

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE LAS POBLACIONES DE *ABIES* EN HIDALGO, MÉXICO: IMPORTANCIA DE LA IDENTIDAD TAXONÓMICA PARA EL APROVECHAMIENTO FORESTAL

MORPHOLOGICAL AND GENETICAL CHARACTERIZATION OF *ABIES*' POPULATIONS IN HIDALGO, MÉXICO: IMPORTANCE OF THE TAXONOMICAL IDENTITY TO THE HARVESTING

ELENA ROSALES-ISLAS¹, DANIEL BARRERA-TELLO², ARTURO SÁNCHEZ-GONZÁLEZ²,
 DULCE MARÍA GALVÁN-HERNÁNDEZ³, SERGIO HERNÁNDEZ-LEÓN⁴, PABLO OCTAVIO-AGUILAR^{1*}

¹ Laboratorio de Genética, Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca, Hidalgo, México.

² Laboratorio de Ecología de Poblaciones, Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca, Hidalgo, México.

³ Laboratorio de Micología, Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca, Hidalgo, México.

⁴ Laboratorio de Botánica Forestal, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México.

*Autor de correspondencia: pablo_aguilar9900@uaeh.edu.mx

Resumen

Antecedentes: *Abies hidalgensis* es una especie endémica del estado de Hidalgo, México, adscrita en la Lista Roja de la IUCN en la categoría VuD2, que se ha confundido con *A. guatemalensis* en algunas poblaciones donde hay extracción de madera en rollo reportada como *A. religiosa*, lo que genera duda sobre las o la especie que se distribuyen y aprovechan en el estado de Hidalgo.

Preguntas y / o Hipótesis: ¿Qué especie o especies del género *Abies* se distribuyen y aprovechan en Hidalgo, México?, ¿Cuál es la distribución geográfica de *A. hidalgensis*?

Especies de estudio: *Abies hidalgensis*, *A. religiosa*.

Sitio y años de estudio: Municipios de Acaxochitlán, Acapulco, Agua Blanca de Iturbide, Epazoyucan, Mineral del Monte, Pachuca, Singuilucan, Tenango de Doria, Tepeapulco y Zimapan, en el estado de Hidalgo. Años 2015 a 2017.

Métodos: Se analizaron 18 caracteres morfológicos mediante análisis de funciones discriminantes. Se estimó la diferenciación genética a partir del análisis de tres microsatélites nucleares desarrollados para *A. guatemalensis*.

Resultados: *Abies hidalgensis* se distribuye al sureste y *Abies religiosa* en la zona centro-sur de Hidalgo. Los caracteres morfológicos distintivos son: canales resiníferos, forma del ápice, y caracteres morfológicos asociados a los conos ovulados y las semillas. Los estudios genéticos indican que *Abies* sp. muestra mayor divergencia y diversidad genética con respecto a *A. hidalgensis* y *A. religiosa*. El coeficiente de endogamia es mayor en *A. religiosa*.

Conclusiones: En el estado Hidalgo se distribuyen dos especies del género *Abies*.

Palabras clave: *Abies hidalgensis*, morfometría, distribución, análisis de funciones discriminantes, microsatélites.

Abstract

Background: *Abies hidalgensis* is an endemic species from Hidalgo state, Mexico, listed on the IUCN Red List in the VuD2 category. It has been confused with *A. guatemalensis* in some population where there is roundwood extraction reported as *A. religiosa*, which generates confusion on the taxonomic identity of species distributed and being harvested in Hidalgo.

Questions and / or Hypotheses: What species or species of the *Abies* genus are distributed and harvested in Hidalgo, Mexico? What is the geographic distribution of *A. hidalgensis*?

Studied species: *Abies hidalgensis*, *A. religiosa*.

Study sites and dates: Municipalities of Acaxochitlán, Acapulco, Agua Blanca de Iturbide, Epazoyucan, Mineral del Monte, Pachuca, Singuilucan, Tenango de Doria, Tepeapulco and Zimapan, in Hidalgo state. Years 2015 to 2017.

Methods: Eighteen morphological characters were analyzed by discriminant function analysis. Genetic differentiation was estimated from the analysis of three microsatellites developed for *A. guatemalensis*.

Results: *Abies hidalgensis* is distributed to the southeast and *A. religiosa* is in the central-southern zone of Hidalgo. The distinctive morphological characters are: resin ducts, shape of the apex and morphological characters associated with the ovulate cones and seeds. Genetic studies showed that *Abies* sp. have greater divergence and genetic diversity with respect to *A. hidalgensis* and *A. religiosa*. The inbreeding coefficient is higher in *A. religiosa*.

Conclusions: Two species of the *Abies* genus are distributed in the state of Hidalgo, Mexico.

Key words: *Abies hidalgensis*, morphometry, distribution, discriminant function analysis, microsatellites.

El género *Abies* (abetos), así como la mayoría de las coníferas, tienen una morfología muy variada que responde a factores como altitud, precipitación, disponibilidad de nutrientes, entre otros (Hultine & Marshall 2000, Ostonen *et al.* 2007). Esto crea discrepancias sobre la identidad taxonómica de algunas especies descritas a lo largo de la Franja Volcánica Transmexicana y en la zona sur, justo en los límites entre México y Guatemala. Al respecto Liu (1971), Eguiarte & Furnier (1997), así como Scaltsoyiannes *et al.* (1999) sugieren que tal confusión taxonómica está relacionada con la hibridación frecuente entre estas especies, lo que ocasiona la interposición en la variación de algunos atributos de importancia taxonómica (Jaramillo-Correa *et al.* 2008, Semerikova *et al.* 2011). Además, los bosques de *Abies* tiene una distribución extremadamente dispersa pero localizada regionalmente, por lo que se pueden observar algunas poblaciones restringidas a un cerro, cañada o ladera (Rzedowski 2006). En conjunto la fragmentación, la hibridación y la distancia geográfica entre poblaciones pueden modificar las diferencias fenotípicas y con ello ampliar las confusiones taxonómicas (Strandby *et al.* 2009).

No obstante, las características morfológicas siguen siendo la manera usual de delimitar a las especies de abetos (Fernández & Nepamuceno 1989, Strandby *et al.* 2009, Vázquez-García *et al.* 2014, Papageorgiou *et al.* 2015, Jasińska *et al.* 2017). Muchos autores han descrito especies de coníferas con base en características morfológicas como los caracteres sexuales, ya que limitan el intercambio de gametos, o atributos específicos de las hojas como los canales resiníferos (Martínez 1963, Debreczy & Rácz 1995, Miller *et al.* 2014, Sekiewicz *et al.* 2016, Orlova *et al.* 2020). Adicionalmente, los análisis moleculares constituyen herramientas eficientes que esclarecen dudas taxonómicas generadas por la morfología, establecen relaciones genéticas y ayudan en la identificación de especies (Aguirre-Planter *et al.* 2000, Shao & Xiang 2015, Xiang *et al.* 2009, 2018).

El género *Abies* representa el segundo grupo más diverso dentro de la familia Pinaceae con aproximadamente 47 especies (Martínez 1948, Liu 1971, Farjon 2017). En México se han reportado entre ocho y 10 especies del género (Farjon & Rushforth 1989, Gernandt & Pérez-de la Rosa 2014, Farjon 2017). Los estudios genéticos basados en isoenzimas y marcadores de cloroplasto muestran baja diferenciación entre especies relacionada principalmente con distribuciones discontinuas, restringidas y fragmentadas a lo largo de gradientes montañosos (Parker *et al.* 1981, Eguiarte & Furnier 1997, Aguirre-Planter *et al.* 2000, Jaramillo-Correa *et al.* 2008, Strandby *et al.* 2009). Por lo que Cruz-Nicolás *et al.* (2021) proponen una menor cantidad de grupos (de siete a nueve) con base en el análisis filogenético de 45 individuos de nueve especies de *Abies* Mesoamericanos, concluyendo que la diversificación y endemismos en el género se deben a procesos alopatricos no adaptativos.

Una de las implicaciones de las dificultades taxonómicas basadas en caracteres morfológicos y la difícil delimitación de linajes específicos se presenta en la regulación de su extracción forestal. En un escenario favorable, estas especies se enlistarán bajo alguna categoría de amenaza, ya sea por lo restringido de su distribución o por asociaciones con otras especies de importancia para la conservación. Por ejemplo, *Abies religiosa* (Kunth) Schltdl. & Cham., se considera la única especie cuyos bosques albergan a la mariposa monarca (*Danaus plexippus* L.) durante su estancia en México (Sáenz-Romero *et al.* 2012). Además, prácticamente todas las especies de abetos mexicanos se encuentran amenazadas por el cambio climático debido a su origen neártico, y al parecer pocas especies se encuentran distribuidas en áreas naturales protegidas (Martínez-Méndez *et al.* 2016).

Al centro del país, existen localidades con identidades taxonómicas dudosas agrupadas bajo el nombre genérico de “Oyamel”, lo que facilita su extracción. Al existir problemas para identificar especies en estas zonas con alta demanda maderera, la posibilidad de extraer a una especie en peligro es alta. En el estado de Hidalgo, se cuentan con registros de presencia de tres especies de *Abies*: *A. hidalgensis* Debreczy, Rácz & Guízar, *A. guatemalensis* Rehder y *A. religiosa* (Hernández 1985, Debreczy & Rácz 1995).

Abies hidalgensis, es una especie listada bajo la categoría de Vulnerable D2 en la lista roja de especies amenazadas (www.iucnredlist.org). Sin embargo, no existe información sobre su distribución geográfica ni cuáles son las amenazas a sus poblaciones, aun no se han definido sus características dasométricas (altura y diámetro), e incluso algunos de sus caracteres taxonómicos fueron evaluados en material vegetal inmaduro (conos ovulados jóvenes). Farjon (2017) se refiere a *A. hidalgensis* como una variedad de *Abies hickelii* Flous & Gaussen; debido al número de canales resiníferos en sus hojas, altamente inusual en el género (4 a 7 en *A. hidalgensis* y 8 a 12 en *A. hickelii*), además ambas

especies difieren en longitud e inserción de las brácteas de sus conos ovulados y en la longitud de las hojas. Tanto *A. guatemalensis* como *A. hidalgensis* se han reportado en las poblaciones de Tenango de Doria, y Agua Blanca de Iturbide, pero sin precisar las coordenadas geográficas (Hernández 1985, Debreczy & Rácz 1995). Debreczy & Rácz (1995) indican que *A. guatemalensis* y *A. hidalgensis* difieren en la densidad de hojas, siendo dos veces mayor en *A. guatemalensis* en una rama de sombra de igual longitud, así como en su ángulo de inserción, el número de canales resiníferos de sus hojas, dos en *A. guatemalensis* y de 5-7 en *A. hidalgensis*, el color de los conos ovulados, azul pruinoso en *A. guatemalensis* y verde pruinoso en *A. hidalgensis*, la forma de las escamas, ciatiformes en *A. guatemalensis* y flabeladas en *A. hidalgensis*, entre otros caracteres. Aguirre-Planter *et al.* (2000) evaluaron un ejemplar identificado como *A. guatemalensis* de Agua Blanca de Iturbide, Hidalgo, con marcadores de isoenzimas, pero no se agrupó con poblaciones del resto de la distribución de la especie, en tanto Cruz-Nicolás *et al.* (2021) estudiaron una muestra del mismo municipio mediante genotipado por secuenciación, pero identificada como *A. hidalgensis*, la cual tampoco se agrupó con las otras especies.

La distribución de *A. religiosa* es más amplia y mejor conocida en el estado de Hidalgo (Razo *et al.* 2013, Pérez-Miranda *et al.* 2017). Este taxón se diferencia de *A. guatemalensis* y *A. hidalgensis* en el número de canales resiníferos, la forma del ápice de la hoja, el largo de la bráctea y en la longitud de las hojas (Figura 1) (Farjon 2017)

El Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI 2017), reporta la extracción de 250 m³ y 191 m³ respectivamente, de madera en rollo de *A. religiosa* en Agua Blanca de Iturbide, Hidalgo. Sin embargo, esta especie no ha sido reportada en ese municipio lo que sugiere que el aprovechamiento mencionado corresponde a *A. hidalgensis* o *A. guatemalensis*.

Es necesario contar con herramientas eficaces para delimitar especies con mayor precisión, tal como los análisis multivariados ya que consideran la similitud relativa de cada caso utilizando varios atributos morfológicos con diferente naturaleza, algunos con mayor importancia evolutiva que otros. Además, es posible asignar individuos a un grupo concreto, en este caso especies de abetos. También es factible establecer una medida de divergencia relativa entre taxones, usando unidades de distancia que no se deforman por algoritmos ni son influenciadas por criterios establecidos *a priori*. Mejor aún, al contar con información morfológica y genética analizadas bajo los mismos principios de independencia, permiten corroborar la identidad taxonómica de las especies. Finalmente, este tipo de análisis proporcionan información esencial sobre los caracteres más confiables, tanto morfológicos como genéticos, que se deben considerar en un trabajo de sistemática (Cesaroni & Allegrucci 1991). Por todo lo anterior, los objetivos de este trabajo son a) determinar el grado de diferenciación de los *Abies* distribuidos en la región de estudio, considerando una aproximación morfométrica multivariada y un análisis genético y b) proponer una distribución geográfica de las poblaciones de *A. hidalgensis* con base en la prospección realizada.

Materiales y Métodos

Colecta de material biológico. Las poblaciones de *A. hidalgensis* y *A. guatemalensis* para el estado de Hidalgo, México fueron identificadas a través de los registros del Herbario Nacional de México (MEXU), Herbario CHAP y consultando datos en la página de GBIF (2018). Los registros encontrados, tanto en el sureste (Agua Blanca de Iturbide y Tenango de Doria) como en el noreste (Zimapan), han sido identificados como *A. hidalgensis* y como *A. guatemalensis*. Sin embargo, se le asignó la identidad de *A. hidalgensis* a las poblaciones de Agua Blanca de Iturbide y Tenango de Doria dada su proximidad geográfica con la descripción del holotipo. Las poblaciones registradas eran escasas, por lo que se realizó una prospección de campo para ubicar material suficiente, lo que requirió dos años de muestreos (2015 al 2017), dado lo aislado y depauperado de las poblaciones. Es de resaltar que en todas las localidades se identificó extracción forestal, lo que pone de manifiesto la preponderancia de este trabajo. Se resguardaron muestras de herbario tanto en MEXU como en el herbario del Centro de Investigaciones Biológicas de la UAEH, identificadas como *A. hidalgensis*.

Para realizar el estudio genético se consideraron las poblaciones de *A. hidalgensis* ubicadas en San Cornelio y Las Águilas, ambas en Agua Blanca de Iturbide y en el estudio morfológico se incluyó a las poblaciones de Tenango de

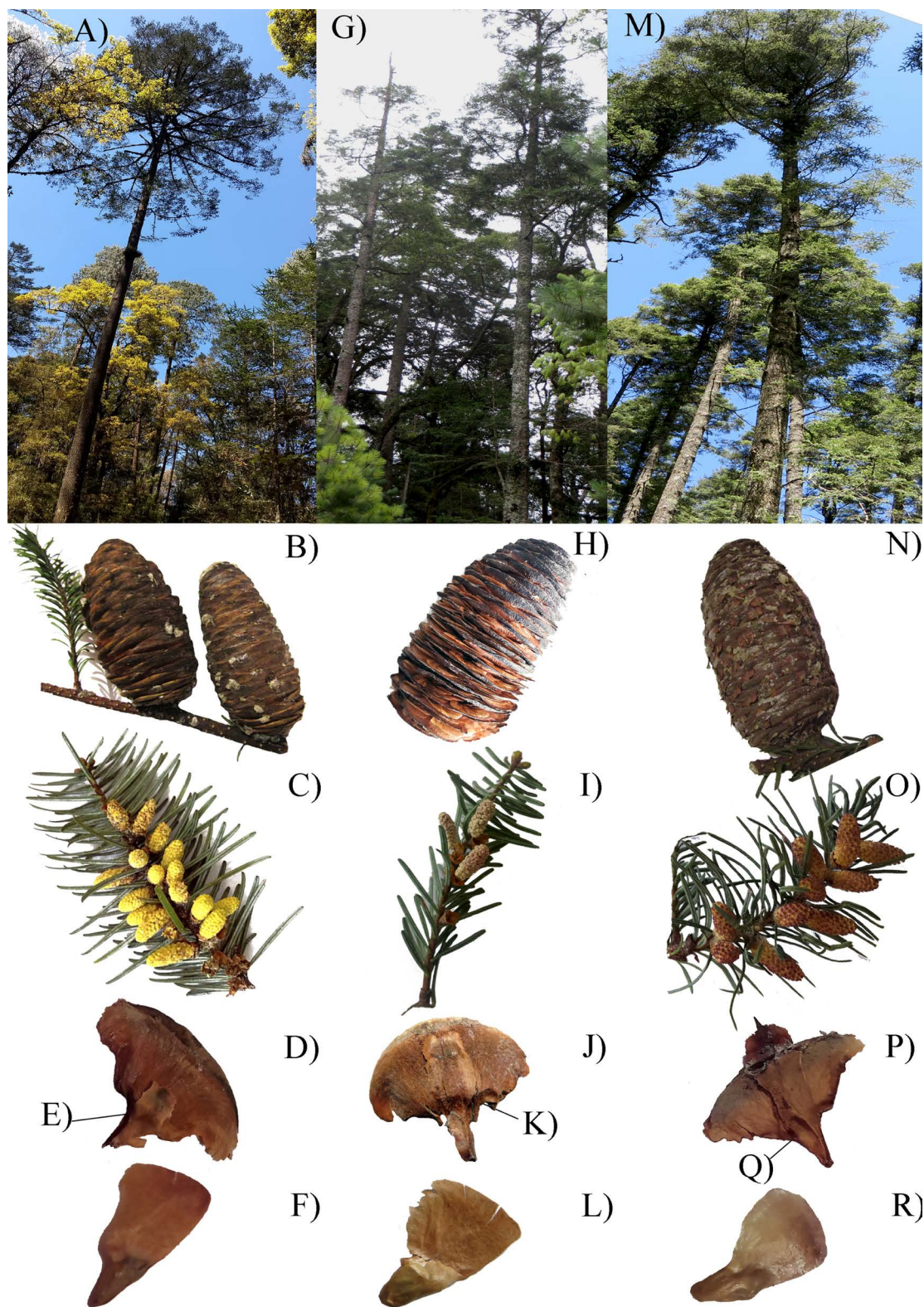


Figura 1. *Abies hidalgensis*: A) vista general, B) cono ovulado, C) cono polínico, D) escama, E) bráctea, F) semilla. *Abies* sp: G) vista general, H) cono ovulado, I) cono polínico, J) escama, K) bráctea, L) semilla. *A. religiosa*: M) vista general, N) cono ovulado, O) cono polínico, P) escama, Q) bráctea, R) semilla.

Doria y Acaxochitlán. Para *A. religiosa* se consideraron las poblaciones de El Cerezo, Pachuca de Soto, El Xihuingo, Tepeapulco, Pueblo Nuevo y Mineral del Monte para el estudio genético y las poblaciones de Acoculco, Epazoyucan y Singuilucan para el estudio morfológico. Finalmente, debido a que la población de La Encarnación, Zimapán se encuentra aislada, no hay registros sobre más poblaciones del género en sitios cercanos y ya que previamente se identificó inciertamente como *A. guatemalensis* o *A. hidalgensis*, está se consideró como *Abies* sp. (Tabla 1).

Análisis morfológico. Se colectaron ramas estériles de la parte interna del tercio superior de las copas, asegurándose que fuera material de sombra para evitar incluir factores como insolación y orientación. Se tomaron aleatoriamente 30 hojas de dos años en la parte media de las ramas colectadas (Strandby *et al.* 2009, Xu *et al.* 2014, Jasińska *et al.* 2017). Además, se colectaron 30 conos ovulados de la sección superior de la copa por individuo. Las mediciones del largo y ancho del cono se realizaron con un Vernier marca Mitotuyo con precisión de centésimas de milímetro.

Se evaluaron 18 caracteres morfológicos (30 muestras por individuo), 15 cuantitativos y tres predictores categóricos (Tabla 2) (Martínez 1963, Fernández & Nepamuceno 1989, Strandby *et al.* 2009). Con excepción de las medidas sobre las estructuras reproductivas, los atributos foliares se midieron sobre fotografías tomadas con cámara de 10 megapíxeles con el software ImageJ Launcher v. 1.4.2.67 (Kurt *et al.* 2016, Rasband 2018). Se realizó un Análisis de Funciones Discriminantes Generalizado (AFDG) considerando a las especies como grupo de asignación. Para ello se utilizó el programa STATISTICA v. 10 (www.statsoft.com), previa comprobación de la multinormalidad (prueba de Mardia) y la independencia de las matrices de covarianza (prueba de Bartlett) (Gómez-Gómez *et al.* 2003). Las variables Fa y Fb, no se incluyeron en el AFD ya que no aportan variación al modelo debido a su naturaleza categórica.

Los conos polínicos se evaluaron por separado debido a que se tenía una menor cantidad de muestras (un individuo por población) y menor cantidad de atributos a evaluar, pero su variación es importante para la identificación de grupos. Para ello se realizó una comparación de Kruskal-Wallis con una prueba posterior post-hoc de comparaciones múltiples de Dunnett. Además, se ajustó al valor de significancia *P* aplicando una corrección de Bonferroni para correlaciones múltiples que consiste en dividir el valor de alfa original (0.05) entre el número de correlaciones realizadas, con el software Past v. 4.5 (Hammer *et al.* 2021). Los caracteres analizados fueron largo (Lcp) y ancho (Acp) del cono polínico.

Tabla 1. Individuos muestreados por especie y población en Hidalgo, México. m snm: metros sobre el nivel del mar; Ng: tamaño de muestra para la evaluación genética, Nf: tamaño de muestra para la evaluación morfológica.

Especie	Localidad	Latitud (UTM)	Longitud (UTM)	m snm	Ng	Nf
<i>Abies hidalgensis</i>	Agua Blanca de Iturbide	568144	2251648	2,311	60	180
	Zacacuaútl, Acaxochitlán	581170	2237122	2,180		90
	La Cruz de Tenango y Linda Vista, Tenango de Doria	575346	2244301	2,318		30
<i>Abies</i> sp.	La Encarnación, Zimapán	477944	2307949	2,420	20	30
<i>A. religiosa</i>	Pueblo Nuevo, Mineral del Monte	527719	2230777	2,806-2,885	60	
	El Cerezo, Pachuca de Soto	527721	2229763			
	El Xihuingo, Tepeapulco	515281	2192823			
	Acoculco, Cuauhtepic de Hinojosa	580672	2205845	2,806		90
	Xolostitla, Epazoyucan	539303	2224384	2,885		90
	Tecocomulco, Singuilucan	562926	2209250	2,880		90

Tabla 2. Características morfológicas consideradas en el Análisis de Funciones Discriminantes Generalizado para contrastar a las especies de *Abies* en Hidalgo, México.

Tipo de Muestra	Característica	Clave
Hoja	Largo	Lh
	Ancho	Ah
	*Forma del ápice	Fa
	emarginado (1), obtuso (2), agudo (3)	
	*Orientación	Oh
	dísticas (1), subdísticas (2), arreglo espiral (3)	
	Estomas abaxiales	Ea
	Número de canales resiníferos	Cr
Cono ovulado	Largo	Lc
	Ancho	Ac
	Largo de la escama	Le
	Ancho de la escama	Ae
	Largo de la bráctea	Lb
	Relación largo de la bráctea/ largo de la escama	Rbe
	*Forma de la bráctea	Fb
	Exerta (1), inclusa (2)	
Semillas	Largo	Ls
	Largo del ala	La
	Relación largo de la semilla/ largo del ala	Rsa
Cono polínico	Largo	Lcp
	Ancho	Acp

*Predictores categóricos. Se omiten características propuestas por Debreczy & Rácz como el color de los conos ovulados y la forma del ápice de las brácteas, debido a que no se contaban con muestras representativas de *A. guatemalensis* como contraste.

Análisis genético. La extracción del material genético se realizó con base en adecuaciones del método propuesto por Doyle & Doyle (1987). Se maceraron 2 g de tejido vegetal con nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino y se agregó 1 ml de buffer de extracción (Tris-HCl 100 mM pH 8, NaCl 1.4 M, EDTA 20 mM, CTAB 2 % y 1 µl de 2-β-mercaptoetanol) para seguir macerando. La mezcla fue centrifugada a 8,000 rpm × 8 min, el precipitado fue obtenido y lavado hasta en tres ocasiones con el buffer de extracción para posteriormente ser incubado a 37 °C × 1 h con 10 µl de RNAsa (1 mg/ml). A continuación, se agregó 10 µl de proteinasa K (10 mg/ml) e incubó nuevamente a 60 °C durante 1 h. Posteriormente se agregó 600 µl de fenol: cloroformo: alcohol isoamílico (25:24:1) y 250 µl de NaCl al 2 %, las muestras se agitaron a 300 rpm por una hora y posteriormente se centrifugaron a 10,000 rpm × 10 min. El sobrenadante se recuperó y precipitó con 2/3 partes del volumen final (300-500 µl) de isopropanol frío dejando reposar de 12-24 h a - 20 °C. Finalmente, el tubo se centrifugó a 12,000 rpm × 10 min, se eliminó el sobrenadante, se agregó 1 ml de etanol absoluto frío a la pastilla que se centrifugó a 14,000 rpm durante 10 min. Se retiró el etanol a la pastilla y se dejó secar para ser resuspendida en 50 µl de agua destilada estéril. El material genético se cuantificó por espectrofotometría en un nanoespectrofotómetro marca MAPADA.

Para la amplificación se utilizaron tres marcadores microsatélites nucleares desarrollados para *A. guatemalensis* por Rasmussen (2008) (Tabla 3). Los cebadores se emplearon a una concentración de 5 µM. La mezcla de reacción para la PCR por individuo analizado fue: 2 µl de DNA genómico (> 50 ng/µl), 1.6 µl de MgCl₂ (25 mM), 0.7 µl de

oligonucleótido anterior, 0.7 µl del posterior (5 µM), 0.3 µl de dNTP's (10 mM), 2.4 µl de amortiguador (5x), 0.5 µl de dH₂O y 0.3 µl (1U) de TaqDNA polimerasa Promega® para un total de 8 µl por tubo de reacción. Se realizó la técnica de PCR en un termociclador punto final Arktik de Thermo Scientific. El programa PCR se conformó de un paso de desnaturalización inicial de 9 minutos a 94 °C; ciclado en tres pasos repetido 30 veces que consiste en desnaturalización a 94 °C por 55 s, alineación 50 s a 57 °C (primer Ab07), 50 s a 59 °C (primer Ab 08), 50 s a 58 °C (primer Ab 12) y alineación a 72 °C por 55 s y por último la extensión final a 72 °C por 7 min. Los productos de PCR se visualizaron en geles de acrilamida al 15 %, corridos a 90 V por 90 min y teñidos con bromuro de etidio a una concentración de 10 mg/ml.

Tabla 3. Marcadores moleculares usados para el análisis de las especies de *Abies* en Hidalgo, México. Pb: pares de bases, Ta °C: temperatura de alineamiento.

Locus	Primer Forward 5'- 3'	Primer reverse 3' – 5'	Pb	T _a °C
Ab07	ACTGGCATTGTGTCGCATTC	CCTCGGAGGACAAGATTTGC	219-257	57 °C
Ab08	ATCGAGAGGCCAGGTAGAC	GACATAGCTGATAGTGACGCAAC	128-161	58 °C
Ab12	AGGTTGTGTAAGCCCGTGTAG	CCCTTTGTTGATAGAGGGAAAC	223–244	60 °C

La cantidad de alelos fue depurada por probabilidad Poisson, considerando la eliminación de los alelos nulos al presentar frecuencias menores de 5 %, lo que permitió eliminar errores de genotipado, incluyendo alelos no amplificados, esto se realizó con el programa Micro-Checker v. 2.2.3 (Oosterhout *et al.* 2004). Con los datos obtenidos y utilizando el programa GenAlEx v. 6.5 (Peakall & Smouse 2005), se calcularon las frecuencias génicas, para determinar el promedio de muestras amplificadas por locus/localidad (N), el promedio de alelos por locus y por localidad (A), el número efectivo de alelos por locus y por localidad ($N_e = \frac{1}{(\sum p_i)^2}$), donde las p_i son las frecuencias alélicas, el índice informativo de Shannon para cada iniciador ($I = -1 \cdot \sum (p_i \cdot \ln(p_i))$), la heterocigosis observada y esperada (H_o y H_e respectivamente) y el índice de fijación ($F = 1 - \frac{H_o}{H_e}$), que es cero si hay proporciones de Hardy-Weinberg. De igual manera, se calculó el porcentaje de autofertilización considerando la fórmula ($s = \frac{2(H_e - H_o)}{2H_e - H_o}$), dado que la especie es monoica, ambas propuestas fueron tomadas de Hedrick (2005).

La estructura genética se evaluó con los estadísticos F de Wright (1951) (FIT, FIS, FST), para determinar la distribución de la variabilidad genética dentro del individuo, entre individuos dentro de las localidades y entre localidades analizadas, para lo que se empleó el mismo software. Se determinó el número de migrantes por generación (N_m) de forma pareada. Se realizó un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA), asumiendo un modelo de alelos infinitos con 999 permutaciones. Para brindar un análisis sobre la distribución de la variación genética al interior de las poblaciones, se realizó un análisis de asignación bayesiana con el programa STRUCTURE v. 2.3.4 (Pritchard *et al.* 2000) a 50,000 iteraciones, con 50,000 repeticiones Markovianas, asumiendo un modelo “Admixture” considerando las frecuencias alélicas correlacionadas para una estimación de grupos desde $K = 2$ a $K = 6$ (número de localidades analizadas), considerando un valor de asignación Alpha global dado el modelo dependiente de asignación. El proceso fue repetido 10 veces para el cálculo del intervalo de confianza. El número de grupos genéticos se determinó con el modelo de ΔK de Evanno *et al.* (2005). El gráfico se realizó mediante la plataforma STRUCTURE SELECTOR (Li & Liu 2018).

Se realizó un Análisis de Funciones Discriminantes de Componentes Principales (AFDCP), considerando cada loci como una variable mediante el software STATISTICA v. 10 (www.statsoft.com). Este método descompone los datos genéticos en componentes principales como un modo de re-escalamiento métrico de las frecuencias y usa estos valores como entrada para un análisis de funciones discriminantes que permite el contraste entre grupos, en este caso especies. Lo que minimiza la variación al interior y maximiza el agrupamiento de forma que las distancias obtenidas son independientes del equilibrio de H-W, del efecto de la selección natural o del ligamiento (Jombart *et al.* 2010).

Así mismo, para determinar si existen cuellos de botella, se consideró una aproximación no paramétrica con respecto al exceso o deficiencia de individuos heterocigos en las poblaciones. El procedimiento asume que cada loci es dependiente, sin recambio, limitados y con la misma identidad entre las poblaciones y que los alelos se reparten aleatoriamente entre localidades en una distribución Poisson (modelo de mutación paso a paso o Stepwise Mutation Model -SMM), si existen diferencias con lo esperado, entonces se asume la deficiencia o exceso de heterocigos, este análisis se realizó mediante el programa Bottleneck v. 1.2.02 (Cornuet & Luikart 1996).

Mapa de distribución geográfica de Abies hidalgensis. Una vez finalizados los análisis morfológicos y genéticos, se realizó un mapa de la distribución geográfica de *A. hidalgensis*, considerando las poblaciones identificadas en estos análisis, así como información sobre ejemplares aislados localizados por prospección en campo.

Resultados

Análisis morfológico. Las especies *A. hidalgensis* y *Abies* sp. de la población de Zimapán difieren significativamente de *A. religiosa* de acuerdo con el AFDG ($F_{(12, 585)} = 362.851$, $P < 0.0019$; distancia de Mahalanobis 82.39 y 45.26, respectivamente). La variación total del modelo se explica por dos factores, el primero (98.34 % de la varianza explicada) está relacionado principalmente con el ancho de la escama (Ae), relación largo de la bráctea/largo de la escama (Rbe) y largo de la bráctea (Lb), todos atributos del cono ovulado. El segundo factor (1.656 % de la varianza explicada) se relaciona principalmente con largo de la escama (Le), relación largo de la semilla/largo del ala (Rsa) y largo del ala (La; [Tabla 4](#)).

Tabla 4. Coeficientes canónicos estandarizados para cada función obtenida por el AFDG de las especies de *Abies* en Hidalgo, México; a partir de los datos morfológicos.

Efecto	Factor 1	Factor 2
Largo de la hoja	-0.064	0.422
Ancho de la hoja	-0.12	0.206
Largo del cono	0.04	-0.128
Ancho del cono	0.223	-0.112
Largo de la escama	0.007	-1.479*
Ancho de la escama	-0.654*	0.519
Relación largo de la bráctea/ largo de la escama	0.611*	-0.670
Largo de la bráctea	0.630*	1.15
Relación largo de la semilla/ largo del ala	0.245	1.520*
Largo de la semilla	0.215	1.009
Largo del ala	-0.295	-1.36*
Estomas abaxiales	-0.205	-0.037
Número de canales resiníferos	-0.276	-0.0478
Orientación de las hojas	0.262	-0.295
Eigenvalue	19.737	0.332
Varianza acumulada	98.344 %	100 %

* Las tres correlaciones significativas $P < 0.05$, más importantes.

El modelo es capaz de asignar correctamente los casos para *A. hidalgensis* (98 %) y *A. religiosa* (99.63 %), aunque con pobre discriminación para los individuos de *Abies* sp. (69.55 %) (Figura 2). Con estos resultados se pueden identificar los atributos con mayor discriminación entre especies, asociados principalmente con el cono ovulado (Tabla 5). *Abies* sp. y *Abies hidalgensis* tienen ápice de la hoja emarginado, en tanto que *A. religiosa* tiene ápice obtuso. Contrariamente, el número de canales resiníferos es un carácter diagnóstico, en el AFDG no resulta importante para discriminar puesto que tanto *A. religiosa* y *Abies* sp. comparten dos canales como estado de carácter, lo que reduce el porcentaje de asignación y aproxima morfológicamente ambas especies.

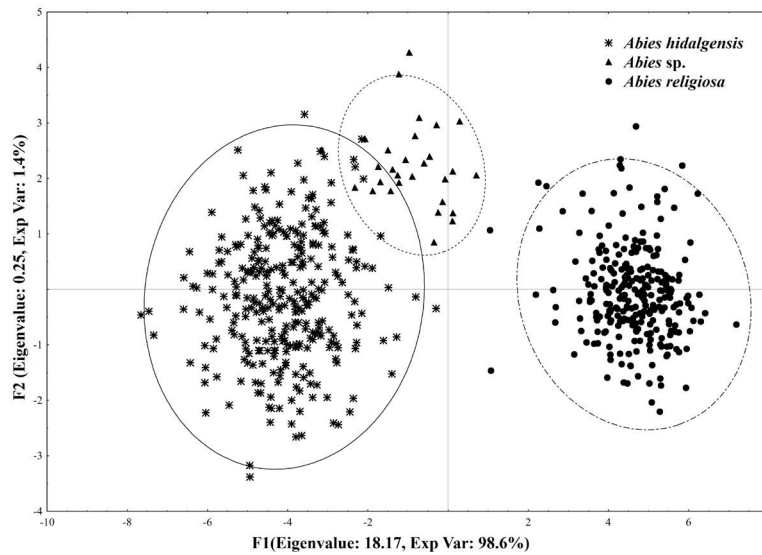


Figura 2. Ordenamiento por Análisis de Funciones Discriminantes para los caracteres morfológicos de los abetos de Hidalgo, México.

Tabla 5. Descriptores morfológicos de *Abies hidalgensis*, *Abies* sp. y *A. religiosa*.

Especie	<i>Abies hidalgensis</i>	<i>Abies</i> sp.	<i>A. religiosa</i>
Largo de la hoja	2.68±0.55	2.19±0.27	2.24±0.32
Ancho de la hoja	0.18±0.0007	0.18±0.0003	0.16±0.003
Estomas abaxiales	20.54±7.15	17.90±3.95	15.54±7.16
Largo del cono	8.27±1.95	8.00±1.11	10.44±1.77
Ancho del cono	3.67±0.12	3.64±0.29	4.65±0.27
Largo de la escama	2.37±0.06	2.15±0.06	2.22±0.13
Ancho de la escama	3.09±0.15	3.04±0.23	2.70±0.20
Largo de la bráctea	1.48±0.06	1.83±0.06	2.56±0.14
Relación largo de la bráctea /largo de la escama	0.62±0.01	0.85±0.002	1.16±0.01
Largo de la semilla	1.00±0.02	0.88±0.02	1.09±0.06
Largo del ala	1.09±0.02	1.09±0.02	1.11±0.04
Relación largo de la semilla/largo del ala	1.10±0.03	1.26±0.04	1.05±0.05

Modificado de Rosales (2018).

El ajuste del modelo AFDG al área bajo la curva (AUC) muestra que los atributos continuos evaluados, con excepción del largo del ala en las semillas, tienen una distribución gamma (AUC: 0.87, $P = 0.42$). La relación largo de la bráctea/largo de la escama (mayor en *A. religiosa*), así como la relación largo de la semilla/largo del ala (mayor en *Abies* sp.) tienen correlaciones no lineales significativas ($r = 0.097 \pm 0.024$, $P > 0.059$).

Finalmente, en cuanto a los caracteres del cono polínico, el análisis de Kruskal-Wallis mostró que los conos de *A. religiosa* (Lcp 19.15 ± 3.50 , Acp 7.11 ± 0.63 mm) son más grandes que los de *A. hidalgensis* (Lcp 16.49 ± 4.22 , Acp 5.98 ± 0.9 mm) y *Abies* sp. (Lcp 15.22 ± 2.68 , Acp 5.13 ± 0.4 mm) ($\chi^2 = 53.26$ y 13.7 respectivamente, en ambos casos $P < 0.001$), aunque con base en el valor de significancia de la prueba post-hoc, estas últimas dos especies no muestran diferencias significativas. Por lo tanto, en los análisis morfométricos *A. hidalgensis* no se separa de la población de Zimapán.

Análisis genético. Los marcadores no muestran alelos nulos y todos resultaron polimórficos (100 %) con un total de 31 alelos. Para facilitar la comparación y evitar sesgo por el tamaño de muestra, las poblaciones fueron agrupadas por especie, donde la más diversa fue *Abies* sp. ya que tiene mayor heterocigosis esperada y menor coeficiente de endogamia. *Abies hidalgensis* tiene indicadores de diversidad genética similares (Tabla 6). Esto corresponde con los valores de autofertilización (S) obtenidos, pues de igual manera esta especie mostró los valores más bajos.

En cuanto a los niveles de diferenciación, la matriz pareada muestra que *A. religiosa* tiene una mayor distancia genética con respecto a las otras dos especies (Tabla 7). De acuerdo con el AMOVA, la mayor divergencia se encuentra entre loci al interior de los individuos, seguida de la diferencia entre individuos ($F_{st} = 0.139$, $F_{is} = 0.302$, $F_{it} = 0.399$; en todos los casos $P = 0.001$). La menor divergencia entre poblaciones se relaciona directamente con la similitud entre *A. hidalgensis* y *Abies* sp.

Tabla 6. Descriptores genéticos de las especies de *Abies* analizadas en Hidalgo, México.

Especie	N	%P	Na	Ne	I	Ho	He	F	S%
<i>Abies hidalgensis</i>	60	100	8.1 ± 0.61	3.83 ± 0.95	1.45 ± 0.27	0.59 ± 0.14	0.70 ± 0.08	0.17 ± 0.11	27.16
<i>Abies</i> sp.	20	100	9 ± 0.57	5.37 ± 1.48	1.8 ± 0.18	0.68 ± 0.16	0.78 ± 0.04	0.15 ± 0.15	8.93
<i>A. religiosa</i>	60	100	8.6 ± 0.66	2.95 ± 0.64	1.43 ± 0.16	0.3 ± 0.048	0.63 ± 0.07	0.52 ± 0.03	68.75

N: número de individuos analizados, Na= Alelos por locus, Ne= Número efectivo de alelos por locus, I= Índice informativo de Shannon, Ho= Heterocigosis observada, He= Heterocigosis esperada, F= Índice de fijación S = porcentaje de autofertilización.

Tabla 7. Comparación pareada entre especies de *Abies* en Hidalgo, México. Sobre la diagonal: distancias de Nei; bajo la diagonal: número de migrantes por generación (Nm).

	<i>Abies hidalgensis</i>	<i>Abies</i> sp.	<i>A. religiosa</i>
<i>Abies hidalgensis</i>	0	0.4	0.486
<i>Abies</i> sp.	1.953	0	0.611
<i>A. religiosa</i>	1.755	1.374	0

Sin embargo, en el análisis de asignación, se identificaron tres grupos genéticos (Delta K = 3), repartidos de forma similar al interior de las especies, aunque es notorio que *A. religiosa* comparte variación con *Abies* sp. Resalta también que la distribución de grupos para *A. hidalgensis* es diferente en este análisis, con predominancia del grupo tres, así como *Abies* sp. tiene predominancia del grupo uno y *A. religiosa* del grupo dos (Figura 3).

El AFDCP mostró diferencias significativas entre las especies evaluadas ($F_{(6-132)} = 18.99 \pm 7.065$, $P < 0.001$; distancia de Mahalanobis “*A. hidalgensis*-*A. religiosa* = 23.44”, “*A. hidalgensis* – *Abies* sp. = 22.68”, “*A. religiosa* – *Abies* sp. = 10.84”). La variación total del modelo se explica por dos factores, el primero (74.78 % de la varianza explicada) y el segundo (25.22 %) (Tabla 8). El modelo es capaz de asignar correctamente los casos para *A. hidalgensis* (70 %), *A. religiosa* (70 %), *Abies* sp. (90%), este último con mayor similitud con *A. religiosa* (Figura 4).

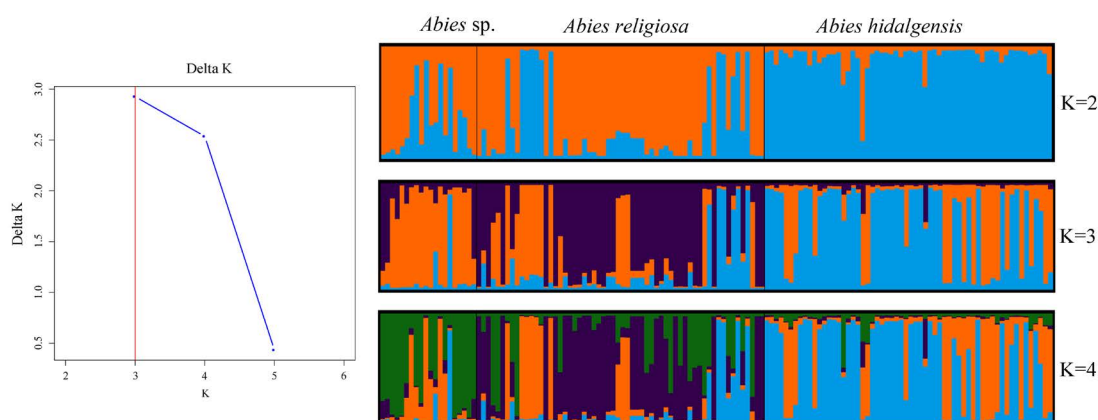


Figura 3. Análisis de asignación bayesiana obtenida por el programa STRUCTURE HARVESTER.

Tabla 8. Coeficientes canónicos estandarizados para cada función obtenida por el AFDCP de las especies de *Abies* en Hidalgo, México, a partir de los datos genéticos.

Efecto	Factor 1	Factor 2
C1	0.779	-0.564
C2	0.841	0.431
C3	0.341	-0.535
C4	-0.493	-0.542
C5	-0.107	-0.088
C6	0.010	0.214
Eigenvalue	1.335	0.450
Varianza acumulada	74.8%	100 %

El análisis de cuellos de botella muestra que solamente *A. religiosa* ha sufrido una disminución significativa en su tamaño poblacional. El modelo de mutación SMM indica que los tres loci evaluados tienen diferencias significativas del equilibrio deriva-mutación para esta especie, lo que se asocia con cuellos de botella pasados (Tabla 9).

Mapa de distribución geográfica de *Abies hidalgensis*. *Abies hidalgensis* se distribuye en las zonas sureste del estado de Hidalgo, con poblaciones remanentes escasas y ejemplares aislados en el norte de Puebla, identificados por prospección que amplían el área de distribución de la especie (Figura 5).

Los abetos hidalguenses

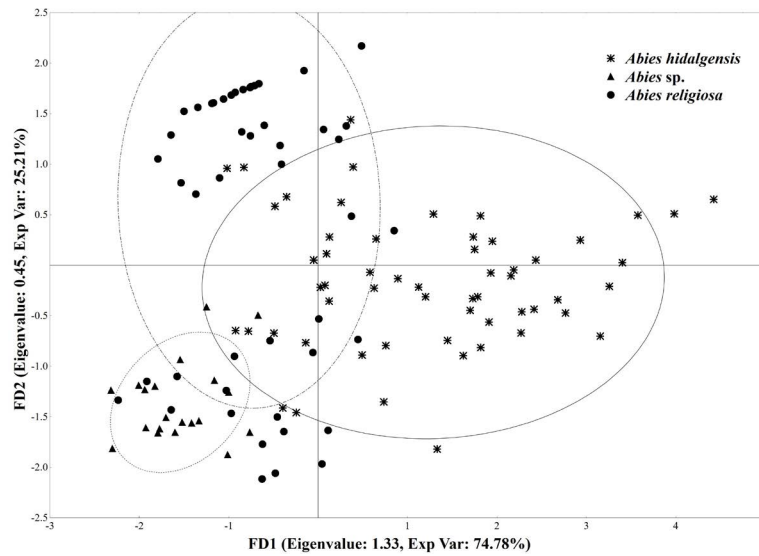


Figura 4. Ordenamiento por el Análisis de Funciones Discriminantes de Componentes Principales para los microsatélites de los abetos de Hidalgo México.

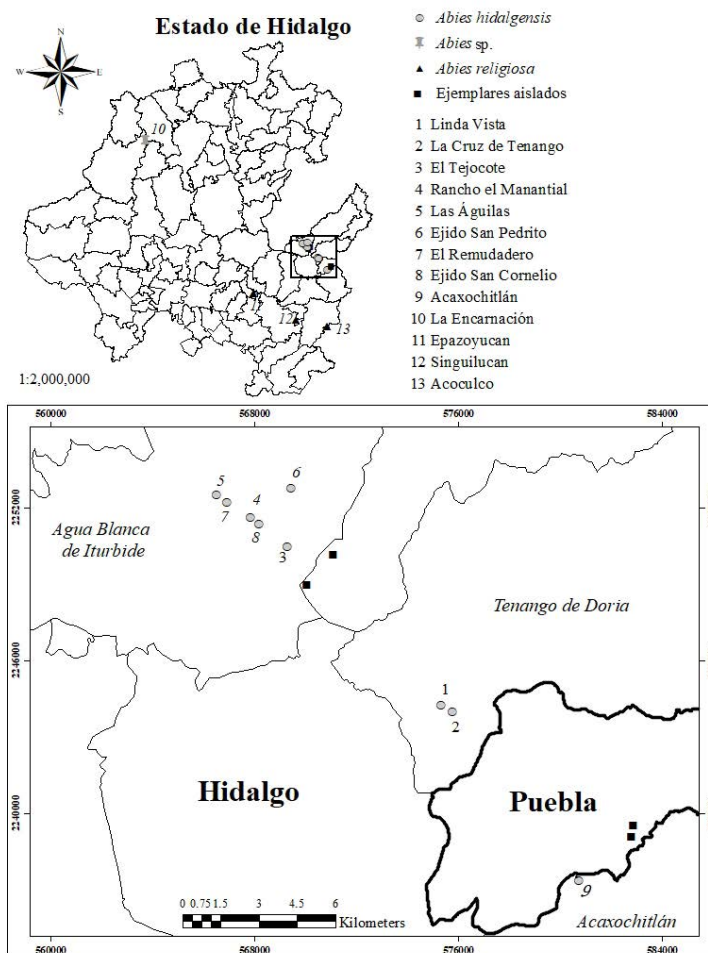


Figura 5. Poblaciones de abetos evaluados y distribución actual de *Abies hidalgensis* en Hidalgo, México.

Tabla 9. Análisis de cuellos de botella para las poblaciones de *Abies* en Hidalgo, México. Se muestran los valores de probabilidad para las pruebas de Wilcoxon.

Población	Modelo Deriva-Mutación	P Prueba Wilcoxon		
	P SMM	Deficiencia H	Exceso H	Exceso o deficiencia H
<i>Abies hidalgensis</i>	0.368	0.125	0.937	0.25
<i>Abies</i> sp.	0.064	0.188	0.87	0.375
<i>A. religiosa</i>	> 0.0001	> 0.05	1	0.125

Discusión

Nuestros resultados muestran que existen dos especies de *Abies* en el estado de Hidalgo, localizadas geográficamente en las proximidades de la Faja Volcánica Transmexicana. *A. religiosa* tiene conos polínicos de mayor tamaño y brácteas de los conos ovulados más largas. Genéticamente, esta especie se puede ubicar en el centro del estado de Hidalgo, con algunas poblaciones en áreas naturales protegidas de las cuales se tienen registros de extracción, lo que ha generado cuellos de botella que afecta a todos los loci evaluados, asociado con el volumen de manera extraído anualmente (INEGI 2017). Por el contrario, lo que se había considerado como dos especies distintas en los municipios de Agua Blanca y Tenango de Doria (*A. guatemalensis* y *A. hidalgensis*), morfológicamente son similares y se concluye que todas las poblaciones de estos dos municipios y de Acaxochitlán corresponden a *A. hidalgensis*. Por otra parte, la población de La Encarnación (Zimapan) genéticamente es más similar a *A. religiosa*. De esta forma, lo que se había llamado *A. guatemalensis* en el centro de México, definitivamente no se trata de *A. guatemalensis*, sino de alguna otra variedad aún no definida, cercana morfológicamente a *A. hidalgensis* pero genéticamente a *A. religiosa*, aunque con algunos atributos morfológicos diagnósticos similares a *A. religiosa*, como el número de canales resiníferos.

En todos los casos, los rasgos diagnósticos para diferencias a estas especies en el centro de México están relacionados con las estructuras reproductivas. Sin embargo, la morfología del cono polínico ha sido poco utilizada en estudios taxonómicos (Martínez 1963, Vázquez-García *et al.* 2014, Farjon 2017). Dados los resultados obtenidos, se recomienda considerar dichas estructuras en futuras descripciones, tanto los conos ovulados como polínicos.

En cuanto a las semillas, la relación entre la longitud del ala y la longitud de la semilla ya han mostrado ser un carácter diagnóstico de utilidad (Strandby *et al.* 2009, Jasińska *et al.* 2017). Los resultados obtenidos apuntan a la importancia evolutiva de la dispersión para los abetos, ya que cualquier limitación del proceso incrementa la endogamia y puede condicionar la capacidad de colonización en una relación inversa con el peso, pero directa respecto a la longitud de las alas en las semillas (Cremer *et al.* 2012, Paluch & Marcin 2020). Nuestros resultados apuntan a que la mayor relación longitud del ala respecto a la semilla en *A. hidalgensis*, con relación a *A. religiosa*, podría incrementar su distancia de dispersión, por lo que tendría una menor endogamia, tal como se observa en los datos genéticos obtenidos, específicamente con el porcentaje de autofertilización estimado, casi tres veces mayor en *A. religiosa* respecto a *A. hidalgensis*. En abetos se ha documentado un efecto de nodricismo, normalmente sin competencia, inversamente relacionado con la distancia a las madres, efecto influenciado fuertemente por las condiciones ambientales (Houle 1995). La extracción en la zona central del estado de Hidalgo ha comprometido la supervivencia de semillas y la fecundidad por lo que se encuentra la menor diversidad en *A. religiosa*.

Cruz-Nicolás *et al.* (2021) identificaron que las poblaciones de *A. guatemalensis* de Chiapas y Guatemala conforman un clado bien definido y que la población identificada como esta especie localizada en San Luis Potosí, al norte de las poblaciones analizadas en nuestro trabajo; no se agrupa con estas, por lo que sugieren que se trata de una especie diferente no relacionada con *A. guatemalensis*, tal como nosotros sugerimos para la población de Zimapan.

Cruz-Nicolás *et al.* (2021) también analizaron una población de *A. hidalgensis* que es hermana del clado en el que se agrupa al resto de las taxa de la Faja Volcánica Transmexicana (incluyendo a *A. religiosa* de Colima, Hidalgo, Michoacán, Querétaro y Veracruz), y a su vez la población de San Luis Potosí mencionada es hermana del clado de *A. hidalgensis* + FVT. Los resultados de Cruz-Nicolás *et al.* (2021) sustentan que *A. guatemalensis* forma un clado bien definido con poblaciones de Guatemala y Chiapas y que esta especie no se distribuye en el centro de México. Esto nos lleva a pensar que la especie estudiada en nuestro trabajo no es una variedad de *A. hickelii* como se había teorizado, sino que la menor cantidad de canales resiníferos (4 a 7 en *A. hidalgensis* y 8 a 12 en *A. hickelii*) (Farjon 2017), es un carácter emergente que no se manifiesta en *A. flinckii*, *A. religiosa*, *A. jaliscana* ni en *A. guatemalensis* procedente de la distribución original en el sureste mexicano. Aunado al número de canales resiníferos, la longitud de las semillas y el tamaño de las brácteas se pueden emplear como caracteres diagnósticos en caso de dudas taxonómicas. Estas estructuras permiten la separación definitiva entre las dos especies en conflicto taxonómico, donde *A. hidalgensis* se ubica geográficamente bien delimitada entre los estados de Hidalgo y Puebla, aunque con individuos aislados al norte de esta última entidad. Tal observación delimita el grado de amenaza para la especie pues su distribución resulta menor a 10 km², lo que la coloca como En Peligro Crítico de acuerdo con el criterio B2 de la IUCN (www.iucnredlist.org).

Si bien, la profundidad y variación que muestran los microsatélites, no son propias para un estudio de sistemática, nos permiten afirmar que las especies analizadas no son iguales en cuanto a su variación poblacional, lo que cobra relevancia en el contexto de la conservación y manejo de los *Abies* del estado de Hidalgo. Particularmente al identificarse cuellos de botella en las poblaciones de *A. religiosa*. Si bien, el exceso de homocigos observado podría resultar también por endogamia o selección natural; consideramos que la selección no es capaz de modificar las proporciones alélicas de todos los loci analizados, ya que esta fuerza evolutiva actúa sobre locus únicos vinculados con la expresión de un rasgo ventajoso y en principio los microsatélites son neutrales. En cuanto a la endogamia, esta fuerza evolutiva elimina a los heterocigos sin modificar las frecuencias alélicas, situación que no se cumple en este modelo (Hedrick 2005). Al respecto Méndez-González *et al.* (2017) identificaron homocigosis asociable a selección disruptiva en poblaciones de *A. religiosa* en el Ajusco, pero usaron AFLPs como marcadores, cuya naturaleza incluye segmentos codificantes susceptibles de selección, obviamente esto también está relacionado con el mayor tamaño poblacional de *A. religiosa* que debería contrarrestar el efecto de los cuellos de botella identificados, por lo que se asume un efecto local, tanto de la endogamia como de la deriva.

En cuanto a las amenazas, se han mostrado diferentes situaciones de riesgo para los abetos mexicanos, incluyendo las actividades humanas relacionadas con la explotación maderera (Ramírez *et al.* 2003), el cambio climático (Sáenz-Romero *et al.* 2012), el cambio en el uso del suelo (Pineda-López *et al.* 2013) y los incendios forestales (Cerano-Paredes *et al.* 2021). En todos estos casos, las evaluaciones de riesgo se han centrado en *A. religiosa* dada su importancia económica y cobertura territorial, no obstante, bajo este nombre también se aprovechan poblaciones del resto de las especies de *Abies*, particularmente en la zona de estudio. La coexistencia geográficamente cercana entre *A. hidalgensis* y *A. religiosa*, su similitud morfológica para un ojo no entrenado y la necesidad económica de las comunidades, resulta en un riesgo mayor para la especie por lo que, cualquier actividad de extracción en la región, debe corroborar previamente la identidad taxonómica de la madera extraída. Desafortunadamente, la situación es crítica en el centro de Hidalgo, ya que las prospecciones realizadas en este trabajo permitieron identificar poblaciones de *A. hidalgensis* erradicadas a lo largo de tres años.

En conclusión, el aprovechamiento forestal en el estado de Hidalgo se ha realizado sobre las especies *A. hidalgensis* y *A. religiosa* bajo el nombre genérico de “Oyamel”, poniendo en un grave riesgo a la especie endémica en las poblaciones de La Encarnación, Tenango de Doria, Acaxochitlán y Agua Blanca de Iturbide. Además, en el estado solo encontramos a estas dos especies, por lo que los reportes de *A. guatemalensis* corresponden en realidad a *A. hidalgensis* al sureste de la distribución y a otra variedad aún no determinada en Zimapan. Finalmente, los estudios genéticos y morfológicos hacen posible identificar sin lugar a duda a las especies de abetos en Hidalgo, lo que es esencial para dirigir las acciones de conservación y manejo hacia especies con uso potencial, protegiendo a las poblaciones de especies endémicas y amenazadas ya mencionadas.

Agradecimiento

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por los apoyos CB-2016-284484. A los pobladores de las comunidades donde se realizó el estudio.

Literatura citada

- Aguirre-Planter E, Furnier GR, Eguiarte LE. 2000. Low levels of genetic variation within y high levels of genetic differentiation among populations of species of *Abies* from Southern Mexico y Guatemala. *American Journal of Botany* **87**: 362-371. DOI: <https://doi.org/10.2307/2656632>
- Cerano-Paredes J, Rodríguez-Trejo D, Iniguez JM, Cervantes-Martínez R, Villanueva-Díaz J, Franco-Ramos O. 2021. Fire history (1896-2013) in an *Abies religiosa* forest in the Sierra Norte of Puebla, Mexico. *Forest* **12**: 700. DOI: <https://doi.org/10.3390/f12060700>
- Cesaroni D, Allegrucci G. 1991. Multivariate analysis of multi-character individual profiles as a tool in systematics. *Bolletino Di Zoologia* **58**: 321-328. DOI: <https://doi.org/10.1080/11250009109355775>
- Cornuet JM, Luikart G. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* **144**: 2001-2014. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/144.4.2001>
- Cremer E, Ziegenhagen B, Schulerowitz K, Mengel C, Donges K, Bialozyt R, Hussendörfer E, Liepelt S. 2012. Local seed dispersal in European silver fir (*Abies alba* Mill.): lessons learned from a seed trap experiment. *Trees* **26**: 987-996. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00468-012-0676-9>
- Cruz-Nicolás J, Villarruel-Arroyo A, Gernandt DS, Fonseca RM, Aguirre-Planter E, Eguiarte LE, Jaramillo-Correa JP. 2021. Non-adaptive evolutionary processes governed the diversification of a temperate conifer lineage after its migration into the tropics. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **160**: 107125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2021.107125>
- Debreczy Z, Rácz I. 1995. New species y varieties of conifers from México. *Phytologia* **78**: 217-243.
- Doyle JJ, Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bulletin* **19**: 11-15.
- Eguiarte LE, Furnier GR. 1997. Niveles y patrones de variación genética del género *Abies* en México. Informe final del proyecto B138. México: Biblioteca Virtual Universidad Nacional Autónoma de México. <http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfB138.pdf> (accessed January 20, 2016).
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* **14**: 2611-2620. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- Farjon A. 2017. *A Handbook of the World's Conifers*. Leiden, Boston. Brill Academic Publishers, pp 55-1032. ISBN: 978 90 04 32449 7.
- Farjon A, Rhusforth KD. 1989. A classification of *Abies* Miller (Pinaceae). *Notes of Royal of the Botanical Garden Edimburg* **46**: 59-79. <https://archive.org/details/notes-from-royal-botanic-garden-edinburgh-46-001-059-079> (accessed September 05, 2016).
- Fernández MT, Nepamuceno MF. 1989. Variación genética en *Abies guatemalensis* Redher. *Revista Ciencia Forestal* **65**: 3-17.
- GBIF [Global Biodiversity Information Facility]. 2018. Gobierno de Dinamarca. <https://www.gbif.org/search?q=Abies%20hidalgensis> (accessed February 10, 2018).
- Gernandt DS, Pérez de la Rosa JA. 2014. Biodiversidad de Pinophyta (coníferas) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* **85**: 126-133. DOI: <https://doi.org/10.7550/rmb.32195>
- Gómez-Gómez M, Danglot-Banck C, Vega-Franco L. 2003. Sinopsis de pruebas estadísticas no paramétricas. Cuando usarlas. *Revista Mexicana de Pediatría* **70**: 90-99.
- Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. 2021. Past: Paleontological statistic software package for education and data analysis. *Paleontología Electronica* **4**: 9. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm (accessed, November 09, 2021).

- Hedrick P. 2005. *Genetics of populations*. Sudbury: Massachusetts, Jones, and Bartlett Publishers, pp. 250-254. ISBN: 0 7637 4772 6.
- Hernández MA. 1985. Distribución y utilidad de los *Abies* en México. *Investigaciones Geográficas* **15**: 75-118.
- Houle G. 1995. Seed dispersal and seedling recruitment: the missing link(s). *Écoscience* **2**(3): 238-244. DOI: <https://doi.org/10.1080/11956860.1995.11682289>
- Hultine KR, Marshall JD. 2000. Altitude trends in conifer leaf morphology and stable carbon isotope composition. *Oecologia* **123**: 32-40. DOI: <https://doi.org/10.1007/s004420050986>
- INEGI [Instituto Nacional de Estadística y Geografía] 2017. *Anuario estadístico y geográfico de Hidalgo 2017*. http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/Productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/nueva_estruc/anuarios_2017/702825095093.pdf (accessed July 21, 2020).
- Jaramillo-Correa JP, Aguirre-Planter E, Khasa DP, Eguiarte LE, Piñero D, Furnier GR, Bousquet J. 2008. Ancestry and divergence of subtropical montane forest isolates: molecular biogeography of the genus *Abies* (Pinaceae) in southern México and Guatemala. *Molecular Ecology* **17**: 2476-2490. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03762.x>
- Jasińska A, Sękiewicz K, Ok T, Romo A, Boratyński A, Boratyńska K. 2017. Taxonomic position of *Abies equi-trojani* on the basis of needle characters by comparison with different fir species. *Turkish Journal of Botany* **41**: 620-631. DOI: <https://doi.org/10.3906/bot-1612-1>
- Jombart T, Devillard S, Balloux F. 2010. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC genetics* **11**: 94. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94>
- Kurt Y, Frampton J, Isik F, Landgren C, Chastagner G. 2016 Variation in needle and cone characteristics and seed germination ability of *Abies bornmuelleriana* and *Abies equi-trojani* populations from Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* **40**: 169-176. DOI: <https://doi.org/10.3906/tar-1502-101>
- Li Y, Liu J. 2018. Structure Selector: A web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. *Molecular Ecology Resources* **18**: 176-177. DOI: <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12719>
- Liu TS. 1971. *A monograph of the genus Abies*. Taipei, Taiwan. Department of Forestry, College of Agriculture, National Taiwan University. p 608.
- Martínez M. 1948. Los Abies mexicanos. *Anales del Instituto de Biología de México serie Botánica* **19**:11-104.
- Martínez M. 1963. *Las pináceas mexicanas*. DF, México, Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, 410 p.
- Martínez-Méndez N, Aguirre-Planter E, Eguiarte LE, Jaramillo-Correa JP. 2016. Modelado de nicho ecológico de las especies del género *Abies* (Pinaceae) en México: Algunas implicaciones taxonómicas y para la conservación. *Botanical Sciences* **94**: 5-24. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.508>
- Méndez-González ID, Jardón-Barbolla L, Jaramillo-Correa JP. 2017. Differential landscape effects on the fine-scale genetic structure of populations of a montane conifer from central Mexico. *Tree Genetics & Genomes* **13**:1-14. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11295-017-1112-5>
- Miller DM, Miller IM, Jackson ST. 2014. Biogeography of Pleistocene conifer species from the Ziegler reservoir fossil site, Snowmass Village, Colorado. *Quaternary Research* **82**: 567-574. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.yqres.2014.06.003>
- Oosterhout CV, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P. 2004. Micro-Checker: software for identifying and correct genotyping error in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* **4**: 535-538. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x>
- Orlova L, Gussarova G, Glazkova E, Egorov A, Potokin A, Ivanov S. 2020. Systematics and distribution on spruce species in the North-West of Russia. *Dendrobiology* **84**: 12-29. DOI: <http://dx.doi.org/10.12657/denbio.084.002>
- Ostonen I, Puttsepp U, Biel C, Alberton O, Bakker MR, Lohmus K, Majdi H, Metcalfe D, Olsthoorn AFM, Pronk A, Vangelova E, Weih M, Brunner I. 2007. Specific root length as an indicator of environmental change. *Plant Biosystems* **141**: 426-442. DOI: <http://doi.org/10.1080/11263500701626069>

- Paluch J, Marcin ZJP. 2020. Seed dispersal of anemochoric *Abies alba* Mill.: Lessons learned from seed tracking, seed trap experiments and genetic parentage assignment of seedlings. *Annals of Forest Research* **63**: 19-38. DOI: <https://doi.org/10.15287/afr.2019.1705>
- Papageorgiou AC, Kostoudi C, Sorotos I, Varsamis G, Korakis G, Drouzas AD. 2015. Diversity in needle morphology and genetic markers in a marginal *Abies cephalonica* (Pinaceae) population. *Annals of Forest Research* **58**: 217-234. DOI: <http://doi.org/10.15287/afr.2015.410>
- Parker WH, Maze J, Bradfield JE. 1981. Implications of morphological and anatomical variation in *Abies balsamea* y *A. lasiocarpa* (Pinaceae) from western Canada. *American Journal of Botany* **68**: 843-854. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1981.tb12418.x>
- Peakall ROD, Smouse PE. 2005. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* **6**: 288-295. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>
- Pérez-Miranda R, Romero-Sánchez ME, González-Hernández A, Pérez-Sosa E, Flores-Ayala E. 2017. Distribución del *Abies religiosa* (Kunth) Schltdl. & Cham. bajo escenarios de cambio climático en el Eje Neovolcánico, México. *Agroproductividad* **10**: 29-34.
- Pineda-López MR, Sánchez-Velásquez LR, Vázquez-Domínguez G, Rojo-Alboreca A. 2013. The effect of land use on carbon content in the aerial biomass of an *Abies religiosa* (Kunth Schltdl, et Cham.) forest in central Veracruz, Mexico. *Forest Systems* **22**: 82-93. DOI: <http://dx.doi.org/10.5424/fs/2013221-02756>
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**: 945-959. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>
- Ramírez M, Azárate JG, Luna L. 2003. Effects of human activities on monarch butterfly habitat in protected mountain forest, Mexico. *The Forestry Chronicle* **79**: 242-246. DOI: <https://doi.org/10.5558/tfc79242-2>
- Rasband W. 2018. ImageJ versión 1.51w. USA: National Institutes of Health <http://imagej.nih.gov/ij>
- Rasmussen KK, Andersen US, Frauenfelder N, Kollmann J. 2008. Microsatellite markers for the endangered fir *Abies guatemalensis* (Pinaceae). *Molecular Ecology Resources* **8**: 1307-1309. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2007.02072.x>
- Razo ZR, Gordillo MAJ, Rodríguez-Laguna R, Maycotte MCC, Acevedo SOA. 2013. Estimación de biomasa y carbono almacenado en árboles de oyamel afectados por el fuego en el Parque nacional “El Chico”, Hidalgo, México. *Madera y Bosques* **19**: 73-86.
- Rosales IE. 2018. Caracterización ecológica, anatómica y morfológica de *Abies hidalgensis* Debreczy, Rácz & Guízar. México, MSc. Thesis. *Universidad Autónoma de Chapingo*.
- Rzedowski J. 2006. *Vegetación de México*. DF, México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. No. 432. 504 pp.
- Sáenz-Romero C, Rehfeldt GE, Duval P, Lindig-Cisneros RA. 2012. *Abies religiosa* habitat prediction in climatic change scenarios and implications for monarch butterfly conservation in Mexico. *Forest Ecology and Management* **275**: 98-106. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2012.03.004>
- Scaltsosyiannes A, Tsaktsira M, Drouzas D. 1999 Allozyme differentiation in the Mediterranean firs (*Abies*, Pinaceae). A first comparative study with phylogenetic implications. *Plant Systematics y Evolution*, **216**: 289-307.
- Sekiewicz K, Boratynska K, Dagher-Kharrat MB, Ok T, Boratynski A. 2016. Taxonomic differentiation of *Cupressus sempervirens* and *C. atlantica* based on morphometric evidence. *Systematics and Biodiversity* **14**: 494-508. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/14772000.2016.1171260>
- Semerikova SA, Semerikov VL, Lascoux M. 2011. Post-glacial history and introgression in *Abies* (Pinaceae) species of the Russian Far East inferred from both nuclear and cytoplasmic markers. *Journal Biogeography* **38**: 326-340. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2010.02394.x>
- Shao Y-Z, Xiang Q-P. 2015. Species delimitation and phylogeography of the *Abies chensiensis* complex inferred from morphological and molecular data. *Botanical Journal of the Linnean Society* **177**: 175-188. DOI: <https://doi.org/10.1111/boj.12235>
- Strandby U, Christensen KI, Sørensen M. 2009. A morphometric study of the *Abies religiosa-hickelii-guatemalen-*

- sis complex (Pinaceae) in Guatemala and Mexico. *Plant Systematics y Evolution* **280**: 59-76. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00606-009-0164-x>
- Vázquez-García JA, Shalisko V, Cuevas-Guzmán R, Muñoz-Castro MA, Mantilla-Blandón MR. 2014. *Abies jaliscana* (Pinaceae): A new combination in section *Grandis* and a Key to the species of *Abies* in Western Mexico. *Phytotaxa* **183**: 27-36. DOI: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.183.1.3>
- Wright S. 1951. The Genetical Structure of Populations. *Annals Eugenetic* **15**: 323-354.
- Xiang QP, Wei R, Zhu YM, Harris AJ, Zhang XC. 2018. New infrageneric classification of *Abies* in light of molecular phylogeny and high diversity in western North America. *Journal of Systematics and Evolution* **56**: 562-572. DOI: <https://doi.org/10.1111/jse.12458>
- Xiang QP, Xiang QY, Guo YY, Zhang XC. 2009. Phylogeny of *Abies* (Pinaceae) inferred from nrITS sequence data. *Taxon* **58**: 141-152. DOI: <https://doi.org/10.1002/tax.581015>
- Xu P, Zhang X, Zhao C, Chen L, Gao X, Yao G, Deng J, Deng Y. 2014. Foliar responses of *Abies fargesii* Franch. to altitude in the Taibai Mountain, China. *Polish Journal of Ecology* **62**: 479–492. DOI: <http://dx.doi.org/10.3161/104.062.0309>

Editor de sección: Monserrat Vázquez Sánchez

Contribución por autor: ERI, trabajo de campo, análisis de datos, redacción, correcciones mayores; DBT, análisis genéticos, trabajo de campo; ASG, redacción, trabajo de campo, análisis de datos; DMGH, redacción, correcciones mayores; SHL, trabajo de campo, redacción; POA, análisis de datos, redacción, correcciones mayores.