

VARIACIÓN ALOENZIMÁTICA Y TAMAÑO DE POBLACIONES DE HAYA MEXICANA (*Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*) EN LA SIERRA MADRE ORIENTAL

ALLOZYME VARIATION AND POPULATION SIZE OF HAYA MEXICANA (*Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*) IN THE SIERRA MADRE ORIENTAL

Diego Montiel-Oscura¹, Carlos Ramírez-Herrera^{2*}, Gregorio Ángeles-Pérez²,
Javier López-Upton² y Pedro Antonio-López³

¹Comisión Nacional Forestal, Gerencia de Plantaciones Comerciales. Periférico Poniente # 5360. 45019, Col. San Juan de Ocotan, Zapopan, Jalisco. ²Postgrado Forestal, Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo. Km 36.5 Carr. México-Texcoco. 56230, Montecillo, Texcoco, Edo. de México. Tel. 01(595)2-02-46. ³Colegio de Postgraduados-Campus Puebla. Km 125.5 Carr. México-Puebla. 72760, Puebla, Puebla.

*Autor para correspondencia (kmcramcolpos@gmail.com)

RESUMEN

Fagus grandifolia Ehrh. subsp. *mexicana* (Martínez) E. Murray crece en poblaciones aisladas en la Sierra Madre Oriental en México. Siete poblaciones de esta especie fueron muestreadas para determinar la variación aloenzimática en yemas vegetativas. Se analizaron 10 loci en ocho sistemas enzimáticos, donde se observaron 26 alelos. El porcentaje de loci polimórficos fue 62.9 % en promedio de poblaciones. El número promedio de alelos por locus fue 1.9. La heterocigosidad esperada y observada promedio fue de 0.202 y 0.253, respectivamente. El F_{ST} de Wright (0.057) indicó una diferenciación genética moderada. El flujo génico (N_{em}) fue de 5.26 individuos por generación. Las distancias génicas de Nei variaron de 0.001 a 0.027, con un promedio de 0.012. La densidad en las poblaciones varió de 251 a 416 árboles ha⁻¹ en Agua Fría y en la cima del volcán Acatlán, respectivamente. En las siete poblaciones de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* se estimó un número total de 45 533 árboles adultos. En La Mojonera se encontró el mayor número de árboles (14 903), mientras en la cima del volcán Acatlán hubo el menor (250). No se encontró correlación entre los parámetros de diversidad genética con el tamaño y densidad de las poblaciones. La diversidad aloenzimática encontrada en las poblaciones muestreadas de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* fue moderada.

Palabras clave: *F. grandifolia* subsp. *mexicana*, heterocigosidad, electroforesis, distancias genéticas.

SUMMARY

Fagus grandifolia Ehrh. subsp. *mexicana* (Martínez) E. Murray grows in isolated populations at Sierra Madre Oriental in México. Seven populations of this species were sampled to determine alloenzymatic variation in vegetative buds. A total of ten loci were analyzed on eight enzymatic systems, and 26 alleles were observed. The percentage of polymorphic loci was 62.9 % in average among populations, and the number of alleles per locus was 1.9. Expected and observed heterozygosity were 0.202 and 0.253, respectively. Wright's F_{ST} (0.057) showed moderate genetic differentiation. The gene flow rate (N_{em}) was 5.26 individuals for generation. Nei's genetic distances ranged from 0.001 to 0.027 (average 0.012). Population density ranged from 251 to 416 trees ha⁻¹ in Agua Fría and in the summit of Acatlán Volcano, respectively. A total number of 45 533 adult trees were estimated in the seven populations of *F. grandifolia* subsp. *mexicana*. The largest number of trees (14 903) was found at La Mojonera while the shortest one (250) was found at the summit of the Acatlán Volcano. No correlation was found between parameters of genetic diversity and the size and density of popu-

lations. Allozyme variation found in the populations of *F. grandifolia* subsp. *mexicana* was moderate.

Index words: *F. grandifolia* subsp. *mexicana*, heterozygosity, electrophoresis, genetic distances.

INTRODUCCIÓN

Fagus grandifolia Ehrh. subsp. *mexicana* (Martínez) E. Murray es una especie arbórea endémica de México que solamente crece en 11 poblaciones pequeñas y aisladas en los Estados de Tamaulipas, Nuevo León, San Luis Potosí, Hidalgo, Puebla y Veracruz (Rodríguez-Ramírez *et al.*, 2013). El aprovechamiento maderable, el pastoreo excesivo y la recolección de leña y de semillas para consumo, son causas posibles que han influido en la reducción del tamaño de sus poblaciones y que la han colocado en peligro de extinción (SEMARNAT, 2010). El cambio climático puede afectar la permanencia de las poblaciones de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*, al igual que a otras especies que crecen en el bosque mesófilo (Téllez-Valdés *et al.*, 2006).

La diversidad genética es importante para que una especie se adapte a los cambios ambientales y pueda sobrevivir al ataque de plagas y enfermedades (White *et al.*, 2007). Especies con poblaciones pequeñas, como el caso de *F. grandifolia* subsp. *mexicana*, tienden a diferenciarse y suelen tener niveles bajos de diversidad genética, lo que puede acelerar su proceso de extinción (Hartl y Clark, 2007). Conocer la estructura genética de las poblaciones de árboles forestales es indispensable para entender los mecanismos evolutivos que actúan y para implementar una conservación efectiva (Slavov y Zhelev, 2004). Uno de los métodos más rápidos y baratos para cuantificar la diversidad genética dentro y entre poblaciones de especies, es el análisis de la variación aloenzimática a través de electroforesis (Freeland, 2005). Este análisis permite una evaluación de la condición de las poblaciones para la toma de decisiones sobre la manipulación y conservación de las mismas (Buth y Murphy, 1999).

En *F. grandifolia* subsp. *mexicana* se encontró una elevada diferenciación entre poblaciones mediante la técnica RAPD (Rowden *et al.*, 2004); sin embargo, se incluyó un número reducido de poblaciones por lo que es importante conocer la diversidad genética y estructura genética de un mayor número de sus poblaciones naturales y así poder proponer una estrategia de conservación de las mismas. El tamaño de las poblaciones de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* puede influir en una reducción de la diversidad genética por endogamia y disminuir la capacidad de adaptación de los individuos a los cambios ambientales, por lo que se puede acelerar su proceso de extinción. Por estas razones, en el presente estudio se plantearon los dos objetivos siguientes: (1) Cuantificar el nivel de variación aloenzimática dentro y entre siete poblaciones de *F. grandifolia* subsp. *mexicana*, y (2) Determinar la relación entre los parámetros de diversidad genética y el tamaño y densidad de las poblaciones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se recolectaron al menos 10 yemas vegetativas en la parte baja de la copa de cada árbol adulto de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* en cada una de las siete poblaciones incluidas en el presente estudio (Cuadro 1). Los árboles seleccionados estaban distribuidos en toda la población, con una distancia mínima entre árboles adultos de 30 m para evitar en lo posible recolectar yemas de árboles emparentados. Con la restricción de distancia impuesta y el tamaño reducido de algunas poblaciones, se obtuvieron muestras de 17 a 30 individuos adultos en cada población.

Las yemas de cada árbol se colocaron en bolsas de plástico, las cuales se identificaron con el nombre de la población y un número consecutivo dado a cada árbol dentro de cada población. Las bolsas se transportaron en una hielera del sitio de recolecta al laboratorio. En el laboratorio las yemas se

mantuvieron en refrigeración hasta que se utilizaron para la purificación de extractos y posterior electroforesis.

Se seleccionó al azar una yema de cada árbol, la cual se colocó en una cavidad de una caja de cultivo celular. Para moler cada yema se agregaron 1.5 mL del amortiguador de extracción el cual se elaboró con 10 g de PVP 40, 10 g de sacarosa, 0.17 g de EDTA Na₂, 0.15 g de ditioneitol, 0.02 g de ácido ascórbico, 0.05 g de NAD, 0.035 g NADP y 0.005 g fosfato-5-piodoxal, que fueron disueltos en 10 mL de 1M Tris-HCl (pH 8.0) y 90 mL de agua destilada (NFGEL, 2003). Después de macerar las yemas, la caja de cultivo celular con las muestras se colocó en un ultracongelador a -60 °C hasta su utilización en el análisis electroforético.

Análisis aloenzimático

Las muestras se descongelaron y en cada cavidad de las cajas de cultivo celular se introdujeron tiras de papel Whatman No. 5 de 12 × 1 mm (mechas). Las mechas saturadas con el sustrato se colocaron en geles de almidón a 10 %, sobre los cuales las muestras se sometieron a electroforesis.

Se analizaron ocho sistemas enzimáticos con un total de 10 loci; cuatro sistemas enzimáticos: diaforasa (DIA, E.C.1.6.99), isocitrato deshidrogenasa (IDH, E.C.1.1.1.41), malato deshidrogenasa (MDH, E.C.1.1.1.37), y 6-fosfogluconato deshidrogenasa (6-PGDH, E.C.1.1.1.44), se analizaron con amortiguador para gel y electrodo preparado con ácido cítrico 0.040 M y N-(3-aminopropil)-morfolina 0.068 M, pH 6.1 (Wendel y Weeden, 1989). Los cuatro sistemas restantes: fosfoglucoisomerasa (PGI, E.C.5.3.1.9), enzima málica (ME, E.C.1.1.1.40), peroxidasa (PRX, E.C.1.11.1.7) y leucina aminopeptidasa (LAP, E.C.3.4.11.1), se analizaron con amortiguador para gel de L-Histidina 0.005 M, pH 7.0 y amortiguador para electrodo de ácido cítrico 0.410 M, pH 7.0 (Wendel y Weeden, 1989).

Cuadro 1. Localización geográfica de las siete poblaciones estudiadas de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*.

| Población | Coordenadas geográficas | | Altitud (m) |
|---------------------------------|-------------------------|------------|-------------|
| | Latitud N | Longitud O | |
| Cráter del volcán Acatlán, Ver. | 19° 41' | 96° 51' | 1850 |
| Cima del volcán Acatlán, Ver. | 19° 41' | 96° 52' | 1910 |
| Tutotepec I, Hgo. | 20° 25' | 98° 15' | 1840 |
| Tutotepec II, Hgo. | 20° 25' | 98° 14' | 1825 |
| La Mojonera, Hgo. | 20° 37' | 98° 37' | 1820 |
| El Reparo, Hgo. | 20° 37' | 98° 35' | 1900 |
| Agua Fría, N. L. | 24° 02' | 99° 42' | 1830 |

Los loci se identificaron con la abreviatura del sistema enzimático. Cuando se encontró más de un locus en el mismo sistema enzimático, éstos se enumeraron consecutivamente a partir del locus que se desplazó más rápido. Los alelos dentro de cada locus se enumeraron en forma descendente, de acuerdo con el alelo que se desplazó a mayor distancia sobre el gel. La interpretación de los patrones de bandeo se hizo al tomar como referencia el desplazamiento de muestras de *Pinus resinosa* Aiton, especie que no tiene variación aloenzimática (Fowler y Morris, 1977).

Un locus se identificó como monomórfico cuando sólo un alelo fue detectado (Falconer, 1989). Un alelo se clasificó como raro cuando su frecuencia fue menor de 0.05, y como común cuando su frecuencia fue mayor o igual a 0.05 (Marshall y Brown, 1975). Cuando un alelo se encontró solamente en una población, éste se clasificó como privado (Neel, 1973).

Tamaño y densidad de las poblaciones

La densidad de individuos de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* de cada población se estimó con el método de cuadrante centrado en un punto (Mitchel, 2007). Los puntos de muestreo en un transepto se establecieron cada 20 m para cada población. En cada punto se trazó una línea perpendicular al transepto para formar cuatro cuadrantes. En cada cuadrante se midió la distancia del árbol de *Fagus* más cercano al punto central que tuviera un diámetro mínimo de 10 cm. La distancia entre el árbol y el punto central fue menor a 10 m para evitar que se midiera dos veces. El tamaño del transepto y el número de puntos muestreados varió proporcionalmente de acuerdo con el tamaño de la población. La densidad (D), expresada en número de árboles por hectárea, se obtuvo con la ecuación: $D = 1ha * d^2$ (Mueller-Dombois y Ellenberg, 1974), en donde d es la distancia media entre el punto de origen y cada árbol medido.

La poligonal de cada población se trazó en cartas topográficas escala 1:50000. Se realizó un recorrido en campo para ubicar los límites de cada población, con apoyo de un sistema de posicionamiento global (GPS) y así verificar su ubicación. El área delimitada en la carta topográfica se escaneó y con el programa AutoCad© se estimó el área de cada población. El tamaño de población (número de individuos) se obtuvo al multiplicar el área por la densidad promedio de cada población.

Parámetros genéticos y análisis estadístico

La variación genética dentro de poblaciones se describió con cuatro parámetros (Nei, 1978): 1) Porcentaje de loci polimórficos (P); 2) Número promedio de alelos por locus (A); 3) Heterocigosidad observada (Ho); y 4) Heterocigosi-

dad esperada (He). La estructura genética entre poblaciones se analizó mediante el F_{ST} de Wright, que mide la proporción de la diversidad genética total entre poblaciones (Wright, 1965). Las relaciones genéticas entre poblaciones se cuantificaron con las distancias genéticas de Nei (D_N) (Nei, 1978), y con éstas se construyó un dendrograma con el método UPGMA. La información se analizó con el programa de cómputo POPGENE ver. 1.31 (Yeh *et al.*, 1997). El flujo genético (N_m) entre poblaciones, medido como el número de migrantes por generación, se estimó a través de la ecuación propuesta por Slatkin (1987). Las distancias geográficas se calcularon con el programa Movable Type Scripts (Veness, 2012). La correlación entre las distancias genéticas y las distancias geográficas entre las poblaciones se estimó con la prueba de Mantel mediante el programa XLSTAT Versión 2013.4.05 (Addinsoft, 2013)

Se calcularon coeficientes de correlación entre el tamaño y densidad de población con cada uno de los parámetros de diversidad genética, con el procedimiento PROC CORR del programa estadístico SAS (SAS Institute, 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diversidad aloenzimática

En todas las poblaciones se observaron 26 alelos en los 10 loci estudiados; el locus 6-PGDH-1 fue monomórfico. El número promedio de alelos fue 19.6 (Cuadro 2). El mayor número de alelos raros se encontró en la localidad El Reparo, Hgo., mientras que el menor número fue cero y se registró en la cima del volcán Acatlán, Ver. Únicamente se encontraron alelos privados en la población localizada en Agua Fría, N. L. Algunos alelos se encontraron en pocas poblaciones, por ejemplo: el alelo 1 del locus LAP-1 y el alelo 1 del locus PGI-2 se observaron sólo en las poblaciones de Tutotepec II, Hgo. y Agua Fría, N. L.; el alelo 3 del locus ME-1 sólo se registró en Tutotepec II, Hgo. y en la población localizada en el cráter del volcán Acatlán, Ver. Lo anterior probablemente se debe a que una fuerza de selección está actuando simultáneamente en esos loci para reducir o eliminar su frecuencia alélica en las poblaciones, o bien a que los alelos son de reciente formación y no han tenido oportunidad de dispersarse e incrementar sus frecuencias (White *et al.*, 2007).

El mayor número de alelos por locus y la mayor heterocigosidad esperada se encontraron en las poblaciones de Tutotepec II, Hgo. y Agua Fría, N. L., respectivamente; los menores valores de estos dos parámetros se encontraron en la población de La Mojonera, Hgo. (Cuadro 3). La heterocigosidad observada varió de 0.203 en La Mojonera, Hgo. a 0.310 en la cima del volcán Acatlán, Ver., con un promedio de 0.253.

Cuadro 2. Clases de alelos encontrados en siete poblaciones de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*.

| Población | Número de alelos | | | |
|---------------------------------|------------------|---------|-------|----------|
| | Totales | Comunes | Raros | Privados |
| Cráter del volcán Acatlán, Ver. | 19 | 16 | 3 | 0 |
| Cima del volcán Acatlán, Ver. | 18 | 18 | 0 | 0 |
| Tutotepec I, Hgo. | 18 | 15 | 3 | 0 |
| Tutotepec II, Hgo. | 24 | 20 | 4 | 0 |
| La Mojonera, Hgo. | 17 | 15 | 2 | 0 |
| El Reparó, Hgo. | 21 | 16 | 5 | 0 |
| Agua Fría, N. L. | 20 | 18 | 2 | 2 |

Cuadro 3. Parámetros de diversidad genética (\pm error estándar) en siete poblaciones de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*.

| Población | A | P | H _o | H _e |
|---------------------------------|----------------|----|------------------|------------------|
| Cráter del volcán Acatlán, Ver. | 1.9 \pm 0.88 | 60 | 0.265 \pm 0.38 | 0.189 \pm 0.22 |
| Cima del volcán Acatlán, Ver. | 1.8 \pm 0.79 | 60 | 0.310 \pm 0.38 | 0.230 \pm 0.23 |
| Tutotepec I, Hgo. | 1.8 \pm 0.79 | 60 | 0.226 \pm 0.35 | 0.171 \pm 0.22 |
| Tutotepec II, Hgo. | 2.4 \pm 1.17 | 70 | 0.252 \pm 0.33 | 0.217 \pm 0.20 |
| La Mojonera, Hgo. | 1.7 \pm 0.82 | 50 | 0.203 \pm 0.35 | 0.168 \pm 0.25 |
| El Reparó, Hgo. | 2.1 \pm 1.10 | 60 | 0.228 \pm 0.34 | 0.200 \pm 0.22 |
| Agua Fría, N. L. | 2.0 \pm 0.67 | 80 | 0.289 \pm 0.34 | 0.237 \pm 0.19 |

A = número de alelos por locus; P = porcentaje de loci polimórficos; H_o = heterocigosidad observada; H_e = heterocigosidad esperada.

El porcentaje de loci polimórficos (P) y el número promedio de alelos por locus (A) entre poblaciones fueron 62.9 % y 1.96, respectivamente (Cuadro 3). Los valores de estos parámetros genéticos fueron moderadamente inferiores a los reportados para otras especies del género *Fagus*; por ejemplo, el porcentaje de loci polimórficos para *F. sylvatica* L. y *F. grandifolia* Ehrh, especies con amplia distribución en Europa central y Norteamérica, fue de 67 y 86 %, respectivamente (Comps *et al.*, 1990; Kitamura y Kawano, 2001). El número promedio de alelos por locus reportado en la literatura varió entre 2.17 para *F. sylvatica* y 2.93 para *F. grandifolia* (Gömöry *et al.*, 1999; Kitamura y Kawano, 2001).

El valor de heterocigosidad esperada promedio (*He*) de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* fue de 0.202, el cual fue comparable con los valores encontrados para otras especies del género *Fagus* (0.186 a 0.230) (Kitamura y Kawano, 2001; Chung *et al.*, 1998), y fue mayor que el encontrado para angiospermas (0.143) (Hamrick *et al.*, 1992). Estos valores con moderada diversidad genética interpoblacional en las poblaciones de *F. grandifolia* subsp. *mexicana*, en comparación con otras especies del mismo género, pudieron deberse al tamaño reducido de la mayoría de las poblaciones estudiadas. Especies endémicas o de distribución restringi-

da por lo general tienen menor diversidad genética a través de loci polimórficos, número de alelos por locus y heterocigosidad, que aquellas que tienen una distribución amplia (Hamrick y Godt, 1990).

Los valores de F_{ST} de Wright variaron de 0.002 para el locus 6-PGDH-2 a 0.163 para el locus IDH-1, con un promedio de 0.057 (Cuadro 4), rango que indica una diferenciación genética moderada con 5.7 % de la diversidad genética que reside entre poblaciones. Valores de F_{ST} de Wright entre 0.05 y 0.15 indican una diferenciación genética moderada (Hartl y Clark, 2007). El valor promedio de F_{ST} de Wright en el presente estudio fue menor al promedio encontrado en angiospermas ($F_{ST} = 0.102$) (Hamrick *et al.*, 1992), y está dentro del intervalo (0.014 a 0.167) reportado para otras especies del género *Fagus* (Comps *et al.*, 1990; Gömöry *et al.*, 1999; Kitamura y Kawano, 2001). Por otro lado, el valor de diferenciación genética encontrado entre las poblaciones de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* fue mucho menor al reportado por Rowden *et al.* (2004) de 0.17 para la misma especie con el uso de RAPD. La diferenciación de poblaciones por la acción de la deriva genética se puede detectar con mayor precisión mediante marcadores moleculares neutros tales como RAPD y microsatélites (Hartl y Clark, 2007).

Cuadro 4. Valores del F_{ST} de Wright para nueve loci polimórficos en siete poblaciones de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*.

| Locus | F_{ST} |
|----------|----------|
| MDH-1 | 0.039 |
| 6-PGDH-2 | 0.002 |
| DIA-1 | 0.038 |
| LAP-1 | 0.024 |
| PRX-1 | 0.014 |
| PGI-1 | 0.042 |
| PGI-2 | 0.148 |
| IDH-1 | 0.163 |
| ME-1 | 0.045 |
| Promedio | 0.057 |

Los resultados obtenidos en el presente estudio y los reportados por Rowden *et al.* (2004) en *F. grandifolia* subsp. *mexicana* siguen la misma tendencia que los reportados para *Picea abies* Karst en la estimación de diversidad genética mediante RAPDs y aloenzimas (Bucci y Menozzi, 1995; Giannini *et al.*, 1991). Sin embargo, en *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco, la diversidad genética estimada con el uso de isoenzimas y marcadores genéticos de ADN fue similar (Aagaard *et al.*, 1998).

El flujo genético estimado (Nm) entre las poblaciones de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* fue de 5.26 migrantes por generación, lo que indica una moderada diferenciación entre poblaciones. Un inmigrante cada dos generaciones es suficiente para evitar diferenciación entre poblaciones (Slatkin, 1987); sin embargo, el número de migrantes aquí encontrado puede reflejar migración ocurrida en el pasado y sobreestimar el número de migrantes en la presente generación, como se reportó para *Picea mexicana* Martínez

que crece en poblaciones pequeñas y aisladas (Ledig *et al.*, 2002).

Las distancias genéticas de Nei (D_N) variaron de 0.001 entre las poblaciones de Tutotepec I y Tutotepec II, Hgo. (localizadas a una distancia promedio de 1.7 km una de la otra) a 0.027 entre las poblaciones de la cima del volcán Acatlán, Ver. y el Reparo, Hgo. (Cuadro 5). Las poblaciones localizadas en el Estado de Hidalgo fueron más similares genéticamente entre sí, pero diferentes a las localizadas en los Estados de Nuevo León y Veracruz (Figura 1). Sin embargo, la correlación entre las distancias genéticas y distancias geográficas no fue significativa, de acuerdo con la prueba de Mantel cuyo valor fue de 0.36 ($p = 0.11$). El promedio de 0.012 de las D_N s entre las siete poblaciones analizadas fue menor que el promedio de las D_N s (0.028) observado por Kitamura y Kawano (2001) en 21 poblaciones de *F. grandifolia* que cubren una distribución natural amplia en el Este de los Estados Unidos de América y Canadá. Un valor de D_N menor de 0.018 se considera bajo, mientras que un valor de D_N mayor que 0.15 se considera alto (Nei, 1978).

Tamaño y densidad de las poblaciones

El número estimado de árboles de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* en la siete poblaciones fue 45 533. Este número fue mayor que el reportado por Williams-Linera *et al.* (2003) (7986 individuos) quienes estudiaron un menor número de poblaciones. Sin embargo, el tamaño efectivo de la población de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* puede ser menor al aquí estimado, pues en la naturaleza el tamaño efectivo de una población puede ser de únicamente 10 % del tamaño del censo de la población, debido a aspectos como la variación en el tamaño de la familia, traslape de generaciones, número diferente de descendencia y desigual proporción de machos y hembras (Frankham *et al.*, 2004).

Cuadro 5. Distancias genéticas de Nei (debajo de la diagonal) y distancias geográficas (km) entre siete poblaciones de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*.

| | CVA | CIV | TCI | TCII | LMA | ERO | AFA |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| CVA | | 1.7 | 167.4 | 165.9 | 211.6 | 208.6 | 566.0 |
| CIV | 0.022 | | 165.9 | 164.4 | 201.1 | 207.1 | 565.2 |
| TCI | 0.004 | 0.022 | | 1.7 | 44.2 | 41.2 | 428.9 |
| TCII | 0.006 | 0.018 | 0.001 | | 45.7 | 42.7 | 429.5 |
| LMA | 0.007 | 0.025 | 0.003 | 0.005 | | 3.5 | 395.9 |
| ERO | 0.012 | 0.027 | 0.003 | 0.002 | 0.008 | | 396.9 |
| AFA | 0.009 | 0.022 | 0.012 | 0.010 | 0.016 | 0.017 | |

CVA = cráter del volcán Acatlán; CIV = cima del volcán Acatlán; TCI = Tutotepec I; TCII = Tutotepec II; LMA = La Mojonera; ERO = El Reparo; AFA = Agua Fría.

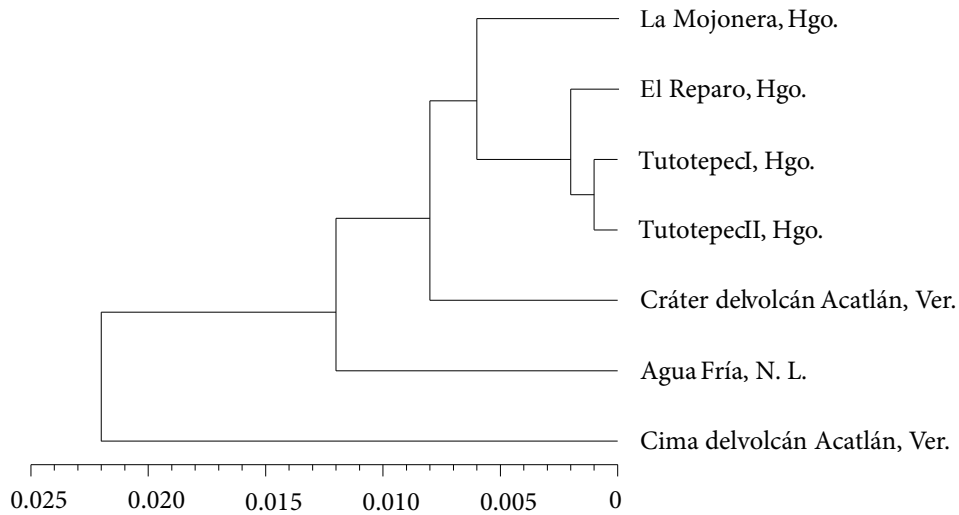


Figura 1. Dendrograma construido con el método UPGMA de las distancias genéticas de Nei entre siete poblaciones de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*.

Como consecuencia de lo antes expuesto, las dos poblaciones localizadas en el volcán Acatlán, en el Estado de Veracruz, se encuentran en un alto riesgo de extinción al contar con un tamaño efectivo de población de 25 y 183 individuos adultos que apenas representan 10 % del censo de la población (Cuadro 6). Poblaciones con un tamaño efectivo menor a 50 individuos pueden ser muy vulnerables como consecuencia de depresión endogámica, mientras que poblaciones con tamaño efectivo mayor a los 500 individuos retienen su potencial evolutivo (Frankham *et al.*, 2004).

Las correlaciones de los parámetros de diversidad genética con la densidad y el tamaño de las poblaciones de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* no fueron significativas, tal vez debido a que se encontró un nivel alto de flujo génico (5.26 migrantes por generación) que mantiene un nivel considerable de diversidad genética en todas las poblaciones, que incluyen a las poblaciones pequeñas. El flujo génico es una fuerza evolutiva que evita la acción de la deriva génica y la endogamia que reducen la diversidad genética en poblaciones pequeñas (Hartl y Clark, 2007).

Los valores encontrados de diversidad genética estimada a través del número promedio de alelos por locus, porcentaje de loci polimórficos y heterocigosidad esperada y observada, y el tamaño efectivo de las poblaciones, pueden ser suficiente para la adaptación de la especie a los cambios ambientales; sin embargo, otros factores relacionados con las actividades económicas pueden conducir a la desaparición de esta especie en un mediano plazo. Se recomienda que la conservación de las poblaciones de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* se realice en el ambiente natural donde se

han desarrollado evolutivamente (conservación *in situ*), ya que esto permitiría conservar los procesos de evolución natural, así como las interacciones con otros organismos y los procesos ecológicos en que participan (Primack, 1995).

Se sugiere enfatizar los esfuerzos de conservación en las siete poblaciones estudiadas, las cuales representan 63.6 % de las 11 poblaciones conocidas de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* en México (Rodríguez-Ramírez *et al.*, 2013). También sería conveniente considerar la conservación *ex situ* de germoplasma de cada población para garantizar la repoblación de áreas naturales donde éstas crecen, en caso de que alguna de ellas sufra los efectos de alguna catástrofe natural, como incendios, ataque de plagas o huracanes.

CONCLUSIONES

La diversidad genética y tamaño efectivo de las poblaciones que se encontraron en *F. grandifolia* subsp. *mexicana* son adecuados para la continua evolución de la especie. Las poblaciones localizadas en Agua Fría, N. L., cima del volcán Acatlán, Ver., Tutotepec II y El Reparó, Hgo. tuvieron el mayor nivel de diversidad genética, mientras que las de la Mojonera y Tutotepec I, Hgo., así como el cráter del volcán Acatlán, Ver. mostraron el menor nivel de diversidad genética. La diferenciación de las poblaciones fue moderada debido a la alta tasa de migración entre poblaciones.

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo de Investigación para la Educación SEP-CO-NACyT por el financiamiento otorgado a través del proyecto 44872, y a la Dirección de Investigación del Colegio de

Cuadro 6. Área, densidad y número de árboles adultos en siete poblaciones de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*.

| Población | Área (ha) | Densidad (árboles ha ⁻¹) | Núm. árboles |
|---------------------------------|-----------|--------------------------------------|--------------|
| Cráter del volcán Acatlán, Ver. | 4.5 | 406 | 1827 |
| Cima del volcán Acatlán, Ver. | 0.6 | 416 | 250 |
| Tutotepec I, Hgo. | 19.0 | 290 | 5508 |
| Tutotepec II, Hgo. | 31.0 | 327 | 10 130 |
| La Mojonera, Hgo. | 38.0 | 392 | 14 903 |
| El Reparó, Hgo. | 23.0 | 277 | 6377 |
| Agua Fría, N. L. | 26.0 | 251 | 6538 |

Postgraduados (COLPOS) por el financiamiento a través del Fideicomiso Revocable de Administración e Inversión No. 167304. También, se agradece a Celestino Flores, Wenceslao Santiago, Iván Zamudio y Oscar Hernández, por su ayuda en la ubicación de las poblaciones, recolecta del material vegetativo y toma de datos en campo.

BIBLIOGRAFÍA

- Aagaard J E, K V Krutovskii, S H Strauss (1998) RAPDs and allozymes exhibit similar levels of diversity and differentiation among populations and races of Douglas-fir. *Heredity* 81:69-78.
- Addinsoft (2013) XLSTAT version 2013.4.05. Microsoft Corporation. Paris, France.
- Bucci G, P Menozzi (1995) Genetic variation of RAPD markers in a *Picea abies* Karst. population. *Heredity* 75:188-197.
- Buth D G, R W Murphy (1999) The use of isozyme characters in systematic studies. *Biochem. Syst. Ecol.* 27:117-129.
- Chung H G, J M Chung, M G Chung (1998) Allozyme variation in six flowering plant species characterizing Ullung Island, Korea. *J. Japan. Bot.* 73:241-247.
- Comps B, B Thiébaud, L Paule, D Merzeau, J Letouzey (1990) Allozymic variability in beechwoods (*Fagus sylvatica* L.) over central Europe: spatial differentiation among and within populations. *Heredity* 65:407-417.
- Falconer D S (1989) Introduction to Quantitative Genetics. Wiley. New York, USA. 438 p.
- Fowler D P, R W Morris (1977) Genetic diversity in red pine: evidence for low genetic heterozygosity. *Can. J. For. Res.* 7:343-347.
- Freeland J R (2005) Molecular Ecology. John Wiley & Sons Ltd. Chichester, England. 388 p.
- Frankham R, J D Ballou, D A Briscoe (2004) A Primer of Conservation Genetics. Cambridge University Press. New York, USA. 220 p.
- Giannini R, M Morgante, G G Vendramin (1991) Allozyme variation in Italian populations of *Picea abies* (L.) Karst. *Silvae Genet.* 40:160-166.
- Gömöry D, L Paule, R Brus, P Zhelev, Z Tomović, J Gračan (1999) Genetic differentiation and phylogeny of beech on the Balkan peninsula. *J. Evol. Biol.* 12:746-754.
- Hartl D L, A G Clark (2007) Principles of Population Genetics. 4th ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, MA, USA. 652 p.
- Hamrick J L, M J W Godt (1990) Allozyme diversity in plant species. In: Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources. A H D Brown, M T Clegg, A L Kahler, B S Weir (eds). Sinauer. Sunderland, Mass. pp:43-63.
- Hamrick J L, M J W Godt, S L Sherman-Broyles (1992) Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests* 6:95-124.
- Kitamura K, S Kawano (2001) Regional differentiation in genetic components for the American beech, *Fagus grandifolia* Ehrh., in relation to geological history and mode of reproduction. *J. Plant Res.* 114:353-368.
- Ledig F T, P D Hodgskiss, V Jacob-Cervantes (2002) Genetic diversity, mating system, and conservation of a Mexican subalpine relic, *Picea mexicana* Martínez. *Conserv. Genet.* 3:113-122.
- Marshall D R, A H D Brown (1975) Optimum sampling strategies in genetic conservation. In: Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow. O H Frankel, J G Hawkes (eds). Cambridge University Press. Cambridge, UK. pp:53-80.
- Mitchel K (2007) Quantitative analysis by the point-centered quarter method. Department of Mathematics and Computer Science, Hobart and Williams Smith Colleges. Geneva, N. Y. Available online: <http://people.hws.edu/mitchell/PCQM.pdf> (April 2011).
- Mueller-Dombois D, H Ellenberg (1974) Aims and Methods of Vegetation Ecology. John Wiley and Sons. New York, USA. 547 p.
- Neel J V (1973) "Private" genetic variants and the frequency of mutation among South American Indians. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 70:3311-3315.
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590.
- NFGEL, National Forest Genetics Laboratory (2003) Standard Operating Procedures for Starch Gel Electrophoresis. USDA-Forest Service. Placerville, CA, USA. 90 p.
- Primack R B (1995) A Primer of Conservation Biology. Sinauer Associates. Sunderland, MA, USA. 277 p.
- Rodríguez-Ramírez E Ch, A Sánchez-González, G Ángeles-Pérez (2013) Current distribution and coverage of Mexican beech forests *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* in Mexico. *Endangered Species Res.* 20:205-216.
- Rowden A, A Robertson, T Allnutt, S Heredia, G Williams-Linera, A C Newton (2004) Conservation genetics of Mexican beech, *Fagus grandifolia* var. *mexicana*. *Conserv. Genet.* 5:475-484.
- SAS Institute (2001) SAS/PC System for Windows. Version 8.2. SAS Institute. Cary, NC, USA.
- SEMARNAT, Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, 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. Diario Oficial de la Federación. Jueves 30 de diciembre de 2010. Estados Unidos Mexicanos. Disponible en: <http://www.dof.gob.mx/> (Abril 2011)
- Slatkin M (1987) Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236:787-792.
- Slavov G T, P Zhelev (2004) Allozyme variation, differentiation, and inbreeding in populations of *Pinus mugo* in Bulgaria. *Can. J. For. Res.* 34:2611-2617.
- Téllez-Valdés O, P Dávila-Aranda, R Lira-Saade (2006) The effects of climate change on the long-term conservation of *Fagus grandifolia* var. *mexicana*, an important species of the Cloud Forest in Eastern Mexico. *Biodiv. Conserv.* 15:1095-1107.
- Veness C (2012) Movable Type Script. Available at: <http://www.movable-type.co.uk/scripts/latlong.html> (Agosto 2013).
- Wendel J E, N F Weeden (1989) Visualization and interpretation of plant

- isozymes. *In: Isozymes in Plant Biology*. D E Soltis, P S Soltis (eds). Dioscorides Press. Portland, Oregon. pp:5-45.
- White T L, W T Adams, D B Neale (2007)** Forest Genetics. Cabi Publishing, 1st ed.. Oxfordshire, U.K. 500 p.
- Williams-Linera G, A Rowden, A C Newton (2003)** Distribution and stand characteristics of relict populations of Mexican beech (*Fagus grandifolia* var. *mexicana*). Biol. Conserv. 109:27-36.
- Wright S (1965)** The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. Evolution 19:395-420.
- Yeh F C, R C Yang, T B J Boyle, Z H Ye, J X Mao (1997)** POPGENE, The User-Friendly Shareware for Population Genetic Analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre. University of Alberta. Canada.