

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Caracterización genética de *Pinus maximinoi* (H.E. Moore) en el noroccidente de Guatemala utilizando marcadores moleculares

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por
Johan Ariel Pinzón Colón
para optar al grado académico de Licenciado en Biología

Guatemala,

2026

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



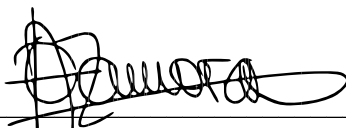
Caracterización genética de *Pinus maximinoi* (H.E. Moore) en el noroccidente de Guatemala utilizando marcadores moleculares

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por
Johan Ariel Pinzón Colón
para optar al grado académico de Licenciado en Biología

Guatemala,

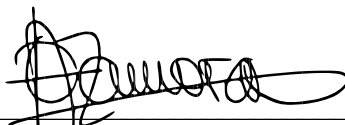
2026

Vo. Bo.:



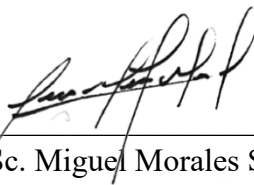
PhD. Alejandra Zamora Jerez

Tribunal Examinador:



(f):

PhD. Alejandra Zamora Jerez



(f):

M.Sc. Miguel Morales Santiago



(f):

Ing. Floridalma Miguel Ros

Fecha de aprobación: Guatemala, 08 de enero de 2026.

AGRADECIMIENTOS

Un profundo agradecimiento a mi asesora Alejandra Zamora por su apoyo y acompañamiento durante todas las fases de la investigación, así como por el conocimiento compartido que hizo posible el desarrollo de este trabajo. Asimismo, agradezco al Departamento de Biología por el apoyo brindado con el laboratorio, los insumos y la guía necesaria para llevar a cabo la investigación, especialmente a Gabriela Alfaro, José Miguel Morales y Priscila Arriola.

Por otro lado, agradezco al personal de INAB por el apoyo financiero y logístico brindado durante la colecta de muestras, así como por la información valiosa que aportó a esta investigación. En especial, quiero agradecer a Ing. Floridalma Miguel, Harriet López, José Luis Morán y Byron Elías.

Un especial agradecimiento a mis compañeros de la universidad, gracias por el apoyo y todo lo compartido durante la carrera. Agradezco a María, Paula, Lesly, Andrea y Sara. De manera muy especial, quiero agradecer a Sofi, con quien compartí largas horas realizando nuestras investigaciones, momentos de angustia y tristeza, pero también de alegría y satisfacción.

Quiero agradecer a mi novia Dani por el gran apoyo que significó para mí, por acompañarme en el laboratorio, por confiar en mí y por estar siempre presente cada vez que necesité apoyo. Gracias por todo.

Finalmente, agradezco a mi familia, ya que sin ellos nada de esto habría sido posible. Gracias Lucía y Gabriel por ser excelentes hermanos y por apoyarme durante los momentos difíciles. Agradezco a mi papá Rudy y a mi mamá Yohaira por todo su sacrificio y por el apoyo económico y emocional brindado durante toda la carrera. Gracias por siempre estar para mí.

ÍNDICE

I.	Introducción	1
II.	Objetivos	3
A.	Objetivo general	3
B.	Objetivos específicos	3
III.	Antecedentes	4
A.	Clasificación taxonómica	4
B.	Descripción morfológica	4
C.	Distribución natural	5
D.	Cultivos de <i>Pinus maximinoi</i>	6
E.	Importancia de <i>Pinus maximinoi</i>	8
1.	Importancia ambiental	8
2.	Importancia económica	9
3.	Importancia cultural	10
F.	Amenazas	10
1.	Cambio climático	10
2.	Incendios	11
3.	Escarabajo de pino	12
G.	Caracterización genética de <i>Pinus maximinoi</i>	13
IV.	Justificación	14
V.	Metodología	16
A.	Área de estudio	16
B.	Colecta de muestras	17
C.	Extracción de ADN	21
D.	Análisis de datos	22
VI.	Resultados	24
A.	Optimización de los métodos de extracción y amplificación de ADN	24
B.	Desempeño de los marcadores	25
C.	Diversidad genética en poblaciones	26

D.	Estructura genética entre poblaciones.....	30
E.	Efecto de la distancia geográfica en la genética.	34
VII.	Discusión.	35
A.	Desempeño de microsatélites.....	35
B.	Diversidad genética.....	35
C.	Comparación entre poblaciones.....	38
D.	Implicaciones.....	40
E.	Limitaciones del estudio.	42
VIII.	Conclusiones	44
IX.	Recomendaciones	45
X.	Referencias.	46
XI.	Anexos	54

LISTA DE FIGURAS

1. Mapa de distribución natural de <i>Pinus maximinoi</i>	5
2. Presencia de algunas parcelas permanentes de cultivos y distribución potencial de <i>Pinus maximinoi</i>	7
3. Mapa de puntos de colecta de muestras.....	17
4. Organización de grupos múltiplex para PCR.....	21
5. Comparación de los parámetros de diversidad genética entre las poblaciones de <i>Pinus maximinoi</i> en Guatemala.....	28
6. Número de alelos por locus (A) y diferencia entre la heterocigosidad esperada y observada (B).....	29
7. Análisis discriminante de componentes principales (DAPC) de las poblaciones de <i>Pinus maximinoi</i> en Guatemala	32
8. Gráfico de estructura poblacional de <i>Pinus maximinoi</i>	33
9. Relación entre la distancia genética y la distancia geográfica (en km) para las poblaciones de <i>Pinus maximinoi</i>	34

LISTA DE CUADROS

1. Sitios de colecta de muestras de <i>Pinus maximinoi</i>	16
2. Comparación de los tres protocolos de extracción de ADN utilizados.....	18
3. Lista de microsatélites utilizados para amplificación en <i>Pinus maximinoi</i>	20
4. Comparación de los tres métodos de extracción de ADN según las concentraciones y purezas obtenidas.....	24
5. Marcadores funcionales para <i>Pinus maximinoi</i>	25
6. Parámetros promedio de diversidad genética estimados para las poblaciones de <i>Pinus maximinoi</i> en Guatemala.....	26
7. Valores de diferenciación genética (Fst) entre poblaciones de <i>Pinus maximinoi</i> en Guatemala.....	30
8. Coeficientes de fijación (Fis, Fit y Fst) por locus en <i>Pinus maximinoi</i>	31

RESUMEN

Pinus maximinoi es una especie forestal con alta importancia económica, ecológica y cultural en Guatemala debido a su rápido crecimiento, adaptabilidad y uso en programas de reforestación y producción maderable. Sin embargo, existe poca información sobre su diversidad genética, lo que representa un desafío para su manejo y conservación a largo plazo. Este estudio tuvo como objetivo caracterizar la diversidad genética de poblaciones silvestres y manejadas de *P. maximinoi* en la región VII del INAB, específicamente en Huehuetenango y Quiché, mediante el uso de marcadores moleculares microsatélites. Se colectaron muestras de acículas en cuatro poblaciones y se compararon tres protocolos de extracción de ADN, seleccionando el método modificado por el Laboratorio de Protección Vegetal de UVG por presentar mejores concentraciones y purezas. Se utilizaron seis microsatélites funcionales para los análisis, cuyos electroferogramas fueron procesados en R. Los resultados indicaron una diversidad genética moderada ($N_a = 6.65$, $H_e = 0.785$), pero con déficit de heterocigotos y coeficientes de fijación elevados en las poblaciones, lo que sugiere posible endogamia o flujo genético limitado. La diferenciación entre poblaciones fue baja a moderada (F_{st} entre 0.087–0.113), indicando similitud genética general. Se recomienda promover conectividad, manejo genético y estrategias de conservación para prevenir erosión genética futura.

I. INTRODUCCIÓN

Los pinos (*Pinus* spp.), árboles con alta diversidad en el hemisferio norte, pertenecen a la familia Pinaceae. Son especies muy importantes en sus ecosistemas, ya que suelen actuar como pioneras, generando entornos favorables para que otras especies se establezcan en estas zonas. Además, se emplean frecuentemente en proyectos de reforestación y en la biorremediación de bosques deteriorados. Los pinos también proporcionan refugio y comida a varios animales, jugando un rol crucial en la biodiversidad de sus hábitats (Escobar & Rodríguez, 2019).

Los pinos no solo son fundamentales para los ecosistemas forestales, sino que también presentan un valor económico importante tanto para la industria de la madera como para las comunidades locales, especialmente en la utilización de la madera y otros materiales, como el ocote y la resina (Moctezuma & Flores, 2020).

Pinus maximinoi es una especie de pino que se distribuye en las regiones subtropicales de Mesoamérica. (INAB, 2019). Se caracteriza por tener un rápido crecimiento, puede habitar tanto en tierras fértiles como en tierras menos productivas y generalmente presenta pocas ramas. Su biología le brinda un gran potencial productivo debido a su alta tasa de crecimiento y la calidad de su madera (Martínez & Castillo, 2001). A pesar de su alto aprovechamiento y gran potencial productivo, existe poca información sobre esta especie, principalmente en Guatemala, lo que dificulta su manejo y conservación adecuada.

En este sentido, la diversidad genética es fundamental para la conservación de las especies, especialmente aquellas que son aprovechadas. Una alta diversidad genética provee material para poder adaptarse a los cambios en el ambiente, si esta diversidad se pierde, las poblaciones son más susceptibles a reducciones, debido a cambios o perturbaciones ambientales o antropogénicas (Rajora *et al.*, 2000). De igual

forma, el aprovechamiento intensivo puede ejercer presiones adicionales sobre estas especies, además de someterlas a selección artificial en busca de características deseadas, lo que favorece la pérdida de diversidad genética (Danusevicius *et al.*, 2016).

Este estudio realizó la caracterización de la diversidad genética de *Pinus maximinoi* en Guatemala utilizando marcadores microsatélites. Se analizaron individuos de cuatro poblaciones diferentes, con el fin de realizar comparaciones de la salud genética y evaluar si las prácticas de aprovechamiento tienen un impacto a nivel genético en esta especie.

II. OBJETIVOS

A. Objetivo general

- Caracterizar la diversidad genética de *Pinus maximinoi* en la región VII de INAB en Guatemala utilizando marcadores moleculares.

B. Objetivos específicos

- Comparar la diversidad genética de *Pinus maximinoi* en estado silvestre y en áreas de cultivo.
- Generar recomendaciones para la conservación y el mantenimiento de la diversidad genética tanto en áreas silvestres como en cultivos.
- Establecimiento de protocolos de extracción, amplificación y análisis de marcadores microsatélites para *Pinus maximinoi*.

III. ANTECEDENTES

A. Clasificación taxonómica

La clasificación de *Pinus maximinoi* (H.E. Moore)

es la siguiente (Farjon & Filer, 2013):

- **Familia:** Pinaceae
- **Género:** *Pinus*
- **Especie:** *Pinus maximinoi*
- **Sinónimo:** *Pinus tenuifolia*
- **Nombre común:** Pino candelillo, pino blanco

Pinus maximinoi pertenece al grupo Pseudostrobus, junto con *P. nubacula* y *P. pseudostrobus*. Dentro de este grupo, *P. maximinoi* está más relacionado con *P. pseudostrobus* que con *P. nubacula* (Stead, 1983). Este grupo presenta cinco acículas y se distribuye en el Eje Neovolcánico, en la Sierra Madre Occidental y se extiende hacia Guatemala, El Salvador y Honduras (Richardson, 2000)

B. Descripción morfológica

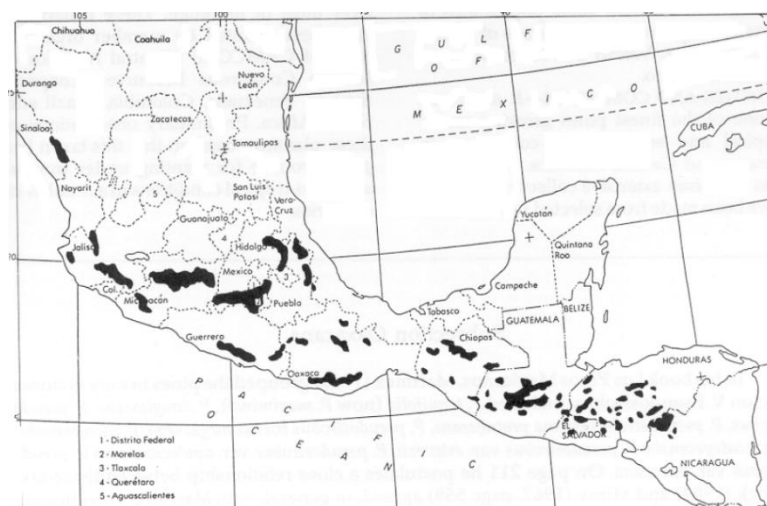
Es un árbol que llega a crecer entre 15 y 30 metros de altura, aunque en algunos casos se han reportado ejemplares de hasta 50 de altura (Véliz *et al.*, 2007). El tronco generalmente es recto, con un diámetro a la altura del pecho de 40 a 90 cm. En la base del tronco la corteza es de color gris oscuro con fisuras irregulares. Árboles jóvenes presentan una corteza más suave y delgada, mientras que, en individuos maduros, la corteza es más gruesa (Véliz *et al.*, 2007).

La copa es densa con forma de domo, con ramas gruesas y la mayoría de las ramas surgen en un ángulo de 90° respecto al tronco, simulando un crecimiento verticilado. Las ramas son frágiles, con largos entrenudos, de color rojizo o amarillento

y brillantes, con huellas de brácteas espaciadas y poco marcadas. Las acículas se agrupan en cinco, miden entre 20 y 35 cm de largo y presentan vaina en la base del fascículo. Las vainas son anilladas, miden de 15 a 25 mm y de color castaño. Los estróbilos tienen forma ovoide que van desde los 5 hasta los 9 centímetros de largo y de 4 a 7 centímetros de ancho. Las escamas son delgadas y suaves. La semilla es oscura, casi triangular, de 6 a 7 mm, con un ala amarillenta de 18 a 20 mm de largo y 6 a 7 mm de ancho (Véliz *et al.*, 2007).

C. Distribución natural

Pinus maximinoi es una especie de pino que se distribuye en las regiones subtropicales de Mesoamérica, específicamente en áreas montañosas de México, Guatemala, El Salvador, Nicaragua y Honduras, en elevaciones que van desde los 700 hasta los 2400 m.s.n.m (Dvorak & Donahue, 1988). En Guatemala, esta especie se conoce como “Pino Candelillo” y se encuentra en los departamentos de Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, El Progreso, Guatemala, Huehuetenango, Jalapa, Quetzaltenango, Quiché, Sacatepéquez, Sololá y Zacapa (INAB, 2019).



(Perry, 1991)

Figura 1. Mapa de distribución natural de *Pinus maximinoi*

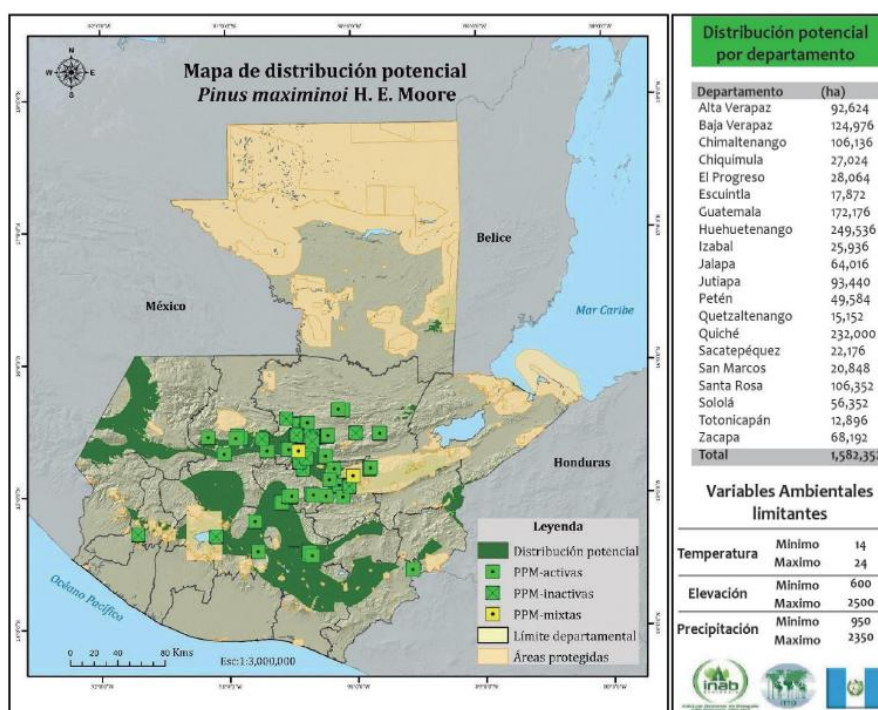
D. Cultivos de *Pinus maximinoi*

Fuera de su rango de distribución natural, la especie ha sido introducida con intenciones de aprovechamiento en Brasil, Colombia Honduras, México, Sudáfrica, Venezuela y Zimbabue (INAB, 2019).

Los lugares donde existe presencia de *Pinus maximinoi* en plantaciones forestales en Guatemala son:

- **Alta Verapaz:** Cobán, Lanquín, Panzós, San Cristóbal Verapaz, San Juan Chamelco, San Miguel Tucurú, San Pedro Carchá, Santa Cruz Verapaz, Senahú, Tactic y Tamahú.
- **Baja Verapaz:** Cubulco, Granados, Purulhá, Salamá, Rabinal, San Jerónimo y Santa Cruz El Chol.
- **Chimaltenango:** Acatenango, Zaragoza, Chimaltenango, Patzún, Santa Apolonia, San Andrés Itzapa, San Juan Comalapa, San Martín Jilotepeque, San Miguel Pochuta, San Pedro Yepocapa y Tecpán Guatemala.
- **El Progreso:** Morazán, San Agustín Acasaguastlán, Guastatoya y Sansare.
- **Guatemala:** Santa Lucía Cotzumalguapa (Escuintla), Amatitlán, Chinautla, Fraijanes, Guatemala, Mixco, Palencia, San José Pinula, San Juan Sacatepéquez, San Pedro Sacatepéquez, Santa Catarina Pinula, Villa Canales y Villa Nueva.
- **Huehuetenango:** Nentón, Unión Cantinil, San Pedro Necta, San Mateo Ixtatán, Petatán, Jacaltenango, Concepción Huista y Chiantla.
- **Quetzaltenango:** Olinstepeque, Zunil, El Palmar y Colomba Costa Cuca.
- **Jalapa:** Mataquescuintla, Jalapa y San Pedro Pinula.
- **Quiché:** Chajúl, Chicamán, Chiché, Nebaj, Cunén, San Juan Cotzal, Chichicastenango, San Pedro Jocopilas, Santa Cruz del Quiché, Chinique, San Bartolomé Jocotenango y Uspantán.

- **Retalhuleu:** San Felipe.
- **Sacatepéquez:** San Juan Alotenango, Sumpango, Pastores, Santo Domingo Xenacoj, San Miguel Dueñas y Jocotenango.
- **Zacapa:** Zacapa, La Unión, Gualán y Usumatlán.
- **San Marcos:** San Rafael Pie de la Cuesta y Tacaná.
- **Santa Rosa:** Barberena y Casillas.
- **Sololá:** Panajachel, Santiago Atitlán y San Andrés Semetabaj.
- **Totonicapán:** Momostenango.
- **Suchitepéquez:** San Francisco Zapotitlán.



(INAB, 2019)

Figura 2. Presencia de algunas parcelas permanentes de cultivos y distribución potencial de *Pinus maximinoi*

E. Importancia de *Pinus maximinoi*

1. Importancia ambiental

Pinus maximinoi y los pinos en general son esenciales en los ecosistemas, ya que forman parte del componente principal de la vegetación en sus hábitats. Juegan un papel crucial en los ciclos biogeoquímicos e hídricos (Tor-ngern *et al.*, 2018). Sus largas raíces permiten estabilizar el suelo, evitando la erosión y promoviendo la retención de agua. Por lo tanto, la presencia de estos árboles ayuda a mantener la humedad y fertilidad del suelo, especialmente en áreas propensas a sequía y desertificación. Además, son fuente de alimento, produciendo semillas que son consumidas por diversos animales (Escobar & Rodríguez, 2019).

Por otro lado, estos árboles son pioneros y están bien adaptados a condiciones difíciles como suelos pobres, pendientes pronunciadas y alta radiación solar. Esta resistencia les permite colonizar áreas degradadas y crear condiciones adecuadas para la regeneración y la llegada de otras especies (Kacker *et al.*, 2024). La presencia de los pinos en bosques degradados puede aumentar la biodiversidad al permitir la colonización de especies de hoja ancha en el sotobosque. Esto además de enriquecer la biodiversidad del ecosistema, también contribuye a la resiliencia del bosque contra perturbaciones ambientales (Torres *et al.*, 2021).

Además, los bosques de pino tienen la capacidad de secuestrar una gran cantidad de carbono. *P. maximinoi*, debido a su rápido crecimiento, es ideal para almacenar grandes cantidades de carbono tanto en su biomasa como en el suelo, por lo que tiene un rol muy importante en la mitigación del cambio climático (Ruiz *et al.*, 2017).

2. Importancia económica

Los bosques de pinos en los que se encuentra *P. maximinoi* tienen una gran importancia para la economía local y regional. Estos bosques suministran productos madereros, que son utilizados en industrias como la construcción, la producción de muebles y la fabricación de papel. Además, la resina que producen los pinos es utilizada en la producción trementina y colofonia. También brindan ocote, que generalmente se comercializa en mercados locales (CONAFOR, 2011). En muchas regiones, la industria forestal basada en los pinos proporciona empleo a miles de personas en industrias como la silvicultura, el manejo forestal, la producción industrial y el comercio de madera y sus derivados (Torres *et al.*, 2021).

En Guatemala *Pinus maximinoi* es la especie más utilizada en la industria forestal y en aserraderos por sus características que le brindan alto potencial productivo. Por esta razón, es la especie con mayor área reforestada en los programas de incentivos forestales en Guatemala, junto con el pino colorado (*Pinus oocarpa*) y el pino del Caribe (*Pinus caribaea var. hondurensis*). En los programas de incentivos forestales promovidos por INAB, *P. maximinoi* se encuentra en el listado de especies prioritarias. Para el 2018 se registraron 23.455 hectáreas reforestadas en Guatemala con el objetivo de producir madera y satisfacer la demanda de la industria (INAB, 2019).

Esta especie tiene mayor preferencia en cuanto a reforestación mediante programas de incentivos forestales. Esto ha permitido que las reforestaciones se registren en 14 departamentos de Guatemala. De todas las áreas reportadas, la mayor concentración se encuentra en el departamento de Alta Verapaz, con 18,445.57 hectáreas reforestadas hasta el año 2018, lo que representa el 78.34% del área total reforestada con esta especie en el país (INAB, 2019)

3. Importancia cultural

Pinus maximinoi produce derivados como la resina y el ocote, que son utilizados en ceremonias mayas principalmente como ofrendas. Específicamente, el Pom es una ofrenda utilizada en rituales que se elabora a partir de la resina del árbol. Del mismo modo, el Cuico, que es el Pom más pequeño, se elabora con resina de pino y se asemeja a monedas de 5 centavos. Estas pequeñas ofrendas se utilizan como pago espiritual en ceremonias (Menchú, 2013).

Por otro lado, el Utza'm xik'a'y, también conocido como "palito", consiste en ramas cubiertas con resina de pino. Este derivado se emplea en las ceremonias para ayudar a resolver problemas y dificultades, por lo que la resina de pino tiene un papel importante en las ceremonias mayas para invocar protección y bienestar (Menchú, 2013).

F. Amenazas

1. Cambio climático

El cambio climático ha demostrado tener impactos significativos en muchas especies, especialmente en aquellas que habitan en montañas. Debido al aumento de las temperaturas, estas especies migran de forma altitudinal, es decir la distribución de las especies es cada vez más alta en las montañas, ya que las poblaciones necesitan condiciones ideales de temperatura. Lo cual es un problema para especies que se distribuyen en elevaciones altas, ya que no tienen a dónde migrar. Debido a la elevación a la que se distribuye *Pinus maximinoi*, el cambio climático puede tener un gran impacto en su distribución natural y en los cultivos de esta especie (van Zonneveld *et al.*, 2009).

Además, el cambio climático puede agravar otras amenazas para los pinos, como la llegada de nuevas plagas o patógenos que pueden infectar a *P. maximinoi*, y el

aumento en la frecuencia de incendios, que es una de las mayores amenazas para los bosques de esta especie (Van Zonneveld *et al.*, 2009).

2. Incendios

Los incendios son una de las principales amenazas para los bosques de pino en diversas regiones del mundo. En Guatemala, por ejemplo, los incendios son un evento común, debido al mal manejo y a prácticas agrícolas no sostenibles, especialmente en los bosques de pino de tierras bajas y en los bosques de elevación media. Estos incendios destruyen grandes áreas de bosque y debilitan a los árboles, haciéndolos más susceptibles a otras amenazas, como los ataques de insectos y enfermedades (Billings *et al.*, 2004). En el año 2000 y 2001, los bosques de pino en la región del Petén sufrieron un brote de escarabajos de la corteza, que fue potenciado por las condiciones creadas por los incendios. Este brote afectó casi 3,000 hectáreas de *Pinus caribaea*, reflejando como los incendios pueden potenciar otras amenazas para los pinos, incluyendo a *P. maximinoi* (Billings *et al.*, 2004).

Por otro lado, la actividad humana ha alterado el patrón de incendios en los bosques de pino, lo que ha provocado una acumulación de materia orgánica combustible y a incendios más intensos y frecuentes. Estos cambios afectan a la supervivencia de los pinos y a la regeneración y la composición de las especies en estos ecosistemas. En muchas regiones, la reducción de incendios ha provocado que los pinos se extiendan a áreas donde el fuego solía limitar su crecimiento, cambiando así su distribución natural y la dinámica del ecosistema (Capulín *et al.*, 2010). Un ejemplo de la amenaza que representan los incendios se encuentra en los bosques del Altiplano de Guatemala, donde la reducción de los incendios ha permitido la expansión de los pinos desplazando a otros tipos de vegetación.

3. Escarabajo de pino

El escarabajo del pino (*Dendroctonus spp.*) es una amenaza muy grande para los bosques de pino, que impacta a la salud, la productividad y la calidad de la madera de los árboles a los que afecta. Es uno de los insectos más destructivos para los bosques de pinos en América Central y del Norte. Este insecto, que vive principalmente en el floema y la corteza interna, perforan la corteza en la capa del floema, causando la muerte de los pinos (Gomez *et al.*, 2020).

Los brotes de este escarabajo pueden afectar grandes extensiones de bosques de pinos. Por ejemplo, en Honduras, más de 580,000 hectáreas de bosques de pinos han sido afectadas por estos brotes en los últimos 20 años. Estos brotes causan la pérdida de una gran cantidad de árboles, pero especialmente alteran la estructura del bosque, reduciendo la diversidad de especies. Además, los brotes de escarabajos aumentan por climas extremos, como sequías prolongadas y olas de calor, que aumentan el estrés en los árboles y reducen sus mecanismos de defensa. Siendo esto relevante en el contexto de cambio climático (Billings *et al.*, 2004).

La interacción entre los escarabajos del pino y otros factores ambientales, como los incendios forestales, también es importante. Los bosques densos y con poca diversidad de especies son más propensos a sufrir ataques de escarabajos debido a la cercanía entre los árboles, lo que indica que los monocultivos de pino son más susceptibles a los ataques de este escarabajo. Además, los incendios forestales pueden aumentar las probabilidades de ataques de escarabajos al aumentar la cantidad de etanol y terpenos volátiles liberados (Billings *et al.*, 2004).

En América Central, los escarabajos del pino y los incendios forestales son las dos amenazas más graves de los bosques de coníferas. Los brotes de escarabajos del pino en la región se han estudiado desde la década de 1960, y se han desarrollado recomendaciones silvícolas para su manejo. Por lo que es importante aplicarlas, para reducir riesgos en los cultivos (Gomez *et al.*, 2020).

G. Caracterización genética de *Pinus maximinoi*

El trabajo realizado por Barrios y Ortega (2021) estudió la diversidad genética de tres especies de pino en Guatemala: *P. maximinoi*, *P. oocarpa* y *P. tecunumanii*, utilizando microsatélites y evaluando su capacidad para adaptarse. Los resultados indicaron que *P. tecunumanii* tiene una diversidad de genes más alta y una mayor capacidad de adaptación, mientras que *P. maximinoi* presentó la diversidad genética más baja, lo que indica una menor capacidad de adaptación ante el cambio climático y otras amenazas. Por lo tanto, el autor recomienda implementar planes de manejo y reforestación específicos para *P. maximinoi*. Es importante destacar que este estudio se realizó con individuos silvestres, por lo que un análisis de la diversidad genética de individuos en áreas de aprovechamiento podría brindar más información sobre el estado genético de la especie.

Otras investigaciones sobre la caracterización genética de especies del mismo género en Centroamérica brindan antecedentes importantes para este trabajo. Por ejemplo, en Nicaragua se estudió la diversidad genética de *Pinus caribaea* utilizando marcadores moleculares AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) y marcadores de ADN polimórfico (Díaz *et al.*, 2001). Este estudio tenía como objetivo generar estrategias para la conservación de la especie, especialmente en áreas degradadas. A pesar de encontrar relaciones genéticas altas entre las poblaciones, también se detectaron pequeñas diferencias genéticas entre diferentes áreas geográficas. Además, la diferencia en la altitud también ha demostrado tener un efecto en la genética de las especies. Un estudio realizado en Michoacán, México, sobre *Pinus oocarpa*, mostró que existen variaciones genéticas asociadas con cambios en la altitud, relacionadas con las variaciones en las condiciones ambientales a lo largo de las montañas (Sáenz *et al.*, (Sáenz-Romero *et al.*, 2006).

IV. JUSTIFICACIÓN

Los pinos en general poseen una gran importancia comercial, ecológica y social. Específicamente, *Pinus maximinoi* tiene un valor económico muy grande en Guatemala, representa el 14% del aprovechamiento de madera con licencias forestales, siendo el segundo más aprovechado. Además, en 2023, la exportación de la especie generó \$1,547,349.67 (SIFGUA, 2023). También es una de las principales especies utilizadas en la reforestación de áreas degradadas y en la industria maderera del país, gracias a su alto potencial productivo, rápido crecimiento y resistencia a suelos pobres en nutrientes. Además de su madera, se utilizan derivados como el ocote y la resina, que no solo son comercializados, sino también empleados en prácticas culturales (Moctezuma & Flores, 2020).

Los cultivos de pinos, incluyendo los de *Pinus maximinoi*, presentan una solución para reducir la extracción ilegal de madera, ya que las plantaciones disminuyen la presión sobre los bosques naturales, siendo así muy importantes para la conservación de la especie (Martínez & Castillo, 2001). Sin embargo, a pesar de su relevancia económica y su alto aprovechamiento en Guatemala, existe poca información sobre la diversidad genética de esta especie, así como sobre los efectos de la selección artificial y los métodos sostenibles de manejo para el mantenimiento de dicha diversidad.

En las plantaciones, la diversidad genética puede degradarse debido a la búsqueda de características específicas, como un tronco grande y recto (Perek *et al.*, 2022). Esta selección artificial puede llevar a la pérdida de alelos no deseados por la industria, pero potencialmente importantes para la supervivencia de la especie ante cambios ambientales. La selección artificial, junto con otros factores como el cambio climático, incendios y plagas, puede promover la pérdida de alelos en las poblaciones tanto silvestres como aprovechadas.

Los individuos silvestres de *Pinus maximinoi* pueden jugar un papel fundamental en el mantenimiento de los cultivos. Por lo que analizar la salud genética de las poblaciones silvestres es importante, ya que estas pueden proporcionar un stock genético diverso que fortalezca el genoma de las plantaciones. Se ha demostrado que, en estado silvestre, *Pinus maximinoi* presenta una menor diversidad genética en comparación con dos de sus parientes del mismo género (Barrios & Ortega, 2021). Debido a esto, puede ser más susceptible a perturbaciones o presiones ambientales y antropogénicas. Esto es riesgoso, ya que esta especie es de las más aprovechadas en el país, y los efectos del cambio climático pueden afectar estas plantaciones que representan ingresos económicos significativos. Además, puede tener impactos graves en la salud de los ecosistemas, donde esta especie cumple un rol muy importante, al proveer alimento, refugio y condiciones propicias para que otras especies puedan habitar (Escobar & Rodríguez, 2019).

Por lo tanto, es necesario generar más información sobre la salud genética de la especie tanto en estado silvestre como en áreas de cultivo, ya que en estas pueden existir presiones adicionales que afecten en mayor medida su diversidad genética. Además, es necesario evaluar si las prácticas de cultivo son compatibles con el aprovechamiento sostenible y el mantenimiento de la diversidad genética de la especie. Con esta información, se pueden generar recomendaciones de aprovechamiento sostenible con el fin de mantener y conservar la diversidad genética.

V. METODOLOGÍA

A. Área de estudio

El área de estudio se ubica en la región VII de INAB, conformada por los departamentos de Quiché y Huehuetenango. Se seleccionaron dos sitios en cada departamento con base a investigaciones previas realizadas en estas localidades, donde se identificaron individuos con características superiores. En Quiché, el muestreo se llevó a cabo en Chinique y Paquixic, el primero corresponde a un bosque natural, mientras que el segundo presenta antecedentes de manejo forestal con fines de aprovechamiento maderable. Por su parte, en Huehuetenango se colectó en Malacatancito y La Unión Cantinil, que ambos considerados como bosques naturales.

Cuadro 1. Sitios de colecta de muestras de *Pinus maximinoi*

Departamento	Ubicación	Código de población	Coordenadas (GTM)	Tipo
Huehuetenango	Malacatancito	HM	385970, 1686190	Bosque natural
Huehuetenango	La Unión Cantinil	HU	370096, 1726621	Bosque natural
Quiché	Chinique	QC	445881, 1664361	Bosque natural
Quiché	Paquixic	QS	432340, 1651389	Antecedentes de manejo

B. Colecta de muestras

En cada sitio se colectaron muestras de acículas de *P. maximinoi* de 15 ejemplares, procurando una distancia mínima de 100 m entre cada árbol seleccionado. No obstante, debido a que únicamente se contó con un escalador para la colecta en dosel, en varios casos fue necesario muestrear individuos próximos entre sí para optimizar el tiempo y el esfuerzo de ascenso, lo que redujo parcialmente la distancia ideal propuesta entre muestras. Las muestras se almacenaron en bolsas plásticas con perlas de sílice y se transportaron en frío hasta el laboratorio de la Universidad del Valle de Guatemala, donde se conservaron a -20 °C.

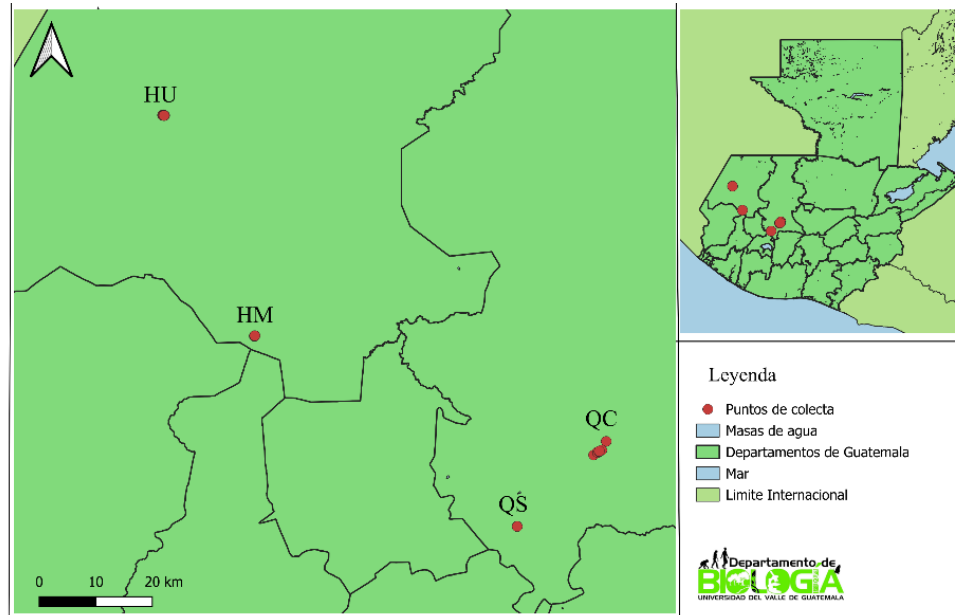


Figura 3. Mapa de puntos de colecta de muestras

C. Extracción de ADN

Cuadro 2. Comparación de los tres protocolos de extracción de ADN utilizados

Característica	Protocolo 1 (Cato & Richardson, 1996 mod.)	Protocolo 2 (Monge, 2022)	Protocolo 3 (Doyle & Doyle, 1990 mod. por LPV UVG)
Reactivos utilizados	CTAB RNasa A NaCl 5 M Cloroformo: Isoamílico (24:1) Isopropanol Etanol 70% Agua estéril	CTAB Proteinasa K Cloroformo:Isoamílico (24:1) Etanol absoluto Acetato de amonio 7.5 M Fenol TE buffer	CTAB (con PVP) Proteinasa K Cloroformo:Isoamílico (24:1) Isopropanol Acetato de amonio 7.5 M Etanol 70% TE buffer
Repeticiones de fases	Cloroformo: 2 veces Precipitación: 1 vez Lavado: 1 vez	Cloroformo: 2 veces Precipitación: 2 veces Lavado: 2 veces Fenol adicional	Cloroformo: 1 vez Precipitación: 1 vez Lavado: 3 veces
Tiempo de incubación	1 h a 65 °C (CTAB lisis) 30 min a 37 °C (RNasa) Toda la noche a -20 °C (precipitación)	Toda la noche a 65 °C (CTAB lisis) ≥ 24 h a -20 °C (2 veces)	1 h a 65 °C (CTAB lisis) Toda la noche a -20 °C (precipitación)
Duración total del protocolo	~1.5 días	≥ 3 días	~1.5 días
Secado del pellet	Aireado a temperatura ambiente antes de resuspender en agua estéril	Secado en horno a 60 °C con agitación constante después de cada lavado	Secado 5 min en horno a 50 °C Extracción del etanol residual con pipeta antes del secado final

El Cuadro 2 resume las principales características y diferencias entre los tres protocolos de extracción de ADN empleados. Aunque los tres procedimientos utilizan CTAB como agente de lisis, los reactivos complementarios son diferentes, además del número de fases de purificación, tiempos de incubación y métodos de secado del pellet. El *Protocolo 1* (Cato & Richardson, 1996 mod.) es de menor duración (~1.5 días) y se caracteriza por un número reducido de fases de lavado y precipitación. El *Protocolo 2* (Monge, 2022) incluye etapas adicionales de purificación con fenol y mayor número de repeticiones, lo que prolonga su duración a más de tres días. Por su parte, el *Protocolo 3* (Doyle & Doyle, 1990) que fue modificado por el Laboratorio de Protección Vegetal de la Universidad del Valle de Guatemala, optimiza el procedimiento mediante la incorporación de PVP para remover compuestos fenólicos y un secado rápido a 50 °C, reduciendo el tiempo total. Además, cada protocolo de extracción se puso a prueba por medio de pruebas de amplificación de ADN con cebadores de planta universal, utilizando el método clásico de PCR.

Para la extracción de ADN, se maceró aproximadamente 100 mg de acículas de *P. maximinoi* en un tubo de 1.5 ml utilizando nitrógeno líquido y pistilo. Se le añadió 600 µl de buffer CTAB al 2 % precalentado a 65°C y 20 µl de proteinasa-K al tubo con la muestra macerada. La mezcla se agitó mediante vórtex durante 10 segundos y luego se incubó a 65 °C durante 1 hora con agitación constante. Posteriormente, se dejaron enfriar las muestras a temperatura ambiente y se agregó 500 µl de una mezcla de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1). Tras una nueva agitación en vórtex por 30 segundos, se centrifugaron las muestras a 15,000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se transfirió a un nuevo tubo de 1.5 ml, al que se añadió 500 µl de isopropanol frío y 50 µl de acetato de amonio 7.5 M. Se mezcló por inversión y se dejó reposar a -20 °C durante la noche. Después de la incubación, las muestras se centrifugaron a 15,000 rpm durante 10 minutos, se descartó el sobrenadante invirtiendo el tubo. A continuación, se lavó el pellet con 150 µl de etanol frío al 70 % y se centrifugó de nuevo a 15,000 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se descartó y se realizó un spindown por 20 segundos para eliminar el exceso de etanol con una pipeta.

Este proceso se repitió 3 veces. Por último, se dejó secar el pellet en horno a 40 °C por 5 minutos máximo, para resuspenderlo en 25 µl de buffer TE precalentado a 65 °C.

Cuadro 3. Lista de microsatélites utilizados para amplificación en *Pinus maximinoi*

Locus	Secuencia F R	Tamaño del fragmento (pb)	Temperatura de anillamiento (C°)
PtTX2123	GAAGAACCCACAAACACAAG GGGCAAGAATTCAATGATAA	195-207	57
PtTX2128	TGGATAATCCTTTTCAGTC TCTCGGATTCTCTTACAG	226-278	55
PtTX3025	CACGCTGTATAATAACAATCTA TTCTATATTCGCTTTTAGTTTC	250-280	59
PtTX3030	AATGAAAGGCAAGTGTCG GAGATGCAAGATAAAGGAAGTT	295-368	59
PtTX3098	TTTGCACTATGGCATAAGTCCT CCCTGTTTCTACCCTTGATGA	283	57
PtTX3107	AAACAAGCCCACATCGTCAATC TCCCCTGGATCTGAGGA	182	55
PtTX3116	CCTCCCAAAGCCTAAAGAAT CATACAAGGCCTTATCTTACAGAA	146	55
PtTX4018	GGCTGGATTTGCGGCTATACCC TGCGGGAGAGGCAGAGTCC	209	59
PtTX4090	ACTTTCAAGATTCACTAATG AGTCCAGCACTCCAAGAAA	194	57
PtTX4092	GGATGATACTTTCCATGAGTTAGG TCTAGTCCAGATCTTGGTCCAC	174	57
PtTX4098	GTGGGACCCCAAGCACT ATTGCCTCCTCTTTAGTCATCTCA	211	61
PtTX3118	AACCATTTGCCCCCTTCTT AAAAACAGTCTGCAATCAAATC	676	61
PtTX3045	CATCGCATATCGCAATCAGG ATCGGAGTCAAAAACACAAAAGAAA	419	55

La concentración y pureza del ADN se cuantificó utilizando un NanoDrop (ThermoFisher). Se evaluaron las absorbancias a 260/280 y 260/230.

Amplificación de microsatélites La amplificación se realizó utilizando microsatélites específicos del género *Pinus*, desarrollados por Williams (2001), presentados en el Cuadro 3. Estudios previos han demostrado que estos marcadores son transespecíficos en varias especies de pinos (Kutil & Williams, 2001; Zhou *et al.*, 2002). Se realizaron pruebas preliminares para evaluar la amplificación de los microsatélites en *Pinus maximinoi*. De los 13 marcadores evaluados, 9 mostraron una amplificación exitosa y bandas definidas, sin embargo, por limitaciones de tiempo, solamente se utilizaron 6 (PtTx3030, PtTx3118, PtTx3098, PtTx3107, PtTx3116, PtTx3045) por lo que se procedió a diseñar PCR múltiplex en Multiplex Manager (Holleley & Geerts, 2009), agrupando de dos microsatélites según su tamaño de fragmento. Los grupos múltiplex se presentan en la Figura 4. Además, se incorporaron etiquetas fluorescentes T7term y M13 (Kato *et al.*, 2003; Boutin-Ganache *et al.*, 2001), donde la etiqueta M13 se asoció al fluorocromo HEX y la etiqueta T7term al fluorocromo FAM, para distinguir cada marcador dentro de los grupos multiplex y facilitar su identificación durante la electroforesis capilar.

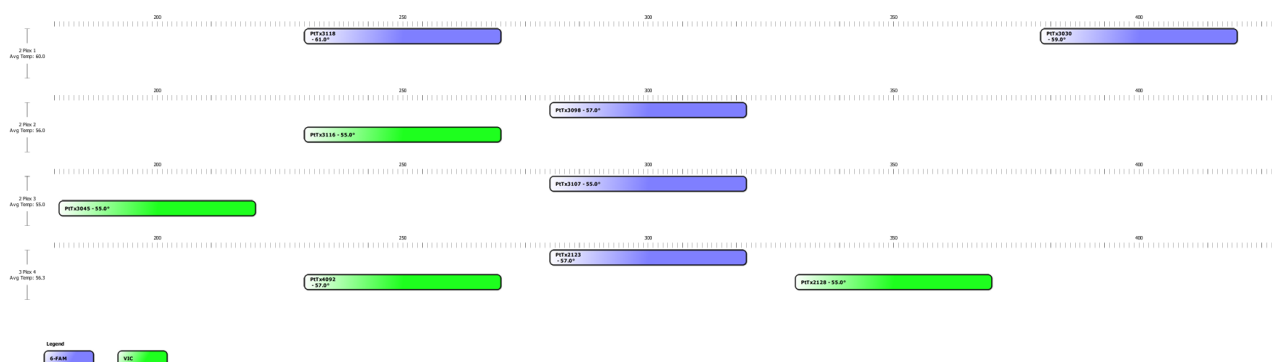


Figura 4. Organización de grupos múltiplex para PCR

Se emplearon reacciones de PCR múltiplex en un volumen final de 20 µl, utilizando 10 µl de QIAGEN Multiplex PCR Kit (2X), 3 µl de mezcla de primers (incluyendo 2 µl de primers universales M13 y T7term, 0.5 µl de cebador forward y 2 µl de cebador reverse), 0.4 µl de BSA, 5.6 µl de agua ultrapura y 1 µl de ADN genómico (concentración aproximada de 30 ng/µl).

Los loci incluidos en cada grupo múltiplex y sus respectivos tamaños esperados se detallan en el Cuadro 3.

La amplificación se realizó en un termociclador SimpliAmp de Thermofisher, bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 95 °C durante 15 minutos, seguida de 45 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 30 segundos, alineamiento a 55 °C por 1:30 minutos y extensión a 72 °C por 1 minuto, con una extensión final a 60 °C durante 30 minutos (Culley *et al.*, 2013). Se incluyeron controles negativos sin ADN para verificar la ausencia de contaminación.

La verificación de los productos de PCR se realizó mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.5% en buffer TAE 1X, teñidos con Loading Dye, a 100 V durante una hora, utilizando un marcador de peso molecular de 1000 bp

D. Análisis de datos

Los electroferogramas obtenidos tras la amplificación por PCR se depuraron y analizaron en RStudio mediante el paquete Fragman (Covarrubias-Pazaran *et al.*, 2016). En esta etapa, se realizó la visualización individual de los electroferogramas correspondientes a cada reacción múltiplex, permitiendo la identificación de picos fluorescentes, la verificación de la calidad de la señal y la asignación de tamaños alélicos con base en la escalera interna LIZ. Los tamaños de fragmentos fueron evaluados para confirmar su concordancia con los rangos esperados para cada marcador, y se descartaron picos ambiguos o con baja intensidad que no cumplieran con los criterios de calidad establecidos. Como resultado de este proceso de depuración, el marcador PtTx3107 fue excluido del análisis debido a la ausencia de amplificaciones consistentes e interpretables.

Posteriormente, los datos genotípicos depurados fueron organizados en matrices multilocus para el cálculo de parámetros de diversidad genética a nivel poblacional. Se estimaron el número observado de alelos (N_a), el número efectivo de alelos (N_e), las frecuencias alélicas, el número de alelos privados, la heterocigosidad observada (H_o), la heterocigosidad esperada (H_e) y el coeficiente de fijación (FIS).

Estos estimadores se calcularon utilizando el programa GenAlEx (Smouse *et al.*, 2017), ejecutado como complemento en Microsoft Excel, el cual permitió evaluar la variabilidad genética dentro y entre poblaciones.

Adicionalmente, se realizaron análisis de diferenciación genética entre las cuatro poblaciones muestreadas, así como evaluaciones de la estructura genética poblacional. Para este último, se empleó el análisis discriminante de componentes principales (DAPC), implementado en el paquete Adegenet (Jombart & Ahmed, 2011), el cual permite identificar patrones de agrupamiento genético sin asumir equilibrio de Hardy-Weinberg, siendo especialmente útil para el análisis de datos microsatelitales. Asimismo, se efectuaron comparaciones entre los valores de heterocigosidad observada y esperada, así como del coeficiente de fijación, con el fin de identificar posibles desviaciones del equilibrio genético y señales de estructuración o endogamia.

Finalmente, la visualización de los resultados se realizó mediante el paquete ggplot2 (Wickham, 2016), generando gráficos descriptivos y multivariados que facilitaron la interpretación de los patrones de diversidad y estructura genética observados entre las poblaciones analizadas.

VI. RESULTADOS

A. Optimización de los métodos de extracción y amplificación de ADN

Cuadro 4. Comparación de los tres métodos de extracción de ADN según las concentraciones y purezas obtenidas

Muestra	Protocolo 1 (Cato & Richardson, 1996 mod.)			Protocolo 2 (Monge, 2022)			Protocolo 3 (LPV)		
	Conc. (ng/μl)	A260/280	A260/230	Conc. (ng/μl)	A260/280	A260/230	Conc. (ng/μl)	A260/280	A260/230
P1	20.2	0.73	0.1	—	—	—	—	—	—
P2	13.8	0.72	0.1	—	—	—	—	—	—
P3	3	1.12	0.13	—	—	—	—	—	—
P4	4.2	0.87	0.11	—	—	—	—	—	—
P5	6	0.86	0.13	—	—	—	—	—	—
M16	—	—	—	20.5	1.91	0.06	186.5	2.07	2.13
M17	—	—	—	26.3	1.77	0.08	9.3	1.47	0.87
M18	—	—	—	19.3	2.07	0.06	104.7	1.95	1.88
M19	—	—	—	15.7	1.77	0.04	1.6	0.83	3.27
M20	—	—	—	17	1.89	0.05	109.9	2.06	2.4
M21	—	—	—	15.6	2.14	0.05	130.2	2.04	1.94
M22	—	—	—	10.6	3.21	0.03	93.3	2.04	2.51
M23	—	—	—	10.2	2.89	0.03	63.7	2.03	2.51
M24	—	—	—	13.7	2.38	0.04	109.7	1.9	1.8
M25	—	—	—	—	—	—	—	—	—
M26	—	—	—	—	—	—	—	—	—
M27	—	—	—	13.5	2.44	0.04	49.1	1.9	2.27
M28	—	—	—	57.5	1.62	0.06	196.4	1.92	1.87
M29	—	—	—	24.2	1.96	0.07	142.5	2.04	1.33
M30	—	—	—	20	1.84	0.06	408.3	2.02	2.3

Las muestras P1–P5 corresponden al *Método 1* (Cato & Richardson, 1996 mod.), y las muestras M16–M30 fueron procesadas con los métodos 2 (Monje, 2020) y 3 (LPV). Los guiones indican que las muestras no fueron evaluadas.

En el Cuadro 4 se presentan las concentraciones y los índices de pureza del ADN obtenidos a partir de tres métodos de extracción evaluados. El *Método 1* mostró concentraciones bajas, con valores que oscilaron entre 3.0 y 20.2 ng/μl, y relaciones A260/280 menores a 1.0, lo que indica una posible contaminación por proteínas o polisacáridos. Mientras que el *Método 2* produjo concentraciones ligeramente superiores, entre 10.2 y 57.5 ng/μl, aunque con valores de A260/230 bajos, lo que sugiere presencia de contaminantes orgánicos o sales residuales. Finalmente, el *Método 3* presentó las mayores concentraciones de ADN (hasta 408.3 ng/μl) y mejores índices de pureza, con relaciones A260/280 cercanas al rango óptimo (1.8–2.0) y A260/230 mayores a 2.0 en la mayoría de las muestras. Estos resultados reflejan una mayor eficiencia del Método 3 en la obtención de ADN de buena calidad y pureza comparado con los otros dos protocolos. Además, al momento de la amplificación, este método presentó bandas claras en gel que correspondían a los tamaños de fragmento. Por lo tanto, se confirma que este método es útil para extraer ADN a partir de muestras de *P. maximinoi*.

B. Desempeño de los marcadores

Cuadro 5. Marcadores funcionales para *Pinus maximinoi*

Marcador	Grupo múltiplex	Etiqueta fluorescente	Estado
PtTx3030	1	M13	Utilizado
PtTx3118	1	M13	Utilizado
PtTx3098	2	M13	Utilizado
PtTx3116	2	T7term	Utilizado
PtTx3107	3	M13	Descartado
PtTx3045	3	T7term	Utilizado
PtTx2123	4	M13	No evaluado
PtTx4092	4	T7term	No evaluado
PtTx2128	4	T7term	No evaluado

En el Cuadro 5 se presentan los nueve marcadores microsatélites seleccionados y su distribución dentro de los grupos múltiplex, así como el tipo de etiqueta

fluorescente utilizada y el estado final de cada uno durante el análisis. De los nueve marcadores planificados, seis fueron analizados exitosamente, mientras que uno fue descartado y tres quedaron pendientes de análisis. El marcador PtTx3107 fue clasificado como *Descartado* debido a que no produjo señales claras ni consistentes en los electroferogramas, lo que impidió su correcta interpretación. Por otra parte, los marcadores PtTx2123, PtTx4092 y PtTx2128 fueron catalogados como *Pendiente*, ya que no pudieron ser enviados a secuenciación por limitaciones de tiempo durante la fase final del estudio embargo,. Finalmente, los cinco marcadores etiquetados como *Utilizado* fueron procesados completamente y se emplearon en los análisis de diversidad y estructura genética.

C. Diversidad genética en poblaciones

En el Cuadro 6 se presenta el promedio de los parámetros genéticos para las cuatro poblaciones de *Pinus maximinoi* (HM, HU, QC y QS). Los valores incluyen el tamaño de muestra (N), el número promedio de alelos por locus (Na), el número efectivo de alelos (Ne), el índice de información genética (I), la heterocigosidad observada (Ho), la heterocigosidad esperada (He), la heterocigosidad esperada no sesgada (uHe) y el coeficiente de fijación (F).

Cuadro 6. Parámetros promedio de diversidad genética estimados para las poblaciones de *Pinus maximinoi* en Guatemala

Población	N	Na	Ne	I	Ho	He	uHe	F
HM	8.800	7.400	5.379	1.798	0.457	0.798	0.848	0.426
HU	7.600	6.200	5.001	1.637	0.240	0.756	0.812	0.647
QC	7.600	6.000	4.962	1.662	0.370	0.786	0.845	0.521
QS	9.000	7.000	5.501	1.788	0.334	0.802	0.850	0.568
Media	8.250	6.650	5.210	1.721	0.3502	0.7855	0.8387	0.5405

El número promedio de alelos por locus (N_a) varió entre 6.0 y 7.4 por lo que la cantidad de variantes de alelos fue moderada, siendo mayor en la población HM ($N_a = 7.4$), y menor en la población ($N_a = 6.000$). Por su parte, el número efectivo de alelos (N_e) se encontró entre 4.96 y 5.50, donde la población QS presentó un mayor número de alelos efectivos ($N_e = 5.501$), mientras que la población QC contó con la menor cantidad ($N_e = 4.962$). Además, se observó que el número de alelos fue mayor que el número efectivo de alelos en las cuatro poblaciones.

El índice de información genética (I), osciló entre 1.637 y 1.798, con el valor más alto en HM, lo que sugiere una mayor diversidad genética en esta población y la población HU con la menor diversidad genética, sin embargo, este valor fue similar en las cuatro poblaciones con valores relativamente bajos. En cuanto a la heterocigosidad observada (H_o) en todos los casos fue menor que la heterocigosidad esperada (H_e), lo que indica un déficit de heterocigotos. Los valores de H_o se encontraban entre 0.240 y 0.457, mientras que los de H_e entre 0.756 y 0.802. y la diferencia entre ambos fue estadísticamente significativa ($t = 6.986$; $p = 0.0011$).

La heterocigosidad esperada no sesgada (uH_e) va de 0.812 a 0.850, manteniendo el mismo patrón que H_e . Por último, el índice de fijación (F), varió entre 0.426 y 0.647, donde el valor más alto se registró en la población HU ($F = 0.647$), indicando un exceso de homocigotos y mayor endogamia en comparación con las demás poblaciones, mientras que el valor más bajo se encontró en la población HM ($F = 0.426$).

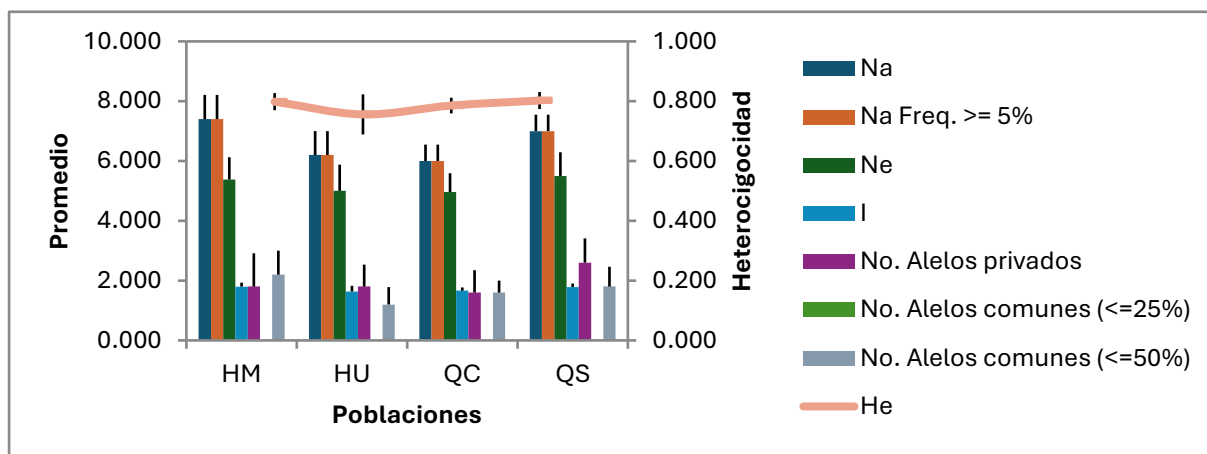


Figura 5. Comparación de los parámetros de diversidad genética entre las poblaciones de *Pinus maximinoi* en Guatemala

La Figura 5 complementa la información del Cuadro 6, de manera que se muestran de forma comparativa los valores promedio de los parámetros genéticos obtenidos para las cuatro poblaciones de *Pinus maximinoi*. En el gráfico se observa una variación moderada entre poblaciones en la mayoría de los parámetros evaluados. Se observa una tendencia general donde las poblaciones HM y QS presentan valores más altos de riqueza y diversidad genética, mientras que la población HU muestra valores más bajos.

Además de los índices generales, la figura presenta diferencias en el número de alelos privados y proporción de alelos comunes entre poblaciones. Las poblaciones HM y QS presentaron un mayor número de alelos privados, lo que indica la existencia de variantes genéticas que no se encuentran en las demás poblaciones. Por el contrario, HU y QC mostraron una menor cantidad de alelos privados y una mayor proporción de alelos comunes.

Las poblaciones que presentan una mayor cantidad de alelos privados también presentan valores más altos en el número de alelos (Na) y número efectivo de alelos (Ne), lo que representa una mayor variabilidad genética dentro de la población.

Además, la heterocigosidad esperada (H_e), se mantuvo constante entre las poblaciones, mientras que la heterocigosidad observada (H_o) fue menor, indicando un déficit de heterocigotos en las cuatro poblaciones.

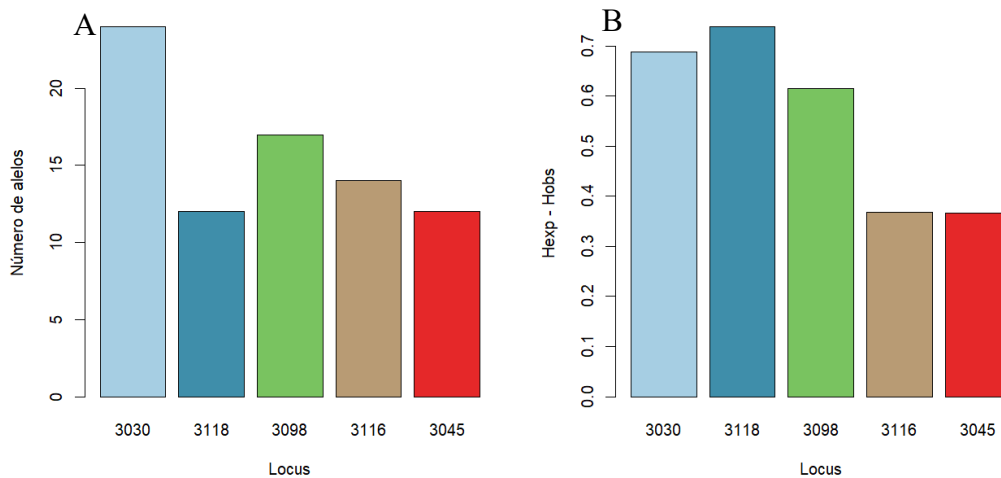


Figura 6. Número de alelos por locus (A) y diferencia entre la heterocigosidad esperada y observada (B)

La Figura 6 muestra la variación en el número de alelos por locus (A) y la diferencia entre la heterocigosidad esperada y observada (B) para los cinco loci analizados en *Pinus maximinoi*. En el primer gráfico se observa que el marcador 3030 presentó mayor número de alelos, seguido de 3098, mientras que los marcadores 3118 y 3045 registraron menores cantidades. Estos resultados reflejan una variabilidad alélica diferente entre los marcadores empleados, indicando que algunos loci aportaron mayor información genética que otros.

En el segundo gráfico (B) se muestra la diferencia entre la heterocigosidad esperada (H_e) y la observada (H_o). Los loci 3118 y 3030 presentaron las mayores diferencias, lo que significa que existe un déficit más grande de heterocigotos en estos marcadores. Por otro lado, los loci 3116 y 3045 presentaron menores diferencias entre H_e y H_o , por

lo que existe una mayor cercanía al equilibrio de Hardy–Weinberg. De acuerdo con la prueba t pareada, la diferencia promedio entre H_e y H_o fue significativa ($p = 0.0011$), lo que confirmó una desviación general respecto al equilibrio esperado en las poblaciones analizadas.

D. Estructura genética entre poblaciones

Cuadro 7. Valores de diferenciación genética (F_{st}) entre poblaciones de *Pinus maximinoi* en Guatemala

		HM	HU	QC
La tabla de diferenciación	HU	0.1091		
	QC	0.0873	0.113	
	QS	0.0948	0.0964	0.0928

genética en las poblaciones de *Pinus maximinoi* (Cuadro 7), presenta valores de F_{ST} que se encuentran entre 0.087 y 0.113, lo que indica una diferenciación genética baja a moderada entre las cuatro poblaciones analizadas. El valor más alto se encuentra entre las poblaciones HU y QC, representando una mayor diferenciación genética entre estas. Mientras que las poblaciones QC y QS mostraron el valor más bajo de F_{st} , por lo tanto, estas dos son las más similares genéticamente. En general, los valores de F_{st} fueron bajos a moderados, lo que sugiere que las poblaciones mantienen intercambio genético, pero también existe aislamiento parcial que influye en estos resultados.

Cuadro 8. Coeficientes de fijación (Fis, Fit y Fst) por locus en *Pinus maximinoi*

Locus	Fis	Fit	Fst
PtTx3030	0.727	0.758	0.114
PtTx3118	0.775	0.794	0.082
PtTx3098	0.640	0.661	0.059
PtTx3116	0.288	0.315	0.038
PtTx3045	0.266	0.326	0.082

En el Cuadro 8 se presentan los valores de coeficiente de fijación dentro de las poblaciones (Fis), entre poblaciones (Fit) y el coeficiente de diferenciación genética (Fst) calculados para cada locus analizado en *Pinus maximinoi*. Los valores de Fis variaron entre 0.266 y 0.775, siendo el marcador 3045 (Fis = 0.266) el más bajo, reflejando una mayor cantidad de heterocigotos dentro de las poblaciones, mientras que el valor más alto fue el marcador 3118 (Fis = 0.775), lo que indica un déficit de heterocigotos. El coeficiente Fit, varió entre 0.315 y 0.794, siendo el marcador 3118 (Fit = 0.794) el que presenta un mayor déficit de heterocigotos, mientras que el 3116 (Fit = 0.315) presenta mayor cercanía al equilibrio de Hardy–Weinberg. Por su parte, el coeficiente Fst, osciló entre 0.038 y 0.114, dónde el marcador 3030 presentó el valor más alto (Fst = 0.114), reflejando una mayor diferenciación genética entre las poblaciones, mientras que el marcador 3116 presentó el valor más bajo (Fst = 0.038), lo que representa una mayor similitud genética entre las poblaciones con este marcador.

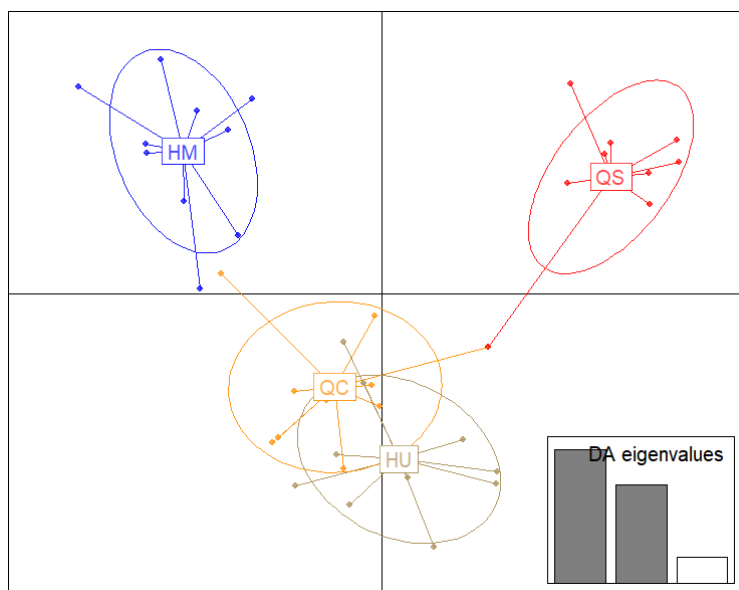


Figura 7. Análisis discriminante de componentes principales (DAPC) de las poblaciones de *Pinus maximinoi* en Guatemala

La Figura 7 muestra la distribución de los individuos de las poblaciones HM, HU, QC y QS de *Pinus maximinoi* obtenida mediante el análisis discriminante de componentes principales (DAPC). Se observó una clara separación entre las poblaciones HM y QS, mientras que las poblaciones QC y HU se agruparon parcialmente, mostrando superposición entre ellas. La distancia entre los grupos refleja el grado de diferenciación genética entre poblaciones, por lo que HM y QS son los dos grupos con más diferenciación genética entre ellos y con los demás, mientras que HU y QC presentaron cierta similitud genética.

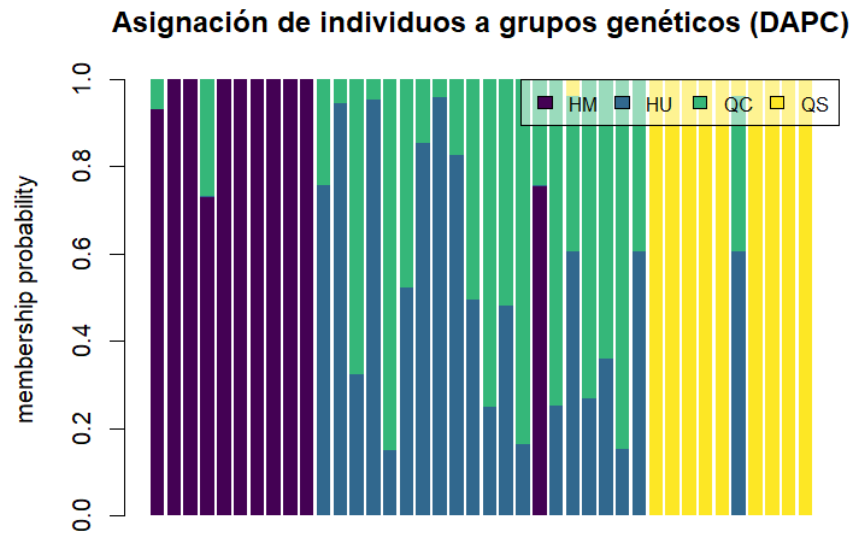


Figura 8. Gráfico de estructura poblacional de *Pinus maximinoi*

El gráfico de estructura poblacional (Figura 8) refleja una asignación clara de los individuos pertenecientes a HM y QS, donde la mayoría de las barras presentan probabilidad de pertenencia cercana a 1.0. Esto indica que los individuos se relacionan fuertemente a la población asignada. Por otro lado, las poblaciones HU y QC muestran una mayor mezcla, lo que refleja una menor diferenciación y posible interacción lo que lleva a que exista flujo genético entre ambas.

E. Efecto de la distancia geográfica en la genética.

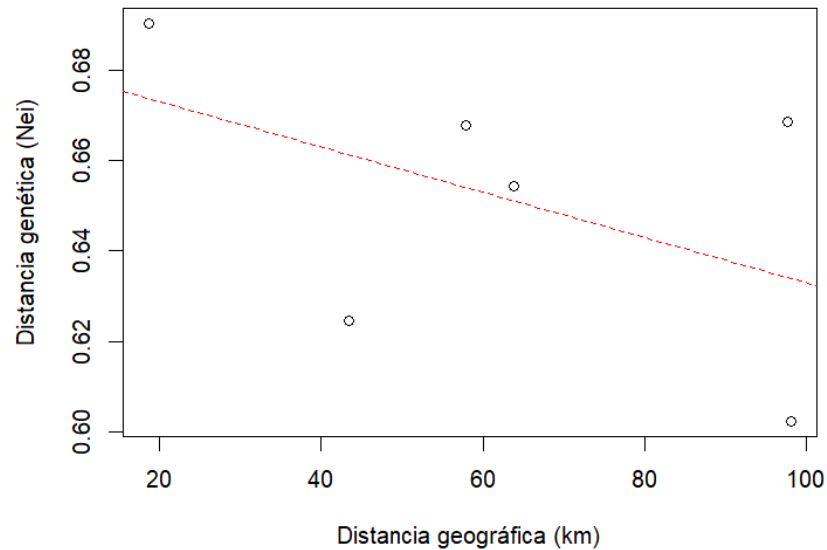


Figura 9. Relación entre la distancia genética y la distancia geográfica (en km) para las poblaciones de *Pinus maximinoi*

La Figura 9 muestra la relación entre la distancia genética y la distancia geográfica entre las poblaciones de *Pinus maximinoi*. En la gráfica se observa una tendencia negativa débil entre ambas variables, que se ve representada por la línea de regresión discontinua, lo que indica que la distancia genética disminuyó ligeramente conforme aumentó la distancia geográfica. Sin embargo, a partir de la prueba de Mantel se obtuvo un coeficiente de correlación de $r = -0.48$ y un valor de $p = 0.9$, lo que indica una relación inversa, pero sin efecto estadísticamente significativo. Esto sugiere que la distancia geográfica no explica las diferencias genéticas.

VII. DISCUSIÓN

A. Desempeño de microsatélites

Los marcadores microsatélites empleados en este estudio fueron originalmente desarrollados por Williams (2001) para *Pinus taeda*, una especie filogenéticamente cercana a *Pinus maximinoi*. A pesar de no haber sido diseñados específicamente para esta especie, los resultados obtenidos demostraron un desempeño adecuado en la amplificación, detección y análisis de fragmentos, lo cual confirma su capacidad de transferencia interespecífica. De los nueve marcadores evaluados, cinco generaron perfiles claros y consistentemente interpretables, lo que permitió su utilización en los análisis de diversidad y estructura genética.

Este resultado es relevante desde la perspectiva metodológica, ya que evidencia que los microsatélites desarrollados para *P. taeda* pueden ser utilizados con éxito en *P. maximinoi*, representando una alternativa eficiente frente a la falta de marcadores específicos para especies tropicales del género *Pinus*. Asimismo, el desempeño satisfactorio de estos marcadores constituye un aporte de valor para futuras investigaciones, ya que proporciona una referencia sobre cuáles loci son funcionales, cuáles requieren optimización adicional y cuáles deben descartarse debido a problemas de amplificación o resolución en electroferogramas.

B. Diversidad genética

Los resultados obtenidos muestran una diversidad genética moderada en las poblaciones de *Pinus maximinoi* analizadas en la región noroccidental de Guatemala, con valores promedio de heterocigosidad esperada ($H_e = 0.72$) y número efectivo de alelos ($N_e = 5.21$). Estos valores muestran una variabilidad genética moderada a alta dentro de las poblaciones, lo cual es positivo para la adaptación y supervivencia de la especie. Por su parte, el índice de Shannon ($I = 1.72$) indicó una diversidad genética moderada, por lo que es importante conservar la variabilidad existente. El número

promedio de alelos por locus ($N_a = 6.65$) muestra una buena riqueza alélica, mientras que el número efectivo ($N_e = 5.21$) de alelos refleja que hubo pérdida moderada de alelos efectivos respecto al número de alelos.

Por otro lado, la heterocigosidad observada ($H_o = 0.35$) fue menor que la esperada, lo cual concuerda con el coeficiente de fijación ($F = 0.54$). Esto indica que existe déficit de heterocigotos y una desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg. Una reducción en la heterocigosidad y aumento de la endogamia puede ser consecuencia de la pérdida de variación genética causada por deriva genética, y puede generar efectos de depresión por endogamia, reduciendo la capacidad de adaptación en las poblaciones (Kanaka *et al.*, 2023). Este patrón también podría estar influenciado por el diseño de muestreo, ya que en algunos sitios fue necesario coleccionar individuos cercanos entre sí, lo que incrementa la probabilidad de muestrear individuos emparentados y puede contribuir a la disminución de la heterocigosidad observada. Asimismo, estas poblaciones corresponden a parches de bosque aislado, donde la baja conectividad entre individuos limita el flujo genético con otros grupos. La combinación de una alta heterocigosidad esperada (H_e) y un coeficiente de fijación elevado (F) indica que, si bien la diversidad genética potencial es alta, existen indicios de una potencial pérdida de diversidad (Wilson & Poissant, 2016).

Este contraste de resultados podría atribuirse a procesos de hibridación, ya que, aunque las poblaciones analizadas parecen presentar cierto grado de aislamiento y endogamia, la hibridación entre especies cercanas de pinos puede incrementar la diversidad genética, probablemente la hibridación se puede dar con *P. oocarpa* o *P. montezumae*, ya que generalmente se encuentran en la misma área. Este fenómeno favorece la introgresión de alelos y puede aumentar los niveles de variabilidad en las poblaciones híbridas en comparación con sus parentales, lo cual contribuye al mantenimiento del potencial adaptativo de las especies (Ortiz-Martínez *et al.*, 2024). No obstante, también debe considerarse que los individuos analizados se encontraban muy próximos entre sí, por lo que existe la posibilidad de que algunos individuos estuvieran emparentados. Este factor podría haber incrementado los niveles de

endogamia observados, reduciendo parcialmente la heterocigosidad dentro de las poblaciones (Harris & DeGiorgio, 2017).

Hasta el momento, solo se ha realizado un estudio en Guatemala que emplea microsatélites en *P. maximinoi* (Barrios & Ortega, 2021). En este, los autores reportaron valores de diversidad mucho más bajos ($I = 0.31\text{--}0.34$), posiblemente debido al reducido número de individuos analizados y a la limitada cantidad de loci empleados. Además, no se estimaron otros parámetros genéticos que permitieran hacer comparaciones más completas. En contraste, el presente estudio incluye más loci, una técnica más reciente que permite una selección de bandas más exacta y una muestra representativa de poblaciones naturales y cultivadas, revelando una diversidad genética superior, posiblemente debido a la mayor resolución de los microsatélites utilizados y a un mayor número de muestras analizadas.

Asimismo, estudios anteriores utilizando aloenzimas y RAPDs (Dvorak *et al.*, 2003) indicaron que *P. maximinoi* fue polimórfico en 22 de 25 loci, con un promedio de 2.86 alelos por locus, aunque con menor heterocigosidad que la observada en este estudio. Estas diferencias pueden atribuirse a la menor resolución de esos marcadores, lo que resalta la ventaja de los microsatélites para detectar variación genética con mayor precisión dentro de la especie, además del método de electroforesis capilar que permite una mejor detección del tamaño del fragmento.

En el contexto del género, los valores obtenidos para *P. maximinoi* se encuentran dentro del rango reportado para otras especies mesoamericanas, aunque son menos diversas que las especies con mayor variabilidad genética. *Pinus oocarpa*, por ejemplo, presentó valores de $H_e = 0.71$, $H_o = 0.61$, $I = 1.62$ y $F = 0.14$, indicando una diversidad genética alta y baja endogamia (Vallejo *et al.*, 2024). La mayor heterocigosidad observada en esta especie podría explicarse por su amplia distribución geográfica y mayor conectividad genética entre poblaciones, que facilitan el intercambio de alelos (Vallejo *et al.*, 2024).

Por otro lado, *P. tecunumanii* mostró los valores más altos de diversidad genética entre los pinos tropicales, con H_e entre 0.775 y 0.841 y F_{is} entre 0.705 y 0.780, reflejando una alta diversidad, pero con presencia de endogamia, atribuida a la fragmentación y reducción de sus poblaciones naturales en Nicaragua (Tijerino & Korpelainen, 2014). En comparación, *P. maximinoi* mantiene una heterocigosidad esperada similar, aunque con un mayor coeficiente de fijación, lo cual podría deberse a la fragmentación en su hábitat.

C. Comparación entre poblaciones

Las poblaciones (HM, HU, QC y QS) mostraron diferencias leves en los parámetros de diversidad genética (Cuadro 6; Figura 5). En general, la población QC mostró valores ligeramente mayores en número promedio de alelos ($N_a = 9.0$) y de heterocigosidad esperada ($H_e = 0.802$). Este resultado podría asociarse con el manejo histórico del área, ya que QS corresponde a una zona que anteriormente fue utilizada para manejo y aprovechamiento forestal. Esto pudo haber favorecido el aumento de la diversidad genética, ya que, prácticas de manejo sostenibles como la mezcla de fuentes genéticas contribuyen al mantenimiento de la diversidad genética (Aravanopoulos, 2018). De igual forma, el uso de un mayor número de árboles madre para la producción de material reproductivo forestal puede incrementar la diversidad genética y reducir la homocigosidad de las poblaciones. En conjunto, estos procesos podrían explicar los valores más altos de diversidad genética observados en la población QS, donde el manejo forestal histórico y la dinámica natural pudieron haber favorecido el mantenimiento de la diversidad genética (Aravanopoulos, 2018).

A diferencia de esto, la población HU presentó los valores más bajos de diversidad genética y el coeficiente de fijación más alto (Cuadro 6; Figura 5), indicando un déficit de heterocigotos. Este patrón puede estar relacionado con la ubicación geográfica de HU, la cual se encuentra aislada del resto de poblaciones por la Sierra de los Cuchumatanes, que es una barrera montañosa que puede limitar el flujo genético con las demás poblaciones. En contraste, las poblaciones de Quiché se encuentran a menor distancia entre sí y en áreas con una topografía menos variable, lo que puede

facilitar el transporte y dispersión del polen por el viento. En especies del género *Pinus*, el polen es capaz de desplazarse varios kilómetros y mantener su viabilidad, lo que favorece el intercambio genético entre poblaciones cercanas (Williams, 2010).

El número de alelos privados (Figura 4) mostró que HM y QS presentaron mayor cantidad de alelos exclusivos, indicando que estas presentan alelos que no comparten con las otras poblaciones. En el caso de HM, podría deberse a la separación geográfica de la población, mientras que en QS podría ser causado por la incorporación de material genético de diferente procedencia durante procesos de reforestación o la selección artificial provocada por el manejo forestal (Aravanopoulos, 2018).

El análisis discriminante de componentes principales (DAPC; Figura 7) y el gráfico de estructura poblacional (Figura 7) mostraron leve estructuración genética entre las cuatro poblaciones. Las poblaciones de Huehuetenango (HM y HU) se diferenciaron ligeramente, lo que coincide con la presencia de la Sierra de los Cuchumatanes, que actúa como barrera geográfica y podría limitar el flujo genético, mientras que QC y QS se mostraron genéticamente más cercanas, que concuerda con su cercanía geográfica y la posible conectividad entre ellas. Además, se observó cierto solapamiento entre los grupos QC y HM, lo que resulta llamativo, ya que pertenecen a departamentos distintos, sin embargo, esta separación en DAPC no refleja una diferencia genética considerable, ya que los resultados de la prueba de Mantel y los valores de F_{st} confirman que la diferenciación genética entre poblaciones es muy baja.

Los bajos valores de diferenciación (Cuadro 7) y la estructura genética débil (Figura 7; Figura 8), muestran alta similitud en los grupos. Este patrón es común en las especies de coníferas, y sugiere que puede estar relacionado con que existe flujo genético entre las poblaciones o que el flujo histórico ha sido suficiente para mantener una base genética similar (Tong *et al.*, 2020). En este contexto, los resultados sugieren que, aunque se observa cierto grado de aislamiento reflejado en la presencia de alelos privados, las poblaciones de *Pinus maximinoi* mantienen conectividad, probablemente

favorecida por la dispersión anemófila del polen y las semillas, características del género *Pinus* (Tong *et al.*, 2020).

La prueba de Mantel no mostró una correlación significativa ($r = -0.47$; $p = 0.9$) entre la distancia genética y la distancia geográfica. En la gráfica de aislamiento por distancia (Figura 9) se observa una dispersión aleatoria de los puntos, sin una tendencia clara, lo que indica que no hay relación entre ambas variables. Esta ausencia de aislamiento por distancia puede indicar que el flujo genético es tan amplio y efectivo que impide que la variación genética se estructure geográficamente, resultando en una similitud genética general en todo su rango (Lapin *et al.*, 2025). Sin embargo, también debe considerarse que el área muestreada en este estudio es relativamente pequeña, por lo que la falta de correlación podría deberse al área geográfica limitada del muestreo más que un flujo génico extenso entre poblaciones, debido a que, en áreas geográficas reducidas, las poblaciones suelen presentar una menor diferenciación genética porque las distancias entre ellas no son lo suficientemente grandes como para limitar el intercambio de genes (Ibrahim *et al.* 2023).

D. Implicaciones

Este estudio representa uno de los primeros esfuerzos en Guatemala por caracterizar la diversidad genética de *Pinus maximinoi* por medio de marcadores microsatélites y electroforesis capilar, brindando nueva información sobre el estado genético de la especie, así como métodos efectivos para la extracción y amplificación de ADN y un conjunto de marcadores que pueden emplearse en futuras investigaciones con esta especie. La ausencia de datos sobre la variabilidad genética de esta especie limitaba el conocimiento de su estado genético y las estrategias de manejo forestal adecuadas. Por lo tanto, los resultados aquí obtenidos brindan un aporte para la conservación y el aprovechamiento sostenible de *P. maximinoi* en el noroccidente de Guatemala.

Los resultados indican que, en general, las poblaciones analizadas mantienen una diversidad genética moderada, lo cual es positivo, ya que sugiere que las

poblaciones aún conservan una buena base genética para responder a presiones ambientales y procesos evolutivos. Estos resultados son necesarios considerando la importancia económica y ecológica de la especie, y demuestra que, a pesar de las amenazas como los incendios y enfermedades, las poblaciones no han alcanzado niveles críticos de pérdida genética.

Sin embargo, las áreas muestreadas presentan signos de degradación forestal, fragmentación y aislamiento, lo que podría estar promoviendo una reducción progresiva de la diversidad genética. Este contexto se ve reforzado por los patrones de deforestación a nivel departamental, ya que Quiché ocupa el cuarto lugar y Huehuetenango el quinto a nivel nacional en pérdida de cobertura forestal (Global Forest Watch, s. f.). La baja heterocigosidad observada y el alto coeficiente de fijación refuerzan esta idea, ya que indican un posible aumento de la endogamia y una menor proporción de individuos heterocigotos en comparación con lo esperado bajo el equilibrio de Hardy–Weinberg. Este patrón puede interpretarse como una señal temprana de un proceso de erosión genética, el cual podría acelerarse si las prácticas de manejo y reforestación no priorizan la diversidad genética en la selección del material reproductivo.

Por lo tanto, se recomienda la implementación de prácticas de manejo forestal orientadas al mantenimiento de la diversidad genética, priorizando aquellas de carácter preventivo y de mayor urgencia ecológica. En primer lugar, es fundamental favorecer la regeneración natural, así como la restauración del paisaje y la creación de corredores biológicos y “piedras de paso” (*stepping stones*), ya que estas estrategias permiten reducir el aislamiento entre fragmentos forestales, facilitar el flujo génico entre poblaciones y mantener la variabilidad genética necesaria para la adaptación a cambios ambientales (Lapin *et al.*, 2025).

En segundo lugar, se recomienda evitar la tala selectiva intensiva y aplicar criterios genéticos en los planes de aprovechamiento forestal, asegurando la conservación de individuos reproductivamente viables y genéticamente diversos, con

el fin de minimizar la pérdida de alelos y el aumento de la endogamia en las poblaciones remanentes (Lapin *et al.*, 2025).

Como medidas complementarias, se sugiere el establecimiento de huertos semilleros y bancos de semillas, los cuales permiten resguardar la variabilidad genética existente y asegurar la disponibilidad de material reproductivo diverso para programas de reforestación y restauración (Lapin *et al.*, 2025).

Finalmente, el rescate genético (genetic rescue) puede considerarse como una estrategia de último recurso, consistente en la introducción controlada de individuos provenientes de otras poblaciones para incrementar la diversidad genética y contrarrestar los efectos de la endogamia y la deriva genética, particularmente en poblaciones pequeñas o altamente aisladas (Lapin *et al.*, 2025).

De igual forma, las prácticas silvícolas sostenibles tienen relevancia en la conservación genética. El manejo debe promover la regeneración natural, evitando la tala selectiva que reduzca el tamaño efectivo poblacional o que favorezca la pérdida de alelos raros. Debe evitarse la eliminación de individuos con características genéticas valiosas por medio de la aplicación de criterios genéticos en la planificación del aprovechamiento forestal (Gallo *et al.*, 2009). Asimismo, el establecimiento de huertos semilleros de conservación permite mantener una alta diversidad genética y producir material reproductivo, mientras que la implementación de bancos de genes mediante el almacenamiento de semillas asegura la preservación de recursos genéticos ante eventos catastróficos o pérdida de hábitats (Gallo *et al.*, 2009).

La importancia de la implementación de estas estrategias resalta en el contexto de cambio climático, fragmentación y degradación del hábitat. Por lo tanto, pueden ser aplicadas de manera preventiva para fortalecer la resiliencia genética de *Pinus maximinoi*.

E. Limitaciones del estudio

Estos resultados dan un indicio del patrón genético de *Pinus maximinoi* en Guatemala y abren el camino para futuras investigaciones que busquen evaluar de forma más completa el estado genético de la especie en el país. Sin embargo, es importante considerar los factores que pudieron haber limitado los resultados obtenidos. Entre ellos se encuentra el número de muestras analizadas, que fue de 40 individuos por grupo múltiplex, y la cantidad limitada de marcadores, lo cual se debió principalmente a la falta de tiempo. Además, el área geográfica muestreada no representa la totalidad de Guatemala ni completamente la región noroccidente, ya que el trabajo de campo se realizó en una única salida en la que se debía completar la colecta en los cuatro sitios de muestreo. Esto se relaciona también con la disponibilidad de personal, pues solo se contó con un escalador, lo que restringió la posibilidad de coleccionar todos los individuos planeados con la separación ideal. En varios casos, fue necesario recolectar pinos muy cercanos entre sí para reducir el número de ascensos y optimizar el tiempo en campo.

Otro aspecto relevante es que no fue posible distinguir entre individuos silvestres y aquellos con características fenotípicas superiores, ya que muchos árboles no estaban marcados y no se disponía del tiempo suficiente para caracterizarlos. Por esta razón, no se tiene certeza de cuáles de los individuos incluidos en las muestras corresponden a los árboles seleccionados por sus características deseables.

Por lo tanto, se recomienda continuar con esta línea de investigación mediante muestreos que abarquen un área geográfica más amplia y un número mayor de individuos, con el fin de representar de manera más precisa el estado genético de *P. maximinoi* en las distintas regiones del país. Asimismo, se sugiere realizar colectas con una mayor distancia entre los árboles muestreados dentro de cada población, para obtener resultados más robustos. También es importante caracterizar y marcar los individuos con características fenotípicas superiores, de modo que puedan compararse adecuadamente con los individuos silvestres. Finalmente, sería valioso evaluar la

posible presencia de individuos híbridos, ya que esto podría ayudar a explicar con mayor claridad los patrones genéticos observados en este estudio.

VIII. CONCLUSIONES

El análisis genético realizado en cuatro poblaciones de *Pinus maximinoi* mostró niveles moderados de diversidad genética. Esto indica que la especie mantiene un buen acervo genético en la región. Sin embargo, presenta indicios de endogamia, que refleja una posible señal temprana de erosión genética.

Las poblaciones evaluadas mostraron leves diferencias en sus parámetros de diversidad genética. La población QS con antecedentes de manejo forestal y aprovechamiento presentó los valores más altos de diversidad, mientras que HU mostró los valores más bajos. A pesar de esto, la estructura genética es débil y existe alta similitud entre las poblaciones, lo que indica que existe flujo genético o que el flujo histórico fue suficiente para sentar las bases genéticas actuales.

La evaluación de tres métodos de extracción de ADN reveló que el método DoyleDoyle & Doyle, 1990compartido por el Laboratorio de Protección Vegetal de la Universidad del Valle de Guatemala produjo ADN de mayor calidad y concentración, con índices de pureza adecuados. Además, se logró optimizar un protocolo de amplificación, confirmando que los microsatélites utilizados amplifican en el ADN de

Pinus maximinoi. Por lo que se generaron procedimientos que pueden ser utilizados en futuras investigaciones.

IX. RECOMENDACIONES

Se recomienda ampliar la investigación con un mayor número de muestras, evaluando otras regiones del país, evaluar individuos silvestres y de características superiores, fortalecer la conectividad entre poblaciones e implementar estrategias como criterios genéticos para el aprovechamiento, huertos semilleros de conservación y bancos de germoplasma.

X. REFERENCIAS

- Aravanopoulos, F. A. (2018). *Do silviculture and forest management affect the genetic diversity and structure of long-impacted forest tree populations?* *Forests*, 9(6), 355. <https://doi.org/10.3390/f9060355>
- Barrios de León, S. B., & Ortega España, J. M.. (2021). *Diversidad genética en bosques de pino de la microcuenca Río Punilá: base para elaborar planes de adaptación al cambio climático*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Programa Universitario de Investigación en Ciencias Básicas, Centro Universitario de Zacapa.
- Billings, R., Clarke, S., Mendoza, V. E., Cabrera, P. C., Figueroa, B. M., Campos, J. R., & Baeza, G. (2004). Bark beetle outbreaks and fire: A devastating combination for Central America's pine forests. *Unasylva*, 55, 15-21.
- Boutin-Ganache, I., Raposo, M., Raymond, M., & Deschepper, C. F. (2001). *M13-tailed primers improve the readability and usability of microsatellite analyses performed with two different allele-sizing methods*. *BioTechniques*, 31, 24–28.

- Capulín Grande, J., Mohedano Caballero, L., & Razo Zarate, R. (2010). Cambios en el suelo y vegetación de un bosque de pino afectado por incendio. *Terra Latinoamericana*, 28(1), 79-87.
- Cato, S.A., Richardson, T.E. Inter- and intraspecific polymorphism at chloroplast SSR loci and the inheritance of plastids in *Pinus radiata* D. Don. *Theoret. Appl. Genetics* 93, 587–592 (1996). <https://doi.org/10.1007/BF00417952>
- Covarrubias-Pazaran, G., Diaz-Garcia, L., Schlautman, B., Salazar, W., & Zalapa, J. (2016). *Fragman: An R package for fragment analysis*. *BMC Genetics*, 17(62), 1–8.
- Comisión Nacional Forestal. (2011). *Sire, paquetes tecnológicos, Descripción Pinus chiapensis (Martínez Andresen)*. Recuperado el 20 de agosto de 2012 de <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/956Pinus%20chiapensis.pdf>
- Culley, T. M., Stamper, T. I., Stokes, R. L., Brzyski, J. R., Hardiman, N. A., Klooster, M. R., & Merritt, B. J. (2013). An efficient technique for primer development and application that integrates fluorescent labeling and multiplex PCR. *Applications in Plant Sciences*, 1(10), 1300027. <https://doi.org/10.3732/apps.1300027>
- Danusevicius, D., Kerpauskaite, V., Kavaliauskas, D., Fussi, B., Konnert, M., & Baliuckas, V. (2016). The effect of tending and commercial thinning on the genetic diversity of Scots pine stands. *European Journal of Forest Research*, 135(6), 1159-1174. <https://doi.org/10.1007/s10342-016-1002-7>
- Díaz, V., Muñoz, 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. <https://doi.org/10.1046/j.0962-1083.2001.01390.x>
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13-15.

- Dvorak, W. S., & Donahue, J. K. (1988). *Pinus maximinoi* seed collections in Mexico and Central America.
- Dvorak, W., Hamrick, J.L., Furman, B., Hodge, G., & Jordan, A.P.. (2003). Conservation strategies for *Pinus maximinoi* based on provenance, RAPD and allozyme information. *Forest Genetics*. 9. 263-274.
- Escobar, S., & Rodríguez, D. (2019). Estado del arte en la investigación sobre calidad de planta del género *Pinus* en México. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 10(55), 4-38. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i55.558>
- Farjon, A., & Filer, D. (2013). *An Atlas of the World's Conifers: An Analysis of their Distribution, Biogeography, Diversity and Conservation Status*. BRILL.
- Global Forest Watch. (s. f.). Tablero de cambio de cobertura forestal: Guatemala. Recuperado el 20 de enero de 2026, de <https://www.globalforestwatch.org>
- Gallo, L. A., Marchelli, P., & Ripalta, A. (2009). *Knowing and doing: Research leading to action in the conservation of forest genetic diversity of Patagonian temperate forests*. In L. F. B. Silva *et al.* (Eds.), *Forest and Society – Responding to Global Drivers of Change* (pp. 891–900). International Union of Forest Research Organizations (IUFRO).
- Gomez, D. F., Sathyapala, S., & Hulcr, J. (2020). Towards Sustainable Forest Management in Central America: Review of Southern Pine Beetle (*Dendroctonus frontalis* Zimmermann)
- Harris, A. M., & DeGiorgio, M. (2017). *An unbiased estimator of gene diversity with improved variance for samples containing related and inbred individuals of any ploidy*. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 7(2), 671–691. <https://doi.org/10.1534/g3.116.037168>

- Holleley C.E. & Geerts P.G. (2009) Multiplex Manager 1.0: a crossplatform computer program that plans and optimizes multiplex PCR. *BioTechniques*, Vol 46, No 7, pp 511-517
- Jombart T, Ahmed I (2011). “adegetnet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data.” *Bioinformatics*. [doi:10.1093/bioinformatics/btr521](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr521).
- Kacker, S., *et al.* (2024). *Patterns of tree regeneration and their implications for forest dynamics*. Forest Ecology and Management. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2024.121941>
- Kanaka, K. K., Sukhija, N., Goli, R. C., Singh, S., Ganguly, I., Dixit, S. P., ... *et al.* (2023). On the concepts and measures of diversity in the genomics era. *Current Plant Biology*, 33, 100278. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2023.100278>
- Kato, M., Ito, T., Wagner, G., Richardson, C. C., & Ellenberger, T. (2003). *Modular architecture of the bacteriophage T7 primase couples RNA primer synthesis to DNA synthesis*. *Molecular Cell*, 11, 1349–1360.
- Kutil, B. L., & Williams, C. G. (2001). Triplet-repeat microsatellites shared among hard and soft pines. *The Journal of Heredity*, 92(4), 327–332. <https://doi.org/10.1093/jhered/92.4.327>
- Lapin, K., Kraigher, H., Koskela, J., *et al.* (2025). *Ecological Connectivity of Forest Ecosystems: Maintaining Genetic Diversity and Evolutionary Potential in Fragmented Landscapes*. Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-82206-3>
- Ortiz-Martínez, A., Ortiz-Martínez, C., & Delgado Valerio, P. (2024). ¿Son los híbridos de las especies de pinos contenedores de mayor diversidad genética con respecto a sus parentales? *Desde el Herbario CICY*, 16, 95–100. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. https://www.cicy.mx/sitios/desde_herbario/

- Ibrahim, A. M. L., Zango, O., Ousmane, A. R., Aberlenc, F., Chabrillange, N., Bakasso, Y., & Abba Mahmoud, O. H. (2023). *Influence of geographical isolation and anthropic activities on genetic differentiation of date palm populations in Niger*. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3218756/v1>
- Instituto Nacional de Bosques. (2019). *Paquete tecnológico forestal para pino candelillo Pinus maximinoi H.E. Moore versión 1.0* (Serie técnica DT-033-2019). Departamento de
- Martínez, B. A., & Castillo, A. P. (2001). *Pinus maximinoi H.E. Moore: Una Especie Prometedora para plantaciones forestales Comerciales en el Trópico*. *Foresta Veracruzana*, 3(2), 63-70.
- Menchú, J. D. (2013). Los materiales ceremoniales que se usan en los ritos de la espiritualidad maya de Guatemala. En B. Arroyo & L. Méndez Salinas (Eds.), *XXVI Simposio de Investigaciones Arqueológicas en Guatemala, 2012* (pp. 487-500). Museo Nacional de Arqueología y Etnología.
- Moctezuma, G., & Flores, A. (2020). Importancia económica del pino (*Pinus* spp.) como recurso natural en México. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 11(60). <https://doi.org/10.29298/rmcf.v11i60.720>
- Monge Castro, E. A. (2022). *Caracterización de la diversidad genética y botánica de pinabete (Abies guatemalensis Rehder) en dos plantaciones del occidente de Guatemala* (Tesis de licenciatura). Universidad del Valle de Guatemala, Guatemala.
- Perek, M., Hodge, G., Tambarussi, E. V., Biernaski, F. A., & Acosta, J. (2022). Predicted genetic gains for growth traits and wood resistance in *Pinus maximinoi* and *Pinus tecunumanii*. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 22, e391022213. <https://doi.org/10.1590/1984-70332022v22n2a23>

- Perry, Jr. J.P. 1991. The pines of Mexico and Central America. Timber Press Inc., Portland, Oregon, USA. 231 p.
- Rajora, O. P., Rahman, M. H., Buchert, G. P., & Dancik, B. P. (2000). Microsatellite DNA analysis of genetic effects of harvesting in old-growth eastern white pine (*Pinus strobus*) in Ontario, Canada. *Molecular Ecology*, 9(3), 339-348. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2000.00886.x>
- Richardson, D. M. (2000). *Ecology and Biogeography of Pinus*. Cambridge University Press.
- Ruiz-Peinado, R., Bravo-Oviedo, A., López-Senespleda, E., Bravo, F., & Río, M. D. (2017). Forest management and carbon sequestration in the Mediterranean region: A review. *Forest Systems*, 26(2), Article 2. <https://doi.org/10.5424/fs/2017262-11205>
- Sáenz-Romero, C., Guzmán-Reyna, R. R., & Rehfeldt, G. E. (2006). Altitudinal genetic variation among *Pinus oocarpa* populations in Michoacán, Mexico. *Forest Ecology and Management*, 229(1), 340-350. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2006.04.014>
- Sistema de Información Forestal de Guatemala (SIFGUA). (2023). *Exportaciones de Productos Forestales 2023*. Recuperado de https://www.sifgua.org.gt/SIFGUADData/PaginasEstadisticas/Comercio-exterior/Exportaciones_2023.aspx
- Smouse, P. E., Banks, S. C., and Peakall, R. (2017) Converting quadratic entropy to diversity: Both animals and alleles are diverse, but some are more diverse than others. *PLOS ONE* 12, e0185499. Freely available: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0185499>
- Stead, J. W. (1983). A Study of Variation and Taxonomy of the «*Pinus Pseudostrobus*» Complex. *The Commonwealth Forestry Review*, 62(1 (190)), 25-35.

- Tong, Y. W., Lewis, B. J., Zhou, W. M., Mao, C. R., Wang, Y., Zhou, L., Yu, D. P., Dai, L. M., & Qi, L. (2020). Genetic Diversity and Population Structure of Natural *Pinus koraiensis* Populations. *Forests*, 11(1), 39. doi:10.3390/f11010039
- Torres, I., Moreno, J. M., Morales-Molino, C., & Arianoutsou, M. (2021). Ecosystem Services Provided by Pine Forests. En G. Ne'eman & Y. Osem (Eds.), *Pines and Their Mixed Forest Ecosystems in the Mediterranean Basin* (pp. 617-629). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-63625-8_29
- Tor-ngern, P., Oren, R., Palmroth, S., Novick, K., Oishi, A., Linder, S., Ottosson-Löfvenius, M., & Näsholm, T. (2018). Water balance of pine forests: Synthesis of new and published results. *Agricultural and Forest Meteorology*, 259, 107-117. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2018.04.021>
- Tijerino, A., & Korpelainen, H. (2014). *Molecular characterization of Nicaraguan Pinus tecunumanii Schw. ex Eguiluz et Perry populations for in situ conservation*. *Trees*, 28, 1125–1133. <https://doi.org/10.1007/s00468-014-1005-2>
- van Zonneveld, M., Jarvis, A., Dvorak, W., Lema, G., & Leibing, C. (2009). Climate change impact predictions on *Pinus patula* and *Pinus tecunumanii* populations in Mexico and Central America. *Forest Ecology and Management*, 257(7), 1566-1576. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.12.027>
- Vallejo-Reyna, M. Á., Velasco-García, M. V., Aguilera-Martínez, V., Méndez-Sánchez, H., Muñoz-Gutiérrez, L., Gómez-Cárdenas, M., & Hernández-Hernández, A. (2024). *Genetic diversity and structure of higher-resin trees of Pinus oocarpa Schiede in Mexico: Implications for genetic improvement*. *Forests*, 15(12), 2250. <https://doi.org/10.3390/f15122250>
- Véliz Pérez, M. E., Barrios, A. R., & Dávila Pérez, C. V. (2007). *Actualización taxonómica de la flora de Guatemala, Capítulo 1. Pinophyta (coníferas)*. Herbario BIGU, Escuela de

Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Dirección General de Investigación (DIGI), Universidad de San Carlos de Guatemala.

Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4.

Wilson, A. J., & Poissant, J. (2016). *Quantitative genetics in natural populations*. In R. M. Kliman (Ed.), *Encyclopedia of evolutionary biology* (Vol. 3, pp. 361–370). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800049-6.00046-9>

Williams, C. (2001). Conifer microsatellite handbook. *Texas A&M University*. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/334029731_Conifer-Microsatellite-Handbook

Williams, C. (2010). *Long-distance pine pollen still germinates after meso-scale dispersal*. *American Journal of Botany*, 97(5), 846–855. <https://doi.org/10.3732/ajb.0900255>

Zhou, Y, Bui, T., Auckland, L. D., & Williams, C. G. (2002). Undermethylated DNA as a source of microsatellites from a conifer genome. *Genome*, 45(1), 91–99. <https://doi.org/10.1139/G01-119>

XI. ANEXOS

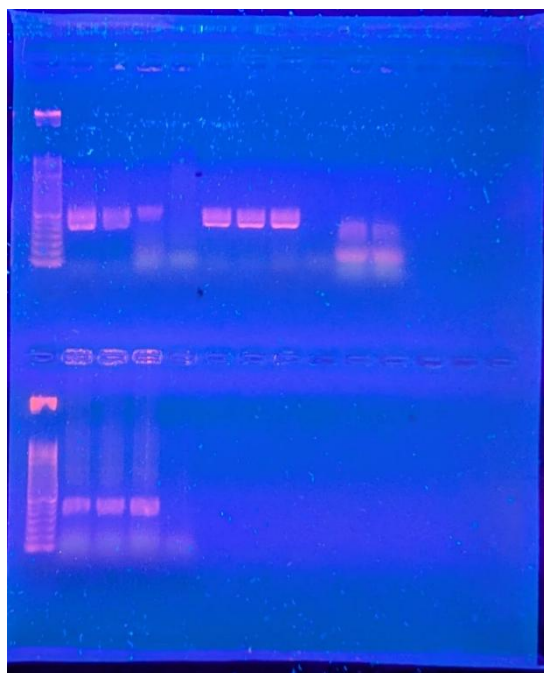
Anexo 1. Planificación de gastos para elaboración de investigación

Renglón de gasto	Solicitado al INAB	Contrapartida UVG	TOTAL
Viaje de campo			Q6,320.00
- Bolsas plásticas	Q270.00		
- Hielo seco	Q80.00		
- Transporte (6 viajes)	Q3,300.00		
- Hospedaje (6 noches)	Q720.00		
- Alimentación	Q1,200.00		
- Asistente de campo	Q750.00		
Extracción de ADN			Q18,839.00
- Nitrógeno líquido	Q210.00		
- Buffer CTAB		Q622.00	
- ddH2O	Q306.00		
- Acetato de amonio		Q250.00	
- Proteinasa-K		Q1,513.00	
- Cloroformo isoamílico		Q1,800.00	
- Fenol		Q639.00	
- Etanol absoluto		Q548.00	
- Buffer TE		Q2,000.00	
- Microtubos 1.5 (1000u)	Q861.00		
- Puntas	Q9,340.00		

- Guantes	Q750.00		
Amplificación de ADN			Q6,055.00
- Cebadores	Q2,880.00		
- Taq polimerasa	Q2,313.00		
- Agarosa		Q862.00	
Secuenciación de ADN			Q10,640.00
- Envío cebadores	Q2,000.00		
- Secuenciación	Q8,640.00		
TOTAL	Q33,620.00	Q8,234.00	Q41,854.00

Anexo 2. Cronograma de las actividades planificadas

Actividades	1	2	3	4	5	6
Pruebas de extracción de ADN						
Colecta de muestras						
Extracción de ADN						
Cuantificación de ADN						
Amplificación de ADN						
Envío para secuenciación						
Análisis estadísticos						
Informe final						



Anexo 3. Gel de agarosa 1.5% de prueba de los marcadores PtTx3118, PtTx2123, PtTx4092 y PtTx3098



Anexo 4. Foto de colecta de muestras de *Pinus maximinoi* en Quiché



Anexo 5. Proceso de extracción de ADN de muestras de *Pinus maximinoi*