectivos en estas áreas pueden ser usados como base para definir zonas núcleo excluidas de todo tipo de perturbación. Las sugerencias concretas para especies con poblaciones muy estructuradas genéticamente como *P. rzedowskii*, *P. pinceana* y *P. lagunae*, sería la de proteger cuando menos las poblaciones que están representadas por el mayor número de individuos, ya que *estas pueden* llegar a desaparecer por algún proceso estocástico independientemente de la cantidad de variación genética que contengan, y proteger también aquellas poblaciones que son mas variables genéticamente para garantizar que se mantenga la variación genética representativa de la especie.

La preservación "*ex situs* ", también se *debe de* implementar para estas especies, sugiriendo que se realicen colectas tanto de semillas como de tejido vegetativo. En *P. rzedowskii* existe un problema muy fuerte con la producción de conos, es mínima comparada a la capacidad de producción que tienen *las especies* de pinos y en particular mexicanas (400 a 700 conos por árbol). Es esencial rescatar la mayor cantidad de semillas de esta especie. También sería conveniente tratar de cultivar en viveros y posteriormente establecer sitios de experimentación, hacer pruebas de introducción en otras áreas y ver posteriormente si se logran reincorporar a su hábitat natural.

P. pinceana tiene poblaciones de mayor tamaño que *P. rzedowskii*, por lo cual los criterios de conservación son menos rigurosos. Sin embargo, en esta especie se encontraron niveles de estructura genética superiores a las otras tres especies estudiadas (0.247). Lo que implica que deben conservarse un mayor número de sus poblaciones para tener representada la variación genética de la población. Además, el área de su distribución también es mayor que el de las otras especies en estudio. *P. pinceana* se encuentra en diferentes sitios de cuatro estados de la república. Por tanto para esta especie consideramos que la distancia geográfica ha sido un factor importante en la estructura genética de sus poblaciones. Para fines de conservación la protección sería de todas las poblaciones que la representan pero con menor número de individuos a proteger de cada una de ellas. Esto es, se puede obtener una submuestra al azar de un determinado número de individuos que representen a cada una de las población, y de esta manera mantener el pool génico completo de toda la especie. En particular, es interesante continuar con los estudios demográficos para una de las poblaciones, ya que es muy accesible para el trabajo de campo. Se pueden obtener estimaciones periódicas de edades, reclutamiento, sobrevivencia y reproducción de los árboles, lo cual permitiría hacer inferencias más exactas del comportamiento demográfico de la especie.

Debido a que el número de representantes de *P. muricata* es tan reducido, y por otro lado, a que los sitios donde se encuentran los árboles han sido y son muy perturbados antropogénicamente se requiere proteger a cada una de las poblaciones tan pronto como sea posible. Actualmente la especie contiene niveles de variación genética suficientes como para permitir la subsistencia de la especie a largo plazo, pero si el uso agrícola continua sin tomar medidas de conservación, esta especie corre peligro de desaparecer en México.

P. lagune, que es una de las especies que esperábamos presentara tamaños poblacionales pequeños y poca variación genética, está representada por millones de individuos y además los niveles de variación genética son bastante altos. Esto indica que los criterios de conservación para esta especie sean los menos rigurosos y urgentes. Por lo tanto se podría recatalogar a la especie más bien como endémica y de distribución restringida. Nosotros consideramos que no se encuentra amenazada de extinción, por lo cual puede quedar exenta de cualquier plan de conservación "*ex situ*" por el momento. Pero en dado caso, sería necesario también coleccionar de todas sus poblaciones pues presenta también una estructura genética considerable.

En general, para las cuatro especies se requiere de la colaboración de los lugareños, así como de las instituciones gubernamentales encargadas de explotar y mantener los recursos forestales en México. Actualmente se tienen avances muy importantes en cuanto a la conservación de *P. rzedowskii* por parte de los lugareños. Muchos de los esfuerzos para que los lugares donde se establece esta especie fueran exentos de perturbación antropogénica fue realizada por los mismos dueños de las poblaciones. Además de esto, existe un compromiso formal con la Secretaría de Desarrollo Social, para aplicar algunas estrategias de conservación "*ex situ*". Tales como colecta de semillas, producción de plántulas en vivero y reforestación de los sitios. Es importante, sin embargo, seguir produciendo investigación cualitativa y cuantitativa a cerca de aspectos como, fenología, plagas, perturbación, asociaciones biológicas, etc., que permitan plantear estrategias de manejo y conservación a largo plazo. Los resultados obtenidos en este trabajo son una contribución para el establecimiento de estos programas. Para *P. muricata* también se cuenta con el interés de algunos dueños de los sitios donde se encuentra la especie, por lo que consideramos que por lo menos para estas dos especies se podría elaborar un proyecto relacionado directamente con las estrategias de conservación "*ex situ*" e "*in situ*" de una manera integral.

Referencias

- Arriaga, L. 1988. Natural disturbance and treefalls in a pine-oak forest on the peninsula of Baja California, México. *Vegetatio* 78:73-79
- Arriaga, L. S., Díaz , C. Mercado. 1994. Conservation or commercial management of temperate forests of Baja California Sur, México. *Conservation Biology* 8: 1132-1140.
- Bailey, D. K. 1983. A new allopatric segregate form and a new combination in *Pinus cembroides* Zucc. at its southern limits. *Phytologia* 54: 89-100.
- Bermejo, V. B. 1993. Genetic diversity and the mating system in *Pinus engelmannii* Carr. Tesis Doctoral. Wisconsin University. 99 pp.
- Brow, A. H. D. 1983. Measuring genetic variability in plant populations. In S. D. Tanksley and T. J. Orton, eds. *Isozymes in plant genetics and breeding. Part A*. Elsevier, Amsterdam, pags 219 - 239.
- Brown, A. H. D. 1978. Isozymes , plant population genetic structure and genetic conservation. *Theoretical and Applied Genetics* 52: 145-157
- Cheliak, W. M., and Piel, J. A. 1984. Electrophoretic identification of clones in trembling aspen. *Can, J. For. Res.* 14: 740-743.
- Cavalli-Sforza, L. L., and W. F. Bodmer. 1971. *The genetics of human Populations*, **W,H** Freeman, San Francisco.
- Dancik, **B.P.** and F. C. Yeh. 1983. Allozyme variability and evolution of lodgepole pine (*Pinus contorta* var. *latifolia*) and jack pine (*P. banksiana*) in Alberta. *Can. J. Genet. Cytol.* 25: 57-64.

- Díaz, S. C. 1995. Dinámica poblacional y análisis dendrocronológico de una especie de conífera endémica, *Pinus lagunae* M., F. Passini de Baja California Sur. Tesis de maestría. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Ellstrand, C. N., and D. R. Elman. 1993. Population genetic consequences of small size: Implications for plant conservation. *Annu. Rev. Ecol. syst.* 24: 217 - 242.
- Hamrick, J. L., and GM. J. W. Godt. 1989. Allozyme diversity in plant species. **In** *Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic resources*, ed. A. H. D. Brown, M. T. Clegg, A. I. Kahler, and B. S. Weir, pp. 43-63. Sinauer, Sunderland, Mass. T. Conckle, Pacific SW for. Range Expt. Sta. Tech. report # 48. Berkley.
- Hartl, D. L., and A.G. Clark. 1989. *Principies of population genetics*, 2d ed. Sinauer, Sunderland, Mass.
- Hedrick, P. W. 1983. *Genetics of populations* Science books Int., Boston.
- Hiebert, **R. D.** and J. L. Hamrick. 1983. Patterns and levels of genetic variation in Great Basic bristle cone pine (*Pinus longaeva*). *Evolution.* 37(2): 302-310.
- Holsinger, **E. K.**, and L. D. Gottlieb. 1991. Conservation of Rare and Endangered plants: Principes and Prospects. In Falk, D. A., and Holsinger, E. K ed. *Genetics and Conservation of rare Plants*.
- Hong, Y. P., V. D. Hipkin and S. H. Strauss. 1993. Chloroplast DNA diversity among trees, populations and species in the California Closed-cone pines (*Pinus radiata*, *Pinus muricata* and *P. attenuata*) *Genetics* 135: 1187-1196.
- Ledig T. F and Conckle T. M. 1981. Gene diversity and genetic struture in a narrow endemic, torrey pine (*Pinus torreyana* Parry ex Carr).
- Linhart, Y. B. 1978. Maintenance of variation in cone morphology in California Closedcones pines: the roles of *fire*, *squirrels* and seed output. *Southwestern Naturalist* 23:29-40.

- Madrigal S. X y D. M. Caballero. 1969. Una nueva especie mexicana de *Pinus*.. Bol. Téc. Inst. Nac. Invest. For, México, 26.
- Malusa, J. 1992. Phylogeny and biogeography of the pinyon pines (*Pinus* subsec. *Cembroides*). Systematic Botany 17: 42-66.
- Martínez, M. 1948. Los Pinos Mexicanos. Edición Botas, México.
- Mitton, Y. B., Linhart, J. L., Hamrick., and J. S. Beckman. 1977. Observations on *the* genetic structure and mating system of Ponderosa Pine in the Colorado front Range. Theor. Appli. Genet. 51: 5 - 13.
- Millar, C. L. 1983. A steep cline in *Pinus muricata*. Evolution 37: 311-319.
- Millar, C. L. 1985. Inheritance of allozyme variants in Bishop pine *Pinus muricata* D. Don). Biochemical Genetics 23: 933-946.
- Millar, C. L. 1986. The California closed cope pines (Subsection *Oocarpae* Little and Critchfield): A taxonomic histoty and reviw. Taxon 35: 657-670.
- Millar, C. L. W. R. and Crithegiel. 1988. Crossability and relationship of *Pinus muricata* (Pinaceae). Madroño 34: 351-370.
- Minnich, R. A. 1978. The distribution of forest trees in northern Baja California, México. Madroño 13:98-127.
- Malusa, J. 1992. Phylogeny and biogeography of the pinyon pines (*Pimis* subsec. *Cembroides*). Systematic Botany 17: 42-66. Genetics 98: 625 - 640.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distante from a small number of individual. genetics 90: 589-590.
- Nei, M., and F. Tajima. 1981. Genetic drift and estimation of effective population size. Nicolíé, D., and Tucié, N. 1983. Isoenzyme variation within and among population of europeean Black pire (*Pinus nigra* Arnold). Silvae Genetica 32 (3-4): 80 - 89.

- Passini, M.-F. 1987. The endemic pinyon of lower California: *Pinus lagunae* M.-F. Passini. *Phytologia* 63: 337-338.
- Passini, M.-F. and N. Pinel. 1989. Ecology and distribution of *Pinus lagunae* in the Sierra de la Laguna, Baja California Sur, México. *Madroño*. 36:84-92.
- Perry, J. L. 1991. The pines of México and Central America. Timber Press, Portland, Oregon.
- Sarvas, K. 1962. Investigation of the Flowering and seed crop of *Pinus sylvestris*. *Commun. Inst. For. Fenn.* 53-4
- Slatkin, M. 1993. Isolation by distance in equilibrium and non- equilibrium population. *Evolution* 47: 264-279.
- Szmidt, A. 1982. Genetic variation in isolated populations of stone pine (*Pinus cembra*). *Silvae Fennica*. 16: 196-200.
- Strauss, S. H. Y.P Hong and V, D, Hipkins. 1993. High *levels* of populations differentiation for mitochondrial DNA haplotypes in *Pinus radiata*, *muricata* and *attenuata*. *Theoretical and Applied Genetics* 86: 605-611.
- Weir, B. S., and C. C. Cockerham. 1984, Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38 (6): 1358-1370.
- Weir, B.S. 1990. Genetic data analysis. Sinauer, Sunderland, Mass.
- Wright, S. 1921. Systems of mating. *Genetics* 6: 111 - 178.
- Workman, P. L., and J. D. Niswander. 1970. Population studies on southwestern Indian tribes II. Local genetic differentiation in the *Papago*. *Amer. J. Hum. Genet.* 22: 24-29.