

INDICADORES REPRODUCTIVOS EN POBLACIONES NATURALES DE *Picea mexicana* MARTÍNEZ

REPRODUCTIVE INDICATORS IN NATURAL POPULATIONS OF *Picea mexicana* MARTÍNEZ

Celestino Flores-López¹, Javier López-Upton² y J. Jesús Vargas-Hernández²

¹Departamento Forestal. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. UAAAN. 25315. Buenavista, Saltillo, Coahuila (cele64@prodigy.net.mx). ²Programa Forestal. Instituto de Recursos Naturales. IRENAT. Colegio de Postgraduados. km 36.5 Carretera México-Texcoco. 56230. Montecillo, Estado de México (uptonj@colpos.mx) (vargashj@colpos.mx)

RESUMEN

Con el propósito de determinar la viabilidad de las poblaciones a largo plazo y las necesidades de manejo para su conservación, se evaluó la capacidad reproductiva en las tres poblaciones naturales de *Picea mexicana* en México. Se analizó la producción de semilla en muestras de conos de 78 y 41 árboles de las cosechas 1999 y 2001, respectivamente. Se encontró una variación significativa de las características reproductivas tanto entre poblaciones como entre árboles dentro de ellas. A nivel de población los parámetros reproductivos fueron similares de un año a otro. La población de La Marta, N. L. presentó mayor tamaño de conos y mayor proporción de semillas llenas, peso de semillas y eficiencia reproductiva que las de Mohinora, Chih. y El Coahuilón, Coah. En todas ellas se encontró un alto índice de endogamia (0.73 a 0.84), una baja eficiencia de semilla (0.09 a 0.18) y una alta proporción de óvulos abortados (0.36 a 0.47). La presencia de incendios y el pastoreo, junto con la reducida capacidad reproductiva ponen en alto riesgo a *Picea mexicana*, por lo que es necesario establecer varias acciones para su conservación *in situ* y *ex situ*.

Palabras clave: *Picea mexicana*, conservación *in situ*, endogamia, producción de semillas, viabilidad de poblaciones.

INTRODUCCIÓN

Picea mexicana Martínez es una conífera en peligro de extinción (Farjon *et al.*, 1993; SEMARNAT, 2002). Se reconocen cuatro poblaciones naturales; una en el sur de Estados Unidos de América, y tres en el norte de México; todas de tamaño reducido (<65 ha) y aisladas entre sí (Martínez, 1961; Taylor y Patterson, 1980; Taylor *et al.*, 1994). La fragmentación en poblaciones pequeñas y la baja densidad de arbolado adulto generan problemas de polinización, una escasa dispersión y flujo de genes entre poblaciones y un alto grado de autofecundación (Frankham, 1998; Rajora y Mosseler, 2001). En poblaciones pequeñas de *Picea rubens* Sarg.

ABSTRACT

In order to determine the long term viability and management practices required for their conservation, the reproductive capacity of the three natural Mexican populations of *Picea mexicana* was evaluated. Seed production was analyzed on cone samples from 78 and 41 trees collected during 1999 and 2001, respectively. Significant variation in reproductive traits was found both among populations as in trees within them. At the population level, reproductive parameters were similar from year to year. The population at La Marta, N. L. showed larger cones, higher proportion of filled seeds, heavier seeds and greater reproductive efficiency than those from Mohinora, Chih. and El Coahuilón, Coah. All of them showed high inbreeding index (0.73 to 0.84), low seed efficiency (0.09 to 0.18) and a high proportion of aborted ovules (0.36 to 0.47). In addition to the low reproductive capacity, the frequency of wildfires and grazing impose high risks on *Picea mexicana*, so several actions for *in situ* and *ex situ* conservation are required.

Key words: *Picea mexicana*, *in situ* conservation, inbreeding, seed production, population viability.

INTRODUCTION

Picea mexicana Martínez is a conifer in danger of extinction (Farjon *et al.*, 1993; SEMARNAT, 2002). Four natural populations are recognized, one in the south of the United States of America, and three in the north of México; all of a reduced size (< 65 ha) and isolated from each other (Martínez, 1961; Taylor and Patterson, 1980; Taylor *et al.*, 1994). The fragmentation in small populations and the low density of adult trees generate pollination problems, a scanty dispersal and gene flow among populations, and a high degree of self-pollination (Frankham, 1998; Rajora and Mosseler, 2001). In small populations of *Picea rubens* Sarg., inbreeding depression has been found due to self-pollination and crossing of trees which are related, resulting in a considerable increase of empty seeds (Mosseler *et al.*, 2000). In other conifers it has been found that self-

Recibido: Abril, 2004. Aprobado: Noviembre, 2004.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 39: 117-126. 2005.

se ha encontrado depresión endogámica debido a la autofecundación y cruce de árboles emparentados entre sí, con un aumento notable de semillas vanas (Mosseler *et al.*, 2000). En otras coníferas se ha encontrado que la autopolinización reduce la cantidad de semillas llenas, así como su capacidad germinativa y la tasa de crecimiento y supervivencia de las plantas (Sorensen y Miles, 1974; Fowler y Park, 1983; Park y Fowler, 1984; Sorensen y Campbell, 1993).

Poblaciones pequeñas y fragmentadas como las de *Picea mexicana* enfrentan mayor riesgo de desaparecer si tienen valores reproductivos bajos. La eficiencia reproductiva se puede determinar evaluando características asociadas con la producción de semillas de los árboles, como la proporción de óvulos abortados, y la relación entre semillas llenas y vanas (Bramlett *et al.*, 1977; Mosseler *et al.*, 2000). A partir de estos datos se puede inferir la presencia de depresión endogámica, ya que el primer efecto de ésta es la reducción de semillas llenas (Ledig *et al.*, 2000). Aunque *P. mexicana* se considera genéticamente viable, se ha encontrado endogamia en sus poblaciones (Ledig *et al.*, 2002), lo que puede impactar su capacidad reproductiva.

Los objetivos del estudio fueron: 1) Conocer la magnitud de la variación de características reproductivas de conos y semillas entre y dentro de las tres poblaciones naturales de *Picea mexicana* en dos años de recolecta, y 2) discutir las implicaciones para el manejo del germoplasma y conservación de la especie en México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Poblaciones y evaluación de indicadores reproductivos

Durante septiembre de 1999 y 2001 se realizó la recolecta de germoplasma en las tres poblaciones existentes de la especie en México (Cuadro 1). En 2001, la recolecta se realizó en los mismos árboles de 1999 que tuvieron producción de conos. Se evaluaron 10 conos por árbol en cada ciclo de recolecta seleccionados al azar. Se determinó la longitud y el diámetro mayor del cono cerrado (aproximación 0.01 mm). Se reconocieron y clasificaron las escamas fértiles e infértiles; las primeras se encuentran en la mitad o dos terceras partes del cono y tienen la base más amplia que las infértiles, las que se localizan en la base y ápice del cono y no presentan óvulos funcionales.

En cada cono se determinó el número de óvulos abortados, el potencial de semilla (PS, número de escamas fértiles por dos), las semillas desarrolladas (vanas y llenas) y la eficiencia de semillas (total de semillas llenas $\times 100 / PS$) (Bramlett *et al.*, 1977). Las semillas vanas se separaron de las llenas por flotación en alcohol (Caron y Powell, 1989). Con esos datos se obtuvo la proporción de semillas abortadas, vanas, y llenas por cono (Bramlett *et al.*, 1977). También se obtuvo el

pollination reduces the amount of filled seeds, as well as of their germinative capacity and rate of growth and survival of the plants (Sorensen and Miles, 1974; Fowler and Park, 1983; Park and Fowler, 1984; Sorensen and Campbell, 1993).

Populations which are small and fragmented, such as those of *Picea mexicana* face greater risk of disappearance if their reproductive values are low. The reproductive efficiency can be determined by evaluating characteristics associated with the seed production of the trees, such as the proportion of aborted ovules, and the ratio between filled and empty seeds (Bramlett *et al.*, 1977; Mosseler *et al.*, 2000). From this data, the presence of inbreeding depression can be inferred, given that its first effect is the reduction of filled seeds (Ledig *et al.*, 2000). Although *P. mexicana* is considered genetically viable, inbreeding has been found in its populations (Ledig *et al.*, 2002), which can have an impact on its reproductive capacity.

The objectives of the study were: 1) To know the magnitude of the variation of reproductive characteristics of cones and seeds among and within the three natural populations of *Picea mexicana* in two years of collection, and 2) discuss the implications for the management of germplasm and conservation of the species in México.

MATERIALS AND METHODS

Populations and evaluation of reproductive indicators

During September of 1999 and 2001, germplasm was collected from the three existing populations of the species in México (Table 1). In 2001, the collection was carried out in the same trees as in 1999 that had production of cones. An evaluation was made of 10 randomly selected cones per tree in each collection cycle. The length and greatest diameter were determined of the closed cone (approximation 0.01 mm). The fertile and infertile scales were recognized and classified; the fertile scales are found at the middle or two thirds of the cone and have a wider base than those of the infertile ones, which are located at the base and apex of the cone and do not present functional ovules.

The number of aborted ovules was determined in each cone, as well as the seed potential (SP, number of fertile scales times two), the developed seeds (empty and filled) and seed efficiency (total of filled seeds $\times 100 / SP$) (Bramlett *et al.*, 1977). The empty seeds were separated from the filled ones by flotation in alcohol (Caron and Powell, 1989). With this data, the proportion of aborted, empty, and filled seeds per cone was obtained (Bramlett *et al.*, 1977). The total weight of the filled seed was also obtained (converted to weight of 100 seeds), as well as the weight of the cones without seed, after drying them in an oven at 105 °C during 24 h.

The ratio of the weight of filled seeds (mg) with respect to the dry cone weight (g) was considered as the reproductive efficiency, and the proportion of empty seeds with respect to the total of developed seeds as an index of inbreeding (Mosseler *et al.*, 2000). In conifers, the empty

Cuadro 1. Coordenadas geográficas, altitud, tamaño de muestra y características dasométricas promedio de los árboles muestreados en cada población de *Picea mexicana* Martínez en los dos años de recolecta.**Table 1. Geographic coordinates, altitude, sample size and average dasometric characteristics of the trees sampled in each population of *Picea mexicana* Martínez in the two years of collection.**

Población	Coordenadas [†]	Altitud (m) [†]	Año de recolecta	Número de árboles [‡]	Altura total (m)	Diámetro (cm)	Edad (años)
Cerro El Mohinora, Chih.	25° 57.7' N 107° 02.4' W	3185	1999	25	19.9	36.1	88
			2001	18	20.8	38.6	88
Sierra El Coahuilón, Coah.	25° 14.8' N 100° 21.2' W	3470	1999	24	14.0	30.1	88
			2001	13	14.5	29.2	71
Sierra La Marta, N. L.	25° 11.9' N 100° 21.8' W	3500	1999	29	12.4	24.8	56
			2001	10	15.0	28.5	58

[†] Las coordenadas geográficas y la altitud fueron tomadas con un receptor GPS (Trailblazer XL).

[‡] Los árboles recolectados en 2001 son individuos muestreados en 1999 que tuvieron producción de semillas ese año.

peso total de la semilla llena (convertida a peso de 100 semillas) y el peso de los conos sin semilla, después de secarlos en estufa a 105 °C durante 24 h.

La relación del peso de semillas llenas (mg) respecto al peso seco del cono (g) se consideró como la eficiencia reproductiva, y la proporción de semillas vanas respecto al total de desarrolladas, como un índice de endogamia (Mosseler *et al.*, 2000). En coníferas, las semillas vanas son resultado de la degeneración de los embriones ocasionada por la presencia de genes recesivos letales cuya presencia aumenta por la autofecundación o cruza con parientes cercanos (Sorensen y Miles, 1974; Yazdani y Lindgren, 1991; Ledig *et al.*, 1997; Ledig *et al.*, 2000).

En el análisis de varianza se usó un modelo de clasificación jerárquica con igual número de submuestras (Mosseler, 1992). El modelo fue

$$Y_{ijkl} = \mu + f_i + p_j + f_i * p_j + \alpha_{k(j)} + \alpha_{k(j)} * f_i + \varepsilon_{ijkl}$$

donde Y_{ijkl} es el valor de la característica, μ la media poblacional; f_i el efecto del año de recolecta; p_j el efecto de la población; $f_i * p_j$ la interacción entre el año y la población; $\alpha_{k(j)}$ el efecto de árbol dentro de población; $\alpha_{k(j)} * f_i$ la interacción entre el año y el árbol; y ε_{ijkl} el error de muestreo dentro de árboles.

Inicialmente se utilizó el modelo completo, pero debido a que se encontraron diferencias significativas entre años, se hizo análisis para cada año de recolecta con un modelo más simple, en el cual no se incluyó el efecto del año de recolecta ni de sus interacciones con los demás factores.

Se usó el paquete SAS® con el procedimiento MIXED y el método de Máxima Verosimilitud Restringida para obtener los componentes de varianza y la significancia estadística de los factores; la opción LSMEANS para obtener las medias ajustadas debido al desbalance en el número de árboles muestreados en cada población y año de colecta (SAS Institute Inc., 1998). También se estimaron las correlaciones entre los indicadores reproductivos de las poblaciones.

seeds are the result of the degeneration of the embryos caused by the presence of lethal recessive genes, whose presence increases by self-pollination or crosses with close relatives (Sorensen and Miles, 1974; Yazdani and Lindgren, 1991; Ledig *et al.*, 1997; Ledig *et al.*, 2000).

In the analysis of variance, a hierarchic classification model was used with an equal number of sub-samples (Mosseler, 1992). The model was

$$Y_{ijkl} = \mu + f_i + p_j + f_i * p_j + \alpha_{k(j)} + \alpha_{k(j)} * f_i + \varepsilon_{ijkl}$$

where Y_{ijkl} is the value of the characteristic, μ the population mean; f_i the effect of the collection year; p_j the effect of the population; $f_i * p_j$ the interaction between year and population; $\alpha_{k(j)}$ the effect of tree within the population; $\alpha_{k(j)} * f_i$ the interaction between the year and the tree; and ε_{ijkl} the sampling error within trees.

Initially, the complete model was used, but because significant differences were found between years, analyses were made for each collection year with a simpler model, in which neither the effect of the collection year, nor its interactions with the other factors were included.

The SAS® package was used with the MIXED procedure and the Restricted Maximum Likelihood method to obtain the variance components and the statistical significance of the factors; the LSMEANS option to obtain the adjusted means due to the imbalance in the number of trees sampled in each population and collection year (SAS Institute Inc., 1998). The correlations among the reproductive indicators of the populations were also estimated.

RESULTS AND DISCUSSION

Variation in reproductive indicators

The analysis of variance showed that in the two years of collection, there is a wide variation among trees within populations (>23%) in the reproductive indicators (Table 2). In the average of all the characteristics, the contribution of the trees to the total variance was 41.4 and 53.3% in

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variación en indicadores reproductivos

El análisis de varianza mostró que en los dos años de recolecta existe una amplia variación entre árboles dentro de poblaciones (>23%) en los indicadores reproductivos (Cuadro 2). En el promedio de todas las características, la contribución de los árboles a la varianza total fue 41.4 y 53.3% en 1999 y 2001, respectivamente. En las variables relacionadas con el tamaño de cono (longitud y peso del cono y número de escamas fértiles), la aportación a la varianza total del factor poblaciones aumentó de 22 a 47% de 1999 a 2001, aunque la varianza debida a poblaciones de las otras seis características disminuyó en más de la mitad del primer al segundo ciclo de cosecha (17 a 8.6%, en promedio), (Cuadro 2). En otras especies de *Picea*, como *P. glauca* (Moench) Voss, *P. mariana* (Mill.) B.S.P. (Khalil, 1984; Mosseler, 1992), y *P. rubens* (Mosseler *et al.*, 2000), también se ha encontrado una alta variación entre árboles en indicadores reproductivos.

En el promedio de los dos años de muestreo la población de La Marta presentó conos de mayor tamaño, con mayor número de escamas fértiles, mayor proporción y tamaño de semillas llenas, así como una eficiencia reproductiva más elevada que las otras dos poblaciones (Cuadro 3). La alta proporción de óvulos abortados (36 a 47%) en las tres poblaciones se debe probablemente a

1999 and 2001, respectively. In the variables related to cone size (cone length and weight and number of fertile scales), the contribution to the total variance of the populations factor increased from 22 to 47% from 1999 to 2001, although the variance due to populations of the other six characteristics decreased by more than half from the first to the second harvest cycle (17 to 8.6%, on average), (Table 2). In other species of *Picea*, such as *P. glauca* (Moench) Voss, *P. mariana* (Mill.) B.S.P. (Khalil, 1984; Mosseler, 1992), and *P. rubens* (Mosseler *et al.*, 2000), a great variation has also been found among trees in reproductive indicators.

In the average of the two years of sampling, the La Marta population presented larger cones, with a greater number of fertile scales, greater proportion and size of filled seeds, as well as a higher reproductive efficiency than those of the other two populations (Table 3). The high proportion of aborted ovules (36 to 47%) in the three populations is probably due to a deficient production and viability of the pollen, given that no evidence of insect damage was found.

Despite the differences among populations in the proportion of filled seeds, the values obtained in the two years are low in all cases (9 to 18%) when compared with data of other species of *Picea*. For example, seven out of 10 populations of *P. rubens* had an efficiency of 20 to 45% (Mosseler *et al.*, 2000). In other conifers these values are also higher, from 27 to 35% in *Pinus banksiana* Lamb. (Todhunter and Polk, 1981), 42 to 81% in *P. greggii*

Cuadro 2. Componentes de varianza (%) en las recolectas 1999 y 2001 para diferentes características asociadas a la capacidad reproductiva de tres poblaciones de *Picea mexicana* Martínez.

Table 2. Variance components (%) in the 1999 and 2001 collections for different characteristics associated with the reproductive capacity of three populations of *Picea mexicana* Martínez.

Característica	Año	Componentes de varianza (%)			Varianza Total
		Población	Árbol (Pob)	Error	
Longitud de cono	1999	22.1**	63.5**	14.4	64.39
	2001	42.3**	33.8**	23.9	57.99
Peso de cono seco	1999	22.6**	57.6**	19.8	1.39
	2001	49.2**	33.3**	17.5	3.61
Número de escamas fértiles	1999	25.6**	42.7**	31.7	441.87
	2001	56.5**	22.8**	20.7	605.17
Proporción de óvulos abortados	1999	14.0**	50.6**	35.4	0.04
	2001	0.0	42.7**	57.3	0.02
Proporción de semillas vanas	1999	2.9**	55.6**	41.5	0.03
	2001	0.0	42.2**	57.8	0.02
Proporción de semillas llenas [†]	1999	22.9**	53.5**	23.6	0.03
	2001	14.2**	50.6**	35.2	0.03
Tamaño de semilla	1999	17.8**	49.9**	32.3	0.78
	2001	11.2**	50.1**	38.7	0.97
Índice de endogamia	1999	17.5**	56.7**	25.8	202.37
	2001	14.2**	50.1**	38.3	175.79
Eficiencia reproductiva	1999	27.3**	50.0**	22.7	7.54
	2001	14.5**	46.8**	38.7	5.07

** $p \leq 0.01$.

[†] Eficiencia de semillas.

Cuadro 3. Medias para características reproductivas de conos y semillas tomados de tres poblaciones de *Picea mexicana* Martínez evaluadas en dos años de recolecta.**Table 3. Means for reproductive characteristics of cones and seeds taken from three populations of *Picea mexicana* Martínez evaluated in two collection years.**

Característica	El Mohinora			El Coahuilón			La Marta		
	1999	2001	Media	1999	2001	Media	1999	2001	Media
Longitud de conos (cm)	5.33 b	5.81 a	5.52 B	4.87 b	5.92 a	5.24 B	5.67 b	6.75 a	5.94 A
Peso de cono (g)	3.31 b	4.78 a	3.93 B	2.94 b	5.52 a	3.84 B	4.09 b	7.40 a	4.91 A
Núm. de escamas fértiles	91.20 a	91.90 a	91.50 B	95.30 b	106.10 a	99.10 B	111.90 b	130.40 a	116.50 A
Prop. de óvulos abortados	0.34 b	0.45 a	0.39 AB	0.46 a	0.48 a	0.47 A	0.31 b	0.42 a	0.36 B
Prop. de semillas vanas	0.53 a	0.45 a	0.49 A	0.45 a	0.43 a	0.44 A	0.50 a	0.41 a	0.46 A
Prop. de semillas llenas [†]	0.13 a	0.10 a	0.12 B	0.09 a	0.09 a	0.09 B	0.19 a	0.17 a	0.18 A
Tamaño de semilla	3.10 b	4.35 a	3.62 B	2.88 b	4.57 a	3.57 B	3.58 b	5.02 a	3.94 A
Índice de endogamia [‡]	0.81 a	0.84 a	0.82 A	0.85 a	0.82 a	0.84 A	0.73 a	0.73 a	0.73 B
Eficiencia reproductiva [§]	21.84 a	15.90 a	19.30 B	14.90 a	17.10 a	15.70 B	38.50 a	29.00 a	36.10 A

[†] Eficiencia de semillas.[‡] Semillas vanas/semillas desarrolladas.[§] Peso de semilla en mg/peso de cono seco en g.

Nota: Medias con diferentes letras son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) determinado por la prueba de diferencia mínima significativa. Las letras minúsculas son para la comparación entre año de recolecta, y las mayúsculas para comparar poblaciones.

una deficiente producción y viabilidad del polen, ya que no se encontró evidencia de daños por insectos.

A pesar de las diferencias entre poblaciones en la proporción de semillas llenas, los valores obtenidos en los dos años son bajos en todas ellas (9 a 18%) si se comparan con datos de otras especies de *Picea*. Por ejemplo, siete de 10 poblaciones en *P. rubens* tuvieron una eficiencia de 20 a 45% (Mosseler *et al.*, 2000). En otras coníferas estos valores también son mayores, de 27 a 35% en *Pinus banksiana* Lamb. (Todhunter y Polk, 1981), de 42 a 81% en *P. greggii* Engelm. (López-Upton y Donahue, 1995), de 44 a 59% en *P. chiapensis* Andresen (Martínez, 1998). La baja eficiencia en la producción de semillas llenas en *Picea mexicana* posiblemente se deba a la escasa disponibilidad de polen y a la elevada consanguinidad entre los árboles que aumenta el número de semillas vanas, como se ha demostrado en otras especies de *Picea* (Caron y Powell, 1989; Mosseler *et al.*, 2000).

Se encontraron valores elevados del índice de endogamia (0.73 a 0.84) en todas las poblaciones, y valores consistentes de un año a otro (Cuadro 3). Este índice representa la proporción de semillas vanas respecto al total de semillas desarrolladas, y refleja los efectos de la endogamia de acuerdo con estudios de polinización controlada efectuados en otras especie de *Picea*. Por ejemplo, en *P. glauca* la autofecundación aumentó la cantidad de semillas vanas de 5 a 22 veces respecto a la de polinización cruzada (Fowler y Park, 1983). Utilizando marcadores moleculares (isoenzimas), Ledig *et al.* (2002) también encontraron niveles moderados de autofecundación en estas poblaciones de *P. mexicana*, con valores del coeficiente de endogamia en equilibrio (F_e) de 0.223,

Engelm (López-Upton and Donahue, 1995), 44 to 59% in *P. chiapensis* Andresen (Martínez, 1998). The low efficiency in the production of filled seeds in *Picea mexicana* is possibly due to the scarce availability of pollen and the high degree of inbreeding among the trees, which increases the number of empty seeds, as has been demonstrated in other species of *Picea* (Caron and Powell, 1989; Mosseler *et al.*, 2000).

High values were found of the inbreeding index (0.73 to 0.84) in all of the populations, and consistent values from one year to another (Table 3). This index represents the proportion of empty seeds with respect to the total of developed seeds, and reflects the effects of inbreeding according to studies of controlled pollination carried out in other species of *Picea*. For example, in *P. glauca* the self pollination increased the amount of empty seeds from 5 to 22 times with respect to that of cross pollination (Fowler and Park, 1983). Using molecular markers (isoenzymes), Ledig *et al.* (2002) also found moderate levels of self pollination in these populations of *P. mexicana*, with values of the equilibrium inbreeding coefficient (F_e) of 0.223, 0.107, and 0.258 in El Mohinora, El Coahuilón and La Marta, respectively.

Although the values of inbreeding estimated by Ledig *et al.* (2002) are lower than those obtained based on the proportion of empty seeds over the developed ones, it should be considered that the methods of estimation are different. For example, the inbreeding values estimated by Ledig *et al.* (2002) assume conditions of equilibrium in the populations and consider only the production of filled seeds; that is, the analysis of isoenzymes underestimates the inbreeding by not including the empty seeds. Rajora *et al.* (2000) suggest using both procedures

0.107, y 0.258 en El Mohinora, El Coahuilón y La Marta, respectivamente.

Aunque los valores de endogamia estimados por Ledig *et al.* (2002) son menores que los obtenidos con base en la proporción de semillas vanas sobre las desarrolladas, debe considerarse que los métodos de estimación son diferentes. Por ejemplo, los valores de endogamia estimados por Ledig *et al.* (2002) suponen condiciones de equilibrio en las poblaciones y sólo consideran la producción de semillas llenas; es decir, el análisis de isoenzimas subestima la endogamia al no incluir las semillas vanas. Rajora *et al.* (2000) sugieren utilizar ambos procedimientos para evaluar mejor la endogamia y viabilidad a largo plazo de las poblaciones. Además, el muestreo de Ledig *et al.* (2002) puede representar diferencias con este estudio por efectos de muestreo, ya que considera sólo una fecha de recolecta.

Por otro lado, aunque la población de El Coahuilón tiene mayor tamaño de población (7366 árboles mayores de 15 cm de diámetro normal, estimación de este estudio), presenta una densidad de 84 árboles ha^{-1} , mientras que en El Mohinora se determinó 117 árboles ha^{-1} , y La Marta 143 árboles ha^{-1} . En otras palabras, la mayor densidad de árboles se asoció a una menor endogamia. Rodales densos producen abundante cantidad de polen, reduciendo así la autopolinización, y por tanto la tasa de endogamia (Schemske y Lande, 1985; Mitton, 1992).

Correlaciones entre indicadores reproductivos de los árboles

El tamaño del cono (longitud y peso seco) se relacionó en forma positiva con la proporción de semillas llenas y el tamaño de semillas (peso de 100 semillas) en ambos años de recolecta, con coeficientes de correlación de 0.41 a 0.49 (Cuadro 4). La reducción en tamaño de cono puede ser resultado de una escasa polinización; en los pinos los conos son más grandes cuando hay una polinización adecuada (Bramlett *et al.*, 1977). Sin embargo, en *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco, el cono se desarrolla casi completamente antes de la fertilización (Owens *et al.*, 1981); por tanto, en esa especie conos de un tamaño normal pueden tener cantidades elevadas de óvulos abortivos y semillas vanas.

La correlación entre tamaño de cono y peso de semilla indica que los árboles con mayor tamaño de cono producen semillas más grandes. El tamaño de la semilla es importante, ya que existen evidencias en otras coníferas de que las semillas de mayor tamaño producen plántulas más robustas, al menos durante el primer año de vida (Sorensen y Campbell, 1993, 1997), lo cual puede tener ventajas competitivas durante la fase de establecimiento de la regeneración natural,

to better evaluate the inbreeding and long-term viability of the populations. Furthermore, the sampling of Ledig *et al.* (2002) may represent differences with this study due to sampling effects, given that it considers only one collection date.

On the other hand, although the population of El Coahuilón has a greater size population (7366 trees greater than 15 cm normal diameter, estimation of this study), it presents a density of 84 trees ha^{-1} , whereas in El Mohinora 117 trees ha^{-1} were determined, and in La Marta, 143 trees ha^{-1} . In other words, the greater tree density was associated with a lower degree of inbreeding. Dense stands produce an abundance of pollen, thus reducing self-pollination, and consequently, the rate of inbreeding (Schemske and Lande, 1985; Mitton, 1992).

Correlations among reproductive indicators of the trees

The cone size (length and dry weight) was positively related with the proportion of filled seeds and seed size (weight of 100 seeds) in both collection years, with correlation coefficients of 0.41 to 0.49 (Table 4). The reduction in cone size could be the result of scant pollination; in pines the cones are larger when there is an adequate pollination (Bramlett *et al.*, 1977). However, in *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco, the cone develops almost completely prior to fertilization (Owens *et al.*, 1981); therefore, in this species normal sized cones can have elevated quantities of abortive ovules and empty seeds.

The correlation between cone size and seed weight indicates that the trees with greater cone size produce larger seeds. The seed size is important, given that there is evidence in other conifers that the larger seeds produce more robust seedlings, at least during the first year of life (Sorensen and Campbell, 1993, 1997), which could have competitive advantages during the establishment phase of natural regeneration, when forestry practices are carried out to insure this process.

The inbreeding index was negatively related to the weight of the filled seed (100 seeds). One of the effects associated with inbreeding depression caused by self-pollination is the reduction in seed size and the initial vigor of the seedlings, which results in the obtainment of weak seedlings and with lower growth rates, as has been demonstrated in *Picea glauca* and *P. rubens* (Fowler and Park, 1983; Mosseler *et al.*, 2000).

Implications on the permanence of populations

Although data were used that correspond to two collection cycles of seed production, and the environmental conditions may cause fluctuations in the

Cuadro 4. Coeficientes de correlación de Pearson entre los caracteres de semilla de los árboles de tres poblaciones de *Picea mexicana* Martínez, en las recolectas 1999 (n=78) y 2001 (n=41).**Table 4. Pearson correlation coefficients among the seed traits of the trees of three populations of *Picea mexicana* Martínez, in the harvests of 1999 (n=78) and 2001 (n=41).**

Variable	Proporción			Tamaño de semilla	Índice de endogamia	Eficiencia reproductiva
	Óvulos abortivos	Semillas vanas	Semillas llenas			
Longitud de cono	-0.46**	0.27**	0.41**	0.43**	-0.31**	0.38**
Peso del cono seco	-0.36**	0.10*	0.41**	0.39**	-0.33**	0.38**
	-0.43**	0.20**	0.45**	0.49**	-0.36**	0.40**
Número de escamas fértiles	-0.36**	0.08ns	0.44**	0.43**	-0.37**	0.39**
	-0.03ns	-0.09**	0.20**	0.21**	-0.34**	0.23**
Proporción de óvulos abortados	-0.07ns	-0.07ns	0.24**	0.19**	-0.24**	0.25**
		-0.79**	-0.55**	-0.24**	0.31**	-0.52**
Proporción de semillas vanas		-0.79**	-0.44**	-0.33**	0.17**	-0.42**
			-0.04ns	-0.01ns	0.34**	-0.06ns
Proporción de semillas llenas			-0.18**	0.11*	0.42**	-0.17**
				0.39**	-0.96**	0.98**
Tamaño de semillas				0.44**	-0.95**	0.53**
					-0.34**	0.48**
Índice de endogamia					-0.36**	0.53**
						-0.95**
						-0.93**

** $p \leq 0.01$.

ns: no significativo. Los valores de correlación en la primer y segunda línea representan la cosecha de 1999 y 2001, respectivamente.

siempre y cuando se realicen prácticas silvícolas para asegurarlas.

El índice de endogamia se relacionó negativamente con el peso de la semilla llena (100 semillas). Uno de los efectos asociados a la depresión endogámica ocasionada por la autofecundación es la reducción en tamaño de la semilla y el vigor inicial de las plántulas, lo que se traduce en la obtención de plántulas débiles y con menores tasas de crecimiento, como se ha demostrado en *Picea glauca* y *P. rubens* (Fowler y Park, 1983; Mosseler *et al.*, 2000).

Implicaciones sobre la permanencia de las poblaciones

Aunque se utilizaron datos que corresponden a dos ciclos de producción de semillas, y las condiciones ambientales pueden ocasionar fluctuaciones en los indicadores reproductivos, es notoria la baja capacidad reproductiva en las tres poblaciones mexicanas de *Picea mexicana*. La alta variación de la capacidad reproductiva entre árboles indica que no todos ellos producen cantidades similares de semilla, y que sólo un número reducido aporta la mayor proporción del germoplasma en un ciclo de producción. Sin embargo, la correlación entre la proporción de semillas llenas producida por cada árbol en los dos ciclos de cosecha resultó muy baja ($r=0.26$) lo que indica que los árboles que aportan la mayor cantidad de semilla a la siguiente generación difieren de un ciclo a otro, por lo que a largo plazo se mantendría un nivel de variabilidad aceptable en la población.

reproductive indicators, the low reproductive capacity is notorious in the three Mexican populations of *Picea mexicana*. The wide variation in the reproductive capacity among trees indicates that not all of them produce similar amounts of seed, and that only a reduced number provide the greatest proportion of germplasm in a production cycle. However, the correlation between the proportion of filled seeds produced by each tree in the two collection cycles was very low ($r=0.26$), indicating that the trees that provide the greatest amount of seed to the following generation differ from one cycle to the next, thus in the long run an acceptable level of variability in the population would be maintained.

In spite of the variation among populations in the reproductive indicators, all of the populations present a reduced reproductive capacity with respect to other species of *Picea* (Caron and Powell, 1989; Mosseler *et al.*, 2000), and even more so when other conifers are considered (Todhunter and Polk, 1981; López-Upton and Donahue, 1995; Martínez, 1998). The populations of *P. mexicana* in México have a low density of adult trees (117 trees ha^{-1}). The populations with greatest density produce a greater amount of pollen, which increases the production of filled seeds and reduces the possibility of self-pollination, thus avoiding an increase in the rate of inbreeding (Schemske and Lande, 1985; Mitton, 1992).

In small populations, the capacity of individuals to reproduce and develop is diminished, as there is an increase of inbreeding as a result of self-pollination among trees (Frankham, 1998). The existence of 13 406 trees (>15 cm of normal diameter) of *P. mexicana* was estimated

A pesar de la variación entre poblaciones en los indicadores reproductivos, todas las poblaciones presentan una capacidad reproductiva reducida en relación con otras especies de *Picea* (Caron y Powell, 1989; Mosseler *et al.*, 2000), y más aún cuando se consideran otras coníferas (Todhunter y Polk, 1981; López-Upton y Donahue, 1995; Martínez, 1998). Las poblaciones de *P. mexicana* en México tienen una baja densidad de árboles adultos ($117 \text{ árboles ha}^{-1}$). Las poblaciones con mayor densidad producen una mayor cantidad de polen, lo que aumenta la producción de semillas llenas y reduce la posibilidad de autofecundación, y por lo tanto se evita el aumento de la tasa de endogamia (Schemske y Lande, 1985; Mitton, 1992).

En poblaciones pequeñas disminuye la capacidad de los individuos para reproducirse y desarrollarse, al aumentar la endogamia producto de la autofecundación o polinización entre árboles emparentados (Frankham, 1998). Se estimó la existencia de 13 406 árboles ($>15 \text{ cm}$ de diámetro normal) de *P. mexicana* en México, de estos hay 1330 en el Cerro El Mohinora, 7366 en El Coahuilón, y 4710 árboles en la Sierra La Marta. Las poblaciones marginales y aisladas tienen mayores niveles de endogamia (Frankham, 1998), lo que genera una menor capacidad reproductiva y mayor riesgo de extinción. Al encontrarse en el margen sur de la distribución natural del género, *P. mexicana* está expuesta a condiciones ambientales no óptimas, por lo que requiere un mayor número de plántulas para sustituir las afectadas por la mortalidad.

Las poblaciones marginales tienen un valor especial para la conservación; por estar expuestas a mayores presiones de selección representan fuentes de semilla adaptadas a condiciones de estrés, que podrían ser útiles ante la expectativa de cambio climático (Rajora y Mosseler, 2001).

Ledig *et al.* (2002) concluyeron que las poblaciones de *Picea mexicana* son genéticamente viables, ya que su grado de autofecundación no es tan alto como los de *P. chihuahuana* Martínez y *P. martinezii* T. F. Patterson. Sin embargo, *P. mexicana* presenta un deterioro importante en su capacidad reproductiva, con valores consistentes en dos ciclos de cosecha. Ledig *et al.* (2002) indican que el factor primario que ha ocasionado su declinación gradual es el calentamiento global ocurrido desde el periodo de las glaciaciones, cuando el género *Picea* tuvo una distribución mucho más amplia en México. Si este cambio climático se acelera, como se predice para un futuro cercano, estas poblaciones tendrían menos oportunidades de sobrevivir.

Lo anterior lleva a considerar estrategias de conservación *in situ* y *ex situ*. Las áreas donde se encuentra esta especie deben constituirse legalmente como áreas de conservación genética donde debe establecerse un

in México, of these 1330 are in the Cerro El Mohinora, 7366 in El Coahuilón, and 4710 trees in the Sierra La Marta. The marginal and isolated populations have higher levels of inbreeding (Frankham, 1998), which generates a lower reproductive capacity and greater risk of extinction. As it is found in the southern margin of the natural distribution of the genus, *P. mexicana* is exposed to environmental conditions which are not optimal, thus requiring a greater number of seedlings to substitute those affected by mortality.

The marginal populations have a special value for conservation; because they are exposed to greater selection pressures, they represent sources of seed adapted to stress conditions, which would be useful in view of the expectation of climatic change (Rajora and Mosseler, 2001).

Ledig *et al.* (2002) concluded that the populations of *Picea mexicana* are genetically viable, given that their degree of self-pollination is not as high as those of *P. chihuahuana* Martínez and *P. martinezii* T.F. Patterson. However, *P. mexicana* presents an important deterioration in its reproductive capacity, with consistent values in two harvest cycles. Ledig *et al.* (2002) indicate that the primary factor that has caused its gradual decline is the global warming that has occurred since the glacial period, when the genus *Picea* had a much broader distribution in Mexico. If this climatic change accelerates, as is predicted for a near future, these populations will have less chance of survival.

The above leads us to consider *in situ* and *ex situ* conservation strategies. The areas where this species is found should be legally constituted as areas of genetic conservation, where a program of management and protection should be established to eliminate grazing and forest fires. Furthermore, it is recommendable to establish germplasm banks for long term storage, and plantations in sites which present similar environmental conditions according to the predictions of climatic change. It is important to develop actions to combat the problems of accumulated inbreeding in the populations, by introducing and exchanging genetic material among them in order to broaden the genetic base, and to favor the cross-breeding of unrelated individuals in the following generations.

CONCLUSIONS

Picea mexicana presents a wide variation in its reproductive indicators, both among trees within populations and among populations, with consistent values at the population level in two collection years.

The population of La Marta presents reproductive values superior to those of the other two populations in the majority of the indicators considered. However, the reproductive state is critical in the three populations,

programa de manejo y protección que elimine el pastoreo y los incendios forestales. Además, es conveniente establecer bancos de germoplasma para almacenamiento a largo plazo, y plantaciones en sitios que presenten condiciones ambientales similares de acuerdo con los pronósticos de cambio climático. Es importante desarrollar acciones para contrarrestar los problemas de endogamia acumulada en las poblaciones, introduciendo e intercambiando material genético entre ellas para ampliar la base genética, y favorecer el entrecruzamiento de individuos no emparentados en las siguientes generaciones.

CONCLUSIONES

Picea mexicana presenta una amplia variación en sus indicadores reproductivos, tanto entre árboles dentro de poblaciones como entre poblaciones, con valores consistentes a nivel de poblaciones en dos años de recolecta.

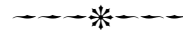
La población de La Marta presenta valores reproductivos superiores a los de las otras dos poblaciones en la mayoría de los indicadores considerados. Sin embargo, el estado reproductivo en las tres poblaciones es crítico, comparado con especies del mismo género y con otras coníferas. Se estimó un índice de endogamia elevado en todas las poblaciones (> 0.70), con una eficiencia baja en la producción de semilla y una elevada proporción de óvulos abortados, aspectos que parecen estar asociados con el tamaño reducido de las poblaciones y un fuerte grado de consanguinidad entre los árboles que fueron muestreados en estas poblaciones.

Para conservar las poblaciones de *Picea mexicana* se debe considerar áreas de protección y establecer medidas estrictas de manejo, con protección contra pastoreo e incendios forestales. También es necesario iniciar un programa de conservación *ex situ* con bancos de germoplasma y establecer plantaciones de conservación. En las poblaciones naturales se debe introducir e intercambiar material genético entre ellas para ampliar la base genética y favorecer el entrecruzamiento entre individuos no emparentados en las siguientes generaciones.

LITERATURA CITADA

- Bramlett, D. L., E. W. Belcher Jr., G. L. DeBarr, J. L. Hertel, R. P. Karrfalt, C. W. Lantz, T. Miller, K. D. Ware, and H. O. III Yates. 1977. Cone analysis of southern pines: a guidebook. Gen. Tech. Rep. SE-13. USDA For. Serv., Southeastern For. Exp. Stn. Asheville, N. C. 28 p.
- Caron, G. E., and G. R. Powell. 1989. Cone size and seed yield in young *Picea mariana* trees. Can. J. For. Res. 19: 351-358.
- Farjon, A., C. N. Page, and N. Schellevis. 1993. A preliminary world list of threatened conifer taxa. Biodiversity and Conservation 2: 304-326.
- Fowler, D. P., and Y. S. Park. 1983. Population studies of white spruce. I. Effects of self-pollination. Can. J. For. Res. 13: 1133-1138.
- Frankham, R. 1998. Inbreeding and extinction: island populations. Conservation Biology 12 (3): 665-675.
- Khalil, M. A. K. 1984. Genetics of cone morphology of black spruce [*Picea mariana* (Mill). B.S.P.] in Newfoundland, Canada. Silvae Genet. 33 (4-5): 101-109.
- Ledig, F. T., V. Jacob C., P. D. Hodgskiss, and T. Eguiluz P. 1997. Recent evolution and divergence among populations of a rare Mexican endemic, Chihuahua spruce, following Holocene climatic warming. Evolution 51 (6): 1815-1827.
- Ledig, F. T., B. Bermejo V., P. D. Hodgskiss, D. R. Johnson, C. Flores L., and V. Jacob C. 2000. The mating system and genetic diversity in Martinez spruce, an extremely rare endemic of México's Sierra Madre Oriental: an example of facultative selfing and survival in interglacial refugia. Can. J. For. Res. 30: 1-9.
- Ledig, F. T., P. D. Hodgskiss, and V. Jacob-Cervantes. 2002. Genetic diversity, mating system, and conservation of a Mexican subalpine relict, *Picea mexicana* Martínez. Conservation Genetics 3 (2): 113-122.
- López-Upton, J., and J. K. Donahue. 1995. Seed production of *Pinus greggii* Engelm. in natural stands in México. Tree Planters' Notes 46 (3): 1-10.
- Martínez C., N. 1998. Atributos poblacionales y reproductivos de *Pinus chiapensis* en Chiapas México. Anales del Instituto de Biología, UNAM, Serie Botánica 69 (2): 119-134.
- Martínez, M. 1961. Una nueva especie de *Picea* en México. Anales del Instituto de Biología. Tomo XXXII: 137-42.
- Mitton, J. B. 1992. The dynamic mating systems of conifers. New Forests 6: 197-216.
- Mosseler, A. 1992. Seed yield and quality from early cone collections of black spruce and white spruce. Seed Sci. & Technol. 20: 473-482.
- Mosseler, A., J. E. Major, J. D. Simpson, B. Daigle, K. Lange, Y. S. Park, K. H. Johnsen, and O. P. Rajora. 2000. Indicators of population viability in red spruce, *Picea rubens*. I. Reproductive traits and fecundity. Can. J. Bot. 78: 928-940.
- Owens, J. N., S. J. Simpson, and M. Molder. 1981. The pollination mechanism and the optimal time of pollination in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*). Can. J. For. Res. 11: 36-50.

—End of the English version—



- Park, Y. S., and D. P. Fowler. 1984. Inbreeding in black spruce (*Picea mariana* (Mill.) B.S.P.): self-fertility, genetic load, and performance. *Can. J. For. Res.* 14: 17-21.
- Rajora, O. P., and A. Mosseler. 2001. Challenges and opportunities for conservation of forest genetics resources. *Euphytica* 118: 197-212.
- Rajora, O. P., A. Mosseler, and J. E. Major. 2000. Indicators of population viability in red spruce, *Picea rubens*. II. Genetic diversity, population structure, and mating behavior. *Can. J. Bot.* 78: 941-956.
- SAS Institute Inc. 1998. SAS/STAT Guide for personal computers. Versión 8.0. SAS Institute Inc. Cary, N.C., USA.
- Schemske, D. W. and R. Lande, 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. II. Empirical observations. *Evolution* 39: 41-52.
- SEMARNAT. 2002. NORMA Mexicana NOM-059-ECOL-2001, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. *In: Diario Oficial de la Federación*, 6 de marzo de 2002.
- Sorensen, F. C., and R. S. Miles. 1974. Self-pollination on Douglas-fir and Ponderosa pine seeds and seedlings. *Silvae Genet.* 23 (5): 135-165.
- Sorensen, F. C., and R. K. Campbell. 1993. Seed weight-seedling size correlation in coastal Douglas-fir: genetic and environmental components. *Can. J. For. Res.* 23: 275-285.
- Sorensen, F. C., and R. K. Campbell. 1997. Near neighbor pollination and plant vigor in coastal Douglas-fir. *Forest Genet.* 4 (3): 149-157.
- Taylor, R. J., and T. F. Patterson. 1980. Biosystematics of Mexican spruce species and populations. *Taxon* 29 (4): 421-469.
- Taylor, R. J., T. F. Patterson, and R. J. Harrod. 1994. Systematics of Mexican spruce-Revisited. *Systematic Botany* 19 (1): 47-59.
- Todhunter, M. N., and R. B. Polk. 1981. Seed and cone production in a clonal orchard of jack pine (*Pinus banksiana*) *Can. J. For. Res.* 11: 512-516.
- Yazdani, R., and D. Lindgren. 1991. The impact of self-pollination on production of sound selfed seeds. *In: Biochemical markers in the population genetics of forest trees*. S. Fineschi, M. E. Malvolti, F. Cannata and H. H. Hattermer (eds). SPB Academic Publishing. The Hague, The Netherlands. pp: 143-147.