

Densidad de árboles vecinos y porcentaje de semillas llenas en *Pinus leiophylla* Schltdl. et Cham.

Carlos Alberto Ramírez-Mandujano✉, Juan Carlos González Cortés, Norma Lidia Valdovinos Rivera y Patricia López Aguirre

Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Edificio R, Ciudad Universitaria. Fco. J. Múgica s/n. Col. Felicitas del Río. Morelia, Michoacán; México

Resumen

La disminución en el tamaño de las poblaciones y su fragmentación genera aislamiento, que incrementa el porcentaje de autofecundación y consecuentemente la endogamia, lo que puede llevar a depresión con disminución en el vigor general incluyendo menor porcentaje de semillas llenas. Un estudio previo de indicadores reproductivos determinó que *Pinus leiophylla* en el norte de Michoacán tiene serios problemas reproductivos, que pudieran estar influidos por depresión endogámica. En dicho estudio no se incluyó la variable densidad de árboles vecinos de la misma especie en edad reproductiva. El objetivo de este trabajo fue determinar los efectos de la densidad de árboles circundantes en el porcentaje de semillas llenas. En 2012, se localizaron 46 de los 48 árboles utilizados en el estudio previo y se contó el número de árboles circundantes de la misma especie en edad reproductiva en un radio de 50 metros. Ninguno de los indicadores reproductivos tuvo una correlación significativa con el número de árboles vecinos. Adicionalmente se colectó semilla de 41 árboles, nueve de los cuales estaban aislados en un radio mínimo aumentado a 100 metros y se determinó el porcentaje de semillas llenas. Se aplicó prueba de t a dos colas para comparar árboles aislados con no aislados, y se corrió análisis de regresión. La prueba de t dio un valor de $P > |t| = 0.993$. Estos resultados indican que en la muestra colectada la densidad de árboles circundantes no está afectando al porcentaje de semillas llenas. Se discute la posibilidad de niveles altos de endogamia y purga genética.

Palabras clave: Aislamiento reproductivo, purga genética, depresión endogámica.

Abstract

The decrease in the size of the populations and their fragmentation produces isolation, which increases the percentage of selfing and inbreeding, which can lead to depression with a decrease in fitness, including low percentage of filled seeds. A previous study of reproductive indicators determined that *Pinus leiophylla* in Northern Michoacan has serious reproductive problems, which could be influenced by inbreeding depression. In that study, the variable density of neighboring conspecific trees in reproductive age was not included. The objective of this study was to determine the effects of the density of surrounding trees in the percentage of filled seeds. 46 of 48 trees used in the previous study were located in 2012 and counted the number of surrounding conspecific trees within a radius of 50 meters. None of the reproductive indicators was significantly correlated with the number of neighboring trees. It was additionally collected seed of 41 trees, nine of which were isolated in a minimum radius of 100 meters, and the percentage of filled seeds was determined. Two tailed T test was applied to compare isolated with non-isolated trees, and also regression analysis. T test gave a $P > |t| = 0.993$ value. These results indicate that in the collected sample, density of surrounding trees is not affecting the percentage of filled seeds. High inbreeding level and genetic purging possibilities are discussed.

Key words: Reproductive isolation, genetic purging, inbreeding depression.

Introducción

Pinus leiophylla Schltdl. et Cham. crece en forma silvestre en cuatro de las cinco principales cadenas montañosas de México (Sánchez-González, 2008), desde los 1,700 hasta los 2,800 msnm y con precipitaciones entre 600 y 1,300 mm (Eguiluz, 1982). *P. leiophylla* debería ser considerada como una alternativa en los programas de reforestación en el país, debido a su importancia en algunos ecosistemas, la capacidad de las plántulas de esta especie para sobrevivir y crecer en condiciones de humedad restringida (Martínez-Trinidad *et al.*, 2002); su madera con peso específico de 0.44 a 0.51, puede ser apta para elaborar cajas de empaque, postes para cerca, minas y construcción, durmientes, carbón vegetal, extracción de resina y poseer un alto potencial para recuperar suelos erosionados (CONAFOR, 2003).

La semilla y el polen de las coníferas (grupo al cual pertenece *P. leiophylla*) son dispersados por el

viento, y aunque éste puede transportarlos a distancias considerables, la mayoría de las semillas y polen solo alcanzan distancias menores a 10 m del árbol madre (Vander Wall, 1992; Burczyk *et al.*, 2004), lo que significa que la existencia de pocos árboles vecinos implica algún porcentaje de autofecundación e incremento en el coeficiente de endogamia.

En coníferas la depresión endogámica genera aborto de embriones (Owens *et al.*, 2008), mayor cantidad de semillas vanas con disminución de semillas llenas, mortalidad alta en etapas tempranas de desarrollo con germinación y tasas de crecimiento menores al promedio (Sorensen, 1971; Yazdani y Lindgren, 1991; Mosseler *et al.*, 2000; Remington y O'Malley, 2000), poniendo en riesgo la viabilidad de poblaciones pequeñas (Hart y Clark, 2007). Esto ya ha sido observado en agrupaciones con pocos ejemplares y aisladas de *Pseudotsuga menziesii* en diferentes localidades, en particular del centro de México (Mápula *et al.*, 2007), así como en *Picea mexicana* (Flores *et al.*, 2005).

P. leiophylla es una especie monoica, con estróbilos masculinos y femeninos, por lo que la probabilidad de autofecundación es alta (Williams, 2008). Normalmente no forma masas puras (Perry, 1991; Musalem y Martínez,

✉ Dr. Carlos Alberto Ramírez-Mandujano, e-mail: carmcarm@prodigy.net.mx, cramirzm@umich.mx
Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Edificio R, Ciudad Universitaria. Fco. J. Múgica s/n. Col. Felicitas del Río. Morelia, Michoacán, México (C. P. 58030).
Tel. y Fax 01 (443) 316-7412

2003), las poblaciones son pequeñas, con árboles dispersos, lo cual da lugar a escasez de polen y un nivel de endogamia alto (Saccheri *et al.*, 1998; Mosseler *et al.*, 2000), por un incremento en la autofecundación y paternidad compartida (Robledo-Arnuncio *et al.*, 2004; Iwasaki *et al.*, 2013). Según Mosseler *et al.* (2000) el porcentaje de semillas vanas estima directamente al coeficiente de endogamia.

En un estudio previo, Morales *et al.* (2010), hicieron análisis de conos para determinar el estado de indicadores reproductivos de *P. leiophylla* obteniendo un valor medio de 7.3% de semillas llenas, representando sólo 1.2 semillas llenas por cono, concluyendo que los resultados pueden ser atribuidos a una baja densidad de población y una consecuente escasez de polen; sin embargo, en ese estudio no se consideró la densidad de árboles vecinos de la misma especie en etapa reproductiva, que se ha reportado que influye en el porcentaje de autofecundación (Robledo-Arnuncio *et al.*, 2004) y de semillas vanas (Wang, 2003).

Por su parte Delgado (1992) reporta en esta misma especie 17% de semillas llenas en sitios seleccionados por contener masas puras o dominantes, mismo valor determinado por Gómez *et al.* (2010) en un huerto semillero, lo que da evidencia de que una mayor densidad de árboles vecinos de la misma especie influye favorablemente en el porcentaje de semillas llenas, como consecuencia de mayor cantidad de polen y menor porcentaje de autofecundación y consecuentemente menor coeficiente de endogamia (Naito *et al.*, 2008), que se traduce en menor nivel de depresión.

El objetivo del presente estudio fue determinar la influencia de la densidad de árboles vecinos de *P. leiophylla* en los indicadores reproductivos (Robledo-Arnuncio *et al.*, 2004), con énfasis en el porcentaje de semillas llenas y vanas como indicadores del nivel de endogamia (Mosseler *et al.*, 2000) en los individuos muestreados por Morales *et al.* (2010) y con el porcentaje de semillas llenas en una muestra adicional de árboles seleccionados por encontrarse ya sea aislados, o no aislados de otros individuos de la misma especie.

Material y métodos

En enero de 2012 se localizaron 46 de los 48 árboles que se habían utilizado en el estudio de Morales *et al.* (2010) en el suroeste de la cuenca del Río Angulo, Michoacán, y se contabilizó el número de árboles vecinos de la misma especie produciendo polen, para lo cual se consideró un diámetro a la altura del pecho (DAP) superior a 15 cm, el doble del reportado por Jasso y Jiménez (1994) para iniciar la toma de datos de floración femenina en árboles de siete años de edad contados desde la siembra en vivero, y tomando en cuenta también el hecho de que esta especie tiene un inicio precoz de la etapa reproductiva, a los cinco o seis años (López-Upton, 2003).

El conteo se hizo en un radio de 50 metros, distancia mínima utilizada en otros estudios para evitar la existencia de parentesco entre individuos muestreados (Rodríguez-Laguna y Capó-Arteaga, 2005; Viveros *et al.*, 2005). Los árboles de la misma especie recientemente talados fueron incluidos en el conteo, identificando la misma por la corteza del tocón, que es claramente diferente a la de otras especies de *Pinus* que crecen en el sitio de estudio.

Se hizo un muestreo adicional de árboles en la parte norte de la subcuenca del lago de Pátzcuaro en los municipios de Quiroga y Tzintzuntzan, Michoacán (**Figura 1**), en altitudes entre los 2100 y 2500 msnm para recolectar 10 conos en cada uno de 41 individuos, clasificándolos como aislados cuando no existían árboles vecinos de la misma especie en un radio de 100 metros, distancia determinada como el espacio corto ("short-distance") para la ocurrencia de la polinización cruzada (no autofecundación) por viento (Naito *et al.*, 2008); y que fue seleccionada en este estudio para tener mayor probabilidad de aislamiento completo. Nueve árboles estuvieron aislados de otros individuos de la misma especie y el resto tuvieron árboles vecinos en número desde uno hasta 15.

Las determinaciones de indicadores reproductivos de Morales *et al.* (2010) fueron hechas de la siguiente manera: se calculó el potencial de semillas como número de escamas fértiles x 2, la eficiencia de semillas como semillas llenas/potencial de semillas x 100; el porcentaje de semillas vanas, porcentaje de semillas llenas, y porcentaje de semillas dañadas por insectos respecto al total de semillas desarrolladas. Se pesaron las semillas llenas y se calculó la eficiencia reproductiva como peso de semillas llenas/peso del cono seco (mg/g) x 1000. Se calculó el número de óvulos abortivos como la diferencia entre el potencial de semillas y el número de semillas desarrolladas y se determinó su porcentaje como óvulos abortivos/potencial de semillas x 100 (Bramlett *et al.*, 1977).

Con los datos de dicho estudio se hizo un análisis de regresión y correlación tomando como variable independiente el número de árboles vecinos y como variable dependiente los promedios de cada árbol para los valores de indicadores reproductivos. Se corrió también el análisis de componentes principales, todo con el paquete estadístico R (R Development Core Team, 2010).

Para abrir los conos de los 41 árboles del muestreo adicional, se secaron en estufa a 70 °C por 36 horas. Se extrajo la semilla y luego se introdujo en una solución de alcohol etílico al 10% durante dos horas para separar por flotación las semillas llenas de las vanas y se calculó el porcentaje de las últimas. Se corrió también un análisis de regresión tomando como variable independiente al número de árboles vecinos y como variable dependiente al porcentaje de semillas vanas. Se aplicó también una prueba de t, asumiendo igualdad de varianzas, para



Figura 1. Ubicación de las rutas de muestreo de *Pinus leiophylla* (en negro) en el suroeste de la cuenca del Río Angulo (sombreada), cauce del río (azul) y muestreo adicional (verde).

comparar el porcentaje de semillas llenas de los árboles aislados con los árboles no aislados (Montgomery y Runger, 2003).

Resultados

Para los árboles del estudio previo, el número promedio de árboles vecinos contados en el espacio considerado fue de 11.6 con un mínimo de cero y un máximo de 38 (**Tabla 1**).

Los valores del coeficiente de regresión y de correlación de Pearson se muestran en la **Tabla 2**.

Ninguna de las variables tiene una correlación significativa con el número de árboles vecinos. Los mayores valores de correlación son para el volumen del cono (0.21) y eficiencia de semillas (0.14). El porcentaje de semillas llenas tiene también un valor de correlación positivo muy pequeño (0.05). El valor negativo de correlación con el porcentaje de semillas abortivas (-0.08) refleja un pequeño y no significativo efecto positivo de la presencia de árboles vecinos. En la gráfica de regresión para semillas llenas (**Figura 2**) se

ve la influencia casi nula del número de árboles vecinos sobre estas variables, confirmada por el bajo valor de R^2 de 0.0026.

Resultados similares se tuvieron para el porcentaje de semillas abortivas; hay una muy ligera tendencia negativa pero no significativa, con valor de $R^2 = 0.0013$.

El análisis de componentes principales arrojó como resultado una variación de 43.5% del total para el componente 1 y acumulada de 58.5% hasta el componente 2. El primer componente asociado principalmente a porcentaje de semillas llenas, porcentaje de semillas vanas y eficiencia de semillas, y el segundo al número de árboles vecinos, volumen y peso seco del cono. A continuación se muestra el cuadro de vectores (**Tabla 3**) y la gráfica del CP1 vs el CP2 (**Figura 3**).

En la **figura 3** se puede ver que el porcentaje de semillas llenas está totalmente opuesto al de las vanas. Las asociaciones gráficamente visibles del número de árboles vecinos son las siguientes: una casi nula asociación positiva con el porcentaje de semillas llenas

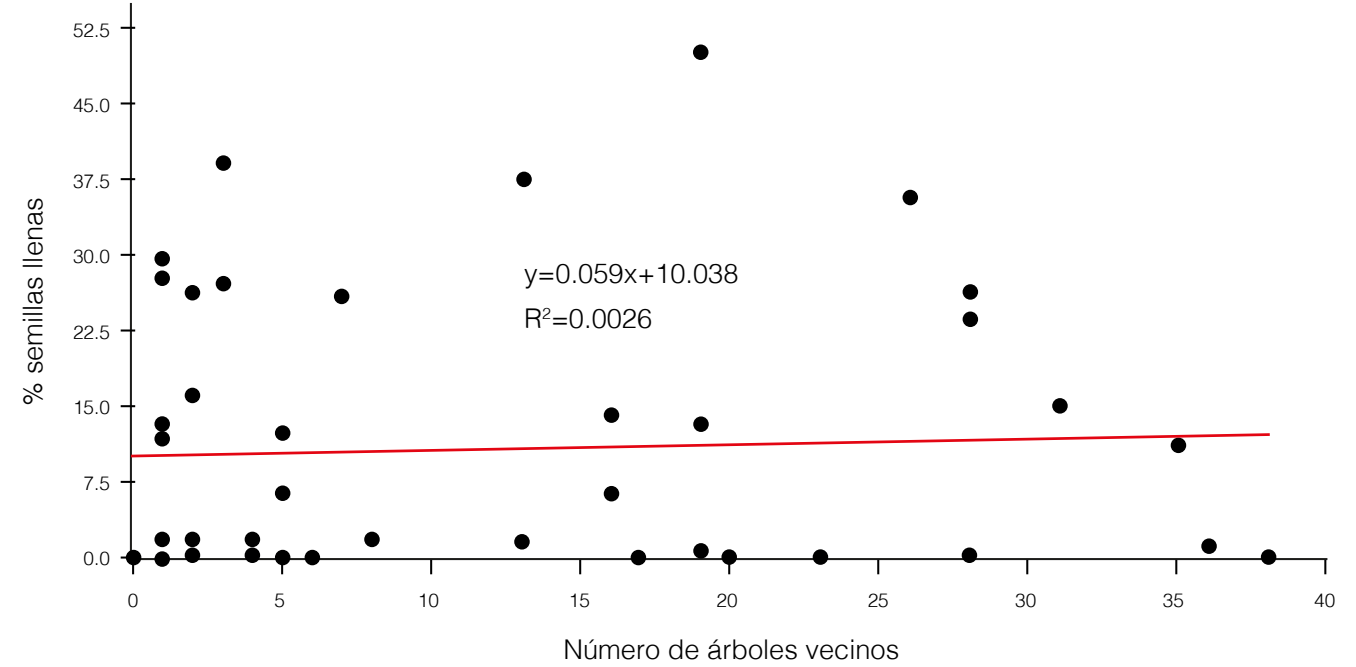


Figura 2. Recta de regresión para semillas llenas.

con un ángulo ligeramente inferior a 90 grados, y negativa y también muy pequeña con el porcentaje de semillas vanas. Lo mismo ocurre entre el potencial de semillas y la eficiencia reproductiva. La mayor asociación negativa es con el porcentaje de semillas abortivas. La mayor asociación positiva es con el volumen del cono, y con el peso seco del mismo. La principal diferencia con los valores de correlación es para el peso seco del cono, para el cual el valor de correlación con el número de árboles vecinos fue de solo 0.03. Pero en general hay coincidencia con dichos valores.

No se ve influencia del número de árboles vecinos en la cercanía física de los individuos en la gráfica, basada en los indicadores reproductivos. Los árboles

43 y 37, señalados en la parte superior derecha, que están cercanos entre sí tuvieron 38 y 4 vecinos respectivamente. El árbol 5 es el único que no tuvo vecinos y está muy cerca del 44, señalados en la parte inferior derecha, que tuvo 19 vecinos (**Figura 3**).

Respecto a la muestra adicional de 41 árboles, nueve de ellos estuvieron completamente aislados de otros árboles de la misma especie en un radio mínimo de 100 m. Entre los no aislados, la densidad mínima de árboles circundantes fue de uno y la máxima de quince, con una media de 4.66. Para los árboles aislados el promedio del porcentaje de semillas llenas fue de 32, mientras que para los no aislados el porcentaje fue prácticamente el mismo, 31.9. La aplicación de la prueba de t para probar

Tabla 1. Número de árboles vecinos de los individuos muestreados en el estudio previo.

Num_Vecinos	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2
Individuo	5	1	2	3	4	8	11	13	33	45	6	7	12	15	32	41
Num_Vecinos	3	3	4	4	4	5	5	5	6	7	8	13	13	16	16	17
Individuo	10	34	14	20	37	9	19	28	46	30	31	25	42	18	23	35
Num_Vecinos	19	19	19	20	23	23	26	28	28	28	31	35	36	38		
Individuo	24	27	44	38	36	39	29	16	22	40	17	21	26	43		

Tabla 2. Valores del coeficiente de regresión y correlación de Pearson entre el número de árboles vecinos e indicadores reproductivos.

Variable	PSC	VC	PS	ES	% V	% LI	% Ab	ER
b	0.01 NS	0.25 NS	-0.05 NS	0.00 NS	0.00 NS	0.00 NS	0.00 NS	-0.06 NS
r _{xy}	0.03 NS	0.21 NS	-0.03 NS	0.14 NS	-0.05 NS	0.05 NS	-0.08 NS	-0.10 NS

b = Coeficiente de regresión; r_{xy} = Valor de correlación de Pearson; NS = No significativo; PSC = Peso seco de cono; VC = Volumen de cono; PS = Potencial de semillas; ES = Eficiencia de semillas; % V = Porcentaje de semillas vanas; % LI = Porcentaje de semillas llenas; % Ab = Porcentaje de semillas abortivas; ER = Eficiencia reproductiva.

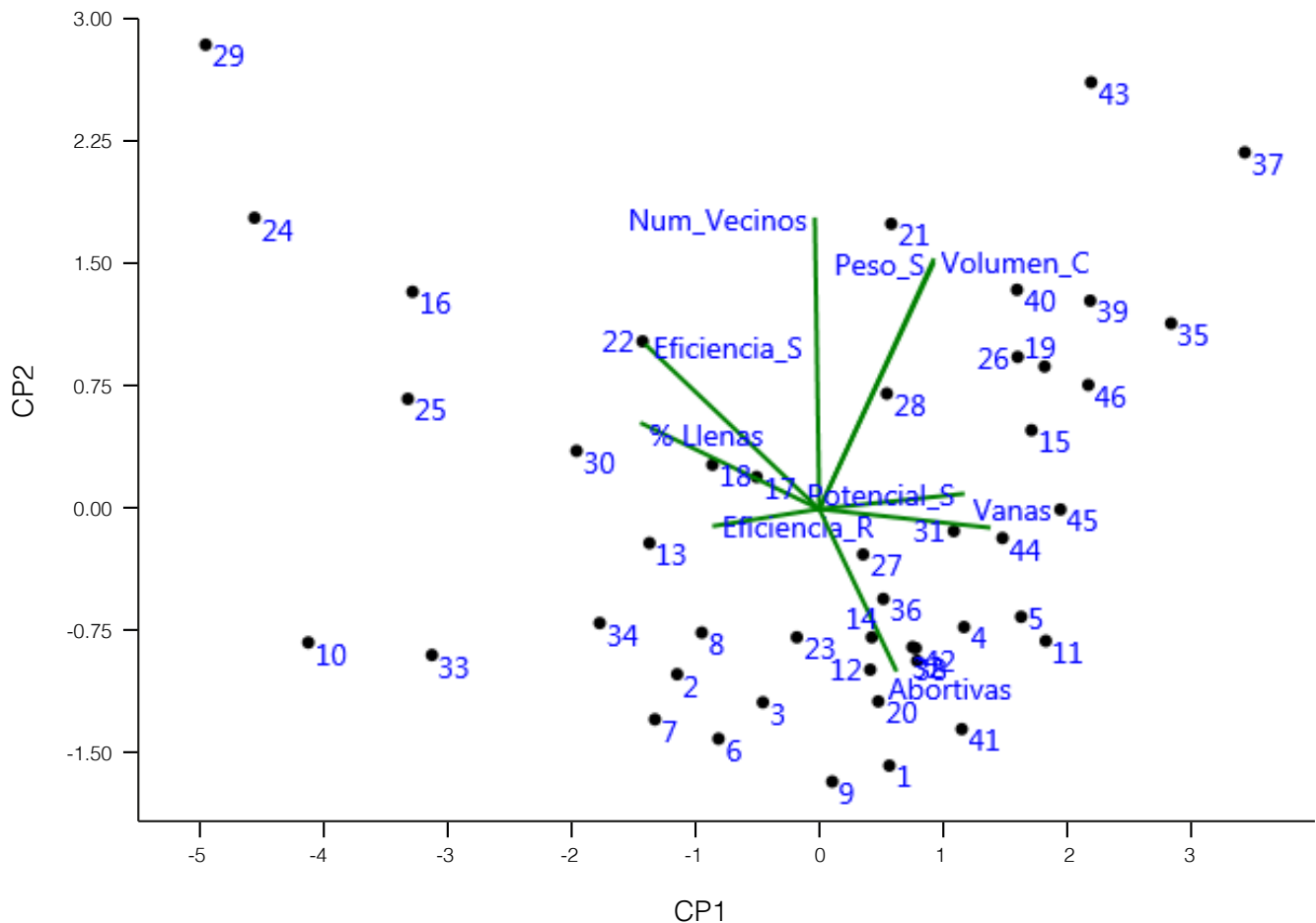


Figura 3. CP1 vs CP2.

la hipótesis de igualdad de medias asumiendo igualdad de varianzas dio un valor calculado para el estadístico t de 0.009, muy inferior al valor crítico de 2.02; el valor de $P > |t|$ fue de 0.99 (no significativo). Entonces no hay diferencia en el porcentaje de semillas llenas entre los árboles aislados y los no aislados.

El análisis de varianza de regresión de porcentaje de semillas llenas vs. densidad de árboles circundantes se muestra a continuación (Tabla 4). Por el valor de $P > F$ de 0.159 se concluye que la densidad de árboles circundantes no influye en el porcentaje de semillas llenas.

El valor de la pendiente fue de 0.00977. La correspondiente ecuación de Regresión es:

$$\% \text{ Llenas} = 0.284 + 0.00977 \text{ Densidad}$$

Lo que indica que el incremento de la densidad de árboles vecinos no significa un aumento en el porcentaje de semillas llenas. El coeficiente de correlación fue de 0.22 con un valor de $P=0.159$, indicando que no hay asociación entre el número de árboles circundantes y el porcentaje de semillas llenas. El valor de R cuadrada (0.05) y R cuadrada ajustada (0.026) es también muy bajo.

Discusión

De los 41 árboles de la nueva muestra, nueve estuvieron completamente aislados de otros árboles de la misma especie. Entre los no aislados, la densidad mínima de árboles circundantes fue de uno y la máxima de 15, con una media de 4.66. Esta media refleja el hecho de que en esta especie las poblaciones son pequeñas con árboles dispersos y rara vez forman masas puras (Perry, 1991; Musalem y Martínez, 2003). El porcentaje promedio de semillas llenas fue de 31.96, comparable a las determinaciones hechas por Owens (1991), en *Pseudotsuga menziesii*, quien obtuvo como resultado 41% de semillas llenas; López y Donahue (1995), con 63 y 51% de semillas llenas en dos grupos de poblaciones de *Pinus greggii*; Mápula *et al.* (2007), con 19 a 60% de semillas llenas en *Pseudotsuga menziesii*; Sivacioglu y Ayan (2008), encontrando 44% de semillas llenas en *P. sylvestris*; y superior a los resultados de Flores *et al.* (2005), con 27 a 16% de semillas llenas en *Picea mexicana*, Morales *et al.* (2010), que en *P. leiophylla* determinaron solo 7.3% de semillas desarrolladas fueron llenas, Delgado (1992) y Gómez *et al.* (2010), ambos con 17%.

Mosseler *et al.* (2000) consideran que el aborto de semillas es consecuencia de la escasez de polen.

Tabla 3. Valores de vectores propios de los componentes principales.

Variable	PC1	PC2	PC3
Num_Vecinos	-0.012	0.561	-0.27
Peso_S	0.291	0.474	0.145
Volumen_C	0.291	0.482	-0.331
Potencial_S	0.366	0.03	0.066
Eficiencia_S	-0.441	0.317	0.105
Vanas	0.433	-0.036	0.339
Llenas	-0.453	0.166	-0.175
Eficiencia_R	-0.268	-0.033	-0.011
Abortiva	0.195	-0.311	-0.797
Eigenvalue	3.9144	1.3513	1.0689
Proportion	0.435	0.150	0.119
Cumulative	0.435	0.585	0.704

Num_Vecinos = número de árboles vecinos en un radio de 50 m; Peso_S = peso seco del cono; Volumen_C = volumen del cono; Potencial_S = potencial de semillas; Eficiencia_S = eficiencia de semillas; Vanas = porcentaje de semillas vanas; Llenas = porcentaje de semillas llenas; Eficiencia_R = eficiencia reproductiva; Abortiva = porcentaje de semillas abortivas.

Tabla 4. Resultado del análisis de varianza para regresión en el muestreo adicional de 41 árboles

F. de V.	g. l.	S. C.	C. M.	Fc	P > F
Regresión	1	0.05511324	0.05511324	2.05717757	0.159
Residual	39	1.0448376	0.02679071		
Total	40	1.09995084			

El bajo y no significativo valor de correlación entre eficiencia reproductiva y densidad de árboles vecinos muestreados por Morales *et al.* (2010) de $r=-0.10$, es contrario a esta tendencia y pudiera tener otra causa. Podemos pensar que hay una influencia mínima de la escasez de polen con el aborto de embriones.

En poblaciones pequeñas y dispersas, como es el caso de *P. leiophylla* (Perry, 1991; Musalem y Martínez, 2003), se puede esperar un mayor nivel de autofecundación y endogamia (Robledo-Arnuncio *et al.*, 2004). Según Mosseler *et al.* (2000) el porcentaje de semillas vanas estima directamente al coeficiente de endogamia. Los valores bajos y no significativos de correlación entre esta variable y la densidad de árboles vecinos ($r=-0.05$ en el estudio previo y $r=0.22$ en la muestra adicional) son contrarios a dicha afirmación.

Esto lleva a pensar en la posibilidad de que ocurra purga genética (eliminación de genes recesivos indeseables por selección natural cuando se expresan por encontrarse en pares homogéneos, esto es en condición de homocigosis), que a lo largo de muchas generaciones disminuya la depresión en vigor por endogamia (Crnokrak y Barrett, 2002), de lo cual son evidencia los resultados de Sorensen (1971) cuando

en cuatro de un total de 35 árboles de *Pseudotsuga* encontró una producción sobresaliente de semillas después de autofecundación artificial. En este contexto, los porcentajes de semillas vanas y abortivas reflejan en menor proporción el coeficiente de endogamia y la escasez de polen.

Entonces es posible que *P. leiophylla* mantenga un coeficiente alto de endogamia combinado con menor nivel de depresión, que ya no se incrementa significativamente cuando ocurre autopolinización o cruza de parientes cercanos. Esto tendría que ser soportado por la evaluación posterior del crecimiento de progenies de árboles aislados en comparación con árboles no aislados, o incluso semilla de árboles autofecundados comparados con árboles con fecundación cruzada (Ferriol *et al.*, 2011), y con la determinación del nivel de homocigosis, el cual está asociado al nivel de endogamia (Hansson y Westerberg, 2002).

Conclusiones

La densidad de árboles vecinos no influye significativamente en el porcentaje de semillas vanas y llenas en *Pinus leiophylla*. Probablemente esta especie mantiene niveles altos de endogamia y ha ocurrido algo de purga genética a causa de que normalmente sus poblaciones son pequeñas por estar dispersas y no formar masas puras.

Agradecimientos

A la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por el financiamiento del presente estudio.

Referencias

- Bramlett DL, Belcher Jr. EW, de Barr GL, Hertel JL, Karrfalt RP, Lantz CW, Miller T, Ware KD, III Yates HO (1977) *Cone analysis of southern pines: a guidebook*. Gen. Tech. Rep. SE-13. USDA For. Serv., Southeastern For. Exp. Stn. Asheville, N. C. 28 p.
- Burczyk J, Lewandowski A, Chalupka W (2004) Local pollen dispersal and distant gene flow in Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.). *For. Ecology and Management*. 197: 39-48
- Comisión Nacional Forestal [CONAFOR] (2003) *Pinus leiophylla* Schltdl. & Cham. Disponible en: www.conafor.gob.mx/portal/docs/secciones/reforestacion/Fichas%20Técnicas/Pinus%20leiophylla.pdf (consultado el 10 de agosto de 2009)
- Crnokrak P, Barrett SC (2002) Perspective: purging the genetic load: a review of the experimental evidence. *Evolution* 56(12): 2347-58
- Delgado Valerio P (1992) Aspectos biológicos de conos y semillas de tres especies del género *Pinus* en la zona boscosa de Nuevo San Juan Parangaricutiro, Michoacán, México. *Tesis profesional*. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. México. 86 p.
- Eguiluz-Piedra T (1982) Clima y distribución del género

- Pinus* en México. *Revista Ciencia Forestal* 7(38): 30-44
- Ferriol M, Pichot C, Lefèvre F** (2011) Variation of selfing rate and inbreeding depression among individuals and across generations within an admixed *Cedrus* population. *Heredity*. 106(1): 146-157
- Flores-Lopéz C, Lopéz-Upton J, Vargas-Hernández JJ** (2005) Indicadores reproductivos en poblaciones naturales de *Picea mexicana* Martínez. *Agrociencia* 39: 117-126
- Gómez Jiménez DM, Ramírez Herrera C, Jasso Mata J, López Upton J** (2010) Variación en características reproductivas y germinación de semillas de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. & Cham. *Rev. Fitotec. Mex.* 33(4): 297-304
- Hansson B, Westerberg L** (2002) On the correlation between heterozygosity and fitness in natural populations. *Molecular Ecology* 11: 2467-2474
- Hart DL, Clark AG** (2007) *Principles of Population Genetics*. 4th ed. Sinauer Associates, Inc, Publishers. Sunderland, Massachusetts, USA. 652 p.
- Iwasaki T, Sase T, Takeda S, Ohsawa TA, Ozaki K, et al** (2013) Extensive selfing in an endangered population of *Pinus parviflora* var. *parviflora* (Pinaceae) in the Boso Hills, Japan. *Tree Genetics & Genomes* 9: 693-705
- Jasso-Mata J, Jiménez CM** (1994) Fenología vegetativa y reproductiva de *Pinus leiophylla* en un huerto semillero sexual. In XI Congreso Latinoamericano de Genética y XV Congreso de Fitogenética. SOMEFI-GRUMA. Septiembre, 25-30. Monterrey, N.L. p. 194.
- López-Upton J** (2003) *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. & Cham. In JA Vozzo (ed.), *Tropical tree seed manual. Part II: Species descriptions*. pp. 619-621
- López-Upton J, Donahue JK** (1995) Seed Production of *Pinus greggii* Engelm. in Natural Stands in Mexico. *Tree Planters' Notes* 46(3): 86-92
- Mápula-Larreta M, López-Upton J, Vargas-Hernández JJ, Hernández-Livera A** (2007) Reproductive indicators in natural populations of Douglas-fir in Mexico. *Biodiversity and Conservation* 16: 727-742
- Martínez-Trinidad T, Vargas-Hernández JJ, Muñoz-Orozco A, López-Upton J** (2002) Respuesta al déficit hídrico en *Pinus leiophylla*: consumo de agua y crecimiento en plántulas de diferentes poblaciones. *Agrociencia* 36: 365-376
- Montgomery DC, Runger GC** (2003) *Applied statistics and probability for engineers*. 3rd ed. John Wiley & Sons, Inc. 861 pp.
- Morales-Velázquez MG, Ramírez-Mandujano CA, Delgado-Valerio P, López-Upton J** (2010) Indicadores Reproductivos de *Pinus leiophylla* Schltdl. Et Cham. en La Cuenca del Río Angulo, Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 1(2): 31-38
- Mosseler A, Major JE, Simpson JD, Daigle B, Lange K, et al.** (2000) Indicators of population viability in red spruce, *Picea rubens*. I. *Reproductive traits and fecundity*. *Canadian Journal of Botany* 78: 928-940
- Musalem MA, Martínez SG** (2003) *Monografía de Pinus leiophylla* Schl. et Cham. *Infap. Libro Técnico No. 8*. División Forestal. 85 p.
- Naito Y, Kanzaki M, Iwata H, Obayashi K, Lee SL, Muhammad N et al.** (2008) Density-dependent selfing and its effects on seed performance in a tropical canopy tree species, *Shorea acuminata* (Dipterocarpaceae). *Forest Ecology and Management* 256(3): 375-383. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.04.031>
- Owens JN, Colangeli AM, Morris JS** (1991) Factors affecting seed set in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*). *Canadian Journal of Botany* 69 (2): 229-238
- Owens JN, Kittirat T, Mahalovich MF** (2008) Whitebark pine (*Pinus albicaulis* Engelm.) seed production in natural stands. *Forest Ecology and Management* 255 (3-4): 803-809
- Perry JP** (1991) *The Pines of Mexico and Central America*. Timber Press, Portland, Oregon, USA. 231 p.
- R development core team** (2010) *R: a Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. URL: <http://www.R-project.org>.
- Remington DL, O'Malley DM** (2000) Evaluation of major genetic loci contributing to inbreeding depression for survival and early growth in a selfed family of *Pinus taeda*. *Evolution* 54: 1580-1589
- Robledo-Arnuncio JJ, Alía R, Gil L** (2004) Increased selfing and correlated paternity in a small population of a predominantly outcrossing conifer, *Pinus sylvestris*. *Molecular Ecology* 13(9): 2567-2577
- Rodríguez-Laguna R, Capo-Arteaga MA** (2005) Morfología de acículas y conos en poblaciones naturales de *Pinus arizonica* Engelm. *Ra Ximhai*. 1(1): 131-152
- Saccheri I, Kuussaari M, Kankare M, Vikman P, Fortelius W, Hanski I** (1998) Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. *Nature* 392: 491-494
- Sánchez-González A** (2008) Una visión actual de la diversidad y distribución de los pinos de México. *Madera y Bosques*. 14(1): 107-120
- Sivacioglu A, Ayan S** (2008) Evaluation of seed production of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) clonal seed orchard with cone analysis method. *African Journal of Biotechnology* 7(24): 4393-4399
- Sorensen F** (1971) Estimate of self fertility in coastal Douglas-Fir from inbreeding studies. *Silvae Genetica* 20(4): 115-120
- Vander Wall SB** (1992) The role of animals in dispersing a "wind-dispersed" pine. *Ecology* 73: 614-621.
- Viveros VH, Sáenz RC, López UJ, Vargas H JJ** (2005) Variación genética altitudinal en el crecimiento de plantas de *Pinus pseudostrabus* L. en campo. *Agrociencia* 39(5): 575-587
- Wang KS** (2003) Relationship between empty seed and genetic factors in European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Silva Fennica* 37(4): 419-428
- Williams CG** (2008) Selfed embryo death in *Pinus taeda*: a phenotypic profile. *New Phytol.* 178: 210-222
- Yazdani R, Lindgren D** (1991) The impact of self-pollination on production of sound selfed seeds. In Fineschi S, Malvolti ME, Cannata F, Hattermer HH (eds), *Biochemical Markers in the Population Genetics of Forest Trees*. SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands. pp. 143-147