



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**Genética de la conservación de *Pinus quadrifolia* Parl. ex Sudw. (Pinaceae)**

**TESIS PROFESIONAL**  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**B I Ó L O G O**  
P R E S E N T A:  
**MARÍA DE GUADALUPE OCAMPO MILLAN**

**DRA. ALEJANDRA VÁZQUEZ LOBO YURÉN**  
**DIRECTORA**  
**DR. DAVID S. GERNANDT**  
**CO-DIRECTOR**

**CUERNAVACA, MORELOS**

**AGOSTO, 2020**

## ÍNDICE

Resumen	4
Introducción	5
Genética de la conservación	7
Modelado de nicho	12
¿Cómo afecta el cambio climático a los piñoneros?	14
<i>Pinus quadrifolia</i>	15
Objetivos	21
Objetivos particulares	21
Hipótesis	21
Justificación	22
Materiales y Métodos	22
Análisis y obtención de genotipos	23
Análisis de la variación genética	24
Modelado de nicho	25
Resultados	27
Variación genética de la especie	33
Análisis de la variación genética	37
Discusión	32

## Agradecimientos

A Dios

A mi co-director el Dr. David S. Gernandt por darme la oportunidad de formar parte de este proyecto y enseñarme que investigar sin pasión es imposible.

A la Doctora Ale Vázquez -Lobo Yurén por ser paciente conmigo pero sobre todo por brindarme las herramientas necesarias para poder llevar a cabo este proyecto.

A mis sinodales, la Doctora Alejandra Moreno Letelier y el Doctor Francisco X. por brindarme sus conocimientos y tiempo.

A Pablo, Rubén y Carmen por brindarme sus conocimientos

A mi mamá por confiar en mí y brindarme todo el apoyo, a mi papá por darme consejos y siempre ser positivo, sin ustedes hubiera sido imposible cumplir este sueño, los amo y este trabajo fue pensando en ustedes y para ustedes.

A mi hermana por apoyarme en mis decisiones

A mis amigas de la Facultad, Lluvia y Andy, por su apoyo incondicional y consejos, hicieron que todo fuera más fácil.

A mis familiares, amigos y profesores, todos han aportado un granito de arena para poder hacer realidad este proyecto.

“El estudio y la contemplación de la naturaleza es el natural  
alimento de la inteligencia y del corazón”  
-Cicerón

## Resumen

El estudio de la genética de la conservación se basa en el análisis de las poblaciones y de los procesos evolutivos que actúan sobre ellas: la selección natural, la deriva genética, la mutación y la migración. Los análisis de genética evolutiva permiten determinar si una población está dotada de un gran acervo de variabilidad genética y por lo tanto tiene una mayor probabilidad de afrontar los cambios del ambiente biótico y abiótico, pues tendrían un mayor potencial adaptativo. El objetivo de este proyecto es analizar la distribución potencial y la diversidad genética de *P. quadrifolia*, para analizar su potencial de conservación. Se colectaron muestras en todo el rango de distribución de la especie en Baja California y California, para el aislamiento de ácidos nucleicos y genotipación. El llamado de genotipos se realizó mediante el mapeo contra un set de secuencias de genes de *P. taeda* con los que se diseñaron las sondas de referencia para los pinos piñoneros. Después de los filtros de calidad y de la eliminación de posibles secuencias parálogas se obtuvieron 272 genotipos de 27 individuos de *P. quadrifolia*, los cuales fueron usados para la estimación de estructuración y niveles de variación genética de la especie. De acuerdo con el análisis genético poblacional, *P. quadrifolia* presenta niveles moderados de variación en contraste con otros piñoneros y bajos niveles de estructuración. De acuerdo con el análisis de STRUCTURE y al PCA, existen dos grupos genéticos sin asociación geográfica y sin evidencia de un patrón de aislamiento por distancia de acuerdo con el Test de Mantel. Es importante que se conserven amplias zonas donde se distribuye esta especie, especialmente aquellas que tienen mayor diversidad y que estén más susceptibles a fuegos, cambios de uso de suelo y/o pastoreo.

## Introducción

El análisis de la biodiversidad en el mundo ha sido uno de los temas más importantes en la investigación en años recientes, debido a la crisis ambiental por la que atravesamos. Anteriormente, las personas desconocían la importancia de este término que ha sido definido por diferentes autores, desde la definición de Lovejoy en los años 80, o la condensación de la palabra “biodiversidad” que fue acuñada por Walter G. Rosen en 1985 (Harper y Hawksworth, 1995) hasta las definiciones actuales. Todas coinciden en que la diversidad biológica actual no solo tiene un impacto ambiental sino también cultural, económico, político y hasta religioso. No es solo un tema de biología sino un concepto mucho más complejo e incluyente de lo que parece así que podríamos decir que el término de biodiversidad se administra en un suceso de consternación por la pérdida irremediable del medio ambiente (Gaston y Spicer, 1998).

La diversidad biológica incluye la variación genética que se localiza en los individuos, los cuales en conjunto conforman poblaciones, que unidas forman comunidades y a la vez forman ecosistemas distribuidos a lo ancho y largo del planeta (Noss, 1990). De acuerdo con esto, la Convención de la Diversidad Biológica (*Convention on Biological Diversity; CBD*) firmada en Brasil en 1992, definió la biodiversidad como el conjunto de toda la variabilidad de organismos que integran los complejos ecológicos que existen en ambientes terrestres, marinos y otros hábitats acuáticos tomando en cuenta que tiene tres componentes: diversidad de especies, diversidad de ecosistemas y diversidad genética, siendo la última la que menos se conoce.

Durante los últimos años la humanidad ha tenido cierta preocupación e interés por el estudio y conservación de la biodiversidad. Se podría decir que la biología de la conservación es una preocupación egoísta, pues sabemos que con la pérdida de la biodiversidad estaremos destinados a la extinción (Halffter y Ezcurra, 1992), ya que la biodiversidad provee los procesos ecológicos y las condiciones favorables que permiten a las especies desarrollarse, evolucionar y mantener capacidades innatas de sobrevivencia (Loa et al., 1998), lo cual es necesario para cumplir necesidades básicas de alimentación y salud humana.

La genética de la conservación ha sido de gran ayuda para resolver problemas de conservación de las comunidades vegetales. Nos ha ayudado a entender las consecuencias del aislamiento y la reducción del tamaño poblacional, así como la restricción del hábitat, hasta las posibles causas de extinción a lo largo de los años. El estudio de la genética de la conservación se basa en el análisis de las poblaciones y de las fuerzas de cambio evolutivo que actúan sobre ellas, es decir, la selección natural, la deriva genética, la endogamia, la mutación y la migración (Benito y Espino, 2012). La variación intraespecífica se considera como un foco para la conservación, por lo que los enfoques genéticos y moleculares podrían ser valiosos al proporcionar una herramienta para medir la diversidad genética e identificar los genes potencialmente relevantes en la práctica del manejo y la conservación de plantas (Rieseberg et al., 1989; Ricci y Eaton 1997; Hogbin y Peakall 1999).

Los análisis de genética evolutiva permiten determinar si una población está dotada de un gran acervo de variabilidad genética y por lo tanto tiene una mayor

probabilidad de afrontar los cambios del ambiente biótico y abiótico en el tiempo, pues tendrá un mayor potencial adaptativo (Solís et al., 1998 ).

En este trabajo se abordará la genética de la conservación de *Pinus quadrifolia* Parl. ex Sudw., un pino piñonero de la subsección *Cembroides*, de la familia Pinaceace, mediante el análisis de la variación genética, a lo largo de su distribución. Además se inferirá el nicho potencial que puede habitar la especie, para poder clasificar de manera sistemática los sitios donde pueda subsistir de acuerdo con los factores ambientales abióticos (Pounds et al., 1999). Los pinos piñoneros son de gran importancia ecológica en las zonas secas y semisecas, ya que algunas veces constituyen un recurso forestal valioso, del cual los pobladores pueden obtener fácilmente la madera para la construcción de vallas y leña para el fuego, así como alimento por el aprovechamiento del piñón. Además, en dichas comunidades naturales proporcionan una gran variedad de servicios ambientales (Villarreal et al., 2009).

### *Genética de la conservación*

El mantenimiento de la biodiversidad es un reto en la actualidad, ya que las poblaciones naturales se encuentran amenazadas por el crecimiento demográfico humano y el mal manejo de los recursos naturales (Duarte Santos, 2007). La extinción masiva está sucediendo a un ritmo vertiginoso y conforme pasa el tiempo, crece el número de especies amenazadas y se requiere de acciones para asegurar a las especies un ambiente seguro para su preservación (Rockström et al., 2009). Los programas de conservación se enfocan en el mantenimiento de la diversidad biológica, con un efecto

positivo no sólo en el nivel ecológico, sino que también tiene consecuencias en el bienestar social (Rockström et al., 2009).

El análisis y desarrollo de estrategias de conservación en el nivel de la biodiversidad genética conforman la genética de la conservación, la cual se basa en el uso de herramientas moleculares para inferir el nivel de amenaza de las poblaciones naturales, considerando que las poblaciones pequeñas y aisladas tienden a extinguirse con mayor probabilidad (Ouborg et al., 2010). De esta manera, los estimadores del tamaño efectivo de las poblaciones y del flujo génico en un contexto geográfico, han permitido determinar unidades de conservación de especies (por ej. Mastretta et al., 2012). Sin embargo, en años recientes con la llegada de nuevos métodos de secuenciación masiva, las posibilidades de aplicación de la genética de la conservación se han extendido, ya que con un mayor número de marcadores neutrales y adaptativos, no sólo es posible estimar con mayor precisión el grado de subdivisión de las poblaciones y el flujo génico, sino que también es posible identificar señales adaptativas en los genomas, predecir el efecto de la depresión por endogamia y detectar eventos de hibridación recientes (Allendorf et al., 2010).

El mantenimiento de poblaciones de árboles en la actualidad es resultado de regeneración natural, pero también en algunos casos por la intervención humana con el objetivo de mantener recursos génicos, como una forma de salvaguardar la permanencia y mantener altos niveles de biodiversidad, indispensables para tener poblaciones con estructura genética (Miller y Lanou, 1995). La conservación genética es el único camino para mantener la ruta hacia la evolución de las especies ante los obstáculos que la intervención del hombre ha puesto (Solís et al., 1998).

El daño del hábitat y la pérdida de poblaciones son factores de riesgo inminente para los organismos que se encuentran en las áreas deterioradas por la intervención del hombre (Rao y Hodgkin, 2002, Rodríguez-Quilón *et al.*, 2016) ya que las poblaciones con baja heterogeneidad presentan poca fertilidad, pérdida de vigor y reducción de la sobrevivencia (Markert *et al.*, 2010). Las poblaciones pequeñas y aisladas, primordialmente las de las especies endémicas, son más sensibles a la extinción, ya que el deterioro genético se genera esencialmente por medio de la disminución del flujo de genes, endogamia y un aumento de la deriva genética aleatoria (Ellstrand y Elam, 1993).

La conservación de la variabilidad genética intraespecífica es fundamental para la sostenibilidad forestal en un escenario de cambio climático. No obstante, la información genética no se considera en gran medida en los proyectos y programas de la conservación, la forma en que se deben definir correctamente las unidades de conservación se sigue discutiendo enérgicamente (Rodríguez-Quilón *et al.*, 2016).

Las poblaciones de árboles que tienen una distribución geográfica amplia se encuentran en diversos ambientes a lo largo de su área de distribución. La temperatura, disponibilidad de nutrientes, composición del suelo y su pH, la presencia de insectos y plagas, las enfermedades, incendios, la competencia entre especies y falta de recursos son variables y cambian entre regiones y ejercen diferentes presiones de selección en las poblaciones, las cuales se tienen que adaptar para poder tener una reproducción y sobrevivencia efectiva (Nienstaedt, 1976). América del Norte es una región rica en diversidad de climas y suelos gracias a la posición biogeográfica en la que se encuentra, por lo tanto, abundan recursos ambientales y genéticos, los bosques son la base fundamental de esta región, porque mantienen una rica diversidad genética (Birch, 1996).

De los tres países que coexisten en América del Norte, México es el más rico en especies leñosas; los países como Canadá y Estados Unidos tienen alrededor de 650 (Little, 1979) y en México existe más de 3,000 especies arbóreas y arborescentes (Ricker y Hernández, 2010). México tiene alrededor de 23,314 especies de plantas que se encuentran distribuidas en 2,854 géneros, 297 familias y 73 órdenes (Villaseñor, 2016), incluye 149 especies de gimnospermas y 22126 angiospermas. México es centro secundario de diversificación de pinos, siendo el hábitat de 50 especies de pinos casi la mitad de las especies de este género en el mundo (Gernandt y Pérez de la Rosa, 2014). Se calcula que cerca de un 17 por ciento de las comunidades vegetales mexicanas, se encuentra en riesgo de extinción (CONABIO, 2017). Pero lo más importante y peligroso es la pérdida de heterogeneidad genética de estas poblaciones, por lo tanto, un riesgo inminente a extinción de varias de ellas (Ledig, 1988).

El deterioro de los recursos genéticos forestales se debe principalmente al cambio del uso de terrenos forestales a otros usos, por ejemplo, para el pastoreo, ganado extensivo o la agricultura (monocultivos). En los últimos años la deforestación ha avanzado a un ritmo vertiginoso. Por ejemplo, cerca del cinco por ciento de la superficie forestal se modificó en los años de 1981-1984 (Office of Technology Assessment, 1984); se talan cerca de 1.98 millones de hectáreas por año en México (ARD, 2002). En México, según Global Forest Watch, 274,183 hectáreas fueron deforestadas en el año de 2016, lo cual sería la segunda gran deforestación en México después del 2009 con 281,232 hectáreas.

Es necesario comprender al cambio climático para poder saber cómo es que podrían reaccionar los organismos, ya sea el cambio de temperatura, elevación de los

mares, o cambios antropogénicos, ya que estos últimos son los causantes del cambio climático en los últimos años, pues ha acelerado el cambio climático natural y las especies sufren un estrés a estos cambios tan rápidos (Pounds, Fogden y Campbell, 2000). El cambio climático es un fenómeno inminente y en el cual el estrés que produce sobre las especies de pinos así como en el pasado ha modificado su distribución pues la alteración del clima por un tiempo prolongado hace que aumenten las emisiones de gas, haya mayor estrés hídrico y las radiaciones solares sean mayores (Conde et al., 2008). Esto puede incrementar la frecuencia de incendios forestales, dificultando su control, ya que las extensiones afectadas son mayores y con un mayor grado de daño. En los últimos años California y Baja California han sufrido de intensos incendios debido a las altas temperaturas por el cambio climático y fuertes vientos que arrasan con varios kilómetros de bosque. En el 2019 en Baja California fueron afectadas 38,518 hectáreas (CONAFOR, 2019) y California 105,146 hectáreas, por aproximadamente unos 7,860 incidentes según CAL FIRE (California Department of Forestry and Fire Protection).

Las afectaciones como las modificaciones antropogénicas pueden causar cambios en su distribución y contribuir al cambio climático (Peterson et al., 2008) incluso a la desaparición parcial o completa de las poblaciones (Walther et al., 2002), pues afectan su capacidad de regeneración y evitan el reclutamiento natural, por lo que en futuras generaciones tendrían que modificar sus rangos de distribución y ya no se encontrarán en donde en su momento se observaron (Ciesla, 1995; Parmesan, 2006).

## *El modelado del nicho en la conservación*

Para poder reconocer y observar la adaptación de las especies, el análisis de variables y/o factores que determinan las distribuciones de algunos organismos es un objetivo central de la ecología. Se define como nicho potencial al espacio de n-dimensiones que puede ocupar una especie a diferencia del nicho realizado que es la zona del nicho potencial que realmente ocupa la especie, es decir al área a la que se restringe debido a factores biológicos, tales como depredadores, presencia de alimento, agua, sombra y sol (Soberón y Peterson, 2005).

Para modelar nichos de especies, se han desarrollado algunos algoritmos con ayuda de programas de cómputo que se basan en datos de presencia con información ambiental o geográfica (Soberón et al., 2017). Los programas de cómputo correlacionan presencias y ausencias junto con coberturas ambientales para así poder estimar mapas (Franklin, 2009) que han sido de gran ayuda a las ciencias de la biodiversidad y ecología (Anderson, 2013). Los modelos precisan de ciertas características para que las predicciones sean acertadas, como la de datos de presencias (Gaiji et al., 2013) y la disponibilidad de los datos de coberturas climáticas internacionales (Hijmans, et al., 2005) o nacionales (Cuervo-Robayo et al., 2014). Como resultado, proporcionan información de las zonas donde no hay registro de la especie y así corrige la predicción y se obtiene la distribución potencial de la especie (Peterson et al., 2005).

Ciertos factores ambientales pueden causar la pérdida eventual de algunas poblaciones dentro de su área de distribución (Peterson et al., 2008), por lo que estas aplicaciones también son utilizadas para evaluar el tamaño de impacto que ha sido

provocado por el cambio del uso del suelo (Sánchez-Cordero et al., 2005; Peterson et al., 2006; Ríos-Muñoz y Navarro-Sigüenza, 2009), lo que resulta en el cambio de las comunidades vegetales a causa de intervención humana (Velázquez et al., 2002).

Cuando se obtiene un modelo de nicho ecológico es preciso que se proyecte a un área de distribución geográfica potencial, ya que el modelo de nicho puede estar sobreestimando la distribución geográfica de dicha especie y nuestros resultados serían equívocos (Illoldi y Escalante, 2008). Esto ocurre porque el modelo toma en cuenta todos los lugares en donde se presentan los factores biológicos adecuados a sus necesidades y se puede llegar a predecir áreas en donde se conoce que la especie no hay registro o no existe (Navarro-Sigüenza et al., 2003).

La conservación filogenética del nicho ecológico de acuerdo con la distribución geográfica se basa en el que la especiación alopátrica existe una tendencia de los organismos a permanecer en áreas ecológicas similares en las que se encontraban sus ancestros (Cicero y Koo, 2012; Fontanella et al., 2012; Forrestel et al., 2015). En zonas donde la diversidad es alta o solía serlo, pero enfrentan diversos riesgos de deforestación, defaunación y fragmentación como es el caso de México, se necesitan realizar estudios que permitan desarrollar estrategias de conservación y reconocer los factores responsables y tal es el objetivo del modelado de nicho en estudios de conservación (Pounds, Fogden y Campbell, 2000).

## ¿Cómo afecta el cambio climático a los pinos piñoneros?

La producción de las semillas en pinos piñoneros suele ocurrir después de los 25 años de edad, sin embargo empiezan con una tasa baja de producción debido a un mecanismo de adaptación para el control de depredadores y es hasta los 40 años cuando empiezan con una producción comercial aproximadamente y en periodos de 3 años, es decir cada tres años producen semillas y es a lo que se conoce como años semilleros (Granado y Silva 1994).

Los descensos en la producción de semillas, puede no solo afectar la dinámica de la población de pino piñonero sino también las diversas especies de vida silvestre que dependen de sus semillas, debido a que el pino piñonero posee semillas grandes y carentes de alas funcionales y en general casi toda la familia Pinaceae tiene estrategias reproductivas como la anemocoria, el aumento de la temperatura puede influir negativamente en el rendimiento reproductivo de otras coníferas (Redmond et al., 2012) y crear posibles cuellos de botellas en las poblaciones entre cada generación de brote (Mueller et al., 2005). Un estudio que se hizo entre Nuevo México y Oklahoma reveló un descenso de más del 40% de producción de conos de pinos piñoneros entre los años de 1974 y 2008 debido al cambio climático: reducciones drásticas de precipitación y temperaturas altas (Redmond et al., 2012). Otro estudio en España entre los años de 1960 y 2000 mostró resultados similares, pero con las semillas de otro pino piñonero (*P. pinea* L.) y los autores mencionan que esta reducción probablemente está ocurriendo en múltiples especies de pinos (Mutke et al., 2005). Las altas temperaturas también tienen

efectos directos en el pino piñonero como los costos respiratorios e indirectos como estrés hídrico y las reservas internas de carbohidratos (Adams et al., 2009).

### *Pinos piñoneros*

Los pinos piñoneros muestran una diversidad morfológica sobresaliente, lo que sugiere que la adaptación podría jugar un papel importante en la diversificación de este grupo. De hecho, se han sugerido algunas adaptaciones morfológicas basadas en observaciones y correlaciones con cambios en los hábitats (Ortiz-Medrano et al., 2016). La selección natural permite tener una evolución del nicho, así como las adaptaciones morfológicas que necesita el organismo para poder sobrevivir (Mayr, 1976).

La importancia de los pinos piñoneros en México no sólo es ecológica sino también económica, pues además de proveer refugio y alimento a los animales como ardillas y aves (Escalante et al., 1998), se recolecta el piñón para su venta, consumo local y exportación, la madera de pinos piñoneros no es utilizada por la industria, se encuentra clasificado dentro de los productos forestales no maderables por sus siglas (PFNM). Las comunidades vegetales que están compuestas por pinos piñoneros son importantes para los ecosistemas donde se encuentran, ya que interactúan en el ciclo hidrológico de las cuencas, permiten la preservación del microclima local, y también ayudan a que los animales tengan refugio y alimento (Perry, 1991). Por otro lado, estos pinos son reconocidos por su amplia adaptabilidad y resistencia a condiciones adversas, lo que les confiere un estatus de especies con gran potencial para la restauración ecológica (Ríos et al., 2008).

Los pinos piñoneros son de gran relevancia para las zonas áridas del país, ya que algunas veces constituyen el único recurso forestal presente, por lo cual los pobladores locales obtienen madera para leña o construcción, alimento y ganancias económicas por el aprovechamiento del piñón, a lo que habría que agregarse que dichas comunidades naturales proporcionan una variedad de servicios ambientales (Villarreal et al., 2009). Las regiones y comúnmente sus poblaciones son escasas, aisladas y, a menudo, restringidas a hábitats muy específicos (Perry et al., 1998)

Los pinos piñoneros se encuentran en zonas donde predomina el clima mediterráneo seco como en California y Baja California, que se caracteriza por tener veranos calurosos, secos y soleados, primaveras con temperatura variable, y con otoños e inviernos fríos y lluviosos (Arroyo, 1995). Este tipo de clima favorece la vegetación que está adaptada a periodos prolongados de sequía por lo cual ha creado mecanismos de defensa contra plagas debido a las sequías (Nieto de Pascual Pola, 2013) Las semillas de *P. quadrifolia* son de alrededor de 10 mm a 12 mm de largo, tienen forma elipsoidales y lisas que cuando maduran van cambiando a amarillas, para el desarrollo de la semilla se necesitan 90 días desde la polinización hasta que se madura la semilla (Eckenwalder, 2009).

El piñón tiene alto valor nutricional y cualidades muy aceptables para la repostería (Lanner, 1981). Tiene aceptación en el mercado de México y en el exterior; su consumo y venta es de vital importancia para mejorar o incrementar el ingreso de los productores, que cuentan con este tipo de árboles en sus terrenos (Eguiluz, 1982; García y Gómez, 1988). La venta y la transformación del piñón no solo generan grandes beneficios a los dueños de las áreas forestales, sino que también, aporta ganancias a pequeñas y

grandes empresas que lo utilizan en el arte culinario, tanto en repostería como en dulces típicos regionales, a compradores primarios y comercializadores (Chambers et al., 1999; Velasco, 2000; González et al., 2006). La depredación de piñones por humanos y animales suele tener un impacto dependiendo de la intensidad de la recolección, la pérdida de semillas implica pérdida de germoplasma y se convierte en una fuerza de selección, en el caso de las coníferas y especialmente en los pinos piñoneros es un factor que es necesario considerar pues se ha descubierto que la incidencia de los herbívoros en los conos reproductivos, provocan una pérdida de alrededor del 55% del germoplasma que producen (McNaughton y Wolf, 1979). Tal parece que la depredación de la semilla excesiva es un riesgo de conservación, incluso en circunstancias de forrajeo es decir por animales como las aves y roedores (Cetina, 1984), para la mayoría de los piñoneros el humano es el primer depredador de su semilla para el consumo y comercio (Nieto de Pascual Pola, 2013).

La recolección del piñón causa una modificación importante a su ecosistema, debido a que la testa que recubre al piñón es lo suficientemente dura para que el animal como los roedores pierda el interés dependiendo si el alimento que encuentre dentro le sea satisfactorio, o dejarlo en el camino, pudiendo así germinar, lo que implicaría modificaciones y cambios estructurales en sus poblaciones dependiendo del alcance de la semilla (Nieto de Pascual Pola, 2013).

Es de vital importancia reconocer factores importantes para la dispersión correcta de las semillas de los pinos piñoneros, la capacidad de la semilla para germinar y desarrollarse, el flujo génico y otros aspectos ecológicos (Dawson et al., 2011). También influyen algunos factores abióticos y bióticos, como la cantidad anual de precipitación, la

temperatura, evapotranspiración, la depredación de semillas y la competencia, entre otros que limitan la distribución de una especie (Krebs, 2001; Molles, 2002). Una de las razones de la poca diferenciación genética entre poblaciones encontrada en algunas especies de coníferas se fundamenta en la reproducción de este grupo. En la gran mayoría de las coníferas, la dispersión de las semillas y el polen es por anemocoria, la cual permite un flujo de genes por el aire, más distante y efectivo que otras poblaciones de árboles, pero es más sensible a factores como eventos históricos, lluvia, el mismo viento (fluctuaciones en el ambiente) y selección del hábitat micro espacial (Hamrick y Godt, 1996).

En los años de 2002 y 2003 hubo una gran pérdida de pinos piñoneros en California y Baja California debido a la sequía (Breshears et al., 2005), lo cual podría causar eventos de cuello de botella en las próximas generaciones (Mueller et al., 2005). Históricamente los cuellos de botella pueden causar poca diferenciación entre poblaciones por ejemplo los eventos de expansión y contracción de poblaciones como las glaciaciones del pleistoceno y la colonización por el efecto fundador (Aguirre-Planter et al., 2000). Como muchas de las zonas donde se distribuyen los pinos piñoneros tienden a desaparecer por el continuo aumento de las poblaciones humanas, o cambio de uso del suelo, es prioritario que en los planes de desarrollo de México se prevea y se considere el impacto de la acción humana sobre los recursos naturales.

Especie de estudio: *Pinus quadrifolia*

*Pinus quadrifolia* Parl. ex Sudw., es un árbol mediano que llega a medir de 10(16) metros de alto; su tronco llega a medir de 0.5 (0.7) m de diámetro; la corteza es marrón rojizo y de textura suave al inicio de su etapa posteriormente cambia a escamosa y de un color marrón grisáceo formando rectángulos separados por pequeños surcos. Su copa es densa y cónica al principio y se ensancha cada vez más. Sus acículas se arreglan en fascículos que están compuestos de dos a cinco acículas (raras veces 6) con un color verde oscuro. Sus cono ovulados suelen ser pequeños de unos 4-6 cm, con unas 5 a 10 escamas fértiles; las semillas carecen de ala funcional, aunque tienen una pequeña ala vestigial. Habitan en lugares donde presentan una precipitación anual moderada de aproximadamente 300-500 mm; normalmente crece en suelos volcánicos o graníticos, moderadamente ácidos con un pH que varía de 4-7, es de lento crecimiento típico de plantas que crecen en lugares con escasez de agua (IUCN 2011). Se restringe en los estados de Baja California en México y California en Estados Unidos, se encuentra en simpatria con *Pinus monophylla* var. *californiarum*, en elevaciones que varían entre los 900–2400 msnm, la dispersión de polen ocurre de marzo a abril (Farjon y Styles, 1997).

Su ubicación aislada y desértica hace que sea difícil conservar este pino. Según la IUCN (2013) es una especie de menor preocupación, con poblaciones que se encuentran estables en una zona donde no hay un plan de manejo regional por área, pero que se encuentra mayoritariamente dentro áreas protegidas. No está sujeto a programas de educación y concientización, ni legislación y no tiene control de gestión a comercio internacional (IUCN, 2013).

*P. quadrifolia* convive simpátricamente con *P. monophylla* ambas especies de pinos piñoneros se establecen en las zonas más xéricas, siendo su hábitat discontinuo y con baja frecuencia de fuegos, se consideran a los pinos piñoneros resistentes al estrés hídrico, de escasa, altura, hojas persistentes y lento crecimiento, requiriendo varios años para producir semillas. Estos pinos crecen en hábitats fríos o secos, o ambos, y sus semillas son dispersadas por aves (McCune, 1988), por mamíferos de talla mediana y pequeña que suelen encontrarse en bosques de pino, como ciervos, lince, ardillas, entre otros. El manejo de estos bosques y sus recursos naturales se miden por la acumulación y reserva de nitrógeno y dióxido de carbono, el control de la erosión, el correcto manejo de estos bosques es llevado a cabo por la CONAFOR en el que se regula la obtención de recursos no maderables, necesidades de recuperación forestal, la prevención, combate y control de descortezadores en bosque de pino, incendios forestales, disminución de combustibilidad en áreas de alto riesgo, recuperación de áreas de bosque afectadas por incendios forestales (CONAFOR, 2004).

Los usos que se le dan a *P. quadrifolia* es la leña y el consumo y venta de su semilla el piñón. En la naturaleza suele ser alimento de animales como ardillas y aves, que son sus principales consumidores y dispersores. No hay gran impacto ecológico con el consumo de su semilla por parte de los ellos, debido a ser un pequeño grupo de forrajeo, pero si por parte del humano pues la recolección es excesiva (Moreno Letelier A., comunicación personal, 2019). El piñón de *P. quadrifolia* tiene 11% de proteína, 37% de grasas y 44% de carbohidratos totales, son ricos en calcio, magnesio, potasio, sodio una gran cantidad de fitoesteroles que son benéficos para la salud (FAO, 1995) .Se suele

usar para la preparación de chiles en nogada, mole, helados, tamales, etc..., formando parte de la comida tradicional mexicana.

## **Objetivos**

### *Objetivo general*

- Analizar la distribución potencial y la diversidad genética de *Pinus quadrifolia*, para analizar su estado de conservación.

### *Objetivos particulares*

- Analizar la distribución potencial de la especie a partir de datos de presencia y mediante análisis de sistemas de información geográfica, para inferir su potencial para la reforestación en el presente y detectar posibles afectaciones futuras por el cambio climático global.
- Describir la variabilidad genética de la especie y el nivel de estructuración de las poblaciones mediante el análisis de marcadores genómicos.

## **Hipótesis**

Considerando que en los pinos el flujo génico es intenso se espera encontrar poca estructuración entre las poblaciones y menor variación genética que otras especies de pinos, considerando que sus poblaciones no son tan grandes debido a su limitada distribución.

## **Justificación**

El área de distribución de *P. quadrifolia* es relativamente pequeña respecto a otras especies de pinos que tienen mayor dispersión (Farjon y Styles, 1997). Sus poblaciones están dispersas, tienen mucho consumo de semillas por parte de los humanos, roedores y aves, que disminuyen el reclutamiento de nuevos pinos e impide la restauración a futuro. Es importante conservar esta especie ya que además de brindar beneficios económicos, nos brindan beneficios ecológicos (García y González, 2003; Ramírez-Herrera et al., 2005). Es valioso conocer el grado de variación de las especies que aún no se encuentran en peligro de extinción, pues así se pueden conocer la vulnerabilidad y nos da la capacidad de caracterizar el germoplasma para un futuro no tan prometedor en una especie que está distribuida en una zona relativamente pequeña.

## **Material y métodos**

### *Muestreo y obtención de datos*

Las muestras de ADN incluidas en este trabajo fueron obtenidas previamente por David Gernandt (Instituto de Biología, UNAM) y colaboradores, como parte de un amplio proyecto de investigación de sistemática de pinos piñoneros. Para este proyecto se obtuvieron acículas verdes de 27 individuos adultos (Fig.1) en Baja California (México) y California (Estados Unidos de América). Los árboles muestreados fueron georreferenciados, las hojas se pusieron en bolsas de papel dentro de bolsas con sílica gel, que se mantuvieron a una temperatura de -20° C. Se extrajo ADN de acículas verdes con un protocolo estándar de CTAB (Doyle y Doyle, 1987).

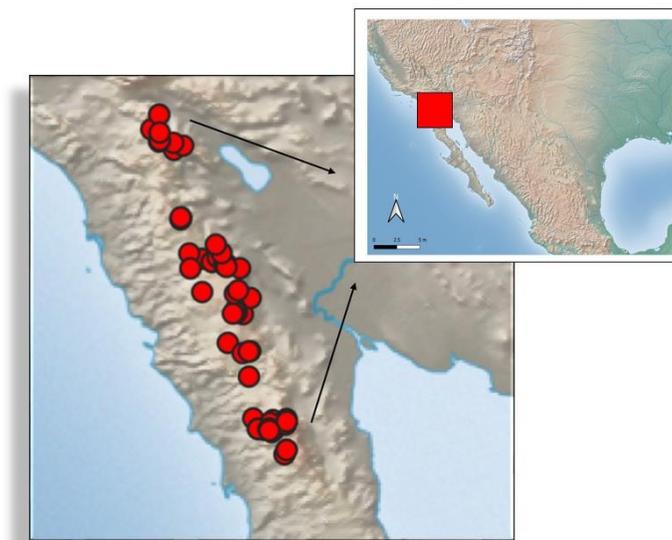


Figura 1. Mapa de sitios de colecta de *Pinus quadrifolia* California y Baja California.

#### *Análisis y obtención de genotipos*

Se hizo una captura de secuencias de 1045 genes nucleares putativos mediante el método de Hyb-Seq (Weitemier et al., 2017) Se diseñaron las sondas a partir de las secuencias de distintas especies de *Pinus* (Neves et al., 2013). Los métodos para la síntesis de bibliotecas True-Seq Illumina (Illumina, San Diego, California) y la secuenciación Hyb-Seq Illumina, están descritos a detalle en Gernandt et al. (2018) y Montes et al. (2019).

Una vez que se obtuvieron las lecturas para nuestras muestras, se recortaron los adaptadores con el programa Trimmomatic v 0.36 (Bolger et al., 2014), que permite hacer un recorte de las lecturas, para tener lecturas del mismo largo sin los adaptadores (Bolger et al., 2014). Posteriormente, se alinearon las lecturas con el programa de BWA v. 0.7.1

(Li y Durbin, 2009) y se realizó el llamado de variantes para poder identificar SNPs (polimorfismos de un solo nucleótido por sus siglas en inglés; *Single Nucleotide Polymorphism*), con mpileup de Samtools. Los SNPs nos permiten determinar las variaciones que hay entre los individuos de una población y entre las poblaciones como mutaciones puntuales y evaluar la variación genética.

Las lecturas de *P. quadrifolia* se mapearon sobre los genes del ensamble, mediante el uso del programa IGV v2.5.3. Se analizaron los genes para evitar lecturas parálogas considerando los siguientes criterios a) todos los individuos resultaron heterocigotos para un sitio o más en el archivo *vcf*, b) sitios con polimorfismos de tres nucleótidos para el mismo individuo en los archivos *bam*, c) más de 10 sitios polimórficos para un solo gen con frecuencias de heterocigosis superiores al 90%.

#### *Análisis de la variación genética*

Los parámetros de genética de poblaciones fueron calculados mediante el programa GenAIEx 6.5 (Peakall & Smouse, 2012): porcentaje de sitios polimórficos, número efectivo de alelos, heterocigosis esperada ( $H_e$ ), heterocigosis observada ( $H_o$ ), alelos privados,  $F_{st}$  promedio y el índice de fijación ( $f_x$ ).

El análisis de estructura poblacional se realizó para los genotipos de los 272 loci de los 27 individuos de *P. quadrifolia* en el programa STRUCTURE v2.3.4 (Pritchard et al. 2000); simulación para  $K_1 - K_{10}$ , con 10 iteraciones para cada nivel y un *burnin* de 1000 seguido de 2000 réplicas de MCMC. Mediante el método de Evanno, implementado

en el programa STRUCTURE HARVESTER (Earl, 2012), se determinó el nivel de estructuración más adecuado para nuestros datos.

Para conocer el nivel de varianza genético se realizó un análisis de componentes principales (PCA) mediante el comando dudi.PCA implementado en el programa ade4 en R studio (Equipo RStudio, 2015). Para detectar aislamiento por distancia se aplicó la prueba de Mantel implementada en el programa GenAlEx 6.5. La distancia genética fue calculada a partir de comparaciones pareadas entre los individuos estimando la distancia genética absoluta de Prevosti a través del programa Adegenet R package (Jombart, 2008, Equipo RStudio, 2015) en R studio (Equipo RStudio, 2015). La distancia geográfica entre coordenadas se transformó con base en el  $\ln(1 + \text{Distancia Geográfica})$ .

### *Modelado del nicho*

El modelado de nicho se hizo utilizando varios programas con algoritmos basados en la parsimonia y entropía máxima. Se analizaron las 19 capas bioclimáticas de WorldClim (Hijmans et al., 2005) con una resolución de 2.5min en el programa de RStudio (Equipo RStudio, 2015) y se definió mediante la correlación de Spearman el factor de inflación de varianza tanto para las capas presente y futuro, de las cuales solo se utilizaron las que no están correlacionadas en *P. quadrifolia*. Para el mapa de proyecciones al futuro nos restringimos a 7 variables: 1) Intervalo diurno medio (promedio mensual (temperatura máxima - temperatura mínima)), 2) Isotermalidad, 3) precipitación del mes más seco, estacionalidad de la precipitación (coeficiente de variación), precipitación del trimestre más seco, precipitación del cuarto más cálido y la precipitación del cuarto más frío. Se

utilizaron las capas de CCSM4 (Community Climate System Model) con un RCPs (Representative Concentration Pathways) (Moss et al., 2010; Van Vuuren et al., 2011) que nos proporciona información sobre las probables trayectorias hacia el futuro, considerando los agentes principales del cambio climático, como la liberación de dióxido de carbono y en general los gases que ocasionan el efecto invernadero. Con una concentración específica de 8.5 siendo este el escenario más extremo y corresponde a concentraciones de 1370 ppm de CO<sub>2</sub> (Van Vuuren et al., 2011). Se hace una combinación de la tasa poblacional y del crecimiento lento de ingresos y cambios tecnológicos para el consumo energético, proyectando así a largo plazo una falta de insumos energéticos limpios y de políticas ambientales para regular las emisiones de dióxido de carbono y proteger el medio ambiente (Riahi et al., 2007 y 2011; Edenhofer et al., 2014). Se evalúa la relación monótona entre dos variables continuas puesto que en una relación monótona las variables suelen cambiar al mismo tiempo; se basa en los datos de cada variable y no en los datos sin procesar, posteriormente se utiliza el factor de inflación de varianza, es decir una fuerte relación lineal entre sus variables por lo que el resultado sin hacer este ejercicio previo pueda ser erróneo o muy alejado de la realidad (Fox y Weisberg, 2011).

Posteriormente utilizamos las capas de WorldClim no correlacionadas, para evitar el sobre ajuste del modelo obtenido por Maxent (Elith et al., 2011., Phillips y Dudik, 2008). En el caso de este programa lo que se busca es un enfoque de máxima entropía es decir, encontrar una distribución pi que tenga medias de los valores ambientales parecidos a los empíricos pero que no deduzca nada que no se sabe (Soberón, 2012). Finalmente nos apoyamos en un programa de sistema de información geográfica, para el mapa de

la distribución actual, por sus siglas SIG, llamado Qgis que permite modelar los puntos (Qgis, 2013).

## **Resultados**

### *Variación genética de la especie*

Después del análisis de genes para eliminar aquellos que mostraron evidencia de mapeo de lecturas parálogos, se obtuvieron 374 genes con mapeos ortólogos de los cuales 82 fueron excluidos por no presentar variación para un total final de 292 genes con 572 SNPs en equilibrio Hardy-Weinberg y sin ligamiento.

La especie mostró mayor heterocigosis observada que la esperada (Tabla 1) y bajos niveles de estructura (Tabla 2). Se encontraron valores negativos del índice de fijación lo cual indica que los individuos están menos relacionados de lo que se esperaría con un modelo de apareamiento aleatorio. La frecuencia de alelos privados por población es muy baja. Mientras que hay alta frecuencia de loci polimórficos, en todas las poblaciones siendo los más altos los de Santa Catarina (Tabla 1). El número efectivo de alelos es muy similar a todas las poblaciones.

**Tabla 1. Diversidad genética para las poblaciones de *P. quadrifolia***

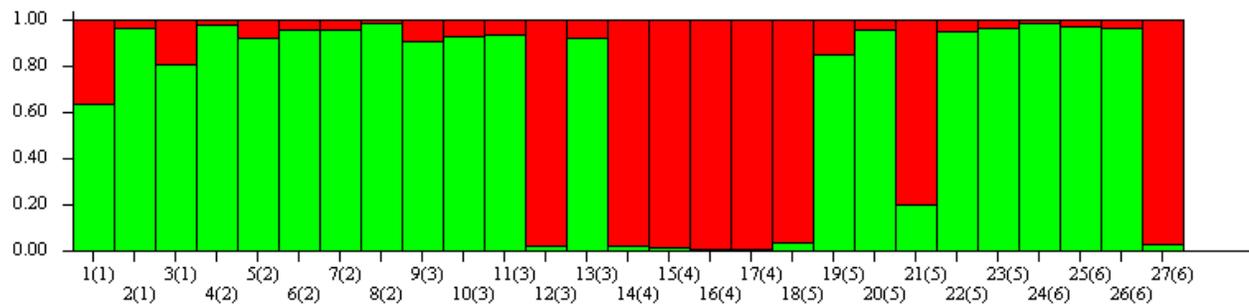
Número de individuos (N), Heterocigosis observada (Ho), Heterocigosis esperada (He), Fst promedio, índice de fijación

Población	N	Locí % Polimórfico	Alelos Efectivos	Ho	He	Alelos Privados	Fst promedio	Índice de fijación
California	3	59.58	1.374	0.289	0.222	0.000	0.074	- 0.282
La rumorosa	5	68.97	1.368	0.267	0.223	0.002	0.062	- 0.175
La Calera	5	75.86	1.408	0.307	0.247	0.002	0.056	- 0.201
Sierra de Juárez	4	71.84	1.446	0.356	0.260	0.003	0.075	- 0.312
Santa Catarina	6	76.05	1.386	0.288	0.237	0.002	0.055	- 0.179
San Pedro Mártir	4	65.52	1.372	0.279	0.225	0.000	0.068	- 0.213
<b>Total</b>	4.67	69.64	1.392	0.298	0.236	0.002	0.065	-0.225

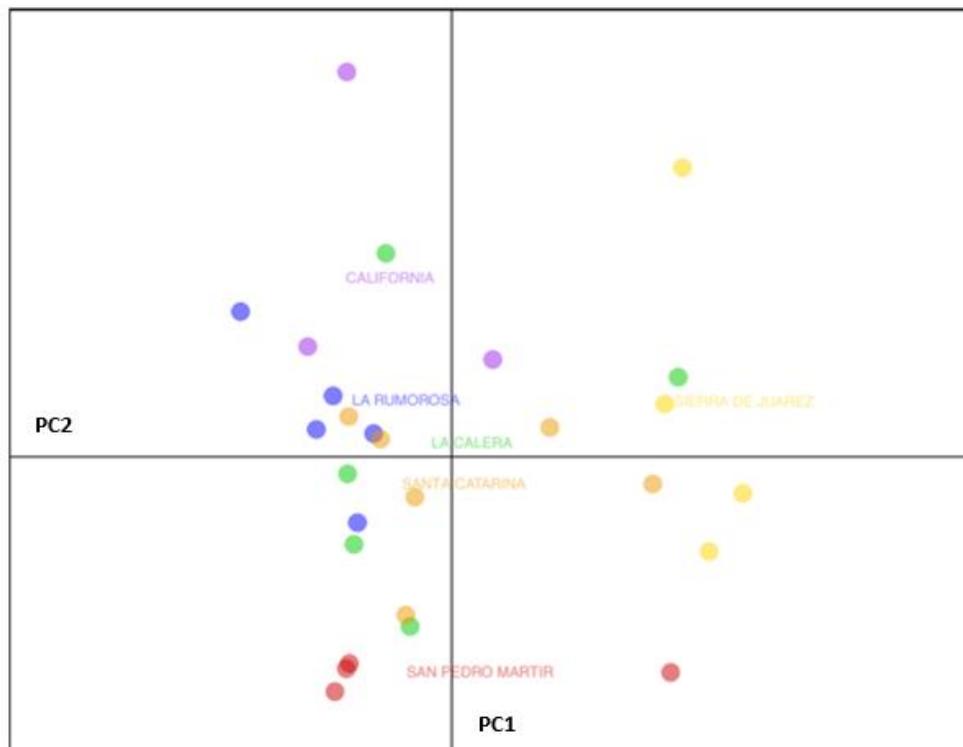
**Tabla 2. Fst pareados por población obtenidos para 522 SNP's**

	California	La Rumorosa	La Calera	Sierra de Juárez	San Pedro Mártir
<b>La Rumorosa</b>	0.0608				
<b>La Calera</b>	0.0570	0.0495			
<b>Sierra de Juárez</b>	0.0862	0.0809	0.0626		
<b>Santa Catarina</b>	0.0590	0.0459	0.0417	0.0596	
<b>San Pedro Mártir</b>	0.0798	0.0649	0.0526	0.0788	0.0524

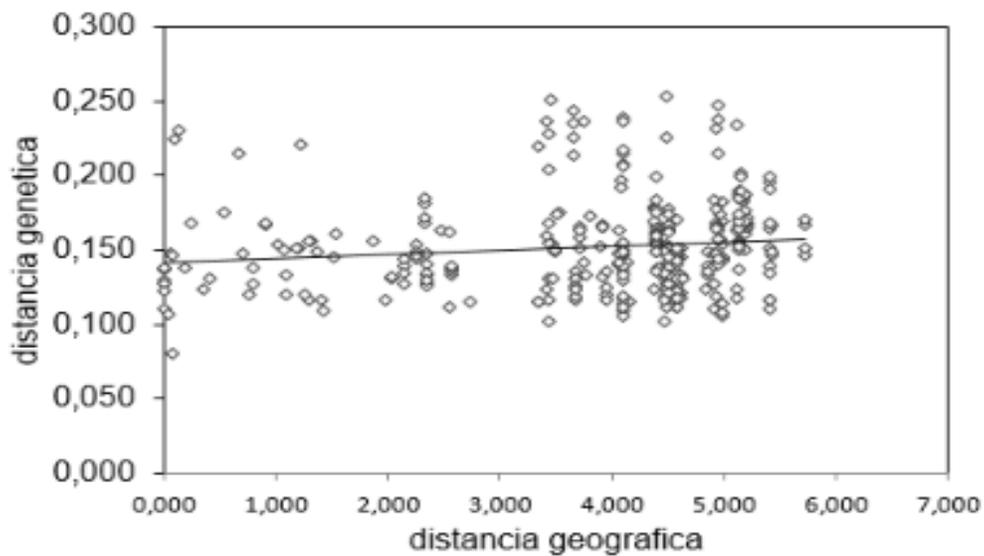
De acuerdo con el criterio de Evanno y el análisis de STRUCTURE se determinó que el nivel de estructuración más adecuado para nuestros datos es  $K=2$  (Figura 2). En el análisis de componentes principales (PCA) se observa una separación de dos grupos en el PC1, Sierra de Juárez, un individuo de San Pedro Mártir, Santa Catarina, la Calera y California y el resto de los individuos de las demás poblaciones (Figura 3), la cual se relaciona con los dos grupos genéticos inferidos en STRUCTURE la presencia de admixtura observada para el nivel  $K=2$  del análisis de STRUCTURE. En el caso de *P. quadrifolia* se puede observar que la separación por el PC2 permite distinguir un patrón asociado con la distribución latitudinal, California, La Rumorosa, Calera, Sierra de Juárez, Santa Catarina y San Pedro Mártir, de norte a sur respectivamente (Figura 3). El grupo genético menos representado se encuentra principalmente en las poblaciones Sierra de Juárez, La Calera y San Pedro Mártir. El otro grupo corresponde al resto de las poblaciones. Algunos individuos presentan evidencia de admixtura entre los dos grupos genéticos (Figura.2) No se encontró correlación entre la distancia genética y la distancia geográfica de acuerdo con el test de Mantel indicando que no hay un patrón de aislamiento por distancia (Figura3).



**Figura 2. Análisis de STRUCTURE de *P. quadrifolia*.** Los números entre paréntesis corresponden a las siguientes poblaciones 1) California (EUA), 2) La Rumorosa (MEX), 3) La Calera (MEX), 4) Sierra de Juárez (MEX), 5) Santa Catarina (MEX), 6) San Pedro Mártir (MEX).



**Figura 3. Análisis de componentes principales (PCA)** utilizando 522 SNPs de las poblaciones analizadas las cuales están indicadas por diferentes colores. 1) California (morado), 2) La Rumorosa (azul), 3) La Calera (verde), 4) Sierra de Juárez (amarillo claro), 5) Santa Catarina (amarillo mostaza), 6) San Pedro Mártir (rojo).

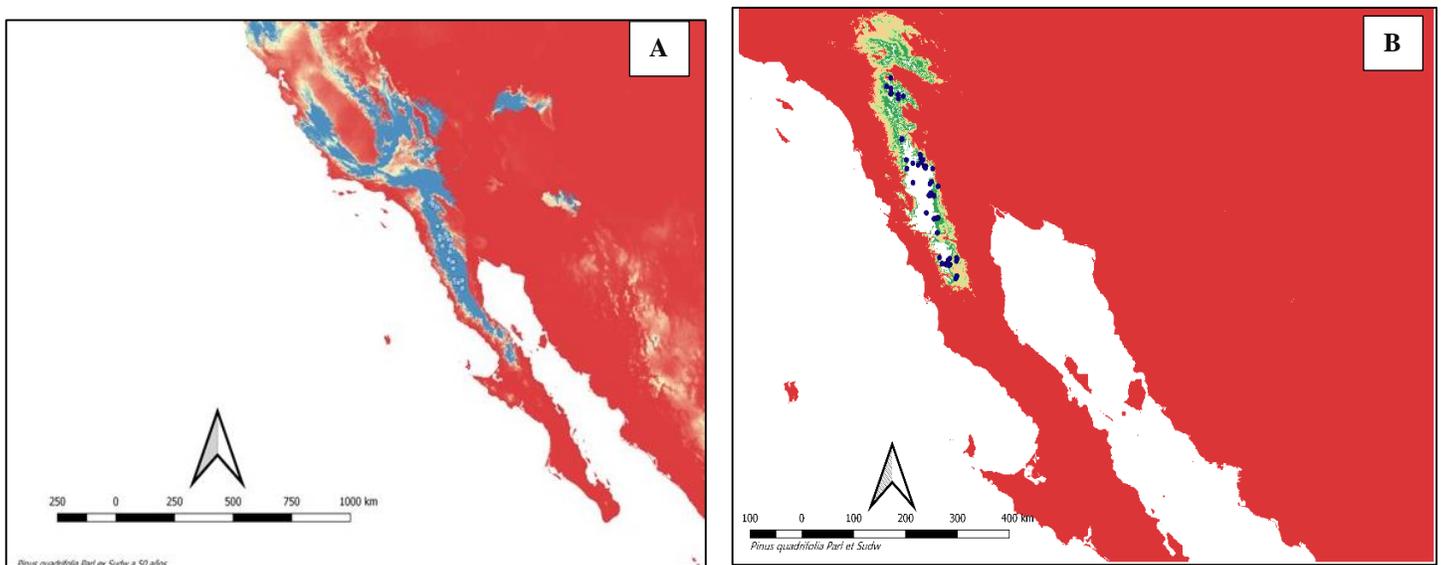


**Figura 4. Test de Mantel para probar aislamiento por distancia.**

#### *Análisis de modelado de nicho*

El análisis de modelado de nicho nos arroja una distribución potencial muy similar a los datos de presencia de la especie, restringida a un área distribuida entre Baja California, México y California, EUA (Figura 5). De acuerdo al análisis de modelado de nicho nos da

un resultado aproximado en el que nos permita conocer la distribución potencial de *P. quadrifolia* a una proyección a 50 años (Figura 6). probablemente el clima mediterráneo predomine en esa zona y el desarrollo urbano impida que *P. quadrifolia* aumente su distribución. Por lo que es importante que se conserve esas zonas, especialmente aquellas que tengan mayor diversidad y que estén más susceptibles a fuegos, cambios de uso de suelo y/o pastoreo (Rzedowskii, 1978).



**Figura 5. Mapa de proyección potencial de *Pinus quadrifolia* a futuro (50 años) (A) y Mapa de proyección potencial actual (B), los puntos que se observan son las poblaciones muestreadas en los colores más intensos existe una mayor probabilidad de encontrar a *P. quadrifolia* que en los colores claros.**

## Discusión

### *Variación y estructura genética*

En este trabajo se realizó el estudio de la variación genética de *P. quadrifolia* en todo su rango de distribución con base en el genotipado de SNPs de los snps a partir del genoma nuclear. Se encontró que es mayor la heterocigosis observada que la heterocigosis esperada y valores negativos en el índice de fijación, lo cual significa que los individuos están poco relacionados entre sí. De acuerdo con los valores de  $F_{st}$  (Tabla 2) existe muy poca diferenciación entre las poblaciones con un rango entre (el menor y mayor  $f_{st}$  mayor y  $f_{st}$  menor), siendo Sierra de Juárez la población más diferenciada con un promedio de  $F_{st}= 0.075$  respecto a las otras poblaciones. En el análisis de componentes principales también demuestra que la población de Sierra de Juárez se diferencia de las demás (Figura 3), lo cual se corrobora con el análisis de STRUCTURE (Figura 2). Se puede deducir que esta población de la sierra de Juárez aporta información genética pero casi no recibe (Hubisz et al., 2009), se encontró una información similar en los estudios de donde *P. pseudostrobus* el cual tiene  $H_o=0.206$  y  $F= -0.031$ , es decir un índice de fijación negativo, aunque no sea significativo se puede encontrar en pinos, lo cual significa que evitan la endogamia. De acuerdo con la prueba de Mantel (Figura 4) no existe aislamiento por distancia en las poblaciones analizadas a pesar de que se observa un patrón latitudinal de la distribución genética en el análisis de componentes principales (Figura3) como en otros reportes (Delgado et al., 1999) ., Lezama et al., n.d.) se observan poblaciones con una correlación de Pearson  $r= 31$ ,  $r=21$  respectivamente a

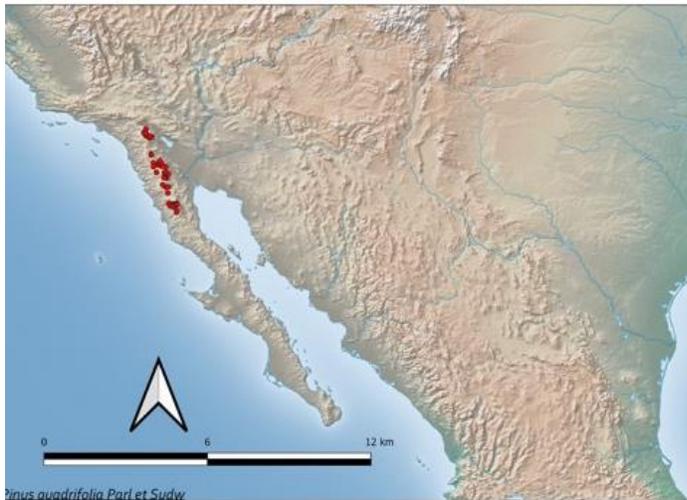
diferencia de otros piñoneros *P. quadrifolia* muestra menor correlación entre la distancia geográfica y la genética.

### *Modelado de nicho*

En el modelado de nicho (Figura 6) podemos observar una amplia distribución a futuro aún más grande que la actual. Sin embargo, no se toma en cuenta los cambios de uso de suelo, los incendios potenciales, el aumento de los océanos y/o cambios históricos que puedan surgir dentro de los próximos 50 años. En la actualidad no corre ningún riesgo genético de extinción, pues se puede conservar pocas poblaciones y tener así gran variedad genética debido a la alta variación genética y poca diferenciación interespecífica. Actualmente no existe ninguna prioridad de conservación sobre todo las que se encuentran en las zonas aledañas a las ciudades y que realmente se encuentran amenazadas debido a la actividad del hombre, es importante destacar que para el modelado de nicho se utilizan variables como el clima, la temperatura, las precipitaciones (Schumann et al., 2016; Qin et al., 2017) para tener una proyección más acertada, sin embargo el desarrollo humano y los incendios no son tomados en cuenta en este estudio.

La distribución potencial en piñoneros es un modelo que puede considerarse como una aproximación real de la especie (Delgado et al., 2012), aún cuando no se consideran todas las variables que pueden llegar a modificar su entorno. La dependencia del cambio de uso de suelo, la inminente urbanización y el cambio climático hace que estos modelos lleguen a sobreestimar la distribución incluso si el software que se utiliza datos de presencia (Phillips et al., 2006). El muestreo de este estudio es pequeño y se necesita un muestreo más amplio, teniendo así más muestras por población. Conociendo

y haciendo un análisis bioclimático de *P. quadrifolia* podemos deducir en que regiones se espera un mayor desarrollo de la especie, es importante para en un futuro hacer un plan de manejo de la especie e incrementar potencial productivo según los estudios de Aceves-Rangel et al.,(2018).



**Figura 6.** Mapa de los puntos de muestreo de *P. quadrifolia* en California y Baja California

### *Conservación genética*

La conservación de *P. quadrifolia* es crucial como cualquier otra especie de pino, si bien no se encuentra es un estado de alto riesgo (UICN, 2011), es necesario no recurrir a un estado más avanzado de deterioro para evitar la reducción de diversidad genética, ya que existe un descenso alarmante de deforestación sobre todo de pinos en México y es importante su conservación desde puntos ecológicos y económicos. Según estudios de si no se crean programas de restauración sólidos en México, ya que los programas de reforestación que se crean son limitados y poco efectivos, se perderá gran parte de

diversidad de pinos. Las principales amenazas no son la parte genética ni ambiental, sino la explotación desmedida y el cambio de uso de suelo.

Para *P. quadrifolia* no se encontraron poblaciones aisladas y en contraste, se observó alta variación genética, comparable con especies de pinos que ocupan un rango geográfico más amplio. La proyección de distribución a futuro es esperanzadora, sin embargo se dedujo que el cambio climático no será la principal amenaza de una posible reducción a su población sino la explotación y cambio de uso de suelo y el desarrollo acelerado de las ciudades.

## Bibliografía

- Aceves-Rangel, L. D., Méndez-González, J., García-Aranda, M. A., Nájera-Luna, J. A., & León, N. (2018). Potencial distribution of 20 pine species in Mexico.
- Aguirre-Planter, E., Furnier, G. R., & Eguiarte, L. E. (2000). Low levels of genetic variation within and high levels of genetic differentiation among populations of species of *Abies* from southern Mexico and Guatemala. *American Journal of Botany*, 87(3), 362-371.
- Allendorf, F. W., Hohenlohe, P. A., & Luikart, G. (2010). Genomics and the future of conservation genetics. In *Nature Reviews Genetics* (Vol. 11, Issue 10, pp. 697–709).
- Anderson, R.P. (2013) A framework for using niche models to estimate impacts of climate change on species distributions. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1297, 8– 28.
- Arroyo MTK, L Cavieres, C Marticorena, & M Muñoz (1995) Convergence in the mediterranean floras in central Chile and California: insights from comparative biogeography. En: Arroyo MTK, PH Zedler & MD Fox (eds) *Ecology and biogeography of Mediterranean ecosystems in Chile, California, and Australia*: 43-88. Springer-Verlag, New York, New York.
- Barnosky, A. D., Matzke, N., Tomiya, S., Wogan, G. O. U., Swartz, B., Quental, T. B., Marshall, C., McGuire, J. L., Lindsey, E. L., Maguire, K. C., Mersey, B., & Ferrer, E. A. (2011). Has the Earth's sixth mass extinction already arrived In *Nature* (Vol. 471, Issue 7336, pp. 51–57).
- Benito, C. & F. J. Espino, 2012. *Genética, conceptos esenciales*. Editorial
- Birch, M. E., & Cary, R. A. (1996). Elemental carbon-based method for monitoring occupational exposures to particulate diesel exhaust. *Aerosol Science and Technology*, 25(3), 221-241.
- Bolger, A. M., M. Lohse, and B. Usadel. 2014. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30: 2114– 2120.
- Breshears, D. D., Cobb, N. S., Rich, P. M., Price, K. P., Allen, C. D., Balice, R. G., ... & Anderson, J. J. (2005). Regional vegetation die-off in response to global-

change-type drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(42), 15144-15148.

- Cetina A., V. M. 1984. Estudio sobre germinación del *Pinus cembroides* Zucc. en condiciones naturales. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Chapingo, Edo. de Méx., México. 136 p.
- Chambers, J. C.; Vanderwall, S. V. and Shupp, E. W. 1999. Seed and seedling ecology of piñon and juniper species in the pygmy woodlands of Western North America. *Bot. Rev.* 65(1):1-38.
- Cicero, C., and M. S. Koo. 2012. The role of niche divergence and phenotypic adaptation in promoting lineage diversification in the Sage Sparrow (*Artemisospiza belli*, Aves: Emberizidae). *Biol. J. Linn. Soc.* 107: 332– 354.
- Ciesla, W. 1995. Cambio climático, bosques y ordenamiento forestal, una visión de conjunto. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma. 146 p.
- Conde, C., Martínez B., Sánchez O., Estrada F., Fernández A., Zavala J y Gay C.. 2008. Escenarios de Cambio Climático (2030 y 2050) para México y Centro América. Temperatura y Precipitación. [http://www.atmosfera.unam.mx/gcclimatico/index.php?option=com\\_content&view=article&id=61&Itemid=74](http://www.atmosfera.unam.mx/gcclimatico/index.php?option=com_content&view=article&id=61&Itemid=74)(11 de agosto de 2009).
- Cuervo-Robayo, A. P., Téllez-Valdés, O., Gómez-Albores, M. A., Venegas-Barrera, C. S., Manjarrez, J. y Martínez-Meyer, E. (2014). An update of high-resolution monthly climate surfaces for Mexico. *International Journal of Climatology*, 34, 2427–2437.
- Delgado, P., Medrano, J. N., Carmen, M., Granados, R., Jesús, H., & Flores, M. (n.d.). Genetic variation in two pine seed natural stands established in michoacan state.
- Delgado, P., Pinero, D., Chaos, A., Perez-Nasser, N., & Alvarez-Buylla, E. R. (1999). High population differentiation and genetic variation in the endangered Mexican pine *Pinus rzedowskii* (Pinaceae). *American Journal of Botany*, 86(5), 669–676.
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue (No. RESEARCH).
- Earl DA: STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv Genet Resour* 2012, 4(2):359-361. 10.1007/s12686-011-9548-7
- Eckenwalder, J. E. (2009). *Conifers of the world : the complete reference*. Timber Press.
- Edenhofer O, Knopf B, Barker T, Baumstark L, Bellevrat E, Chateau B, Criqui P, Isaac M, Kitous A, Kypreos S, et al. (2010) The Economics of Low Stabilization: Model Comparison of Mitigation Strategies and Costs. *The Energy Journal* 31:11–48

- Eguiarte, L. E., Aguirre-Liguori, J. A., Jardón-Barbolla, L., Aguirre-Planter, E., & Souza, V. (2013). Genómica de poblaciones: Nada en Evolución va a tener sentido si no es a la luz de la Genómica, y nada en Genómica tendrá sentido si no es a la luz de la Evolución. *TIP*, 16(1), 42–56.
- Eguiluz, P. T. 1982. Clima y distribución del género *Pinus* en México. *Ciencia Forestal*. 7(38):30-44.
- Ellstrand N.C. & Elam D.R. 1993: Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. — *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 24: 217–242.
- Enríquez, E. R., Delgado-Valerio, P., García Magaña, J. J., & Molina Sánchez, A. (2019). Diversidad genética y conservación de pinos nativos de la cuenca del río Cupatitzio, en Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 10(52).
- Escalante, P., Navarro, A. G., & Peterson, A. T. (1998). Un análisis geográfico, ecológico e histórico de la diversidad de aves terrestres de México. *Diversidad biológica de México: orígenes y distribución*, 279-304.
- Espinosa-Organista, D., & Ocegueda-Cruz, S. (2008). La perspectiva biogeográfica y ecosistémica. *Capital Natural de México, Vol. I: Conocimiento Actual de La Biodiversidad.*, 33–65.
- Farjon A., Styles B. 1997 *Monografía de Flora Neotropica: Pinus (Pinaceae)* . Nueva York: el jardín botánico de Nueva York.
- Fontanella, F. M., N. Feltrin, L. J. Avila, J. W. Sites, and M. Morando. 2012. Early stages of divergence: phylogeography, climate modeling, and morphological differentiation in the South American lizard *Liolaemus petrophilus* (Squamata: Liolaemidae). *Ecol. Evol.* 2: 792– 808.
- Forrestel, E. J., D. D. Ackerly, & N. C. Emery. 2015. The joint evolution of traits and habitat: ontogenetic shifts in leaf morphology and wetland specialization in *Lasthenia*. *New Phytol.* **208**: 949– 959.
- Fox, J., & Weisberg, S. (2011). *Multivariate linear models in R. An R Companion to Applied Regression*. Los Angeles: Thousand Oaks.
- Franklin J (2009) *Mapping species distributions. Ecology, biodiversity and conservation*. Cambridge University Press, Cambridge
- Gaiji, S., et al., Content assessment of the primary biodiversity data published through GBIF network: Status, challenges and potentials. *Biodiversity Informatics* 8, 94–172 (2013).
- García A., A. y M. S. González. 2003. *Pináceas de Durango*. Instituto de Ecología, A.C. Comisión Nacional Forestal. México. 187 p.
- García, M. E. y Gómez, A. R. 1988. Estimación de la producción de piñón de los piñoneros del estado de San Luis Potosí. *Agrociencia*. 71:225-237.
- Gaston K, Spicer J (1998) *Biodiversity. An introduction*. Blackwell Science. Malden, EEUU. pp. 1-39.
- Gernandt, D. S., & Pérez-De La Rosa, J. A. (2014). Biodiversidad de Pinophyta (coníferas) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(SUPPL.).

- González, A. J.; García, M. E.; Vargas, H. J. J.; Trinidad, S. A.; Romero, M. A. y Cetina, A. V. M. 2006. Evaluación de la producción y análisis de conos y semillas de *Pinus cembroides* zucc. *Revista Chapingo*.
- *greggii* Engelm. In Artículo Científico *Rev. Fitotec. Mex* (Vol. 25, Issue 3).
- Guitérrez, E., & Trejo, I. (2014). Efecto del cambio climático en la distribución potencial de cinco especies arbóreas de bosque templado en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(1), 179–188.
- Halffter G, Ezcurra E (1992) ¿Qué es la biodiversidad? En Halffter G (Comp.) *La diversidad biológica de Iberoamérica I. Acta Zoológica Mexicana. Volumen Especial*. México. p. 4.
- Harper J, Hawksworth D (1995) Preface. En Hawksworth DL (Ed.) *Biodiversity, measurement and estimation*. Chapman Hall. Londres, Inglaterra. pp. 5-11.
- Harper, J. L., & Hawksworth, D. L. (1995). Preface in *biodiversity: measurement and estimation*. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 345, 5-12.
- Hijmans, R. J. et al. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *Int. J. Climatol.* 25: 1965–1978.
- Illoldi-Rangel, P., T. Fuller, M. Linaje, C. Pappas, V. Sánchez-Cordero, y S. Sarkar. 2008. Solving the maximum representation problem to prioritize areas for the conservation of terrestrial mammals at risk in Oaxaca. *Diversity and Distributions* 14:493-508.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 1998. *The Regional Impacts of Climate Change. An Assessment of Vulnerability. A special Report of IPCC Workers Group II*. Cambridge University Press. Cambridge, UK. 558 p.
- J. L. Hamrick and M. J. W. Godt
- Krebs, C. J. 2001. *Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance*, 5th ed. Benjamin/Cummings, San Francisco
- Ledig, F.T., 1988. The conservation of diversity in forest trees. *Bioscience* 38, 471–478.
- Lezama, C. P., Jesús Vargas Hernández, J., Ramírez Vallejo, P., Susana, H.,
- Li, H., & Durbin, R. (2009). Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. *bioinformatics*, 25(14), 1754-1760.
- Little, E.L., Jr. 1979. Checklist of United States trees (native and naturalized). *Agricultural Handbook No. 541*, U.S.D.A., Forest Service,
- Loa E, Cervantes M, Durand L, Peña A (1998) Uso de la biodiversidad. En *La diversidad biológica de México: Estudio de país*. CONABIO. México. p. 104.
- Manzanilla Quiñones, U., Delgado Valerio, P., Hernández Ramos, J., Molina Sánchez, A., García Magaña, J. J., & Rocha Granados, M. D. C. (2018). Similaridad del nicho ecológico de *Pinus montezumae* y *P. pseudostrobus* (Pinaceae) en México: implicaciones para la selección de áreas productoras de semillas y de conservación. *Acta Botanica Mexicana*, 126.

- Markert J.A., Champlin D.M., Gutjahr-Gobell R., Grear J.S., Kuhn A., McGreevy T.J., Roth A., Bagley M. & Nacci D. 2010: Population genetic diversity and fitness in multiple environments. — *BMC Evolutionary Biology* 10: 205,
- Mastretta-Yanes, A., Wegier, A., Vázquez-Lobo, A., & Piñero, D. (2012). Distinctiveness, rarity and conservation in a subtropical highland conifer. *Conservation Genetics*, 13(1), 211–222.
- Matocq, M. D., & Villablanca, F. X. (2001). Low genetic diversity in an endangered species: Recent or historic pattern? *Biological Conservation*, 98(1), 61–68.
- McCune, B. y M.J. Mefford. 1999. PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data, Version 4. MjM Software Design, Gleneden Beach, Oregon. 237 p.
- McNaughton, S. J. and Wolf, L. L. (1979) *General Ecology*. Holt, Rinehart and Winston, New York.
- Miller, K. R., & Lanou, S. (1995). *Planificación Nacional de la Biodiversidad: Pautas basadas en experiencias previas alrededor del mundo*. WRI, PNUMA, UICN. Washington.
- Molles, M. C., Jr. 2002. *Ecology: concepts and applications*, 2nd ed. McGraw-Hill Companies, Inc., Boston.
- Moss RH, Edmonds JA, Hibbard KA, Manning MR, Rose SK, van Vuuren DP, Carter TR, Emori S, Kainuma M, Kram T et al (2010) The next generation of scenarios for climate change research and assessment. *Nature* 463:747–756
- Mutke S., Gordo J., Gil L., 2005b. Variability of Mediterranean Stone pine cone yield: yield loss as response to climate change. *Agr Forest Meteorol* 132(3/4), 263-272
- Naoki, K., Gómez, M., López, R., Meneses, R., & Vargas, J. (2006). Comparación de modelos de distribución de especies para predecir la distribución potencial de vida silvestre en Bolivia. *Ecología En Bolivia: Revista Del Instituto de Ecología*, 41(1), 65–78.
- Nasri, N., Khaldi, A., Fady, B., & Triki, S. (2005). Fatty acids from seeds of *Pinus pinea* L.: Composition and population profiling. *Phytochemistry*, 66(14), 1729–1735.
- Navarro, A. G., A. T. Peterson, Y. Nakazawa-Ueji & I. Liebig-Fossas. 2003b. Colecciones biológicas, modelaje de nichos ecológicos y los estudios de la biodiversidad. Pp. 115-122. In: Morrone, J.J. & J. Llorente (Eds.). *Una perspectiva Latinoamericana de la Biogeografía*. CONABIO-UNAM, México.
- Neves, L. G., J. M. Davis, W. B. Barbazuk, and M. Kirst. 2013. Whole-exome targeted sequencing of the uncharacterized pine genome. *The Plant Journal* 75: 146– 156.
- Nienstaedt, H. (1976). *Adaptive variation--manifestations in tree species and uses in forest management and tree improvement*. USDA Forest Service General Technical Report NC.
- Nieto de Pascual Pola, C. (2013). Depredación de las semillas de *Abies religiosa* (Kunth) Schlttdl. et Cham. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 4(15), 87-102.

- Núñez, I., & Barahona, A. (2003). La Biodiversidad: Historia y Contexto de un concepto Irama Nuñez, Edgar Gonzalez-Gaudio y Ana Barahona (Vol. 28, Issue 7).
- of *Pinus greggii* Engelm. In Artículo Científico Rev. Fitotec. Mex (Vol. 25, Issue 3).
- Ortega, R. M. M., Pendás, L. C. T., Ortega, M. M., Abreu, A. P., & Cánovas, A. M. (2009). El coeficiente de correlación de los rangos de Spearman, caracterización. Revista Habanera de Ciencias Médicas, 8(2).
- Ortiz-Medrano, A., Scantlebury, D. P., Vázquez-Lobo, A., Mastretta-Yanes, A., &
- Ouborg, N. J., Pertoldi, C., Loeschcke, V., Bijlsma, R. K., & Hedrick, P. W. (2010). Conservation genetics in transition to conservation genomics. In Trends in Genetics (Vol. 26, Issue 4, pp. 177–187). Elsevier Ltd.
- Parmesan, C. 2006. Ecological and evolutionary response to recent climatic change. Annual Review of Ecology and Systematics 37:637-669.
- Perry, J. 1991. The pines of Mexico and Central America. Timber Press. Estados Unidos. 231 p
- Perry, J. P. Jr., A. Graham y M. D. Richardson. 1998. The history of pines in México and Central America. In: M. D. Richardson (ed). Ecology and Biogeography of *Pinus*. Cambridge University Press. Cambridge, UK. pp: 137-149.
- Peterson, A. T., H. Tian, E. Martínez-Meyer, J. Soberón y V. Sánchez-Cordero. 2005. Modeling ecosystems shifts and individual species distribution shifts. In Climate change and biodiversity, T. Lovejoy y L. Hannah (eds.). Yale University Press, Connecticut. p. 211-228.
- Peterson, A. T., V. Sanchez-Cordero, E. Martínez-Meyer, y A. G. Navarro-Sigüenza. 2006. Tracking population extirpations via melding ecological niche modeling with land-cover information. Ecological Modelling 195:229-236.
- Peterson, T. C., & Manton, M. J. (2008). Monitoring changes in climate extremes: a tale of international collaboration. Bulletin of the American Meteorological Society, 89(9), 1266-1271.
- Petrova, G., Petrov, S., Delcheva, M., & Bancheva, S. (2017). Genetic diversity and conservation of Bulgarian endemic *Verbascum tzar-borisii* (Scrophulariaceae). Annales Botanici Fennici, 54(4–6), 307–316.
- Phillips, S. B., Aneja, V. P., Kang, D., & Arya, S. P. (2006). Modelling and analysis of the atmospheric nitrogen deposition in North Carolina. International Journal of Global Environmental Issues, 6(2–3), 231–252.
- Piñero, D. (2016). Morphological and niche divergence of pinyon pines. Ecology and Evolution, 6(9), 2886–2896.
- Pounds, J. A., Fogden, M. P. L. y Campbell, J.H. 1999. Ecology: Clouded futures. Nature 398: 611-615.
- Private Forest-land Owners of the Northern United States, 1994 - Thomas W. Birch - Google Libros. (n.d.). Retrieved January 27, 2020, from <https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=ANsx9z5N7fkC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Birch,+T.W.+1996.+Private+forest->

land+owners+of+the+United+States,+1984.&ots=x89rwzic8L&sig=b1fquSmXJk91\_Ch58f2ofR5h4LE#v=onepage&q=Birch%2C T.W. 1996. Private forest-land owners of the United States%2C 1984.&f=false

- Qin, A., Liu, B., Guo, Q., Bussmann, R. W., Ma, F., Jian, Z., Xu, G., & Pei, S. (2017). Maxent modeling for predicting impacts of climate change on the potential distribution of *Thuja sutchuenensis* Franch., an extremely endangered conifer from southwestern China. *Global Ecology and Conservation*, 10, 139–146. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2017.02.004>
- Ramírez Enríquez, E., Delgado Valerio, P., Jesús, J., Magaña, G., & Molina Sánchez, A. (n.d.). Genetic diversity and conservation of native pines in the Cupatitzio river basin, in Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 10(52).
- Ramírez-Herrera, C., J.J. Vargas-Hernández y J. López-Upton. 2005. Distribución y conservación de las poblaciones naturales de *Pinus greggii*. *Acta Botánica Mexicana* 72: 1-16.
- Rao V.R. & Hodgkin T. 2002: Genetic diversity and conservation of plant genetic resources. — *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 68: 1–19.
- Redmond, M. D., Forcella, F., & Barger, N. N. (2012). Declines in pinyon pine cone production associated with regional warming. *Ecosphere*, 3(12), art120.
- Riahi K, Grübler A, Nakicenovic N (2007) Scenarios of long-term socio-economic and environmental development under climate stabilization. *Technol Forecast Soc Chang* 74:887–935
- Riahi K, Krey V, Rao S, Chirkov V, Fischer G, Kolp P, Kindermann G, Nakicenovic N, Rafai P (2011) RCP-8.5: exploring the consequence of high emission trajectories. *Climatic Change*.
- Ricker, M., & Hernández, H. M. (2010). Tree and tree-like species of Mexico: gymnosperms, monocotyledons, and tree ferns. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 81(1), 27-38.
- Ríos, E., R. Hoogh y J. Navar. 2008. Ensayo de especies con pinos piñoneros en el nordeste de México. *Revista Chapingo, Serie: Ciencias Forestales y del Ambiente* 14(2): 97-104
- Ríos-Muñoz, C. A., y A. G. Navarro-Sigüenza. 2009. Efectos del cambio de uso de suelo en la disponibilidad hipotética de hábitat para los psitácidos de México. *Ornitología Neotropical* 20:491-509.
- Rivero, A., & Mata, J. J. (n.d.). STRUCTURE OF GENETIC DIVERSITY IN NATURAL POPULATIONS OF *Pinus greggii* Engelm. In *Artículo Científico Rev. Fitotec. Mex* (Vol. 25, Issue 3).
- Rockström, J., Steffen, W., Noone, K., Persson, Å., Chapin, F. S., Lambin, E. F., ... & Nykvist, B. (2009). A safe operating space for humanity. *nature*, 461(7263), 472-475
- Rodríguez-Quilón I., Santos-del-Blanco L., Serra-Varela M.J., Koskela J., González-Martínez S.C. & Alía R. 2016: Capturing neutral and adaptive genetic

diversity for conservation in a highly structured tree species. — *Ecological Applications* 26: 2254–2266.

- Sánchez-Cordero, V., y E. Martínez-Meyer. 2000. Museum specimen data predict crop damage by tropical rodents. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97:7074-7077.
- Santos, F. D. (2008). Riesgos de insostenibilidad ¿Cuáles son los caminos hacia el desarrollo sostenible? Riesgos de la insostenibilidad ¿Cuáles son las vías para un desarrollo sostenible?. *Ciencia-Tecnología-Sociedad en Educación Científica Educación Científica y Desarrollo Sostenible*, 14.
- Schumann, K., Nacoulma, B. M. I., Hahn, K., Traoré, S., Thiombiano, A., & Bachmann, Y. (2016). Modeling the distributions of useful woody species in eastern Burkina Faso. *Journal of Arid Environments*, 135, 104–114. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2016.08.017>
- Soberón, J. & Peterson, A.T. (2005) Interpretation of models of fundamental ecological niches and species' distributional areas. *Biodiversity Informatics*, 2, 1-10
- Soberón, J., Osorio-Olvera, L., & Peterson, T. (2017). Revista Mexicana de Biodiversidad Nota de opinión Diferencias conceptuales entre modelación de nichos y modelación de áreas de distribución Conceptual differences between ecological niche modeling and species distribution modeling. *Enfermería Universitaria*, 88, 437–441.
- Solís V, Madrigal P, Ayales I (1998) Convenio sobre la diversidad biológica. Un texto para todos. Convention on Biological Diversity Secretariat. UICN, FES, FAO, FARBEN. San José, Costa Rica. 49 pp.
- Valencia Cabrera, L., Pérez Jiménez, M., (2015). Técnicas inteligentes en bioinformática.
- Van Vuuren DP, Riahi K (2011) The relationship between short-term emissions and long-term concentration targets—a letter. *Climatic Change* 104, Issue 3–4, 793–801
- Velasco, M. H. A. 2000. Sobrevivencia en los desiertos mexicanos. AGT Editor. D. F., México. 459 p.
- Velázquez, A., J. F. Mas, J. R. Díaz-Gallegos, R. Mayorga-Saucedo, P. C. Alcántara, R. Castro, T. Fernández, G. Bocco, E. Ezcurra, y J. L. Palacio. 2002. Patrones y tasas de cambio de uso de suelo en México. *Gaceta Ecológica* 62:21-37.
- Villarreal Quintanilla, J. Á., Mares Arreola, O., Cornejo Oviedo, E., & Capó Arteaga, M. A. (2009). Estudio florístico de los piñonares de *Pinus pinceana* Gordon. *Acta botánica mexicana*, (89), 87-124.
- Villaseñor, J. L. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(3), 559-902.
- Vol. 351, No. 1345, *Plant Life Histories: Ecological Correlates and Phylogenetic Constraints* (Sep. 30, 1996), pp. 1291-1298

- Walther, G.-R. et al. Ecological responses to recent climate change. *Nature* 416, 389–395 (2002) Washington, DC. 375 p.
- Wehenkel, C., Mariscal-Lucero, S. del R., Jaramillo-Correa, J. P., López-Sánchez, C. A., Vargas-Hernández, J. J., & Sáenz-Romero, C. (2017). Genetic diversity and conservation of Mexican forest trees (pp. 37–67).
- Weitemier, K., S. C. K. Straub, R. C. Cronn, M. Fishbein, R. Schmickl, A. McDonnell, and A. Liston. 2014. Hyb-Seq: Combining target enrichment and genome skimming for plant phylogenomics. *Applications in Plant Sciences* 2: 1400042.
- Weitemier, K., Straub, S. C. K., Fishbein, M., Bailey, C. D., Cronn, R. C., & Liston, A. (2019). A draft genome and transcriptome of common milkweed (*Asclepias syriaca*) as resources for evolutionary, ecological, and molecular studies in milkweeds and Apocynaceae. *PeerJ*, 2019(9).
- Wolfe, K. H., Li, W. H., & Sharp, P. M. (1987). Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84(24), 9054–9058.



Cuernavaca, Mor., a 7 de septiembre de 2020

**DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE**  
**DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES, UAEM.**  
**P R E S E N T E.**

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **C. María de Guadalupe Ocampo Millán**, con el título del trabajo **Genética de la conservación de *Pinus quadrifolia* Parl. ex Sudw. (Pinaceae)**

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR:  \_\_\_\_\_

VOTO EN CONTRA: \_\_\_\_\_

NECESITA AGREGAR O ELIMINAR ALGO: Sí. Se indica en el documento escrito.

COMENTARIOS: \_\_\_\_\_

ATENTAMENTE

**DR. FRANCISCO XAVIER GONZÁLEZ COZÁTL**









FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Licenciatura en Biología

Programa Educativo de Calidad Acreditado por el CACEB 2019-2023

Cuernavaca, Mor., 24 de agosto de 2020

**DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE**  
**DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES, UAEM.**  
**PRESENTE.**

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **C. María de Guadalupe Ocampo Millán**, con el título del trabajo **Genética de la conservación de *Pinus quadrifolia* Parl. ex Sudw. (Pinaceae)**  
En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR

ATENTAMENTE

**DRA. ALEJANDRA C. MORENO LETELIER**





Cuernavaca, Mor., 28 de agosto 2020

**DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE**  
**DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES, UAEM.**  
**P R E S E N T E.**

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **C. María de Guadalupe Ocampo Millán**, con el título del trabajo **Genética de la conservación de *Pinus quadrifida* Parl. ex Sudw. (Pinaceae)**  
En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: \_\_\_\_\_ X \_\_\_\_\_

VOTO EN CONTRA: \_\_\_\_\_

NECESITA AGREGAR O ELIMINAR ALGO: \_\_\_\_\_

COMENTARIOS: \_\_\_\_\_

**ATENTAMENTE**

\_\_\_\_\_  
**DRA. SONIA DÁVILA RAMOS**





