



Diversidad, estructura genética e hibridación en poblaciones de *Pinus arizonica* y *P. durangensis*

Diversity, genetic structure, and hybridization in *Pinus arizonica* and *P. durangensis* populations

Carlos Raúl Morales-Nieto¹, Minerva Siqueiros-Candia¹, Alan Álvarez-Holguín^{2*},
Katia del Carmen Gil-Vega³, Raúl Corrales-Lerma¹, Martín Martínez-Salvador¹

¹ Universidad Autónoma de Chihuahua. Facultad de Zootecnia y Ecología. Chihuahua, Chihuahua. México.

² Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Campo Experimental La Campana. Aldama, Chihuahua, México.

³ Instituto Politécnico Nacional. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados. Irapuato, Guanajuato, México.

* Autor de correspondencia. alvarez.alan@inifap.gob.mx

RESUMEN

La evaluación de la diversidad, estructura genética y capacidad de hibridación en especies forestales contribuye en el diseño de estrategias para preservar su riqueza genética. A su vez, la riqueza genética contribuye en la adaptación de estas especies ante factores adversos o nuevos ambientes, como el cambio climático. Por esta razón, se evalúo la diversidad, estructura genética y capacidad de hibridación en poblaciones de *Pinus arizonica* y *P. durangensis* de la sierra de Chihuahua. Se analizaron árboles de tres poblaciones de cada especie con el uso de AFLPs (polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados). Los resultados revelaron que existe amplia diversidad genética dentro de ambas especies [índice de información de Shannon (I) = 0.37]. Las poblaciones evaluadas presentaron diferenciación genética significativa ($p < 0.05$) en ambas especies. No obstante, estas diferencias genéticas entre poblaciones explicaron menos de 10% de la variación total. La población Sur presentó mayor diferenciación, la cual podría haber sido generada por las barrancas en esa región del estado, identificadas como una barrera en el flujo genético. El 39% de los árboles analizados de *P. arizonica* y *P. durangensis* presentaron introgresión genética de la otra especie, es decir que provienen de ancestros híbridos. Por lo anterior, sería recomendable que los programas de reforestación con *P. arizonica* y *P. durangensis* se realicen con materiales locales. Además, es importante considerar la capacidad de hibridación entre estas especies al seleccionar áreas o arboles semilleros.

PALABRAS CLAVE: AFLP, flujo genético, pinos, software STRUCTURE.

ABSTRACT

The evaluation of diversity, genetic structure, and the identification of introgressive hybridization may contribute to designing strategies to preserve the genetic richness of forest species. Likewise, the genetic richness contributes significantly to the adaptation of these species to adverse factors or new environmental conditions, such as climate change. Therefore, this study assessed the diversity, genetic structure, and hybridization capacity in *Pinus arizonica* y *P. durangensis* population located in Chihuahua, Mexico. Trees from three populations were analyzed through AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) molecular markers. Results revealed wide genetic diversity [Shannon Index (I) = 0.37] in both species. In addition, populations showed genetic differentiation ($p < 0.05$) in both evaluated species. However, such differences among populations explained less than 10% of the total variation. The southern population presented a greater differentiation compared to the others, which could have been generated by the canyons in this region, identified as a barrier to gene flow. The 39% of the analyzed trees of both species presented a genetic introgression of the other species, which means they come from hybrid ancestors. Given the genetic differences among populations, reforestation programs with *P. arizonica* and *P. durangensis* should use local materials. Furthermore, the hybridization potential of these species should be considered when selecting seed stands or plus trees.

KEYWORDS: AFLP, gene flow, pine trees, STRUCTURE software.

INTRODUCCIÓN

La conservación de la diversidad genética es crucial para mantener la estabilidad de ecosistemas forestales, ya que contribuye significativamente en la adaptación de las especies ante factores adversos, o nuevas condiciones ambientales, como el cambio climático (Kim, Richardson, McDonald y Klopfenstein, 2011; Vangestel *et al.*, 2016). Además, la diversidad genética dentro de especies forestales permite realizar programas de selección para incrementar la probabilidad de éxito en programas de reforestación (Ivetić, Devetaković, Nonić, Stanković y Šijačić-Nikolić, 2016). Por lo anterior, el conocer la diversidad y estructura genética de las especies forestales es importante para planear una reforestación, ya que se pueden diseñar estrategias para la conservación de recursos genéticos (Pazouki *et al.*, 2016; Bilgen y Kaya, 2017).

La hibridación es un promotor de la diversidad genética; este fenómeno es común dentro del reino vegetal, pues se estima que aproximadamente 25% de las especies de plantas pueden hibridar (Mallet, 2005). No obstante, la hibridación puede afectar la morfología, capacidad productiva y viabilidad de la semilla de especies arbóreas (Roe *et al.*, 2014). Por esta razón, el nivel de hibridación en arboles semilleros podría tener influencia en la calidad de la semilla y en la probabilidad de éxito de los programas de reforestación. En este sentido, es importante que se identifique si existe la posibilidad de hibridación en rodales semilleros donde habitan dos o más especies de importancia económica.

Pinus arizonica Engelm. y *P. durangensis* Mtz. son especies forestales de importancia económica y ecológica en México. Ambas especies tienen potencial maderable y son catalogadas como especies clave en los ecosistemas forestales de la Sierra Madre Occidental (Silva-Flores, Pérez-Verdín y Wehenkel, 2014). En el estado de Chihuahua, *P. arizonica* y *P. durangensis* se distribuyen en 80% de la superficie forestal y generan aproximadamente 160 000 m³ y 190 000 m³ de madera al año, respectivamente (Comisión Nacional Forestal [Conafor], 2009). Ecológicamente, estas especies son clave en los bosques

templados del estado de Chihuahua porque ocupan alrededor de 34% y 16% de la composición arbórea, respectivamente (Hernández-Salas *et al.*, 2013). Por lo anterior, es importante que se fortalezcan los planes de manejo para el aprovechamiento sustentable y la conservación de los recursos genéticos de estas especies.

Estudios previos han evaluado la diversidad, estructura genética y capacidad de hibridación de *P. arizonica* y *P. durangensis*. Un ejemplo de esto es lo publicado por Hernández-Velasco *et al.* (2017), quienes encontraron una estructura genética definida en poblaciones de *P. durangensis*. Otros estudios indican que existe amplia diversidad y una estructura genética definida en poblaciones de *P. arizonica* (Friedrich, Hernández-Díaz, Leinemann, Prieto-Ruiz y Wehenkel, 2018). Respecto a la hibridación, Ávila-Flores, Hernández-Díaz, González-Elizondo, Prieto-Ruiz y Wehenkel (2016) estudiaron rodales de *P. engelmannii* Carr. y encontraron que puede hibridar con *P. arizonica* y *P. durangensis*. Estos estudios fueron realizados en el estado de Durango, mientras que en el estado de Chihuahua se carece de información sobre la diversidad, estructura genética y capacidad de hibridación de estas especies.

OBJETIVOS

El objetivo del estudio fue evaluar la diversidad, estructura genética y capacidad de hibridación en tres poblaciones de *P. arizonica* y *P. durangensis* de la sierra de Chihuahua, usando marcadores moleculares AFLP.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y método de muestreo

Los sitios de muestreo se ubicaron en las zonas norte, centro y sur de los bosques templados del estado de Chihuahua, México, en los municipios de Madera, Creel y Guadalupe y Calvo, respectivamente (Fig. 1; Tabla 1). En cada población se recolectaron hojas (acículas) de 10 árboles adultos de cada especie. El método de muestreo fue de transecto, donde se seleccionó un individuo aproximadamente a cada kilómetro de distancia. Los transectos se realizaron para cada especie por separado. Se muestrearon



poblaciones densas y dominadas por la especie de interés; sin embargo, en la mayoría de los sitios de muestreo había individuos de ambas especies. Se seleccionaron individuos sanos y de fuste recto. Las características ambientales de las zonas de recolecta se muestran en la tabla 2. El tamaño de muestra tomado se basó en los criterios propuestos por Rodríguez-Peña *et al.* (2018) quienes sugieren que el procedimiento de AFLP es muy útil para realizar estudios de estructuras genéticas, pues es posible economizar utilizando muestras relativamente pequeñas. Por su parte, Nei (1978) indica que es posible estimar heterocigosidad promedio y distancia genética con cualquier tamaño de muestra, siempre y cuando se considere un alto número de loci; por lo que en este estudio se analizaron 1303 y 1343 bandas para *P. arizonica* y *P. durangensis*, respectivamente.

Las muestras de acículas se colocaron en bolsas de plástico e identificaron con la especie, el número del individuo y las coordenadas donde se recolectaron. Posteriormente, se transportaron en hieleras al laboratorio de Genética Molecular del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav), Unidad Irapuato, Guanajuato.

Extracción y análisis de ADN

Para la obtención de ADN se utilizaron de dos a tres acículas (hojas) por árbol. Se utilizó el kit Qiagen DNeasy® 96 Plant Kit (QIAGEN Inc). El material se molvió en mortero, desinfectado con etanol a 70% entre cada muestra. El material molido se colocó en tubos de microcentrifuga de 2-mL, junto con una esfera de metal de 5 mm (*Qiagen Stainless Steel Beads*). Posteriormente, las muestras fueron liofilizadas y remolidas en un *TissueLyser II* (Qiagen Inc.), con dos ciclos de 30 s por 30 Hz. Las muestras molidas y liofilizadas fueron utilizadas para la extracción del ADN. Una vez realizada la extracción, el total de ADN genómico se cuantificó en un NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific) y se ajustó a una concentración de 50 ng μL^{-1} con agua desionizada.

El análisis AFLP se realizó utilizando el Kit IRDye® Fluorescent AFLP® Kit for Large Plant Genome Analysis

(LI-COR Biosciences). Se comenzó con la digestión de 2 μL de ADN diluido por medio de las enzimas de restricción EcoRI y MseI. Posteriormente, los fragmentos de ADN digeridos fueron ligados con adaptadores para EcoRI y MseI. Despues, se adhirió un nucleótido extra a los primers (EcoRI + A y MseI + C) para realizar la pre-amplificación. La amplificación selectiva se llevó a cabo mediante cuatro combinaciones de cebadores marcados con fluorescencia: MseI + CTC - EcoRI + ACA, MseI + CAG - EcoRI + ACT, MseI + CTA - EcoRI + AGA, MseI + CTG - EcoRI + AGC. La reacción en cadena de la polimerasa se realizó en un termo ciclador (Verity Applied Biosystems 2720), con el siguiente programa: un ciclo de 94 °C por 30 s, 65 °C por 30 s, 72 °C por 1 min; 12 ciclos de 94 °C por 30 s, 65 °C por 30 s, 72 °C por 1 min; y 23 ciclos de 94 °C por 30 s, 56 °C por 30 s, 72 °C por 1 min. Los productos de la amplificación selectiva (2 μL) se mezclaron con 8 μL de formamida y 1 μL de marcador Eco 700 GeneScan (*Applied Biosystems*). Finalmente, la separación y detección de fragmentos se realizó por medio de un secuenciador Genetic Analyzer 3730xl (Applied Biosystems).

Análisis de la diversidad genética

Los electroferogramas obtenidos fueron organizados en una matriz binaria de presencia (1) o ausencia (0) de bandas para realizar el análisis en el software Geneious versión R10. El software GenAIEx versión 6 (Peakall y Smouse, 2006) fue utilizado para obtener los estadísticos de diversidad, porcentaje de loci polimórficos, promedio de alelos por locus, número de alelos efectivos, índice de información de Shannon (I) y heterocigosis esperada (H_e). Estos índices fueron estimados con base en el supuesto de que cada locus representa un par de alelos, cuando en una banda se encuentra presencia y ausencia de un fragmento AFLP. La heterocigosis esperada se estimó mediante el enfoque de Lynch y Milligan (1994), quienes utilizan el índice de diversidad de Nei como el valor de heterocigosis esperada (Nei, 1978). Los estadísticos de diversidad para cada población se compararon mediante la prueba Wilcoxon con corrección Bonferroni ($\alpha=0.05$).

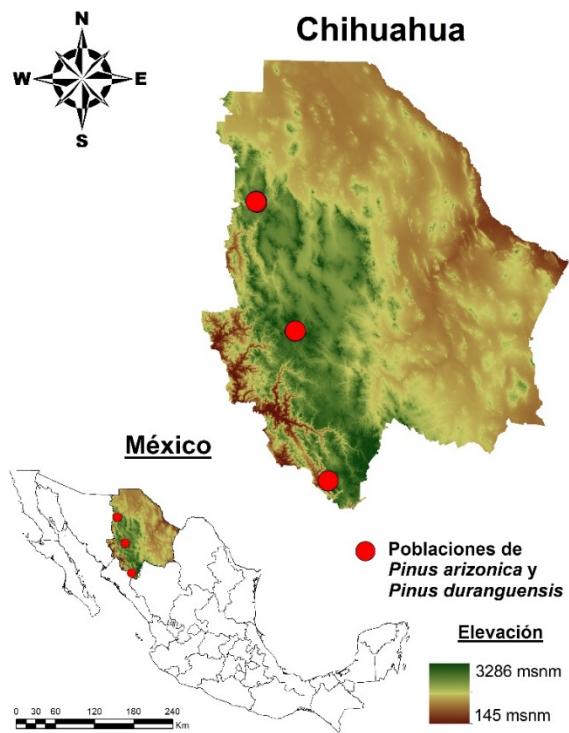


FIGURA 1. Localización geográfica de tres poblaciones de *Pinus arizonica* y *P. durangensis* en el estado de Chihuahua, México.

TABLA 1. Ubicación geográfica de los sitios de recolecta de tres poblaciones de *Pinus arizonica* y *P. durangensis* en el estado de Chihuahua, México.

ID	<i>P. arizonica</i>		<i>P. durangensis</i>		ID	<i>P. arizonica</i>		<i>P. durangensis</i>	
	Latitud	Longitud	Latitud	Longitud		Latitud	Longitud	Latitud	Longitud
P1-Norte	29.7919	-108.2606	29.7319	-108.1704	P6-Centro	28.1903	-107.5994	28.2119	-107.6098
P2-Norte	29.8138	-108.2659	29.7638	-108.1706	P7-Centro	28.2208	-107.5979	28.2467	-107.6095
P3-Norte	29.8303	-108.2503	29.7903	-108.1704	P8-Centro	28.2492	-107.5970	28.2706	-107.6152
P4-Norte	29.8512	-108.2679	29.8212	-108.1711	P9-Centro	28.2782	-107.5970	28.2978	-107.6094
P5-Norte	29.8786	-108.2674	29.8546	-108.1696	P10-Centro	28.3083	-107.5970	28.3076	-107.6194
P6-Norte	29.9059	-108.2674	29.8839	-108.1695	P1-Sur	25.9549	-107.0472	26.0402	-107.0192
P7-Norte	29.9338	-108.2683	29.9138	-108.1697	P2-Sur	25.9849	-107.0475	26.0732	-107.0197
P8-Norte	29.9598	-108.2682	29.9428	-108.1688	P3-Sur	26.0223	-107.0477	26.1093	-107.0186
P9-Norte	29.9718	-108.2582	29.9718	-108.1686	P4-Sur	26.0559	-107.0472	26.1399	-107.0186
P10-Norte	29.9868	-108.2672	29.9968	-108.1646	P5-Sur	26.0919	-107.0464	26.1719	-107.0175
P1-Centro	28.0290	-107.5999	28.0562	-107.6089	P6-Sur	26.1316	-107.0470	26.2016	-107.0163
P2-Centro	28.0629	-107.5993	28.0857	-107.6094	P7-Sur	26.1614	-107.0474	26.2314	-107.0158
P3-Centro	28.0990	-107.5985	28.1161	-107.6094	P8-Sur	26.1934	-107.0469	26.2634	-107.0157
P4-Centro	28.1290	-107.5979	28.1460	-107.6094	P9-Sur	26.2217	-107.0473	26.2917	-107.0155
P5-Centro	28.1580	-107.5995	28.1806	-107.6095	P10-Sur	26.2557	-107.0463	26.3257	-107.0156



TABLA 2. Características ambientales de los sitios de recolecta de tres poblaciones de *Pinus arizonica* y *P. durangensis* en el estado de Chihuahua, México.

Población	Localidad	Municipio	Altitud (msnm)	PPT (mm)	TMA (°C)
Norte	Ejido El Largo	Madera	2324	625	12.3
Centro	Ejido San Juanito	Creel	2453	805	11.4
Sur	Mohinora	Guadalupe y Calvo	3308	1080	14.4

PPT = precipitación media anual, TMA = temperatura media anual. Fuente: bases de datos CLIMATE-DATA.ORG (2019) y elaboración propia con datos recolectados en campo.

Análisis de la estructura genética

La estructura genética de las poblaciones se infirió con base en el algoritmo de agrupamiento con un modelo Bayesiano, mediante el software STRUCTURE versión 2.3.4 (Pritchard, Stephens y Donnelly, 2000; Falush, Stephens y Pritchard, 2007). El programa STRUCTURE se corrió 30 veces para cada K número de conglomerados genéticos y se analizó desde $K=1$ hasta $k=10$. En cada corrida se efectuaron 10 000 repeticiones de cadena de Markov-Monte Carlo (CMMC) y 100 000 periodos de rodaje (burn-in periods). Este análisis se llevó a cabo por medio de un modelo de mezcla y frecuencia de alelos correlacionados. Se consideró como número óptimo de k grupos al que obtuvo el valor mayor de la probabilidad posterior promedio (log likelihood) y de ΔK , de acuerdo con los criterios propuestos por Evanno, Regnaut y Goudet (2005). Los valores de la probabilidad posterior promedio y ΔK se obtuvieron a través del sitio web Structure Harvester (Earl y Von-Holdt, 2012). Por último, se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA; Excoffier, Smouse y Quattro, 1992), donde se comparó entre poblaciones y entre los grupos conformados en el análisis STRUCTURE. Este análisis se llevó a cabo empleando el software Info-Gen (Balzarini y Di Rienzo, 2004). El índice de flujo genético se estimó con la fórmula $N_m = [0.25 (1 - \Phi_{ST}) / (\Phi_{ST})]$ (Whitlock y McCauley, 1999) utilizando los estadísticos F (Φ_{ST}) obtenidos del AMOVA. Para detectar posibles barreras eco geográficas que afecten el flujo genético entre poblaciones, los datos fueron analizados mediante el algoritmo de Monmonier, con ayuda de software Barrier versión 2.2 (Manni, Guérard y Heyer, 2004). Los valores de Bootstrap de cada barrera fueron

calculados con 100 matrices de distancias genéticas Dice. Todos los análisis fueron realizados para cada especie por separado.

Identificación de híbridos

La identificación de híbridos de *P. arizonica* y *P. durangensis* se realizó con base en el algoritmo de agrupamiento Bayesiano, en software STRUCTURE versión 2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000; Falush *et al.*, 2007). Para ello se analizaron los individuos de ambas especies en conjunto, para cada población por separado (norte, centro y sur). El análisis de hibridación se realizó con los datos obtenidos del análisis AFLP y se estableció $k=2$ como el número de grupos. En cada corrida se efectuaron 10 000 repeticiones de cadena de Markov-Monte Carlo (CMMC) y 100,000 periodos de rodaje (burn-in periods). Los individuos con una probabilidad menor del 95% de pertenecer a la especie en la que fueron clasificados, se identificaron como híbridos. Por ejemplo, un árbol de *P. arizonica* con 0.06 (6%) de probabilidad de pertenecer a *P. durangensis* sería identificado como un híbrido. Los individuos con una probabilidad de entre 45 y 55% de pertenecer a la otra especie fueron identificados como híbridos de primera generación (F_1). Este criterio se estableció con base en la investigación realizada por Ávila-Flores *et al.* (2016), quienes lo utilizaron para identificar híbridos de *P. engelmannii* con *P. arizonica* y *P. durangensis*.

RESULTADOS

Diversidad genética

El análisis AFLP generó 1303 y 1343 bandas para *P. arizonica* y *P. durangensis*, respectivamente. En ambas

especies, las tres poblaciones (norte, centro y sur) presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en los parámetros de diversidad evaluados. En general, las poblaciones de *P. arizonica* y *P. durangensis* del centro del estado presentaron mayor diversidad (Tabla 2).

Estructura genética

En *P. arizonica*, el análisis de estructura genética (STRUCTURE) determinó $k= 2$ como el número apropiado de grupos, ya que obtuvo el valor más alto de probabilidad posterior promedio y ΔK . La mayoría de los árboles de la población norte quedaron integrados en el grupo I y todos los de la población sur en el grupo II. Los árboles de la población Centro quedaron divididos en ambos grupos; 70% quedo integrado en el Grupo I y 30% en el Grupo II (Fig. 2A). El análisis de barreras genéticas (BARRIER) reveló la existencia de una discontinuidad genética (Bootstrap = 68%) entre las poblaciones de *P. arizonica* estudiadas. Esta barrera divide a las poblaciones del norte y centro de la sur, lo cual coincide con la zona de las Barrancas (Fig. 2B).

El AMOVA determinó que existen diferencias significativas ($p < 0.01$) entre las tres poblaciones de *P. arizonica*. No obstante, este análisis reveló que las diferencias moleculares entre poblaciones son débiles, ya que solamente explicaron 7.2% de la variación total. En contraste, la variación dentro de las poblaciones explicó 92.8% (Tabla 3). De acuerdo con el AMOVA, los grupos formados por el análisis STRUCTURE también fueron diferentes entre sí ($p = 0.0001$); sin embargo, este agrupamiento solamente explicó 7.6% de la variación total.

El índice de flujo genético (N_m) total entre las tres poblaciones fue de 3.24. Sin embargo, al comparar entre poblaciones, se encontró que el flujo genético más alto se presentó entre las poblaciones norte y centro ($N_m = 4.25$). Además, el flujo genético entre las poblaciones centro y sur fue de 3.77, mientras que entre las poblaciones norte y sur se presentó el menor flujo genético, 2.33 (Tabla 3).

Los resultados obtenidos en *P. durangensis* fueron similares a los encontrados para *P. arizonica*. El análisis de

estructura genética dividió a los árboles analizados en dos grupos genéticos ($k = 2$). Todos los árboles de la población norte fueron integrados en el grupo I y los de la población sur en el grupo II. Los árboles de la población centro quedaron divididos en ambos grupos, 70% en el Grupo I y 30% en el Grupo II (Fig. 3A). Así mismo, el análisis de barreras genéticas sugiere que existe un cuello de botella en el flujo genético (Bootstrap = 83%) entre la población sur y las poblaciones centro y norte (Fig. 3B). Al igual que en *P. arizonica*, la barrera genética identificada coincide con la zona de las Barrancas.

Con base en el AMOVA, en *P. durangensis* las poblaciones norte y centro no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre sí. Sin embargo, la población sur si presentó diferencias genéticas significativas ($p < 0.05$) con las poblaciones norte y centro. No obstante, las diferencias entre poblaciones solamente explicaron 5.9% de la variación total (Tabla 4). Los grupos conformados por el análisis STRUCTURE presentaron diferencias significativas ($p = 0.0022$) entre sí y este agrupamiento explicó 8.49% de la variación total. Las poblaciones norte y centro presentaron un alto índice de flujo genético ($N_m = 6.87$), en comparación con el encontrado entre la población sur con las poblaciones norte (3.0) y centro (3.03), respectivamente (Tabla 4).

Hibridación

El análisis STRUCTURE sugiere que existen híbridos ancestrales de *P. durangensis* x *P. arizonica* y *P. arizonica* x *P. durangensis* (Fig. 4). Veintitrés de cada cien árboles de *P. durangensis* analizados presentaron una introgresión genética de *P. arizonica*, mientras que solamente en 16% de los árboles de *P. arizonica* se encontró una introgresión genética de *P. durangensis*. Además, los resultados sugieren que la hibridación entre estas especies se ha dado en todo el macizo forestal del estado de Chihuahua (Fig. 4). La mitad de los híbridos fueron encontrados en la población norte, 33% en el centro y solamente 16% en la sur. No obstante, no se identificaron híbridos de primera generación (F_1) entre los árboles muestreados.

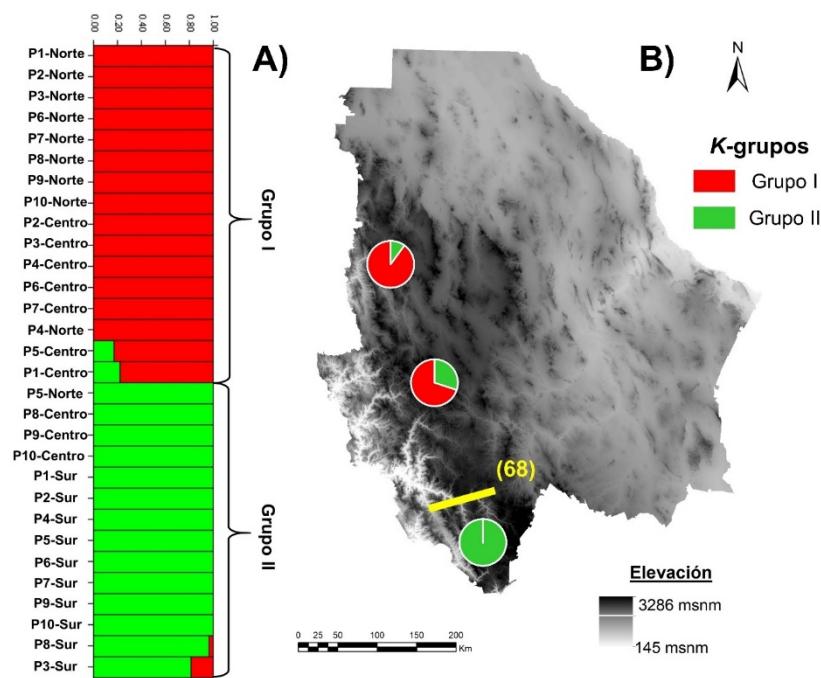


FIGURA 2. Estructura genética dentro y entre tres poblaciones de *Pinus arizonica* en el estado de Chihuahua, México.

A) Análisis STRUCTURE con $K=2$ realizado con base en 1334 fragmentos AFLP. Cada color representa la proporción de la probabilidad de pertenecer a cada grupo. B) Estructura en contexto geográfico, donde el área de las gráficas circulares representa el porcentaje de áboles de cada grupo. La barra amarilla representa una barrera en el flujo genético y el número es el valor de Bootstrap (1000 remuestreos), identificados mediante análisis BARRIER. El mapa fue generado con el modelo digital de elevación esc.: 1:50000, con un tamaño de celda de 30x30 m (Instituto Nacional de Estadística y Geografía [Inegi] 2019).

TABLA 3. Análisis molecular de varianza (AMOVA) entre tres poblaciones de *Pinus arizonica* y entre grupos formados por análisis STRUCTURE, calculado con 1334 fragmentos AFLP.

Fuente de variación	GL	SC	CV	PV	P	Φ_{ST}	N_m
AMOVA general							
Entre poblaciones	2	938317.33	20429.82	7.16	<0.0001		
Dentro de poblaciones	27	7151233.6	264860.5	92.84	0.0001	0.07	3.24
AMOVA norte vs centro							
Entre poblaciones	1	441055.2	5.55	3.03	0.0006		
Dentro de poblaciones	18	5000904	94.45	96.97	0.0011	0.05	4.25
AMOVA norte vs sur							
Entre poblaciones	1	544479.2	28150.88	9.67	0.0003		
Dentro de poblaciones	18	4733467.2	262970.4	90.33	0.0005	0.09	2.33
AMOVA centro vs sur							
Entre poblaciones	1	421941.6	16815.85	6.21	0.0084		
Dentro de poblaciones	18	4568096	253783.11	93.79	0.0089	0.06	3.77
AMOVA grupos estructura $K=2$							
Entre grupos	1	591769.95	22279.71	7.57	0.0001		
Dentro de grupos	27	7348626.46	272171.35	92.43	<0.0001	0.07	3.05

GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, CV= componente de variación, PV= porcentaje de variación, P= nivel de significancia, Φ_{ST} = estimador de la diferencia genética promedio con 10,000 permutaciones, N_m = índice de flujo genético (Whitlock y McCauley, 1999).

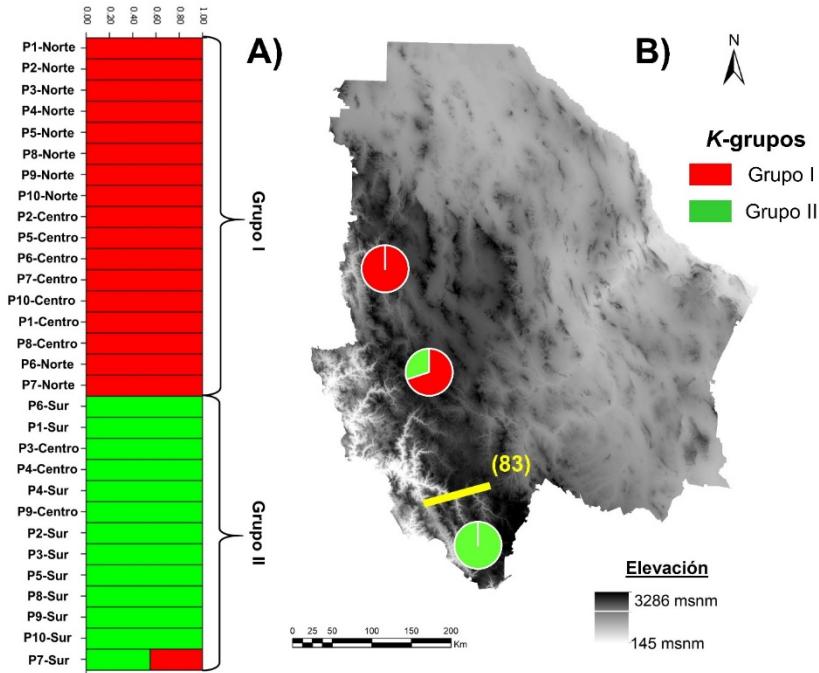


TABLA 4. Análisis molecular de varianza (AMOVA) entre tres poblaciones de *Pinus durangensis* y entre grupos formados por análisis STRUCTURE, calculado con 1343 fragmentos AFLP.

Fuente de variación	GL	SC	CV	PV	P	Φ_{ST}	N _m
AMOVA general							
Entre poblaciones	2	884848.53	17290.5	5.90	0.0079	0.06	3.98
Dentro de poblaciones	27	7443750.4	275694.46	94.10	0.0084		
AMOVA norte vs centro							
Entre poblaciones	1	415338.4	11076.39	3.51	0.0595	0.03	6.87
Dentro de poblaciones	18	5482340.8	304574.49	96.49	0.0579		
AMOVA norte vs sur							
Entre poblaciones	1	475940.2	22116.25	7.67	0.0080	0.07	3.00
Dentro de poblaciones	18	4795520.4	266417.8	92.33	0.0062		
AMOVA centro vs sur							
Entre poblaciones	1	722222.25	20477.27	7.60	0.0450	0.07	3.03
Dentro de poblaciones	18	4481964.8	248998.04	92.40	0.0402		
AMOVA grupos estructura K=2							
Entre poblaciones	1	678944.31	26322.55	8.49	0.0022	0.08	2.80
Dentro de poblaciones	27	7688429.82	283756.66	91.51	0.0023		

GL= grados de libertad, SC = suma de cuadrados, CV = componente de variación, PV = porcentaje de variación, P = nivel de significancia, Φ_{ST} = estimador de la diferencia genética promedio con 10,000 permutaciones, N_m= índice de flujo genético (Whitlock y McCauley, 1999).

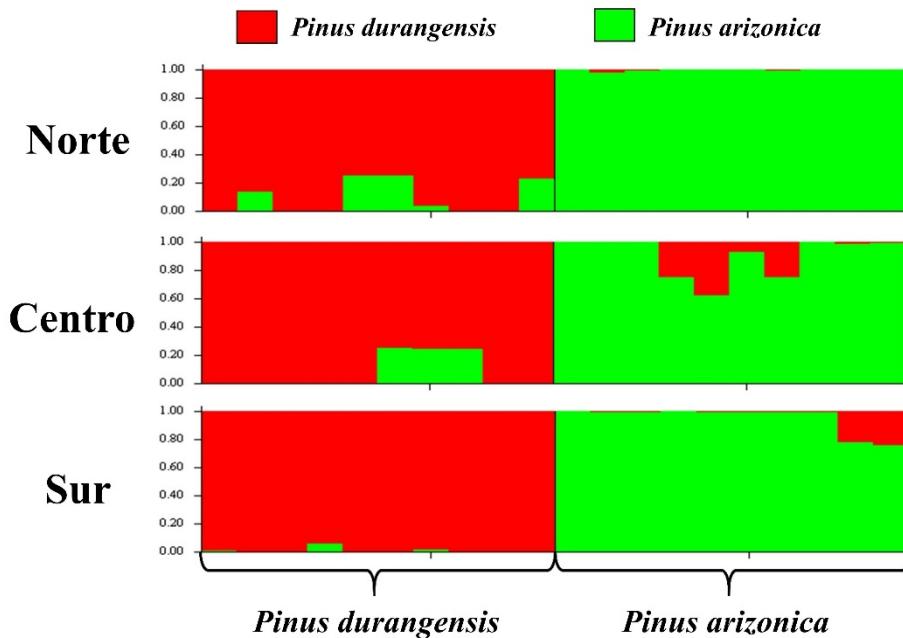


FIGURA 4. Identificación de híbridos de *Pinus arizonica* y *Pinus durangensis*, mediante análisis STRUCTURE ($k=2$), en tres poblaciones ubicadas en el Norte, Centro y Sur del estado de Chihuahua, México.

El color rojo representa la probabilidad de pertenecer a *P. durangensis* y el verde a *P. arizonica*.

DISCUSIÓN

El análisis AFLP produjo 1445 bandas, de las cuales una alta proporción de loci fueron polimórficos. *Pinus arizonica* y *P. durangensis* presentaron 74.9 y 76.0% de loci polimórficos, respectivamente. Estos resultados son mayores a los detectados en otras especies de pinos, al usar marcadores AFLP. Por ejemplo, Xu, Tauer y Nelson (2008) encontraron 65% y 46% de loci polimórficos en *P. echinata* Mill y *P. taeda* L., respectivamente. Así mismo, Rawat, Barthwal y Ginwal (2014) encontraron 36% de loci polimórficos en *P. raxburghii* Sargent. Lo anterior confirma que existe amplia diversidad genética en las poblaciones de *P. arizonica* y *P. durangensis* del macizo forestal en la Sierra Madre Occidental del estado de Chihuahua.

El índice de Shannon (I) total obtenido para *P. arizonica* y *P. durangensis* fue similar al obtenido para otras especies de pinos; por ejemplo, Androsiuk, Ciaglo-Androsiuk y Urbaniak (2015) encontraron un I de 0.35 en 20

poblaciones de *P. sylvestris* L. distribuidas en 12 países europeos. Así mismo, Di y Wang (2013) evaluaron la diversidad de 20 poblaciones de *P. tabulaeformis* Carr. en todo China, mediante marcadores AFLP y encontraron un I de 0.35. Dada la amplia distribución de las poblaciones analizadas en los estudios antes mencionados, se puede considerar que la diversidad genética encontrada en este estudio fue alta para ambas especies ($I= 0.37$).

El nivel de heterocigosis encontrado para *P. arizonica* y *P. durangensis* ($H_t= 0.24$) puede considerarse como medio si se comparan con lo encontrado en investigaciones previas con AFLP. Xu *et al.* (2008) registraron valores de heterocigosis esperada desde 0.08 hasta 0.17 en *P. echinata* Mill y *P. taeda*. En contraste, Kim *et al.* (2011) obtuvieron 0.35 de heterocigosis esperada en *P. monticola* Dougl. Si se toma como base este intervalo, se podría sugerir que, tanto *P. arizonica* como *P. durangensis*, presentan una heterocigosis moderada en el estado de Chihuahua.

En las dos especies estudiadas las poblaciones del centro del estado presentaron valores más altos en todos los parámetros de diversidad evaluados (porcentaje de loci polimórficos, promedio de alelos por locus número de alelos por locus, índice de información de Shannon y heterocigosis esperada). Estos resultados sugieren que existe un mayor nivel de diversidad genética en las poblaciones de *P. arizonica* y *P. durangensis* del centro de Chihuahua, en comparación con el norte y el sur.

Los resultados del análisis de estructura genética revelaron que existen dos grupos genéticos en ambas especies, los cuales fueron significativamente diferentes ($p<0.05$) de acuerdo con el AMOVA. Un grupo genético se encuentra en el norte y otro en el sur del estado, mientras que en el centro habitan individuos de ambos grupos. Este comportamiento podría ser la causa de la mayor diversidad genética en el centro del Estado, a través de la convergencia y cruzamiento de ambos grupos. No obstante, las poblaciones de ambas especies presentaron diferenciación genética entre sí. Este resultado sugiere que en cada población existen alelos particulares que no se encuentran en las demás poblaciones. Estos resultados concuerdan con Friedrich et al. (2018) y Hernández-Velasco et al. (2016), quienes encontraron diferencias genéticas entre poblaciones de *P. arizonica* y *P. durangensis* en el estado de Durango y recomiendan utilizar genotipos locales para evitar la pérdida de las estructuras genéticas locales. Esto debido a que al utilizar genotipos locales se asegura que son materiales adaptados y se incrementa la probabilidad de éxito en programas de reforestación (Mijnsbrugge, Bischoff y Smith, 2010).

A pesar de que el AMOVA reveló diferencias entre las tres poblaciones de ambas especies, la variación entre poblaciones explicó un porcentaje bajo de la variación total (entre 3.03 y 9.60%). Este resultado es consistente con diversas investigaciones realizadas en pinos, donde han encontrado que la mayor parte de la variación total se encuentre dentro de poblaciones y la variación entre poblaciones represente solamente una pequeña proporción. Un ejemplo de lo anterior es lo señalado en *P. oocarpa* Schiede ex Schltdl., donde se encontró que las diferencias

entre poblaciones solamente explicaron 3.6 y 0.95% de la variación global con marcadores RAPDS y AFLP, respectivamente (Díaz, Muniz y Ferrer, 2001). Otro ejemplo es lo mencionado por Androsiuk et al. (2015), quienes encontraron que la variación entre poblaciones de *P. sylvestris* L. representó 5.3% de la variación total. En pinos es común que la variación entre poblaciones explique menos de 10% de la variación global y pocas especies exhiben una mayor diferenciación entre poblaciones (Ledig, 1998; Sorensen, Mandel y Aagaard, 2001). La homoplásia de diversos caracteres dentro del género *Pinus* ha llevado a que la baja diferenciación entre poblaciones sea atribuida al fenómeno de la hibridación (Willyard, Cronn y Liston, 2009). Por otro lado, la baja diferenciación genética entre poblaciones de especies de pinos puede atribuirse al alto flujo genético que se da en este género. Los pinos se caracterizan por poseer un eficiente mecanismo de reproducción, mediante la dispersión de polen a través del viento (Parker, Hamrick, Parker y Nason, 2001). Investigaciones previas han documentado que el polen de los pinos puede dispersarse a grandes distancias de la fuente de origen y ser aún viable. Respecto a esto, Williams (2010) encontró que *P. taeda* puede dispersarse vía polen al menos 41 km de la fuente. Robledo-Arnuncio (2011) señaló que el polen de *P. sylvestris* puede viajar hasta 100 km de su población de origen. Varis, Pakkanen, Galofré y Pulkkinen (2009) detectaron granos de polen viables a más de 600 km de la fuente en *P. sylvestris*. En este sentido, la dispersión del polen de pinos puede generar intercambio genético entre poblaciones distantes y ser la principal causa de la baja diferenciación genética entre poblaciones.

El alto flujo genético, común en especies de pinos, concuerda con lo encontrado en este estudio para las poblaciones de ambas especies. *P. arizonica* presentó un flujo genético entre 2.3 y 4.25, mientras que en *P. durangensis* se encontraron valores del índice de flujo genético de 3.0 a 6.8. El flujo genético entre las poblaciones de las dos especies puede ser considerado como alto, en comparación con el encontrado en otras especies de *Pinus*. Por ejemplo, Di y Wang (2013) mencionaron un flujo genético de 0.57 entre poblaciones de *P. tabulaeformis*. Por su parte, Xue,



Wang, Korpelainen y Li (2005) obtuvieron un índice de flujo genético de 0.96 en poblaciones de *Picea asperata* Mast.

En ambas especies el flujo genético entre la población sur y las demás poblaciones fue considerablemente menor, en comparación con el flujo genético entre las poblaciones norte y centro. Este resultado concuerda con el análisis BARRIER, que identificó una discontinuidad en el flujo genético entre la población sur y las poblaciones norte y centro en las dos especies de pinos analizadas. Esta discontinuidad puede haber influido en la diferenciación de los grupos genéticos que se encontraron en este estudio, tanto para *P. arizonica* como para *P. durangensis*. Además, la discontinuidad genética encontrada concuerda con la zona de las Barrancas. Esta zona presenta una altitud menor de 1,000 m s.n.m., en la que no habitan *P. arizonica* y *P. durangensis*. Esta zona podría ser una barrera geográfica ante el flujo genético y haber influido en la diferenciación genética dentro de estas especies. Este resultado concuerda con investigaciones previas, como la realizada por Yang, Liu, Li y Dyer (2015), quienes encontraron que barreras geográficas como sistemas montañosos y valles o ríos, han actuado como cuellos de botella ante el intercambio genético entre poblaciones de *P. henryi* Mast. y *P. tabuliformis* Carr. Así mismo, Wang, Mao, Zhao y Wang (2013) señalaron que factores geográficos y climáticos han sido causa importante de la diferenciación genética entre poblaciones de *P. yunnanensis* L. A pesar de que existe un cuello de botella en el flujo genético entre la población del sur y las otras poblaciones, el intercambio genético fue alto. Lo anterior puede deberse a la alta capacidad de dispersión que posee el polen de los pinos (Williams, 2010; Robledo-Arnuncio, 2011).

Los resultados del análisis STRUCTURE sugieren que *P. durangensis* y *P. arizonica* pueden hibridar. Willyard *et al.* (2009) encontraron una posible introgresión ancestral de *P. durangensis* y *P. arizonica* con *P. montezumae* Lamb. Por otro lado, Ávila-Flores *et al.* (2016) encontraron que la hibridación de *P. engelmannii* con *P. arizonica* o *P. durangensis* es muy común en rodales semilleros del estado de Durango.

En este sentido, si *P. durangensis* y *P. arizonica* pueden hibridar con *P. montezumae* y *P. engelmannii*, resulta lógico que puedan hibridar entre sí.

El análisis STRUCTURE encontró un alto porcentaje de individuos híbridos (39%) entre las dos especies. Este resultado concuerda con diversas investigaciones realizadas en especies de *Pinus*, donde se ha encontrado que es común la hibridación dentro de este género. Un ejemplo de esto es la investigación realizada por Ávila-Flores *et al.* (2016); ellos estudiaron rodales semilleros en Durango y encontraron que 58% de 280 árboles de *P. engelmannii* presentaron una introgresión genética de *P. arizonica* o *P. durangensis*; es decir, que provienen de ancestros híbridos. Además, estos investigadores encontraron ocho híbridos de primera generación (F_1) de *P. engelmannii* x *P. arizonica*; sin embargo, no detectaron híbridos F_1 de *P. engelmannii* x *P. durangensis*. Por otro lado, la capacidad de hibridación de *P. arizonica* fue estudiada también por Peloquin (1984), quien encontró que *P. arizonica* puede hibridar con *P. engelmannii* y *P. ponderosa*.

De acuerdo con los resultados de diversas investigaciones, la hibridación dentro del complejo *Ponderosae*, al que pertenecen *P. arizonica* y *P. durangensis*, es común (Delgado *et al.*, 2007; Epperson, Telewski Willyard, 2009; Willyard, Cronn y Liston, 2009; Ávila-Flores *et al.*, 2016). Esto posiblemente se debe a que *Ponderosae* es una sección joven que divergió hace alrededor de 15 millones de años, a pesar de que *Pinus* se originó hace alrededor de 100 millones (Willyard, Syring, Gernandt, Liston y Cronn, 2007). Las especies de divergencia reciente pueden hibridar en algunos casos debido a que sus genomas aún son muy parecidos y, por lo tanto, compatibles (Mallet, 2005).

La hibridación entre *P. arizonica* y *P. durangensis* puede explicar parcialmente la amplia diversidad genética que existe dentro de ambas especies, así como la baja diferenciación entre sus poblaciones. Debido a que la hibridación puede generar nuevas estructuras genéticas y aumentar la diversidad, hace más difícil detectar patrones de diferenciación genética entre poblaciones (Willyard *et al.*, 2009).

CONCLUSIONES

Existe alta diversidad genética dentro de las poblaciones de *P. arizonica* y *P. durangensis* del estado de Chihuahua. Las poblaciones norte, centro y sur del Estado de ambas especies presentan estructuras genéticas diferentes; es decir, poseen regiones genómicas exclusivas de cada región geográfica. Además, existen zonas de hibridación bidireccional entre *P. durangensis* y *P. arizonica* a lo largo del macizo forestal del estado de Chihuahua. Lo anterior, debe ser considerado al seleccionar áreas o árboles semilleros.

RECONOCIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo de la Dra. June Simpson y el equipo de trabajo del laboratorio de Genética Molecular del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav), Unidad Irapuato.

REFERENCIAS

- Androsiuk, P., Ciaglo-Androsiuk, S., & Urbaniak, L. (2015). Genetic diversity and differentiation of *Pinus sylvestris* L. from the IUFRO 1982 provenance trial revealed by AFLP analysis. *Archives of Biological Sciences*, 67(4), 1237-1249. doi:10.2298/ABS150319100A
- Ávila-Flores, I. J., Hernández-Díaz, J. C., González-Elizondo, M. S., Prieto-Ruiz, J. A., & Wehenkel, C. (2016). *Pinus engelmannii* Carr. in northwestern México: A review. *Pakistan Journal of Botany*, 48(5), 2159-2166.
- Balzarini, M., & Di Rienzo, J. (2004). Info-Gen: Software para análisis estadístico de datos genéticos. *Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina*. Recuperado de <http://www.info-gen.com.ar>
- Bilgen, B. B., & Kaya, N. (2017). Genetic diversity among *Pinus sylvestris* L. populations and its implications for genetic conservation: comparison of nuclear and chloroplast microsatellite markers. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26(11), 6873-6881. doi: 10.3390/ijms131012608
- Climate-data.org (2019) Clima Chihuahua: Largo Maderal, San Juanito, Balleza. Recuperado de <http://es.climate-data.org/america-del-norte/mexico/chihuahua-10>
- Comisión Nacional Forestal [CONAFOR]. (2009). *Una herramienta que da certeza a la planeación, evaluación y el desarrollo forestal de México. El inventario Nacional Forestal y de Suelos de México 2004–2009*. (1a ed.). Zapopan, Jalisco, México.
- Delgado, P., Salas-Lizana, R., Vázquez-Lobo, A., Wegier, A., Anzidei, M., Alvarez-Buylla, E. R., ... & Pinero, D. (2007). Introgressive hybridization in *Pinus montezumae* Lamb and *Pinus pseudostrobus* Lindl. (Pinaceae): morphological and molecular (cpSSR) evidence. *International Journal of Plant Sciences*, 168(6), 861-875.
- Di, X. Y., & Wang, M. B. (2013). Genetic diversity and structure of natural *Pinus tabulaeformis* populations in North China using amplified fragment length polymorphism (AFLP). *Biochemical systematics and ecology*, 51, 269-275. doi:10.1016/j.bse.2013.09.013
- Díaz, V., Muniz, L. M., & Ferrer, E. (2001). Random amplified polymorphic DNA and amplified fragment length polymorphism assessment of genetic variation in Nicaraguan populations of *Pinus oocarpa*. *Molecular Ecology*, 10(11), 2593-2603. doi:10.1046/j.0962-1083.2001.01390.x
- Earl, D. A. & VonHoldt B. M. (2012). Structure harvester: a website and program for visualizing structure output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4(2), 359-361. doi:10.1007/s12686-011-9548-7
- Epperson, B. K., Telewski, F. W., & Willyard, A. (2009). Chloroplast diversity in a putative hybrid swarm of *Ponderosa* (Pinaceae). *American Journal of Botany*, 96(3), 707-712. doi:10.3732/ajb.0800005
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology*, 14(8), 2611-2620. doi:10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x
- Excoffier, L., Smouse, P. E., & Quattro, J. M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2), 479-491.
- Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. K. (2007). Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes*, 7(4), 574-578. doi:10.1111/j.1471-8286.2007.01758.x
- Friedrich, S. C., Hernández-Díaz, J. C., Leinemann, L., Prieto-Ruiz, J. A., & Wehenkel, C. (2018). Spatial genetic structure in seed stands of *Pinus arizonica* Engelm. and *Pinus cooperi* Blanco in the State of Durango, Mexico. *Forest Science*, 64(2), 191-202. doi: 10.1093/forsci/fxx007
- Hernández-Salas, J., Aguirre-Calderón, Ó. A., Alanís-Rodríguez, E., Jiménez-Pérez, J., Treviño-Garza, E. J., González-Tagle, M. A., ... & Domínguez-Pereda, A. (2013). Efecto del manejo forestal en la diversidad y composición arbórea de un bosque templado del noroeste de México. *Revista Chapino. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 19(2), 189-200. doi: 10.5154/r.rchscfa.2012.08.052



Hernández-Velasco, J., Hernández-Díaz, J. C., Fladung, M., Cañas-López, Á., Prieto-Ruiz, J. Á., & Wehenkel, C. (2017). Spatial genetic structure in four *Pinus* species in the Sierra Madre Occidental, Durango, México. *Canadian Journal of Forest Research*, 47(1), 73-80. doi: 10.1139/cjfr-2016-0154

Instituto Nacional de Estadística y Geografía [Inegi]. (2019) Continuo de elevaciones mexicano (CEM). Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Aguascalientes, Aguascalientes. Recuperado de <https://www.inegi.org.mx/app/geo2/elevacionesmex>

Ivetić, V., Devetaković, J., Nonić, M., Stanković, D., & Šijačić-Nikolić, M. (2016). Genetic diversity and forest reproductive material— from seed source selection to planting. *iForest-Biogeosciences and Forestry*, 9(5), 801-812. doi: 10.3832/ifor1577-009

Kim, M. S., Richardson, B. A., McDonald, G. I., & Klopfenstein, N. B. (2011). Genetic diversity and structure of western white pine (*Pinus monticola*) in North America: a baseline study for conservation, restoration, and addressing impacts of climate change. *Tree genetics & Genomes*, 7(1), 11-21. doi: 10.1007/s11295-010-0311-0

Ledig, F.T. (1998). Genetic variation in *Pinus*. En: Richardson, D.M. (Eds.), *Ecology and Biogeography of Pinus* (pp. 251–280). Cambridge, Reino Unido: Cambridge Univ. Press.

Lynch, M., & Milligan, B. G. (1994). Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology*, 3(2), 91-99. doi:10.1111/j.1365-294X.1994.tb00109.x

Mallet, J. (2005). Hybridization as an invasion of the genome. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(5), 229-237. doi: 10.1016/j.tree.2005.02.010

Manni, F., Guérard, E., & Heyer, E. (2004). Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by using Monmonier's algorithm. *Human Biology*, 76(2), 173-190.

Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89(3), 583-590.

Parker, K. C., Hamrick, J. L., Parker, A. J., & Nason, J. D. (2001). Fine-scale genetic structure in *Pinus clausa* (Pinaceae) populations: effects of disturbance history. *Heredity*, 87(1), 99-113. doi:10.1046/j.1365-2540.2001.00914.x

Pazouki, L., Shanjani, P. S., Fields, P. D., Martins, K., Suhhorutšenko, M., Viinalass, H., & Niinemets, Ü. (2016). Large within-population genetic diversity of the widespread conifer *Pinus sylvestris* at its soil fertility limit characterized by nuclear and chloroplast microsatellite markers. *European Journal of Forest Research*, 135(1), 161-177. doi: 10.1007/s10342-015-0928-5

Peakall, R. O. D., & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6(1), 288-295. doi: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x

Peloquin, R. L. (1984). The identification of three-species hybrids in the ponderosa pine complex. *The Southwestern Naturalist*, 29 (1), 115-122. doi:10.2307/3670776

Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.

Rawat, A., Barthwal, S., & Ginwal, H. S. (2014). Comparative assessment of SSR, ISSR and AFLP markers for characterization of selected genotypes of Himalayan Chir pine (*Pinus roxburghii* Sarg.) based on resin yield. *Silvae Genetica*, 63(1-6), 94-108. doi:10.1515/sge-2014-0013

Robledo-Arnuncio, J. J. (2011). Wind pollination over mesoscale distances: an investigation with Scots pine. *New Phytologist*, 190(1), 222-233. doi:10.1111/j.1469-8137.2010.03588.x

Rodríguez-Peña, R. A., Johnson, R. L., Johnson, L. A., Anderson, C. D., Ricks, N. J., Farley, K. M., ... & Stevens, M. R. (2018). Investigating the genetic diversity and differentiation patterns in the *Penstemon scariosus* species complex under different sample sizes using AFLPs and SSRs. *Conservation Genetics*, 19(6), 1335-1348. doi:10.1007/s10592-018-1103-6

Roe, A. D., MacQuarrie, C. J., Gros-Louis, M. C., Simpson, J. D., Lamarche, J., Beardmore, T., ... & Isabel, N. (2014). Fitness dynamics within a poplar hybrid zone: I. Prezygotic and postzygotic barriers impacting a native poplar hybrid stand. *Ecology and evolution*, 4(9), 1629-1647. doi: 10.1002/ece3.1029

Silva-Flores, R., Pérez-Verdín, G., & Wehenkel, C. (2014). Patterns of tree species diversity in relation to climatic factors on the Sierra Madre Occidental, Mexico. *PLoS One*, 9(8), e105034. doi:10.1371/journal.pone.0105034

Sorensen, F. C., Mandel, N. L., & Aagaard, J. E. (2001). Role of selection versus historical isolation in racial differentiation of ponderosa pine in southern Oregon: an investigation of alternative hypotheses. *Canadian Journal of Forest Research*, 31(7), 1127-1139. doi:10.1139/x01-039

Mijnsbrugge, V. K., Bischoff, A., & Smith, B. (2010). A question of origin: where and how to collect seed for ecological restoration. *Basic and Applied Ecology*, 11(4), 300-311. doi:10.1016/j.baae.2009.09.002

Vangestel, C., Vázquez-Lobo, A., Martínez-García, P. J., Calic, I., Wegryn, J. L., & Neale, D. B. (2016). Patterns of neutral and adaptive genetic diversity across the natural range of sugar pine

- (*Pinus lambertiana* Dougl.). *Tree Genetics & Genomes*, 12(3), 51. doi: 10.1007/s11295-016-0998-7
- Varis, S., Pakkanen, A., Galofré, A., & Pulkkinen, P. (2009). The extent of south-north pollen transfer in Finnish Scots pine. *Silva Fennica*, 43(5):717-726.
- Wang, B., Mao, J. F., Zhao, W., & Wang, X. R. (2013). Impact of geography and climate on the genetic differentiation of the subtropical pine *Pinus yunnanensis*. *PLoS One*, 8(6), e67345. doi:10.1371/journal.pone.0067345
- Whitlock, M. C., & McCauley, D. E. (1999). Indirect measures of gene flow and migration: $FST \neq 1/(4Nm + 1)$. *Heredity*, 82(2), 117-125. doi:10.1046/j.1365-2540.1999.00496.x
- Williams, C. G. (2010). Long-distance pine pollen still germinates after meso-scale dispersal. *American Journal of Botany*, 97(5), 846-855. doi:10.3732/ajb.0900255
- Willyard, A., Cronn, R., & Liston, A. (2009). Reticulate evolution and incomplete lineage sorting among the ponderosa pines. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 52(2), 498-511. doi:10.1016/j.ympev.2009.02.011
- Willyard, A., Syring, J., Gernandt, D. S., Liston, A., & Cronn, R. (2007). Fossil calibration of molecular divergence infers a moderate mutation rate and recent radiations for *Pinus*. *Molecular Biology and Evolution*, 24(1), 90-101. doi:10.1093/molbev/msl131
- Xue, X., Wang, Y., Korpelainen, H., & Li, C. (2005). Assessment of AFLP-based genetic variation in the populations of *Picea asperata*. *Silvae Genetica*, 54(1), 24-30. doi:10.1515/sg-2005-0004
- Xu, S., Tauer, C. G., & Nelson, C. D. (2008). Genetic diversity within and among populations of shortleaf pine (*Pinus echinata* Mill.) and loblolly pine (*Pinus taeda* L.). *Tree Genetics & Genomes*, 4(4), 859-868. doi:10.1007/s11295-008-0158-9
- Yang, L., Liu, Z. L., Li, J., & Dyer, R. J. (2015). Genetic structure of *Pinus henryi* and *Pinus tabuliformis*: Natural landscapes as significant barriers to gene flow among populations. *Biochemical Systematics and Ecology*, 61, 124-132. doi:10.1016/j.bse.2015.06.00

Manuscrito recibido el 13 de mayo de 2020.

Aceptado el 14 de julio de 2020.

Publicado el 13 de diciembre de 2021.

Este documento se debe citar como:

Morales-Nieto, C. R., Siqueiros-Candia, M., Álvarez-Holguín, A., Gil-Vega, K. C., Corrales-Lerma, R., & Martínez-Salvador, M. (2021). Diversidad, estructura genética e hibridación en poblaciones de *Pinus arizonica* y *P. durangensis*. *Madera y Bosques*, 27(2), e2722170. doi: 10.21829/myb.2021.2722170



Madera y Bosques por Instituto de Ecología, A.C. se distribuye bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercialCompartirIgual 4.0 Internacional.