



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Análisis de la diversidad genética de *Parkinsonia praecox*
(Manteco) en Colonia San Martín, Zapotitlán Salinas, Puebla.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

PRESENTA:

VERÓNICA GARCÍA GÓMEZ

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. SOFÍA SOLÓRZANO LUJANO



MÉXICO, D. F. 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DATOS DEL JURADO

1. Datos del alumno	García Gómez Verónica 55 22 92 93 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias Biología 098068788
2. Datos del tutor	Dra. Sofía Solórzano Lujano
3. Datos del sinodal 1	Dra. Alejandra Vázquez Lobo Yúren
4. Datos del sinodal 2	Dr. Jorge Eduardo Campos Contreras
5. Datos del sinodal 3	M. en C. Fabiola Ramírez Corona
6. Datos del sinodal 4	M. en C. Laura Margarita Márquez Valdelamar
7. Datos del trabajo escrito.	Análisis de la diversidad genética de <i>Parkinsonia praecox</i> (Manteco) en Colonia San Martín, Zapotilán Salinas, Puebla. 46 p 2009

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México por la oportunidad de formar parte de esta gran institución y por darme las herramientas para poder desarrollarme personal y profesionalmente.

Al Macroproyecto Manejo de Ecosistemas y Desarrollo Humano (UNAM SDEI-PTID-02), por el financiamiento otorgado para la realización de la investigación de esta tesis y por la beca otorgada durante el periodo de un año. Gracias por todo el apoyo a la Dra. Patricia Dávila, coordinadora del Macroproyecto en la FES Iztacala.

A la comunidad de Colonia San Martín que a través del Comité de Manejo Sustentable de Colonia San Martín (COMASSAM) otorgaron las facilidades necesarias para realizar el trabajo de campo de esta tesis.

A la FES Iztacala, y particularmente a la UBIPRO, porque me apoyó con toda la parte logística y administrativa necesaria para esta investigación.

A mi directora de tesis la Dra. Sofía Solórzano Lujano por todo el apoyo, la paciencia y los consejos otorgado para que este trabajo pudiera finalizar satisfactoriamente, muchas gracias.

A mis sinodales el Dr. Jorge Eduardo Campos Contreras, la M en C. Laura M. Márquez Valdelamar, la M. en C. Fabiola Ramírez Corona y a la Dra. Alejandra Vázquez Lobo Yurén por sus revisiones y aportaciones para mejorar esta tesis.

A la M en C. Laura M. Márquez Valdelamar (IB, UNAM) y al M en C. Alejandro Monsalvo Reyes (FES-I, UNAM) por el apoyo en los análisis de electroforesis de las muestras en el secuenciador.

A Arturo Ibarra, Sandra Solís y Héctor J. Tapia por su apoyo en la colecta de muestras en campo y aislamiento de ADN en laboratorio. Muchas gracias a Francisco Rivera y Carlos Rosas por sus consejos profesionales

“LA BUENA VIDA ESTA INSPIRADA POR EL AMOR Y GUIADA POR EL CONOCIMIENTO”

BERTRAND RUSSELL

Este trabajo está dedicado:

A Dios que entre más conozco sobre la vida y la naturaleza más creo en él.

A mis padres por su ejemplo de trabajo constante y su amor incondicional; a mi hermano por sus consejos, su alegría y por ser mi ejemplo de vida. Gracias por todo su apoyo que me permitió concluir esta etapa. Los admiro y amo con todo mi corazón.

A mis amigos Alma, Ariana, Bety, Bily, Daniel, Edgardo, Erik C., Eric F., Leidi, Lizeth, Lucia, Magda, Miguel, Mónica, Rafa, Tatiana, Xochi y Zaira; cada uno me ha ayudado a ser mejor persona y aunque se que probablemente las circunstancias nos lleven a distanciarnos, como ya me ha pasado con algunos, siempre les agradeceré su amistad, sus bromas que muchas veces me han hecho reír hasta llorar, las largas caminatas, el café y los consejos compartido, las reuniones, los buenos momentos durante las salidas de campo, sus palabras de aliento, su compañía en momentos difíciles y el tiempo tan placentero que hemos pasado juntos que me ha permitido descubrir que la vida es mucho mejor si se comparte con personas como ustedes. Los quiero mucho.

A Javier por su amistad, ternura y apoyo que le han devuelto la esperanza a mi corazón, gracias amor.

A la maestra María Luisa Sandoval López que en cada clase me enseñó a ser mejor estudiante y despertó en mi la pasión y el interés por la Biología, gracias a usted decidí seguir este camino.

A la memoria de Tanis que me acompañó y fue mi alegría durante 18 años. Aún te extraño.

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. PRESENTACIÓN	2
3. INTRODUCCIÓN	3
3.1. Diversidad genética	3
3.2. Cuantificación de la variación genética	6
3.3. Aplicación de los marcadores moleculares en el análisis de la diversidad genética y la conservación de especies con algún tipo de aprovechamiento	7
3.4. Importancia de <i>Parkinsonia praecox</i>	10
4. JUSTIFICACIÓN	13
5. HIPOTESIS	13
6. OBJETIVOS	13
7. METODOS	14
7.1 Sitio de Estudio	14
7.2 Sistema biológico	17
7.3 Trabajo de campo	19
7.4 Trabajo de laboratorio	20
7.5 Análisis genéticos	21
8. RESULTADOS	23
8.1 Diversidad genética	23
8.2 Estructura genética	25
8.3 Relaciones genéticas	26
9. DISCUSIÓN	28
9.1 Diversidad genética	28
9.2 Estructura genética	30
9.3 Relaciones genéticas	33
9.4 Nivel de aprovechamiento	34
10. CONCLUSIONES	36
LITERATURA CITADA	37

1. RESUMEN

Parkinsonia praecox o Manteco (Fabaceae) es una especie muy apreciada por los pobladores de las comunidades locales debido a los bienes y usos que proporciona. En México, particularmente en Zapotitlán Salinas, sus hojas, flores y frutos se utilizan principalmente como forraje, y sus troncos y ramas como leña de buena calidad. En Colonia San Martín, ubicada en Zapotitlán Salinas, *P. praecox* es utilizada como hábitat natural de las larvas de *Paradirphia fumosa* o Cuchamá, muy apreciada por su valor proteico y económico, en tanto que su leña representa en promedio el 2.35% de la recolección mensual realizada en esta comunidad. La actividad de la recolección de leña en Colonia San Martín se caracteriza por cortar y recolectar ramas secas, por lo que nunca cortan individuos completos. El objetivo de este trabajo fue analizar la diversidad y la estructura genética de *Parkinsonia praecox* en cuatro poblaciones con diferentes grados de aprovechamiento con la finalidad de conocer si este aprovechamiento tiene algún efecto sobre la diversidad genética de la especie. Se ensayaron seis regiones microsatélite de ADNcp y 10 con primers de ADNn. De este total de 16 loci, solamente seis amplificaron y cuatro fueron polimórficos, tres de ellos de ADNcp y uno de ADNn. La diversidad genética promedio encontrada con los loci de ADNcp fue de 0.28 mientras que con el locus de ADNn fue de 0.35. La diferenciación genética entre poblaciones fue de 0.59 con un flujo génico de 0.34 con los loci de ADNcp, y con el locus de ADNn fue de 0.03 con un flujo génico de 7.25. Estos resultados sugieren que la diversidad genética de *P. praecox* en las cuatro poblaciones estudiadas se explica mas satisfactoriamente por factores ecológicos y no presenta un patrón relacionado con el nivel de aprovechamiento que se realiza de esta especie en Colonia San Martín.

2. PRESENTACIÓN

El Macroproyecto Manejo de Ecosistemas y Desarrollo Humano (Macroproyecto, de aquí en adelante) es un proyecto interdisciplinario de la Universidad Nacional Autónoma de México que tiene como objetivo proponer el manejo sustentable de los ecosistemas; dicho proyecto se desarrolla en cuatro regiones del país, incluyendo la cuenca del río Zapotitlán, ubicada en el estado de Puebla (UNAM, 2007).

Las actividades de investigación en la cuenca del río Zapotitlán se llevaron a cabo en lo que políticamente corresponde al Comisariado de Bienes Comunales de Zapotitlán Salinas (Comisariado, de aquí en adelante) y donde se localizan cuatro comunidades principales: Zapotitlán Salinas, San Juan Raya, Las Ventas y Colonia San Martín (UNAM, 2007).

La información preliminar sobre los recursos biológicos aprovechados en esta cuenca permitió identificar que el aprovechamiento de la leña es un elemento fundamental para la supervivencia de las familias campesinas en las cuatro comunidades del Comisariado; debido a esto, uno de los objetivos fue identificar cuales son las principales especies que se utilizan como leña en la comunidad de Colonia San Martín (UNAM, 2007). La investigación derivada de este objetivo permitió identificar que en Colonia San Martín se emplean 25 especies distintas como leña, de las cuales, el mezquite (*Prosopis laevigata*) y el Manteco o Palo verde (*Parkinsonia praecox*) son especies que se colectan en mayor proporción y de gran importancia para la comunidad (Sánchez-Paredes, 2007).

El presente estudio forma parte del Macroproyecto y tiene como título **“Análisis de la diversidad genética de *Parkinsonia praecox* (Manteco) en Colonia San Martín, Zapotitlán Salinas, Puebla”**.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. Diversidad genética

La diversidad genética es el resultado de las diferencias que existen entre las frecuencias de cada uno de los alelos de los individuos de una especie (Neyra y Durand, 1998). Debido a lo anterior, la diversidad genética puede conceptualizarse jerárquicamente en tres niveles: la diversidad de alelos del mismo gen o locus que existen dentro de una especie, el conjunto de diferencias genéticas que caracterizan a las poblaciones de una especie y a nivel del genoma completo que caracteriza a cada una de las especies (Halffter y Ezcurra, 1992).

Para conocer y analizar la diversidad genética de las especies existe una disciplina llamada Genética de Poblaciones, la cual tiene como objetivo estudiar las características genéticas de una población, con base en la descripción de los genes que causan diferencias cualitativas entre los individuos que la integran (Molina, 1992). Esta ciencia cuantifica la variabilidad genética mediante la descripción de los cambios en las frecuencias alélicas respecto a una secuencia del genoma en particular y por lo tanto, se relaciona estrechamente con la genética evolutiva porque la evolución depende, en gran medida, de los cambios en las frecuencias génicas (De Vicente *et al*, 2004).

Los principales procesos que cambian las frecuencias alélicas de las poblaciones, son la mutación, la selección natural direccional, la migración y la deriva genética. Por su parte, la endogamia incrementa las frecuencias genotípicas de los homocigotos sin cambiar las frecuencias alélicas (Hartl y Clark, 1989).

La mutación es una fuerza evolutiva que comprende un cambio heredable en el ADN (Furnier, 2004). Toda variación genética se origina a partir de la mutación, por lo que es la fuente primaria de la evolución (Barbadilla, 2007). Las mutaciones ocurren con una frecuencia baja en las regiones codificantes, lo que la convierte en un mecanismo muy lento y una fuerza

relativamente poco importante a corto plazo, pero a largo plazo genera variación genética dentro y entre las poblaciones (Furnier, 2004).

La selección natural es una fuerza evolutiva cuyos efectos se pueden ver en la sobrevivencia y reproducción diferencial (adecuación) de los organismos (Eguiarte, 1999). Los genotipos con mayor adecuación son los que producen más prole con mayor probabilidad de alcanzar la edad reproductiva, pasando más copias de sus genes a las generaciones posteriores. Así, las frecuencias de sus alelos aumentan en la población y las de otros con menor adecuación disminuyen (Furnier, 2004). La adecuación es una medida que indica con qué eficiencia se comporta un genotipo dado en una población y cuántos hijos en promedio deja un portador de ese genotipo (Eguiarte, 1999). Por tanto, la selección natural es un proceso evolutivo y acumulativo que puede diferenciar u homogeneizar poblaciones, dependiendo de la naturaleza del ambiente; si las poblaciones se encuentran en ambientes diferentes, se diferenciarán, y si están en ambientes muy parecidos, la selección puede actuar como una fuerza homogeneizadora (Furnier, 2004).

La migración de alelos o flujo génico es un proceso genético que se refiere a todos los mecanismos que generan movimiento de genes dentro y entre poblaciones por tiempo generacional (Aguirre, 2007), y puede ocasionar la homogenización de las poblaciones (Furnier, 2004). La migración tiene dos efectos: puede aumentar la variabilidad genética existente de una población en un momento dado y al actuar la selección natural sobre esta variabilidad conducir a esta población a la adaptación; pero también pueden migrar individuos con genes adaptados a otras condiciones y en consecuencia, disminuir la adecuación promedio de la población, lo que se conoce como depresión exogámica (Eguiarte, 1999).

La deriva génica es un proceso genético que se presenta en cada generación cuando se produce un sorteo de genes durante la transmisión de gametos de los padres a los hijos (Barbadilla, 2007). Este proceso tiene dos efectos en las poblaciones, el cambio en las frecuencias alélicas debido al azar y, eventualmente, que se fije algún alelo (Eguiarte, 1999).

Debido a que la deriva génica es un proceso aleatorio, el resultado no es el mismo en cada población y así puede causar la diferenciación entre poblaciones (Barbadilla, 2007). Sin embargo, es particularmente importante en poblaciones pequeñas debido a que en este tipo de poblaciones los procesos aleatorios tienen un efecto mucho más fuerte (Furnier, 2004).

Los efectos de la deriva génica son muy evidentes en un proceso de efecto fundador. Esto ocurre cuando una nueva población se funda por pocos individuos y, debido a los procesos aleatorios, estos fundadores no representan toda la diversidad de la población original, por lo tanto, esta nueva población será diferente de la población original (Furnier, 2004).

La endogamia es un proceso genético que involucra el entrecruzamiento entre individuos relacionados (endogamia biparental) o consigo mismos (endogamia uniparental). Con el paso de generaciones, disminuyen de manera significativa las ventajas de la recombinación; que se refiere a la generación de una gran variación al crear nuevas combinaciones de alelos en los individuos (Furnier, 2004).

Los eventos que tienen como consecuencia apareamientos endogámicos, incrementan los niveles de homocigosis en una población; cuanto más consanguíneos sean los apareamientos, más rápidamente se perderá la heterocigosis (Eguiarte, 1999). El incremento de la frecuencia de homocigos puede ocasionar que aumenten los individuos con dos copias de un alelo recesivo deletéreo (homocigos recesivos), los que en condiciones de no endogamia podrían ser heterocigos (dos copias distintas de alelos). Sin embargo, hay muchas especies de plantas que se reproducen exclusivamente por autofertilización, (la forma más extrema de endogamia) aparentemente sin ninguna pérdida en su vigor, lo que probablemente es el resultado de una larga historia de selección que ha eliminado la gran parte de los alelos recesivos deletéreos de la especie (Furnier, 2004).

El conocimiento de estos cinco procesos genéticos es importante para determinar como cambia la diversidad genética dentro de una especie (Hartl y Clark, 1989).

3.2 Cuantificación de la variación genética

Para medir los patrones y niveles de la variación poblacional utilizamos marcadores morfológicos y moleculares (Furnier, 2004). Los marcadores morfológicos son los caracteres de un individuo que se expresan en un ambiente específico (Furnier, 2004) . Este tipo de marcadores fueron los primeros que se utilizaron en los estudios de biología poblacional de plantas (Cruzan, 1998). Sin embargo, estos marcadores tienen limitaciones como el de que las variantes morfológicas no están disponibles en muchas especies (Cruzan, 1998; Furnier, 2004). Además, los estudios que utilizan caracteres morfológicos están generalmente limitados a solamente un locus y muchos caracteres de gran importancia adaptativa, como tasas de crecimiento o reproducción, están afectados fuertemente por el ambiente (Cruzan, 1998; Furnier, 2004).

Los marcadores moleculares se refieren a aquellos de tipo bioquímico o genético (ADN o ARN), que se pueden relacionar con un rasgo genético y puede detectarse fácilmente (Rodríguez y Arencibia, 2002).

Los marcadores bioquímicos incluyen el estudio de proteínas y aloenzimas (Becerra y Paredes, 2000). Las proteínas son los productos primarios de los genes y se forman mediante los procesos de transcripción y traducción (Becerra y Paredes, 2000). El uso de estos marcadores se basa en el hecho de que las proteínas de diferentes individuos, poblaciones y especies, al separarse en un gel, producen bandas similares o diferentes que pueden ser cuantificadas (Becerra y Paredes, 2000). Las isoenzimas es un término que se utiliza para designar cada una de las formas múltiples enzimáticas que catalizan la misma reacción, con similar o idéntica especificidad de sustrato y que están presentes dentro del mismo organismo (González, 2002).

Los marcadores de ADN revelan sitios de variación de la secuencia de ADN y se clasifican en dos categorías según la técnica en que se basen. Los marcadores detectados por hibridación

y marcadores generados a partir de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa o PCR (por sus siglas en inglés) (Rodríguez y Arencibia, 2002).

Los marcadores detectados por hibridación agrupan las técnicas que emplean sondas para la identificación de las variantes. Las sondas son fragmentos de ADN o ácido ribonucleico (ARN) complementarios para una secuencia específica del genoma (Rodríguez y Arencibia, 2002). Algunos ejemplos de este tipo de marcadores son el polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (restriction fragment length polymorphism, RFLP) y los minisatélites o número variable de repeticiones en tándem (variable number of tandem repeats, VNTR) (Becerra y Paredes, 2000; Rodríguez y Arencibia, 2002; Aranguren-Méndez *et al*, 2005).

Las técnicas basadas en la PCR difieren entre sí en la longitud y secuencia de los cebadores, oligonucleótidos o primers empleados, que pueden ser de secuencia arbitraria, semiarbitraria o específica; las condiciones del PCR y el método de separación y detección de los fragmentos; dentro de este grupo encontramos comúnmente el llamado polimorfismo amplificado aleatoriamente (random amplified polymorphic, RAPD), polimorfismo de base única (single nucleotide polymorphism, SNP), polimorfismo de la longitud de los fragmentos amplificados (amplified fragment length polymorphism, AFLP) y secuencias repetidas cortas en tándem (simple sequence repeats, SSR) o microsatélites (Becerra y Paredes, 2000; Rodríguez y Arencibia, 2002; Aranguren-Méndez *et al*, 2005).

3.3. Aplicación de los marcadores moleculares en el análisis de la diversidad genética y la conservación de especies con algún tipo de aprovechamiento.

Los marcadores moleculares tienen aplicaciones diversas en el campo de la conservación debido a que permiten cuantificar la diversidad y la diferenciación genética, estimar las tasas de flujo genético o migración, caracterizar sistemas de reproducción, realizar análisis de paternidad y parentesco, identificar clones y material de reproducción, realizar estudios de filogenia y

taxonomía así como mapas de ligamiento genético y análisis de genes que controlen rasgos cuantitativos, entre otras (Jiménez y Collada, 2000).

Los programas de conservación de animales y de plantas deben incluir tanto los recursos representativos como los únicos y singulares, para lo cual es necesario conocer el grado de variabilidad y cómo se reparte en las distintas poblaciones (Jiménez y Collado, 2000; Aranguren-Méndez *et al*, 2005). Es por ello, que para las especies en las que se aplican diferentes tipos de aprovechamiento resulta importante conocer su diversidad genética para poder establecer estrategias de conservación y programas de manejo sustentable a largo plazo (Rozzi *et al*, 2001).

Un ejemplo de cómo los estudios genéticos han contribuido a la conservación de especies sujetas a algún tipo de aprovechamiento es el de la cactácea columnar *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) que fue estudiada por Casas y Caballero (1996) con la finalidad de encontrar patrones de diversidad morfológica y genética en distintas condiciones ambientales y culturales. Estos autores encontraron que *S. stellatus*, nativa de las zonas áridas y semi-áridas del centro de México, es utilizada como planta comestible consumiendo principalmente sus frutos llamados Pitahayas o Xoconochtli, pero también los pobladores colectan los tallos para utilizarlos como forraje para cabras y vacas, y secos se usan como leña. Utilizando aloenzimas y comparando cinco poblaciones silvestres, dos manejadas *in situ* y dos cultivadas encontraron una mayor diversidad genética en las poblaciones cultivadas y manejadas *in situ* que en las silvestres. Lo anterior mostró en términos generales que el manejo humano, particularmente el cultivo en huertas, ha causado un incremento en la diversidad genética de *S. stellatus* y que bajo condiciones particulares, el manejo *in situ* puede incrementar la diversidad genética de las poblaciones silvestres originales (Casas y Caballero, 1996).

Una de las especies más populares en México por su uso ornamental es el *Agave victoriae-reginae* (Agavaceae) (Martínez-Palacios *et al*, 1999). Este agave endémico de México, se encuentra en el apéndice II de la lista de CITES (CITES, 2008) y está considerado en peligro de extinción por el gobierno mexicano debido al alto comercio ilegal al que está sometido (NOM-

059-ECOL-2001). Para identificar poblaciones de *A. victoriae-reginae* con alta prioridad de conservación Martínez-Palacios y colaboradores (1999) estimaron con aloenzimas su diversidad genética en 10 poblaciones silvestres ubicadas en el desierto Chihuahuense. Este estudio encontró que *A. victoriae-reginae* presenta altos niveles de diversidad genética dentro de las poblaciones y altos niveles de diferenciación genética entre poblaciones que otras plantas que poseen sistemas reproductivos, mecanismos de dispersión de semillas, formas de vida, distribución geográfica y status taxonómico (monocotiledonea) similares. Esta información permitió identificar que conservando únicamente dos poblaciones de las 10 estudiadas teóricamente se podría conservar el 95% de la diversidad genética detectada; aunque, la alta diferenciación genética entre las poblaciones estudiadas muestra la necesidad de la conservación *in situ* para no perder procesos adaptativos críticos para la reproducción y sobrevivencia de este agave (Martínez-Palacios *et al*, 1999).

Con la finalidad de proponer estrategias de conservación y manejo de *Quercus eduardii* y *Q. potosina* (Fagaceae) en la zona natural protegida de Sierra Fría Aguascalientes, Alfonso-Corrado y colaboradores (2004) evaluaron la diversidad genética de *Q. eduardii* en cuatro poblaciones naturales y de *Q. potosina* en tres poblaciones también silvestres utilizando RAPDS. Estas especies son importantes en la estructuración de los bosques templados y están sometidas a una alta extracción por la calidad de su madera y por la serie de productos que se obtienen de ellos como el carbón, corcho, taninos y colorantes (Nixon, 1993). La diversidad genética que encontraron fue mayor en *Q. potosina* que en *Q. eduardii*. Sin embargo, el flujo génico promedio calculado fue mayor a *Q. eduardii* que en *Q. potosina*, por lo que la mayor recomendación para la conservación de estas dos especies en Sierra Fría, Aguascalientes, fue el coleccionar, bajo un buen muestreo, semillas de individuos saludables para la creación de un banco de semillas que se podrían destinar a viveros con la finalidad de obtener plántulas para la reforestación de la zona (Alfonso-Corrado *et al*, 2004).

En el caso de las leguminosas existen ejemplos como el de *Caesalpinia echinata* (Fabaceae), un árbol tropical endémico de las regiones costeras de Brasil, que ha sido colectado

y exportado a gran escala por más de 400 años por su uso ornamental, para la obtención de colorantes y la fabricación de arcos para violines e instrumentos musicales, lo que aunado a la fragmentación y deforestación de su hábitat la ha colocado en peligro de extinción (Del Giudice *et al*, 2005; Sodré *et al*, 2005). Con la finalidad de establecer un plan de conservación de esta especie, Sodré y colaboradores (2005) analizaron la diversidad genética de *C. echinata* con AFLPs en siete poblaciones naturales y fragmentadas encontrando una alta estructuración poblacional que concuerda con estudios previos de la misma especie, concluyendo que los esfuerzos para la conservación de *C. echinata* deben centrarse en la preservación y reforestación de por lo menos tres de las siete poblaciones estudiadas porque reúnen la mayor diversidad genética de esta especie.

Con estos ejemplos resulta evidente que conocer la diversidad genética de las especies con algún tipo de aprovechamiento, así como su situación biológica, es importante para poder determinar planes de conservación más completos a largo plazo.

3.4. Importancia de *Parkinsonia praecox*

La leguminosa *Parkinsonia praecox* (Fabaceae, Caesalpinioideae), conocida también como Palo Verde, Espino Verde, Palo Brea o Manteco, es una especie vegetal arbórea muy apreciada por la variedad de usos y bienes que proporciona (Penningtón y Sarukhán, 2005; Labrada, 2005).

La distribución de *P. praecox* abarca desde el sur de Estados Unidos (California), cruza por varios estados de México (Baja California Sur, Sinaloa, Sonora, Zacatecas, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Puebla, Oaxaca y Chiapas) y llega hasta América del Sur registrándose en los países de Venezuela, Bolivia, Ecuador, Perú, centro y norte de Argentina y Paraguay (Burkart y Carter, 1976; Penningtón y Sarukhán, 2005; USDA, 2007).

En Argentina, reconocen a *P. praecox* (Manteco) como una planta medicinal y la utilizan para curar las enfermedades e inflamaciones del aparato respiratorio, para aliviar la tosferina,

como estornudatorio, cicatrizante y digestivo, particularmente como antiácido estomacal y contra la indigestión aguda seguida de diarrea profunda (Del Vito *et al*, 1997; Carrizo *et al*, 2002; Scarpa, 2002). El Manteco también produce un exudado vascular que tiene propiedades químicas parecidas a la goma arábiga; las comunidades campesinas de Argentina aprovechan de manera tradicional esta goma vegetal y la utilizan como medicina para infecciones bronquiales, para disminuir la permeabilidad de artículos de cerámica y como pegamento casero (Alesso *et al*, 2003).

En México, particularmente en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Puebla y Oaxaca), también se usa como planta medicinal (Casas *et al*, 2001; Dávila, 2002; Paredes-Flores *et al*, 2007; Pérez-Negrón y Casas, 2007). Ramírez (1996) documentó que la infusión de las flores, junto con otras plantas, se utiliza en el tratamiento de dolor de oídos. También, se conoce que la corteza se emplea en la curación de las picaduras de alacrán (Rosas, 2006). Los habitantes de mayor edad en Zapotitlán Salinas, Puebla, refieren que antiguamente la goma del Manteco se consideraba medicinal pero era más frecuentemente empleada como pegamento casero y como material para reparar y proporcionar resistencia al calor a los artículos de barro como ollas y comales (Rosas, 2006).

De manera general, en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán a *P. praecox* se le reconocen más de diez usos distintos, siendo los más importantes el utilizar sus hojas, flores y frutos como forraje, principalmente del ganado caprino, y a los troncos y las ramas como combustible de buena calidad (Arias *et al*, 2001; Casas *et al*, 2001; Dávila, 2002; Blanckaert *et al*, 2004; Paredes-Flores *et al*, 2007; Pérez-Negrón y Casas, 2007; Rosas, 2006).

Desde la perspectiva etnoecológica, el Manteco es una especie importante en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán debido a que sus árboles son el hábitat natural de las larvas de *Paradirphia fumosa* (Lepidoptera, Saturniidae) conocidas localmente como Cuchamá (Rosas, 2006). Estas larvas tienen una gran importancia cultural, económica y alimentaria; de hecho esta larva comestible es de tal relevancia que las poblaciones de *P. praecox*, dentro de la comunidad de

Zapotitlán Salinas, se identifican con base en la abundancia de dicho recurso alimentario (Arias *et al*, 2001; Dávila, 2002; Rosas, 2006).

También el Manteco es cultivado por los habitantes del Valle de Tehuacán-Cuicatlán debido a que siembran individuos de *Hylocereus undatus* (Cactaceae), conocida con el nombre común de Pitahaya, al pie de su tallo para que estos sean protegidos por la sombra del Manteco, el cual proporciona un ambiente fresco y húmedo (Arias *et al*, 2001). Además, los individuos que crecen cerca de los terrenos de cultivo y dentro de los huertos se utiliza como cerca viva, para dar sombra y algunas veces los tallos son empleados como horcones y postes en la construcción de viviendas (Dávila, 2002; Blanckaert *et al*, 2004; Rosas, 2006).

Aunado a lo anterior, el Manteco es de gran importancia en el mantenimiento de la fauna de la localidad en que se encuentra, debido a que presenta una regularidad anual en su floración y fructificación y prolonga la producción de flores, frutos y hojas por varios meses, proporcionando alimento a la fauna por más tiempo (Rosas, 2006).

En Colonia San Martín el Manteco se utiliza en mayor proporción como hospedero del Cuchama y como leña (Rosas, 2006). De acuerdo con Sánchez-Paredes (2007) en Colonia San Martín se consumen 17,569.5 kilogramos de leña mensualmente, de los cuales el Manteco aunque es la quinta especie con mayor presencia en la carga de leña colectada solamente cubre el 2.35% de esta recolección que equivale a 51 kg.

La actividad de la recolección de leña en Colonia San Martín se caracteriza por estar dirigida sobre varias especies como el Cumito (*Mimosa luisana*, Mimosaceae), el Mezquite (*Prosopis laevigata*, Fabaceae) y el Manteco, se realiza en el interior de terrenos comunales a lo largo de todo el año, solo se cortan ramas secas con herramientas manuales por lo que nunca se cortan arboles completos y se invierten cinco horas para la recolección debido a la búsqueda de biomasa muerta y seca para completar una carga de leña (Sánchez-Paredes, 2007).

4. JUSTIFICACIÓN

Desde su origen las diferentes especies vegetales que existen en el planeta han estado sometidas a una activa interacción con el ambiente, lo cual ha generado un gran número de genotipos adaptados a diferentes condiciones locales, ampliando su diversidad genética. Sin embargo, en las últimas décadas esta diversidad genética se ha visto severamente reducida por la sobreexplotación de las especies vegetales, principalmente las de importancia económica, debido a las exigencias de mercado que han causado disminución y desaparición de las poblaciones (Becerra y Paredes, 2000).

Debido a lo anterior, y a que *P. praecox* es una especie de gran utilidad, no solo en México, sino en otros países del continente americano, como Estados Unidos y Argentina, resulta importante conocer como afecta el aprovechamiento de esta especie a su diversidad genética. Aunado a esto, actualmente no existen análisis de la variación genética publicados para *P. praecox* ni tampoco de otras especies del mismo género, debido a ello, el presente trabajo es una de las primeras contribuciones al conocimiento de la diversidad genética de la especie.

5. HIPÓTESIS

De acuerdo al tipo de aprovechamiento que se realiza de *P. praecox* en Colonia San Martín, el cual se enfoca en la recolección de ramas secas de árboles vivos sin nunca cortar individuos completos no se esperan diferencias de la diversidad genética en las cuatro poblaciones estudiadas.

6. OBJETIVO

El objetivo de este trabajo es analizar la diversidad y la estructura genética de *Parkinsonia praecox* en cuatro poblaciones con diferentes grados de aprovechamiento, con la finalidad de conocer si este aprovechamiento ha tenido algún efecto sobre la diversidad genética de la especie.

7. MÉTODOS

7.1 Sitios de Estudio

Este estudio se realizó en la comunidad de Colonia San Martín (Fig. 1), que pertenece al municipio de Zapotitlán Salinas, y se encuentra a 9 km al suroeste de la cabecera de dicho municipio (Sánchez-Paredes, 2007); entre los 18°16'-17' O y los 97°32'-33' N (INEGI, 1998), en el estado de Puebla (Fig. 1). En esta región se presenta una variación altitudinal que oscila entre 1560 y 2300 metros (Dávila, 2007), y forma parte de la Reserva de la Biosfera de Tehuacán-Cuicatlán (DOF, 1998).

En la región donde se encuentra Colonia San Martín, los suelos son someros y pedregosos con diferentes niveles de alcalinidad y salinidad (López-Galindo *et al*, 2003). El clima es seco semicálido con lluvias en verano, la temperatura media anual fluctúa entre 17.6 y 23.7 °C y la precipitación media anual es de 412.4 mm, presentándose una canícula bien definida a mitad del periodo de lluvias (López-Galindo *et al*, 2003; García, 2004). Los tipos de vegetación presentes son: matorral espinoso con espinas terminales, tetechera, selva baja espinosa perennifolia, tetechera-cardonal, cardonal de *Stenocereus stellatus*, cardonal de *Cephalocereus columnatrajani* y selva baja caducifolia (Osorio *et al*, 1996). De acuerdo con estudios sobre la degradación del suelo en el Valle de Zapotitlán Salinas, la comunidad de Colonia San Martín y zonas aledañas muestran degradación por erosión hídrica y algunos parches de tierras estables con vegetación natural (López-Galindo *et al*, 2003).

La población de Colonia San Martín tiene raíces étnicas en los Popolocas (Dávila *et al*, 2002; Gómez, 2003). Sin embargo, los rasgos culturales que caracterizan a esta etnia no son practicados por los habitantes del sitio (Sánchez-Paredes, 2007). Esta comunidad cuenta con 233 habitantes distribuidos en 65 familias que se dedican principalmente a la recolección de leña e insectos comestibles, producción de sal, agricultura de temporal de maíz y frijol y al pastoreo de chivos (Dávila, 2007). Esta comunidad presenta un alto índice de migración hacia otros sitios dentro del país y a los Estados Unidos (Sánchez-Paredes, 2007).

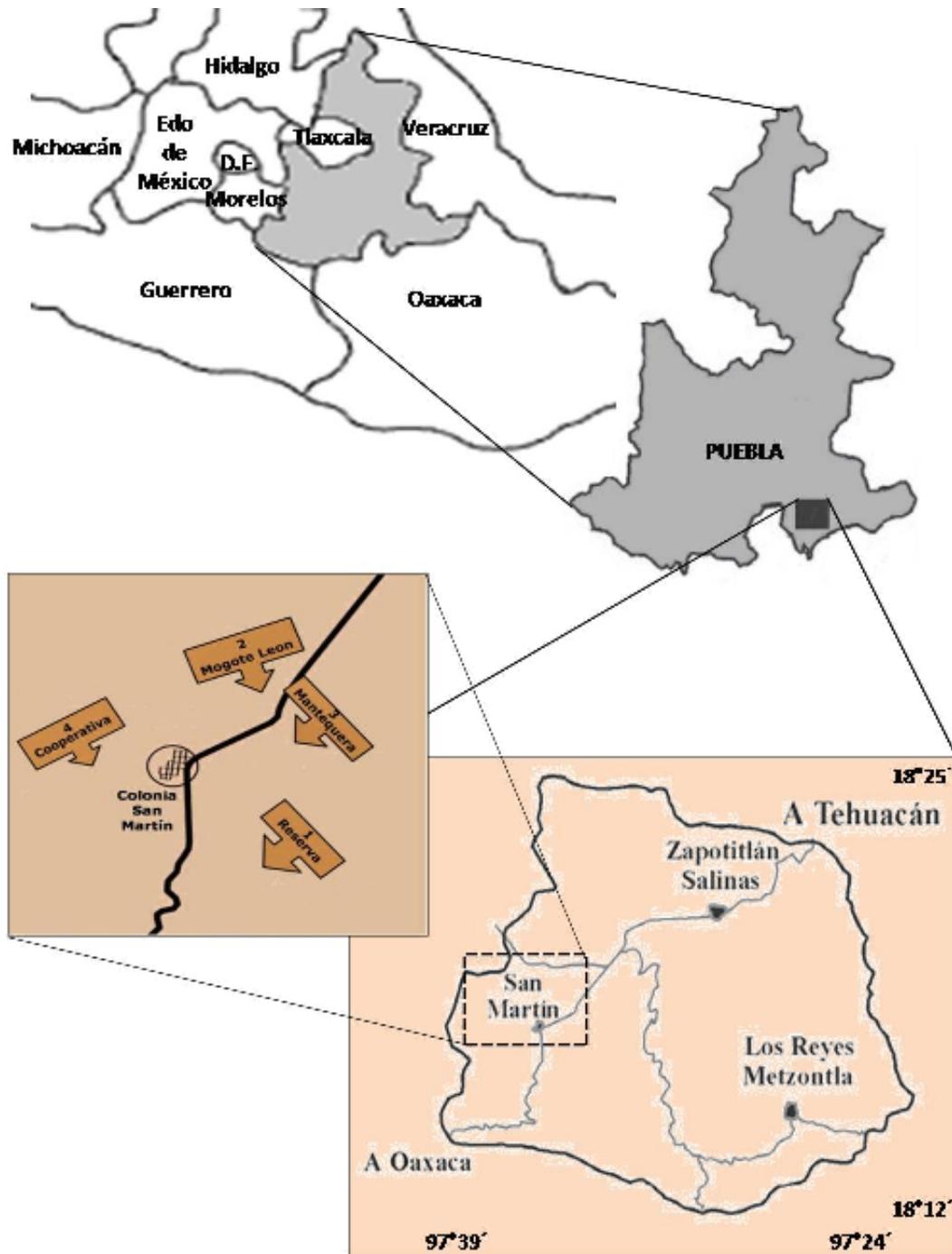


Figura 1. Ubicación de Colonia San Martín en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla. La comunidad estudiada se señala con líneas discontinuas y las cuatro poblaciones muestreadas se presentan con números progresivos.

Las localidades estudiadas en esta tesis (Fig. 2 y 3) son zonas donde se realiza extracción de leña y se seleccionaron tomando en consideración el nivel de explotación. El cual esta relacionado con la distancia requerida para visitarlas que es una distancia promedio de 3 km entre si, tomando como punto de referencia la zona donde se concentra el mayor número de viviendas de Colonia San Martín (Sánchez-Paredes, 2007).

Con base a lo anterior, las localidades estudiadas fueron:

1. Reserva. También llamada Reforestación, es una zona que fue desmontada hace aproximadamente 50 años y que hace pocos años fue reforestada con especies nativas. Por lo anterior en esta zona no existe explotación debido a que es considerada por los pobladores de Colonia San Martín como una zona de reserva y, por lo tanto, se encuentra en recuperación. Su área es de 89,911.942 m² y su altitud promedio es de 1684 m.

2. Mogote León. En esta zona el nivel de explotación es bajo, ya que es propiedad privada y solamente el propietario y las personas que él autoriza visitan la zona. Su área corresponde a 107,471.240 m² y su altitud promedio es de 1600 m.

3. Mantequera. Esta zona tiene un nivel de explotación medio, aunque los pobladores prefieren conservar a más individuos de *P. praecox* en este sitio debido a que es el hospedero de la larva comestible llamada cuchamá (Rosas, com. pers). Su área es de 26,995.903 m² y su altitud promedio es de 1629 m.

4. Cooperativa. Esta zona tiene un nivel de explotación alto, debido a que es el paso para el pastoreo y la recolección de otros recursos además de la leña. Su área es de 28,799.016 m² y su altitud promedio es de 1726 m.

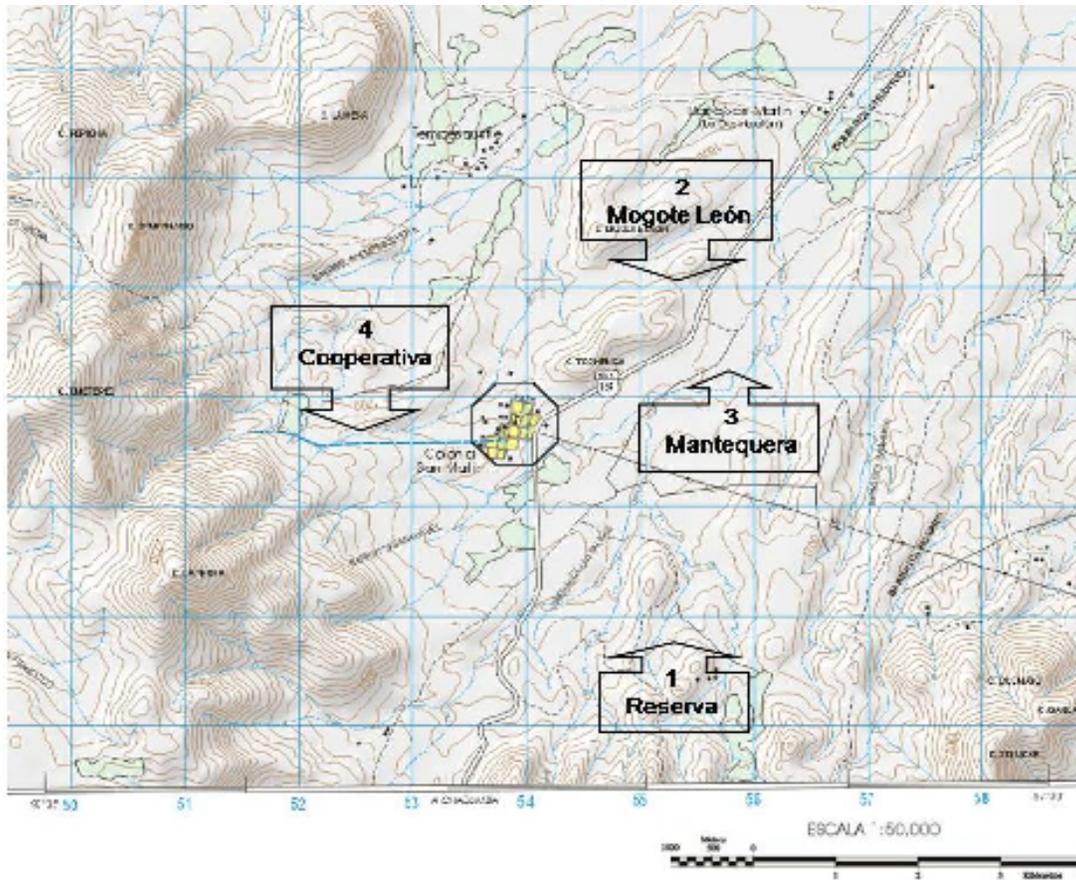


Figura 2. Ubicación de las cuatro localidades de *Parkinsonia praecox* estudiadas en Colonia San Martín, Zapotitlán Salinas, Puebla. El número 1 indica explotación nula, el 2 explotación baja, el 3 explotación media y el 4 explotación alta (mapa elaborado por los integrantes del Laboratorio de Recursos Naturales, UBIPRO, FES-Iztacala, UNAM)

7.2 Sistema biológico

Parkinsonia praecox (Ruiz y Pavon) Hawkins, es una especie del orden Fabales, familia Fabaceae (Leguminosae), subfamilia Caesalpinioideae y tribu Caesalpinieae (USDA, 2007). Sus individuos son árboles caducifolios que pierden sus hojas en la época seca (Arias, 2001; Penningtón y Sarukhán, 2005); alcanzan de cuatro a ocho metros de altura con un diámetro a la altura del pecho de hasta 30 cm; su tronco es torcido, ramificado muy cerca de la base; su corteza es lisa y de color verde claro, característica por la cual se le conoce con el nombre común de Palo

Verde (Penningtón y Sarukhán, 2005). Las ramas son ascendentes formando una copa muy abierta, presentan una espina de cinco a 15 mm de largo en la inserción de cada hoja o glomérulo de hojas; las hojas, dispuestas en espiral en las ramas jóvenes y aglomeradas en las ramas viejas, son bipinnadas, de dos a siete cm de largo incluyendo el peciolo, con uno o dos pares de folíolos primarios, cada folíolo primario formado por cinco-ocho pares de folíolos secundarios opuestos y sésiles; las flores, que se producen en las ramas sin hojas, son perfumadas, zigomorfas, se organizan en racimos muy cortos aglomerados en los nacimientos de las hojas y sostenidos por las espinas, los cinco pétalos son amarillos y desiguales, el más grande de hasta 1.3 cm de largo, con manchitas rojas; sus vainas son aplanadas, oblongas, de hasta diez cm de largo, con una fina nervación en la superficie, de color moreno y no presentan reducción entre las semillas (Fig. 2); las semillas son muy delgadas, de siete mm de largo, morenas y brillantes (Felger *et al*, 2001; Penningtón y Sarukhán, 2005).

La fenología reproductiva de esta especie inicia con la aparición de las flores entre los meses de diciembre a mayo, mientras que los frutos maduran de enero a septiembre (Penningtón y Sarukhán, 2005). En el valle de Zapotitlán Salinas *P. praecox* presenta flores de enero a septiembre, aunque se ha observado una sincronía de la floración entre los meses de febrero a marzo (Arias *et al*, 2001; Rosas, 2006). La fructificación de *P. praecox* en Zapotitlán Salinas ocurre entre marzo y agosto (Rosas, 2006). La presencia de hojas se observa de junio a diciembre (Rosas, 2006).

Los principales polinizadores de la subfamilia Caesalpinioideae son los insectos (Felger *et al*, 2001), particularmente de *P. praecox* están las especies pertenecientes al orden Hymenoptera con los géneros *Centris*, *Diadasia*, *Melipona* y *Trigona* (Vergara, 1999; Lemus-Jiménez y Ramírez, 2003).

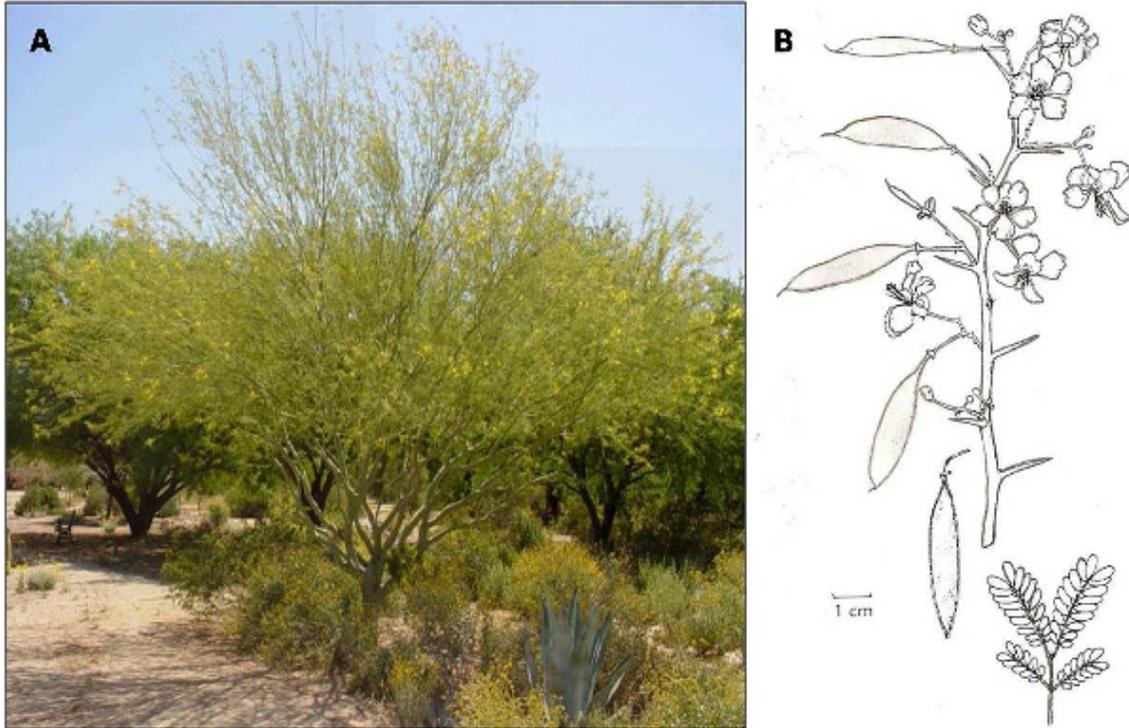


Figura 3. *Parkinsonia praecox*. (A) Foto de *P. praecox* en Zapotitlán Salinas donde se observa el color verde del tronco y la ramificación cercana a la base y extendida de esta especie (tomada de Dávila, 2007). (B) Dibujo de la forma de las ramas y el tipo de hojas, flores y frutos de *P. praecox* (tomado de Felger *et al*, 2001).

7.3. Trabajo de campo.

Se colectaron muestras de tejido foliar fresco de 29 individuos adultos de la localidad de Reserva, 25 individuos adultos de Mogote de León, 28 individuos adultos de Mantequera y 33 individuos adultos de Cooperativa. Cada muestra se guardó en bolsas de plástico y se etiquetó con los siguientes datos: nombre de la localidad, fecha de colecta, especie y número de individuo colectado. Una vez etiquetadas todas las muestras, se empaquetaron y colocaron en nitrógeno líquido para su posterior almacenamiento a -70°C en el laboratorio de Bioquímica Molecular de la UBIPRO, FES Iztacala, UNAM.

7.4 Trabajo de laboratorio

Se realizó el aislamiento de ADN genómico total del tejido foliar colectado empleando el método fenol-cloroformo (Sambrook *et al*, 1989). El ADN aislado se visualizó en geles de agarosa al 0.8% con bromuro de etidio y luz UV en el MultiImage™ light cabinet (Alpha Innotech Corporation, USA).

Para conocer la diversidad genética de *P. praecox* se utilizaron marcadores moleculares microsatélites. Los microsatélites son segmentos cortos de ADN de uno a seis pares de bases que se repiten en tándem de forma aleatoria en el genoma de los seres vivos (Aranguren-Méndez, *et al*, 2005). Generalmente consisten en dinucleótidos (AC)_n, (AG)_n, (AT)_n; trinucleótidos (TCT)_n, (TTG)_n; tetranucleótidos (TATG)_n, donde n es el número de unidades repetidas dentro de un locus de microsatélite (Rodríguez y Arencibia, 2002). Los microsatélites tienen ventajas sobre otros marcadores moleculares porque presentan un elevado grado de polimorfismo, su herencia es mendeliana simple, son codominantes (pudiéndose diferenciar los individuos homocigotos de los heterocigotos), son fáciles de medir y analizar lo que les confiere una alta confiabilidad y son reproducibles bajo condiciones bien estandarizadas (Aranguren-Méndez, *et al*, 2005).

Se ensayaron 16 primers para amplificar regiones microsatélite (Tabla 1), cuatro aislados a partir del ADN de *Schizolobium parahyba* (Kamau *et al*, 2003), cuatro aislados a partir del ADN genómico total de *Prosopis chilensis* (Mottura *et al*, 2005) y ocho aislados a partir del ADN cloroplastico de *Nicotiana tabacum* (Weising y Gardner, 1999). Las condiciones de los ciclos de PCR fueron 94°C de desnaturalización inicial durante 3 minutos, seguido de 30 ciclos que incluyeron 10 segundos a 94°C de desnaturalización, 10 segundos de alineación con un gradiente de temperatura de alineamiento de 55°C a 60°C, dependiendo de cada locus, y 10 segundos a 72°C de extensión, finalizando con 3 minutos a 72°C para la extensión final, en un termociclador Gene Amp® 9700 (Applied Biosystems, USA). Cada reacción de PCR contenía 10 mM de Tris-HCl pH 8.3, 2 mM de MgCl₂, 100 μM de dNTP's mix, 0.5 pM de cada primer, 2 unidades de Taq polimerasa y de 10 a 20 ng de ADN genómico total, en un volumen final de 25 μl. Los productos de PCR se visualizaron en geles de agarosa al 1.2% con bromuro de etidio y luz

UV en el Multimage™ light cabinet (Alpha Innotech Corporation, USA). Los primers que amplificaron con la técnica PCR se marcaron en su extremo 5' con los fluoróforos FAM o HEX. Los productos de los primers marcados fueron analizados en el secuenciador ABI PRISM™ 3100 (Applied Biosystems, USA). La identificación de los loci polimórficos y la estimación del tamaño de los diferentes alelos encontrados se realizaron en el programa Peak Scanner 1.0 (Applied Biosystems, 2006).

7.5 Análisis genéticos

Los análisis genéticos se realizaron tomando en cuenta solamente los loci polimórficos y se separaron en dos grupos, los amplificados a partir de ADN cloroplástico (ADNcp) y los de ADN nuclear (ADNn), debido a que no se pueden analizar juntos porque representan haplotipos y genotipos, respectivamente.

Para los loci de ADNcp se calculó el número efectivo de alelos, la frecuencia alélica, la diversidad genética de Nei (1973) y la diversidad genética total por locus, así como el promedio de todos los anteriores con los programas Popgene 1.32 (Yeh, *et al* 1997) y TFPGA 1.3 (Miller, 1997). Para el locus de ADNn se calculó el número efectivo de alelos, la frecuencia alélica, la heterocigosis observada, la heterocigosis esperada (Nei, 1973) y el promedio de cada uno de ellos con el programa Popgene 1.32 (Yeh, *et al* 1997).

Para conocer si existe estructura genética entre las cuatro poblaciones estudiadas, se calculó el coeficiente de diferenciación genética con G_{ST} (Nei, 1973) para los loci de ADNcp y para el locus de ADNn el estadístico F_{ST} (Hartl y Clark, 1989). El índice de fijación F_{ST} fue desarrollado para el caso de un gen con dos alelos, y por esta razón para el caso de alelos múltiples F_{ST} es a menudo llamado G_{ST} o coeficiente de diferenciación genética (Nei, 1973).

Tanto para los loci de ADNcp como para el locus de ADNn se calculó el flujo génico (Slatkin y Barton, 1989) entre pares de poblaciones y entre todas las poblaciones estudiadas con el programa Popgene 1.32 (Yeh, *et al* 1997). Para mostrar gráficamente las relaciones de similitud entre las poblaciones estudiadas se utilizó el método de agrupamiento de pares por

promedios aritméticos (UPGMA) basado en las distancias genéticas de Nei (1972) calculado con el programa TFPGA 1.3 (Miller, 1997).

Tabla 1. Primers microsatelite ensayados.

Locus	Secuencia (5' - 3')	Repetición	Genoma	Ta (°C)	Tamaño de amplificación (pb)	Referencia
Ccmp1	F:CAGGTAAACTTCTCAACGGA R:CCGAAGTCAAAAGAGCGATT	(T) ₁₀	ADNcp	60	122	(Weising y Gardner, 1999)
Ccmp2	F:GATCCCGGACGTAATCCTG R:ATCGTACCGAGGGTTCGAAT	(A) ₁₁	ADNcp	55-60	NA	(Weising y Gardner, 1999)
Ccmp3	F:CAGACCAAAAGCTGACATAG R:GTTTCATTCCGGCTCCTTTAT	(T) ₁₁	ADNcp	55	86-90	(Weising y Gardner, 1999)
Ccmp4	F:AATGCTGAATCGACGACCTA R:C AAAAATATTGGGAGGACTCT	(T) ₁₃	ADNcp	55	112	(Weising y Gardner, 1999)
Ccmp7	F:CAACATATACTACTGTCAAG R:ACATCATTATTGTATACTCTTTC	(A) ₁₃	ADNcp	60	159-201	(Weising y Gardner, 1999)
Ccmp10	F:TTTTTTTTTAGTGAACGTGTCA R:TTCGTCGACGTAGTAAATAG	(T) ₁₄	ADNcp	60	100-122	(Weising y Gardner, 1999)
MO05	F:AATTCTGCAGTCTCTTCGCC R:GATCCCTCGTGACTCCTCAG	(CT) ₃ T(CT) ₂	ADNt	60-66	NA	(Mottura <i>et al</i> , 2005)
MO07	F:GAAGCTCCCTCACATTTTGC R:CTATTTGCGCAACACACAGC	(GC) ₈	ADNt	56-61	NA	(Mottura <i>et al</i> , 2005)
MO08	F:TATCTAAACGCCGGGCTAC R:TCCATTATGCATACTTAAACC	(AC) ₉	ADNt	56-61	NA	(Mottura <i>et al</i> , 2005)
MO09	F:ATTCCTCCCTCACATTTTGC R:CATTATGCCAGCCTTTGTTG	(TG) ₁₇	ADNt	56-61	NA	(Mottura <i>et al</i> , 2005)
MO013	F:TTGATTAGAGTTGCATGTGGATG R:TGCAGTCCCAAGTGTCAGAG	(GT) ₁₀ CT(GT) ₂	ADNt	56-61	NA	(Mottura <i>et al</i> , 2005)
MO016	F:CATTGCCCAATATCACTCC R:GGGTCCATCCAGAGTAGTGG	(CA) ₁₂	ADNt	56-61	NA	(Mottura <i>et al</i> , 2005)
Sp1	F:GCCTCAGACCATGGAGATCGCTC R:GACGTGGATGCGTTCGTTTCGTTT	(GCC) ₇	ADNt	60	172-175	(Kamau <i>et al</i> , 2003)
Sp2	F:GTTTTTCTTTCATCATGTCCTAAGC R:GAGGCGCGTGGACTACTATTGATG	(TG) ₁₉ (CA)(TG) ₄ TC(TG) ₄ (TA) ₂	ADNt	58-61	NA	(Kamau <i>et al</i> , 2003)
Sp9	F:TTAATATCACCGTTAGAGCAAAAGC R:CGTGGACTAACTCTAAAATCAAATC	(CT) ₁₅	ADNt	53-61	NA	(Kamau <i>et al</i> , 2003)
Sp12	F:TCCCAATCATCTATTATTCTTCC R:GCCTTACAGTTCAAGTAAAGATTGG	(CA) ₂ (GA) ₁₆	ADNt	58-61	NA	(Kamau <i>et al</i> , 2003)

ADNcp = ADN de cloroplasto, ADNt = ADN genómico total, pb = pares de bases, NA = No amplificó

8. RESULTADOS

8.1 Diversidad genética

Se analizaron 265 muestras procedentes de los cuatro sitios de estudio con un promedio de 10 individuos por localidad. De los 16 primers de microsatélites ensayados solo seis amplificaron. El Ccmp1, Ccmp3, Ccmp4, Ccmp7, Ccmp10 y Sp1. Los loci Ccmp1 y Ccmp4 resultaron monomórficos en las cuatro zonas de estudio. En tanto Ccmp3, Ccmp7 y Ccmp10 mostraron más de un alelo es decir, más de un haplotipo, en la población de Mantequera y Sp1 fue polimórfico para todas las poblaciones estudiadas.

Con los loci Ccmp3, Ccmp7 y Ccmp10 solo se encontró un alelo de 90 pb, 201 pb y 122 pb, respectivamente, dentro de las poblaciones de Cooperativa, Mogote León y Reserva. En contraste, en la población de Mantequera los loci Ccmp3 y Ccmp10 presentaron dos alelos; mientras que el locus Ccmp7 presentó 3 alelos (Tabla 2). La mayor diversidad genética se obtuvo con el locus Ccmp3 ($H_T = 0.32$) y la menor con el locus Ccmp10 ($H_T = 0.26$). La diversidad genética de *P. praecox* tomando en cuenta las cuatro poblaciones estudiadas y los tres loci de ADNcp analizados es de 0.28 (Tabla 2).

Para el locus Sp1 se observaron dos alelos en las cuatro poblaciones estudiadas, uno de 172 pb y el otro de 154 pb, el primero tuvo una frecuencia alélica mayor en las cuatro poblaciones. De manera general la heterocigosis observada fue mayor que la esperada en las cuatro poblaciones, resultando mayor en Cooperativa (0.63) y menor en Reserva (0.27). La heterocigosis esperada de *P. praecox* con el locus Sp1 en las cuatro poblaciones estudiadas fue de 0.35 y la observada de 0.44 (Tabla 3).

Tabla 2. Tamaño y frecuencia alélica, número efectivo de alelos (N_e) y diversidad genética (H) de los loci microsatelite de ADNcp con más de un haplotipo en Mantequera. Para el resto de las poblaciones estos loci fueron monomórficos (ver texto para explicación).

Locus	Número de alelos observados	N_e	Tamaño y frecuencia alélica	H (Nei, 1973)	H_T
Ccmp3	2	1.9454	86 pb = 0.5833 90 pb* = 0.4167	0.4861	0.2726
Ccmp7	3	1.8519	158 pb = 0.7000 177 pb = 0.1000 201 pb* = 0.2000	0.4600	0.3224
Ccmp10	2	1.8000	100 pb = 0.6667 122 pb* = 0.3333	0.4444	0.2604
Promedio	2.3333	1.8659		0.4635	0.2851
Desviación estándar	0.5774	0.0740		0.0211	0.0268

H_T = Diversidad genética por locus tomando en cuenta a todas las poblaciones estudiadas.

Pb = pares de bases.

(*) Indica el alelo que se encuentra en las poblaciones de Cooperativa, Mogote León y Reserva.

Tabla 3. Tamaño y frecuencia alélica, número efectivo de alelos (N_e), heterocigosis observada (H_o) y esperada (H_e) del locus Sp1 en las cuatro localidades de estudio.

Población	Número de alelos observados	N_e	Tamaño y frecuencia alélica	H_o	H_e (Nei, 1973)
Cooperativa	2	1.7664	154 pb = 0.3182 172 pb = 0.6818	0.6364	0.4339
Mantequera	2	1.4706	154 pb = 0.2000 172 pb = 0.8000	0.4000	0.3200
Mogote León	2	1.7664	154 pb = 0.3182 172 pb = 0.6818	0.4545	0.4339
Reserva	2	1.3081	154 pb = 0.1364 172 pb = 0.8636	0.2727	0.2355
Promedio	2	1.5779		0.4409	0.3558
Desviación estándar	0	0.2276		0.1509	0.0965

pb = pares de bases.

8.2 Estructura genética

Los valores de G_{ST} y flujo génico (Nm) calculados para los loci de ADNcp fueron los mismos (0.49 y 0.51, respectivamente) cuando comparamos la población de Mantequera con Mogote León, Cooperativa y Reserva debido a que es la única población que presenta más de un alelo. Al comparar todas las poblaciones el valor de G_{ST} aumenta (0.59) y Nm disminuye (0.34). Los valores de F_{ST} y Nm calculados para el locus Sp1 son poco variables, siendo la población de Cooperativa-Mogote León la más baja ($F_{ST} = 0$, $Nm = 1000$) y las poblaciones de Reserva-Cooperativa, Reserva-Mogote León las más altas ($F_{ST} = 0.04$, $Nm = 5.06$). Si tomamos en cuenta a todas las poblaciones el valor de F_{ST} es de 0.03 y Nm de 7.25. Al comparar los valores de G_{ST} y F_{ST} calculados, los primeros son más altos que los segundos en todos los grupos formados y el flujo génico es mayor para el locus Sp1 (Tabla 4).

Tabla 4. Valores de F_{ST} y flujo génico (Nm^1) calculados para el locus Sp1 (parte inferior de la diagonal) y de G_{ST} y flujo génico (Nm^2) calculados para los loci Ccmp3, Ccmp7 y Ccmp10 (parte superior de la diagonal). Se muestran los valores promedio resultantes de la comparación de todas las poblaciones.

Población	Cooperativa	Mantequera	Mogote León	Reserva	Todas las poblaciones
Cooperativa		$G_{ST} = 0.4935$ $Nm^2 = 0.5132$	$G_{ST} = \text{----}$ $Nm^2 = \text{----}$	$G_{ST} = \text{----}$ $Nm^2 = \text{----}$	
Mantequera	$F_{ST} = 0.0182$ $Nm^1 = 13.4941$		$G_{ST} = 0.4935$ $Nm^2 = 0.5132$	$G_{ST} = 0.4935$ $Nm^2 = 0.5132$	$N = 123,$ $H_S = 0.1159,$ $H_T = 0.2852,$
Mogote León	$F_{ST} = 0$ $Nm^1 = 1000$	$F_{ST} = 0.0182$ $Nm^1 = 13.4941$		$G_{ST} = \text{----}$ $Nm^2 = \text{----}$	$G_{ST} = 0.5937,$ $Nm^2 = 0.3422$
Reserva	$F_{ST} = 0.0471$ $Nm^1 = 5.0625$	$F_{ST} = 0.0072$ $Nm^1 = 34.2959$	$F_{ST} = 0.0471$ $Nm^1 = 5.0625$		
Todas las poblaciones	$N = 43, F_{IS} = -0.2391, F_{IT} = -0.1978, F_{ST} = 0.0333, Nm^1 = 7.2544$				

N = tamaño de la muestra analizada

$Nm^1 = 0.25 (1-F_{ST})/F_{ST}$ (Slatkin y Barton, 1989)

$Nm^2 = 0.5 (1-G_{ST})/G_{ST}$ (Slatkin y Barton, 1989)

8.3 Relaciones genéticas

Las distancias genéticas de Nei (1972) calculadas con los loci de cloroplasto indican que la población de Cooperativa, Mogote León y Reserva son muy parecidas genéticamente y por lo tanto forman un solo grupo, la población de Mantequera se separa de estas tres poblaciones con una distancia genética de 0.8385 (Fig. 4). Al realizar este mismo cálculo con el locus Sp1, Mantequera se agrupa con Mogote León porque su distancia genética es baja (0.0008). Este grupo se une a Reserva a una distancia genética de 0.0062. La población de Cooperativa se diferencia de Mantequera, Mogote León y Reserva a una distancia genética de 0.0232 (Fig. 5).

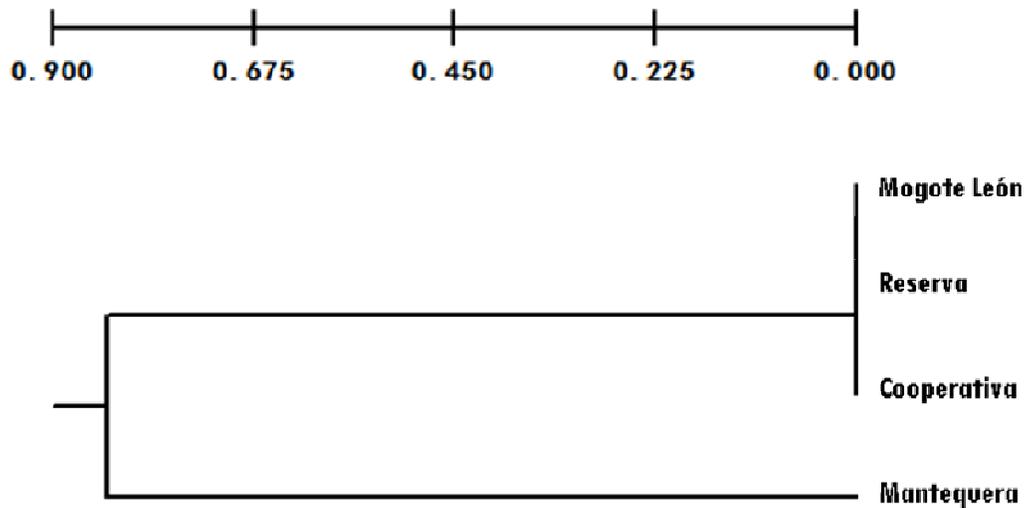


Figura 4. Representación gráfica de las distancias genéticas Nei (1972) entre las poblaciones estudiadas calculadas con los datos de los loci Ccmp3, Ccmp7 y Ccmp10 y utilizando el método UPGMA.

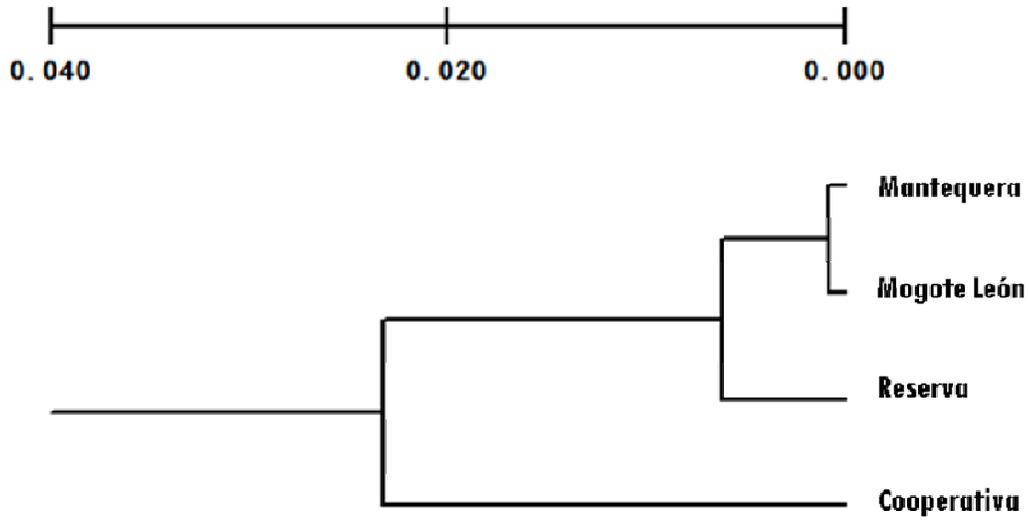


Figura 5. Representación gráfica de las distancias genéticas Nei (1972) entre las poblaciones estudiadas calculadas con los datos del locus Sp1 y utilizando el método UPGMA.

9. DISCUSIÓN

9.1 Diversidad genética

El número de alelos ($N = 90$) encontrados con los loci Ccmp3, Ccmp7 y Ccmp10 es muy cercano a los encontrados en otras especies estudiadas con estos mismos loci (Decroocq *et al*, 2004; Fineschi *et al*, 2005; Imazio *et al*, 2006; Angioi *et al*, 2009; Muller *et al*, 2009). El árbol *Pterocarpus officinalis* (Fabaceae) resultó polimórfico con los loci Ccmp3 y Ccmp7 y presentó un máximo de cuatro alelos en las nueve poblaciones estudiadas y analizando en total 116 individuos (Muller *et al*, 2009); *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) resultó monomórfico para el locus Ccmp3 y polimórfico con tres alelos para el locus Ccmp2 analizando en total 109 individuos (Angioi *et al*, 2009); *Vitis vinifera* (Vitaceae) fue analizada con los loci Ccmp2, Ccmp3, Ccmp4, Ccmp5, Ccmp6, Ccmp8, Ccmp9 y Ccmp10 resultando polimórficos únicamente los loci Ccmp3 y Ccmp10 con dos y tres alelos respectivamente en 141 individuos (Imazio *et al*, 2006); 21 poblaciones de *Crataegus monogyna* y nueve poblaciones de *Crataegus laevigata* (Rosaceae) fueron analizadas con los loci Ccmp2, Ccmp3, Ccmp4, Ccmp6, Ccmp7 y Ccmp10 encontrando a todos estos loci monomórficos (Fineschi *et al*, 2005); Decroocq y colaboradores (2004) analizaron 15 cultivos europeos de ciruela con los loci Ccmp2, Ccmp3, Ccmp6 y Ccmp10 resultando solamente el locus Ccmp3 polimórfico con 2 alelos (Tabla 5).

La población de Mantequera presenta con los loci de ADNcp una mayor variación en comparación con las otras poblaciones estudiadas, esto puede ser explicado porque los pobladores de Colonia San Martín prefieren no coleccionar leña de *P. praecox* en esta zona cuando es temporada de coleccionar larvas de *Pharadirpha furmosa*, debido a que *P. praecox* es el hábitat de esta larva, realizando con esto una conservación indirecta del Manteco (Rosas, 2006).

La diversidad genética encontrada en *P. praecox* con el locus Sp1 es más baja comparada con *Schizolobium parahyba* (Fabaceae), una leguminosa filogenéticamente cercana a *P. praecox* (Bruneau y Forest, 2001), que al ser estudiada con este mismo marcador se estimó una heterocigosis observada promedio de 0.69 y una heterocigosis esperada promedio de 0.64 (Kamau *et al*, 2003). El mismo patrón se presenta al compararla con *Prosopis laevigata*

(Fabaceae), una leguminosa que frecuentemente se encuentra asociada a *P. praecox* y que presenta valores de diversidad genética observada (0.48) y esperada mas altos (0.63) que *P. praecox* en la misma zona de estudio y calculada también con microsatélites de ADN nuclear (Tapia-Salcido, 2008).

Tabla 5. Comparación del numero de alelos (Na) encontrados con los loci de ADNcp ensayados en *P. praecox* con otras especies de diferente género. Entre paréntesis se muestra el tamaño en pares de bases del fragmento obtenido.

Locus	<i>P. praecox</i> (Fabaceae)	<i>Pterocarpus officinalis</i> (Fabaceae)	<i>Phaseolus vulgaris</i> (Fabaceae)	<i>Vitis vinífera</i> (Vitaceae)	<i>Crataegus monogyna</i> y <i>C. laevigata</i> (Rosaceae)	<i>Prunus domestica</i>
Ccmp1	1 (122)	1 (no reportado)	---	---	---	---
Ccmp2	NA	1 (no reportado)	3	NA	1 (205)	1
Ccmp3	2 (86,90)	Polimórfico (no reportado)	1	2 (106,107)	1 (99)	2
Ccmp4	1 (112)	1 (no reportado)	---	NA	1 (83)	---
Ccmp7	3 (158, 177, 201)	Polimórfico (no reportado)	---	---	1 (125)	---
Ccmp10	2 (100,122)	1 (no reportado)	---	3 (114, 115,116)	1 (118)	NA
Fuente	Presente estudio	(Muller <i>et al</i> , 2009)	(Angio <i>et al</i> , 2009)	(Imazio <i>et al</i> , 2006)	(Fineschi <i>et al</i> , 2005)	(Decroocq <i>et al</i> , 2004)

(---) Indica que ese locus no fue analizado en ese estudio.

Algunos estudios que han comparando los valores de diversidad genética obtenidos con microsatélites de cloroplasto (SSRcp) y microsatélites nucleares (SSRnu) encontraron valores menores de SSRcp que de SSRnu (Harish *et al*, 2005; Ueno *et al*, 2005; Angioi *et al*, 2008). La diversidad genética promedio de *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) calculada con SSRcp es de 0.179 mientras que con SSRnu es de 0.392 (Angioi *et al*, 2008). Un estudio sobre la diversidad genética del árbol japonés endémico *Magnolia stellata* (Magnoliaceae) reporta con SSRnu valores de diversidad genética promedio de 0.57 - 0.66, valores mas altos si los comparamos con los de

SSRcp que están en un intervalo de 0.27 - 0.44 (Ueno *et al*, 2005). Un análisis de la diversidad genética de *Aegilops markgrafii*, *Aegilops tauschii* y su híbrido *Aegilops cylindrica* (Poaceae) muestra valores de diversidad genética promedio con SSRnu de 0.66, 0.78 y 0.40 respectivamente, mientras la diversidad genética promedio calculada con SSRcp es de 0.28, 0.45 y 0.17 respectivamente (Harish *et al*, 2005). Este patrón puede deberse a que el ADNcp no tiene recombinación y es heredado solamente por vía materna o paterna según la especie (Mc Cauley, 1995) y además la proporción de mutaciones nucleotídicas es relativamente más bajo que en el ADN nuclear (Wolfe *et al*, 1987). Aunado a lo anterior y considerando que en angiospermas el ADNcp se transmite vía materna (Petit *et al*, 2005), es probable que en la especie de estudio de esta tesis también ocurra de la misma forma. Lo que significa que se estudio la transmisión de caracteres vía materno.

9.2 Estructura genética.

De acuerdo con Nei (1973) el estadístico F_{ST} presenta un valor mínimo teórico de cero (indicando que no existe diferencias genéticas) y un valor máximo teórico de uno (indicando fijación de alelos alternativos en diferentes subpoblaciones). Sin embargo, se ha observado que este valor teórico máximo en la práctica es mucho menor que uno (Hartl y Clark, 1989). Wright (1978) ha sugerido la siguiente interpretación de los valores de F_{ST} :

- a) De cero a 0.05 puede ser considerado como indicativo de baja diferenciación genética
- b) De 0.05 a 0.15 indica moderada diferenciación genética
- c) De 0.15 a 0.25 indica gran diferenciación genética y
- d) Valores superiores a 0.25 indican una muy grande diferenciación genética.

Siguiendo estos intervalos, los valores de F_{ST} obtenidos muestran un grado de diferenciación poblacional bajo (0.03) con el locus Sp1, aunado a un flujo génico alto (7.25), indicando que el 3% de la variación total se debe a diferencias de los individuos de cada población.

Por otra parte los valores promedio de G_{ST} (0.59) y de flujo génico (0.34) obtenidos con los loci de ADNcp indican que existe una diferenciación del 59% entre las poblaciones con menos de un migrante por generación (Wright, 1931). Sin embargo, este resultado se debe únicamente al polimorfismo encontrado en la población de Mantequera, ya que si se omite del análisis no existiría diferenciación entre las poblaciones.

La diferenciación genética entre poblaciones está en función del flujo de genes a través del polen y la dispersión de semillas (Loveless y Hamrick, 1984). De acuerdo con lo anterior, el motivo por el que *P. praecox* presente un nivel de diferenciación poblacional bajo con el locus Sp1 puede explicarse por diferentes factores. Por ejemplo en la provincia de Formosa y del Chaco en Argentina se registró como polinizadores a las abejas, principalmente de *Apis mellifera* (Chifa *et al* 2000, Cabrera y Salgado, 2006). Lemus-Jimenez y Ramirez (2003), documentaron que en la península de Paraguana en Venezuela *P. praecox* es polinizada por abejas de las familias Anthophoridae y Megachilidae. En Zapotitlán Salinas, Puebla, Vergara (1999) encontró que las Fabaceae (incluyendo *P. praecox*) son visitada por abejas generalistas, siendo especialmente abundantes las abejas del género *Centris* que pertenecen a la familia Anthophoridae.

Las abejas son consideradas como polinizadores efectivos por varias razones: se alimentan casi exclusivamente de néctar y polen, lo que hace que sus necesidades alimentarias sean muy elevadas. Por ello son visitantes florales muy activos, son capaces de visitar muchas flores de la misma especie en periodos de tiempo cortos y su cuerpo vellosos fácilmente recoge granos de polen. Además de trasladarlo de una flor a otra, lo transfieren a otras abejas dentro de la colmena, las que a su vez visitan otras flores, prolongando algunas horas la viabilidad del polen por la temperatura y humedad favorables de sus cuerpos (Delaplane y Mayer 2000; Rocha *et al*, 2005).

Aunado a lo anterior, las abejas melíferas son capaces de volar varios metros para forrajear si es necesario, aunque prefieren forrajear cerca de su panal si los recursos lo permiten (Delaplane y Mayer, 2000). Por su parte Muñoz y colaboradores (2005) estimaron de manera general que el radio de cobertura de las abejas melíferas es de 100 a 150 metros. La familia

Anthophoridae también es reconocida por ser abejas de gran tamaño que son capaces de volar grandes distancias (Turner, 2001), lo cual favorecería el intercambio de genes entre individuos geográficamente distantes (Rocha *et al*, 2005). En este estudio el valor medio de flujo de genes (Nm) con el locus Sp1 fue de 7.25, un valor muy alto considerando que la tasa efectiva de migración, de más de un inmigrante por generación, es suficiente para evitar una diferenciación por efectos de deriva génica (Wright, 1931).

De acuerdo con lo anterior el flujo génico alto y la diferenciación genética baja observada con el locus Sp1 en las poblaciones estudiadas podrían estar ligados al intercambio de polen entre individuos por la polinización efectiva realizada por las abejas. Aunque es importante señalar que el tiempo empleado por las abejas en sus visitas a las flores varía según la cantidad de polen y néctar que la flor ofrezca, además del tipo de flor, estado fenológico en relación a la edad de la flor, el número de insectos competidores presentes y las condiciones climáticas (Muñoz *et al*, 2005), lo que podría explicar las diferencias entre los valores de flujo génico obtenidos al comparar las poblaciones estudiadas.

Con respecto a la dispersión de semillas en *P. praecox* se conoce muy poco. Un estudio realizado en la Provincia de Santiago de Estero en Argentina permitió identificar que especies de la misma familia de *P. praecox* como *Cercidium australe* y *Parkinsonia aculeata* principalmente dispersan sus semillas a través de los frutos consumidos por mamíferos silvestres y domésticos como los caballos, vacas, cabras y conejos quienes ingieren los frutos y dispersan las semillas al depositar las heces y, algunas ocasiones, debido a que sus frutos se desprenden fácilmente de la planta madre una vez maduros y son de peso específico reducido presentan dispersión por viento (Abraham de Noir *et al*, 2002). Tomando en cuenta que en Colonia San Martín el pastoreo de animales domésticos como los chivos es muy común (Sánchez-Paredes, 2007) esta actividad podría estar fomentando la dispersión de semillas de *P. praecox* en el área de estudio.

Otro factor al que se puede recurrir para entender por qué *P. praecox* presenta un nivel de diferenciación poblacional bajo, es la historia de las poblaciones estudiadas. De acuerdo con La Secretaría de Comunicaciones y Transportes (2009), entre los años de 1930 y 1950 se construyeron la mayoría de las carreteras federales de Puebla y Oaxaca. Particularmente, la

carretera federal 125 que va de Tehuacán (Puebla) a Huajuapán de León (Oaxaca) y, que dividió a Mogote León y Cooperativa de Mantequera y Reserva, se construyó aproximadamente hace 60 años (Naranjo y Ornelas com. pers.). Por otro lado, la Comunidad de Colonia San Martín se estableció como ranchería en el Municipio de Zapotilán Salinas desde 1921 (INEGI, 2009), por lo que los caminos y las prácticas de aprovechamiento vegetal que realizan los pobladores en la zona tienen aproximadamente 70 años. Esto nos indica que las cuatro poblaciones estudiadas formaban parte de una sola gran población que fue fragmentada relativamente de manera reciente por lo que los efectos genéticos aun no son evidentes. Así mismo, el tiempo y el tipo de aprovechamiento que realizan los pobladores sugieren que podría no haber un impacto aun evidente sobre la diversidad genética de *P. praecox* en las poblaciones estudiadas.

9.3 Relaciones genéticas

Nuevamente observamos que la variación alélica que presenta la población de Mantequera favorece que exista una gran distancia genética entre ella y las restantes poblaciones analizadas. La mayor variación alélica de Mantequera fue encontrada con los loci de ADNcp lo que indica que está siendo favorecido el genoma materno debido que en las angiospermas el ADNcp es heredado por vía materna (Petit *et al*, 2005). El haber encontrado en Mantequera una mayor diversidad alélica se podría explicar porque en esta misma población se registra un mayor número de producción de semillas y porcentaje de germinación con diferencias significativas si se compara con Reforestación y Mogote León (García y Tapia, 2007).

De acuerdo con el agrupamiento UPGMA obtenido con el locus Sp1 la menor distancia genética se encuentra entre Mantequera y Mogote León; estas dos poblaciones presentan individuos de *P. praecox* con mayor altura, cobertura y producción de flores de manera constante (García y Tapia, 2007), características que permitirían una polinización efectiva. Estas similitudes ecológicas podrían explicar su agrupamiento.

La población que se agrupa a Mantequera y Mogote León es Reserva. Esta población ha sido reforestada con individuos provenientes de las otras poblaciones estudiadas y

probablemente por esta razón presenta una variación alélica parecida a Mantequera y Mogote León.

Por su parte aunque Cooperativa es la población que posee un nivel de aprovechamiento mayor y la más alejada geográficamente (Fig. 3) su distancia genética con las restantes poblaciones estudiadas es relativamente bajo. Aunado a esto García y Tapia (2007) reportan que la demografía de *P. praecox* es parecida a la de Mantequera indicando que estas dos poblaciones junto con Mogote León y Reserva formaban parte de una gran población recientemente fragmentada.

9.4 Nivel de aprovechamiento

Los valores de diversidad genética encontrados en *P. praecox* son cercanos y no mayores que los reportados para otras especies que poseen algún tipo de aprovechamiento a diferentes intensidades y calculada con diferentes marcadores moleculares (Casas y Caballero, 1996; Martínez-Palacios *et al*, 1999; Alfonso-Corrado *et al*, 2004; Sodré *et al*, 2005; Tapia-Salcido, 2008).

Los resultados obtenidos para *P. praecox* con los loci de ADNcp no muestran una relación entre el nivel de aprovechamiento y la diversidad genética debido a que solamente la población de Mantequera resultó con diversidad alélica; mientras que con el locus Sp1 la población que presenta la mayor diversidad genética es la que tiene el mayor nivel de extracción (Cooperativa) y la que presenta el valor más bajo de diversidad genética es la que tiene un nivel de extracción nulo (Reserva). Por su parte Mantequera, que presenta un nivel de aprovechamiento mayor que Mogote León, cuenta con una diversidad genética menor que la estimada para Mogote León. Al parecer los valores obtenidos para analizar la diversidad genética de *P. praecox* son explicados de manera más satisfactoria por eventos ecológicos que únicamente por el nivel de extracción que presentan las poblaciones estudiadas. Lo anterior concuerda con el análisis de diversidad genética de *Prosopis laevigata* realizado en la misma zona de estudio donde se concluye que las diferencias de diversidad genética de *P. laevigata* encontradas en las cuatro poblaciones estudiadas no tienen relación con el nivel de

aprovechamiento de la especie (Tapia-Salcido, 2008). Aunado a esto García y Tapia (2007) encontraron que las diferencias detectadas en la demografía de *P. praecox* y *P. laevigata* en Cooperativa, Mantequera, Mogote León y Reserva pueden atribuirse a diferencias ambientales debido a que la práctica de extracción que se realiza en Colonia San Martín (recolección de ramas secas) no incide en los atributos demográficos de esta especie.

Tabla 6. Comparación de estudios de diversidad genética en especies que presentan algún tipo de aprovechamiento.

Especie	Usos	Marcador molecular	He	Fuente
<i>P. praecox</i>	Forraje, leña	microsatélites	ADNn = 0.35 ADNcp = 0.28	Presente estudio
<i>Stenocereus stellatus</i> (Cactaceae)	Comestible, forraje, leña	aloenzimas	Total = 0.28 silvestres = 0.26 manejadas <i>in situ</i> = 0.31 cultivadas = 0.35	Casas y Caballero, 1996
<i>Agave victoriae-reginae</i> (Agavaceae)	Ornamental	aloenzimas	0.33	Martínez-Palacios <i>et al</i> , 1999
<i>Quercus eduardii</i> (Fagaceae)	Forestal	RAPDS	0.32	Alfonso-Corrado <i>et al</i> , 2004
<i>Quercus potosina</i> (Fagaceae)	Forestal	RAPDS	0.35	Alfonso-Corrado <i>et al</i> , 2004
<i>Caesalpinia echinata</i> (Fabaceae)	Ornamental, forestal	AFLPS	0.125	Sodré <i>et al</i> , 2005
<i>Prosopis laevigata</i> (Fabaceae)	Leña, forraje	Microsatélites	0.63	Tapia-Salcido, 2008

He = Heterocigocidad esperada promedio (en el caso de ADNcp diversidad genética promedio)

10. CONCLUSIONES

- ❖ La diversidad genética de *P. praecox* en las cuatro poblaciones estudiadas no sugiere un patrón relacionado con el nivel de aprovechamiento que se realiza de esta especie en Colonia san Martín y las diferencias encontradas se atribuyen a factores ecológicos.
- ❖ La diversidad genética de *P. praecox* calculada con SSRcp es más baja que la obtenida con los SSRnu. Al comparar los resultados obtenidos con los SSRcp y SSRnu se logra identificar que las poblaciones de Cooperativa, Mogote León y Reserva son muy parecidas genéticamente y que la población de Mantequera presenta haplotipos que no se encuentran en las restantes poblaciones estudiadas.
- ❖ Los datos obtenidos en este trabajo pueden ayudar a establecer estrategias de manejo adecuadas para *P. praecox* en Colonia San Martín. Por ejemplo, realizar la reforestación de zonas altamente explotadas en tiempos pasados, como la población de Reserva, con individuos de la población de Mantequera para seguir manteniendo la diversidad genética encontrada en esta especie y seguir limitando la extracción de leña a la recolección exclusiva de ramas secas para no disminuir la diversidad genética de esta especie.

LITERATURA CITADA

- Abraham de Noir, F., S. Bravo y R. Abdala. 2002. Mecanismos de dispersión de algunas especies de leñosas nativas del Chaco occidental y Serrano. *Quebracho, revista de ciencias forestales* 9: 140-150
- Aguirre, P. E. 2007. Flujo génico: métodos para estimarlo y marcadores moleculares. En: *Ecología molecular*. INE, SEMARNAT-CONABIO-UNAM. México D. F., México. Pp 49-61.
- Alesso, S.P., P. Araujo y R. Tapias. 2003. Aprovechamiento de la goma de brea (*Cercidium praecox*) en bosques secundarios de del Parque Chaqueño Seco. Influencia del tamaño de las heridas sobre la producción. *Quebracho* 10: 60-70.
- Alfonso-Corrado C., R. Esteban-Jimenez, R. Clark-Tapia, D. Piñero y J. Campos. 2004. Clonal and genetic structure of two mexican oaks: *Quercus eduardii* and *Quercus potosina* (Fagaceae). *Evolutionary ecology* 18: 585-599.
- Angioi, S., D. Rau, M. Rodríguez y G. Logozzo. 2009. Nuclear and chloroplast microsatellite diversity in *Phaseolus vulgaris* L. from Sardinia (Italy). *Molecular breeding*. 23: 30-42
- Aranguren-Méndez, J.A., R. Román-Bravo, W. Isea, Y. Villasmil & J. Jordana. 2005. Los microsatélites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión. *Archivos latinoamericanos de producción animal* 13: 30-42.
- Arias, A., T. Valverde y J. Reyes. 2001. Las plantas de la región de Zapotitlán Salinas, Puebla. INE, SEMARNAT-UNAM. México D.F., México. Pp 72.
- Barbadilla, A. 2007. La genética de poblaciones. Universidad Autónoma de Barcelona. <http://bioinformatica.uab.es/divulgacion/genpob.html> Consultada el 10 de noviembre de 2007.
- Becerra, V. y M. Paredes. 2000. Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética. *Agricultura técnica* 60: 270-281.

Blanckaert, I., R. L. Swennen, M. Paredes, R. Rosas y R. Lira. 2004. Floristic composition, plant uses and management practices in homegardens of San Rafael Coxcatlán, Valley of Tehuacán-Cuicatlán, México. *Journal of arid environments* 57: 39-62.

Bruneau, A. y F. Forest. 2001. Phylogenetic relationships in the Caesalpinioideae (Leguminosae) as inferred from chloroplast trnL intron sequences. *Systematic botany* 26: 487–514.

Burkart, A. y A. Carter. 1976. Notas en el género *Cercidium* (Caesalpinioideae) en Sud América. *Darwiniana* 20: 305-311.

Cabrera, M. y C. Salgado. 2006. Contribución al estudio de la flora melífera de la provincia de Formosa, Argentina. *Comunicaciones científicas y tecnológicas. Universidad Nacional del Nordeste*.

Carrizo, E., M. Palacio y L. Roic. 2002. Plantas de uso medicinal en la flora de los alrededores de la ciudad de Santiago del Estero (Argentina). *Dominguezia* 18: 26-35.

Casas, A. y J. Caballero. 1996. Diversidad morfológica y genética de xoconochtli *Stenocereus stellatus* (Pfeiffer) Riccob, (Cactaceae): conocimiento, usos y estrategias para su conservación. <http://www.conabio.gob.mx>. Consultada el 10 de noviembre de 2008.

Casas, A., A. Valiente-Banuet, J. Viveros, J. Caballero, L. Cortés, P. Dávila, R. Lira y I. Rodríguez. 2001. Plant resources of the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Economic botany* 55: 129-166.

Chifa, C., S. Montenegro, C. Avallone y S. Pire. 2000. Calidad polínica de las mieles producidas en el Depto. Güemes de la Prov. del Chaco (Argentina). *Comunicaciones científicas y tecnológicas. Universidad Nacional del Nordeste*.

Convención sobre el comercio internacional de especies amenazadas de flora y fauna silvestres (CITES), 2008. Appendices I, II, and III to the convention on international trade in endangered species of wild fauna and flora. United States Fish and Wildlife Service, Washington, DC. <http://www.cites.org>. Consultada el 21 de octubre de 2008.

- Cruzan, M. 1998. Genetic markers in plant evolutionary ecology. *Ecology* 79: 400-412.
- Dávila, P. 2002. La flora útil de dos comunidades del Valle de Tehuacán-Cuicatlán: Zapotitlán Salinas y San Rafael Coxcatlán, Puebla. <http://www.conabio.gob.mx>. Consultada el 24 de septiembre de 2007.
- Dávila, P., M. Arizmendi, A. Valiente-Banuet, J. L. Villaseñor, A. Casas y R. Lira. 2002. Biological diversity in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Biodiversity and conservation* 11: 421-442.
- Dávila, P. 2007. Cuenca Río Zapotitlán, Puebla. Reunión de evaluación del Macroproyecto: Manejo de ecosistemas y desarrollo humano 2005-2007 (UNAM SDEI-PTID-02). Facultad de Ciencias, UNAM. México D.F., México.
- De Vicente, M., C. López y T. Fulton. 2004. Conceptos básicos de genética de poblaciones. En: Análisis de la diversidad genética utilizando marcadores moleculares: modulo de aprendizaje. Instituto Internacional de Recursos Filogenéticos (IPGRI), Universidad Nacional Agraria de Perú y Cornell University. <http://www.bioversityinternational.org>. Consultado el 13 de agosto de 2008.
- Decroocq, V., S. Hagen, G. Favé, P. Eyquard y A. Pierronnet. 2004. Microsatellite markers in the hexaploid *Pronus domestica* species and parentage lineage of three European plum cultivars using nuclear and chloroplast simple-sequence repeat. *Molecular breeding*. 13: 135-142.
- Del Giudice, J., A. Magno y P. Yoshio. 2005. Diversidade genética de uma população “ex situ” de *Caesalpinia echinata* Lam. *Scientia forestalis* 69: 125-133.
- Del Vito, L., E. M. Petenatti y M. E. Petenatti. 1997. Recursos herbolarios de San Luis (República Argentina). Primera parte: plantas nativas. *Multequina* 6: 49-66.
- Delaplane, K. y D. Mayer. 2000. Crop pollination by bees. CABI Publishing. New York, USA. Pp 344.

Diario Oficial de la Federación (DOF), 1998. Decreto de la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán. 18 de septiembre de 1998

Eguiarte, L. E. 1999. Una guía para principiantes a la Genética de Poblaciones. En: La evolución biológica. UNAM. México D. F., México. Pp 35-50.

Felger, R., M. Johnson y M. Wilson. 2001. The trees of Sonora, Mexico. Oxford University Press Inc. New York. USA. Pp 391.

Fineschi, S., D. Salvini, D. Turchini, R. Pastorelli y G. Vendramin. 2005. *Crataegus monogyna* Jacq. and *C. laevigata* (Poir.) DC. (Rosaceae, Maloideae) display low level of genetic diversity assessed by chloroplast markers. Plant systematics and evolution 250: 187-196.

Furnier, G. R. 2004. Métodos para medir variación genética en las plantas. En: Manejo de recursos genéticos forestales. Colegio de Posgraduados, Montecillos, Estado de México y Comisión Nacional Forestal, Zapopan, Jalisco. Pp 20-31.

García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación de Koppen (para adaptarlas a las condiciones de la República Mexicana). Instituto de Geografía, UNAM. México D.F., México.

García, M. y M. Tapia. 2007. Aspectos demográficos de *Prosopis laevigata* y *Parkinsonia praecox*, especies utilizadas como leña en Colonia San Martín, Zapotitlán Salinas, Puebla. Tesis (licenciatura). FES Iztacala, UNAM. Tlalnepantla, Estado de México, México.

Gómez, A. 2003. Los Popolocas de Tecamachalco-Quecholac: historia, cultura y sociedad de un señorío prehispánico. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, Puebla. México. Pp 317.

González, A. C. 2002. Detección de polimorfismo genético mediante marcadores bioquímicos en plantas. En: Marcadores moleculares. Nuevos horizontes en la genética y selección de plantas. Félix Varela. La Habana, Cuba. Pp 36-66.

Halffter, G. y E. Ezcurra. 1992. ¿Qué es la biodiversidad?. En: La diversidad biológica de Iberoamerica I. Instituto de Ecología, A. C., Xalapa, Veracruz, México. Pp 3-24.

Harish, G., M. Vales, C. Watson, C. Mallory-Smith, N. Mori, M. Rehman, R. Zemetra y O. Riera-Lizarazu. 2005. Chloroplast and nuclear microsatellite analysis of *Aegilops cylindrica*. Theoretical and applied genetics 111: 561-572.

Hartl, D. y A. Clark. 1989. Principles of Population genetics. Sinauer Associates. Massachusetts, U.S.A. Pp 682.

Imazio, S., M. Labra, F. Grassi, A. Scienza y O. Failla. 2006. Genetic resources and crop evolution 53: 1003-1011.

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI), 1998. Carta Topográfica Tehuacán, E14B75, escala 1:50 000. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México D.F.

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI), 2009. Archivo histórico de localidades. <http://www.inegi.org.mx>. Consultada el 28 de marzo de 2009.

Jiménez P. y C. Collada. 2000. Técnicas para la evaluación de la diversidad genética y su uso en los programas de conservación. Investigación agrícola: sistemas de recursos forestales 2: 237-248.

Kamau, E., S. Mayes y A. Barrett. 2003. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Schizolobium parahyba* (Leguminosae). Molecular ecology notes 3: 469-470

Labrada, G. 2005. Propagación in vitro de *Parkinsonia praecox* (Ruiz & Pavon) Hawkins (caesalpiniaceae) del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla. Tesis (Licenciatura). FES Iztacala, UNAM. Estado de México, México.

Lemus-Jiménez, L. y N. Ramírez. 2003. Polinización y polinizadores en la vegetación de la planicie costera de Paraguana, Estado Falcon, Venezuela. Acta científica venezolana 54: 97-114.

López-Galindo, F., D. Muñoz-Iniestra, M. Hernández-Moreno, A. Soler-Aburto, M. C. Castillo-López y I. Hernández-Arzate. 2003. Análisis integral de la toposecuencia y su influencia en la distribución de la vegetación y la degradación del suelo en la Subcuenca de Zapotitlán Salinas, Puebla. Boletín de la sociedad geológica mexicana 1: 19-41.

Loveless, M. y J. Hamrick. 1984. Ecological determinant of genetic structure in plant populations. Annual review of ecology and systematic 15: 65-95.

Martínez-Palacios, A., L. Eguiarte y G. Furnier. 1999. Genetic diversity of the endangered endemic *Agave victoriae-reginae* (Agavaceae) in the chihuahuan desert. American journal of botany 86: 1093-1098.

Mc Cauley, D. 1995. The use of chloroplast DNA polymorphism in studies of gene flow in plant. Trends in ecology and evolution. 10: 198-2002.

Miller, M. P. 1997. Tools for population genetic analyses (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Software distribuido por el autor.

Molina, G. J. 1992. Introducción a la genética de poblaciones y cuantitativa. A.G.T. Editor, México D.F., México. Pp 349.

Mottura, M., R. Finkeldey, A. Verga y O. Gailing. 2005. Development and characterization of microsatellite markers for *Prosopis chilensis* and *Prosopis flexuosa* and cross-species amplification. Molecular ecology notes 5: 487-489

Muller, F., M. Voccia, A. Ba y J. Bouvet. 2009. Genetic diversity and gene flow in a Caribbean tree *Pterocarpus officinalis* Jacq.: a study based on chloroplast and nuclear microsatellites. Genetica. 135:185-198

Muñoz, A., M. Ayuso y J. Labrador. 2005. Polinización de cultivos. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. Pp 232.

- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American naturalist* 106: 283-292.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the national academy of sciences* 70: 3321-3323.
- Neyra, L. y L. Durand. 1998. Biodiversidad. En: *La diversidad biológica de México: estudio de país*. CONABIO, México D.F., México. Pp 61-102.
- Nixon, K. C. 1993. The genus *Quercus* in Mexico. En: *Biological diversity of Mexico: origins and distribution*. Oxford University Press. Pp 812.
- Norma oficial mexicana 059 (NOM-059-ECOL-2001). 2001. <http://www.wwf.org.mx>. Consultada el 21 de octubre de 2008.
- Osorio, B. O., A. Valiente-Banuet, P. Dávila y R. Medina. 1996. Tipos de vegetación y diversidad β en el Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla. *Boletín de la sociedad botánica de México* 59: 35-58.
- Paredes-Flores, M., R. Lira y P. Dávila. 2007. Estudio etnobotánica de Zapotitlán Salinas, Puebla. *Acta botánica mexicana* 79: 13-61.
- Penningtón, D. T. y J. Sarukhán. 2005. Árboles tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies. Fondo de Cultura Económica y la UNAM. México D.F., México. Pp 523.
- Pérez-Negrón, E. y A. Casas. 2007. Use, extraction rates and spatial availability of plant resources in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico: The case of Santiago Quiotepec, Oaxaca. *Journal of arid environments* 70: 356–379.
- Petit, J., J. Duminil, S. Fineschi y A. Hampe. 2005. Comparative organization of chloroplast mitochondrial and nuclear diversity in plant population. *Molecular ecology* 14: 689-701.

Ramírez, A. 1996. Contribución al conocimiento de la flora medicinal de Zapotitlán de las Salinas, Puebla. Tesis (Licenciatura). Facultad de Ciencias, UNAM. México D. F., México.

Rocha, P., D. Arias, L. Rey y C. Montoya. 2005. Caracterización molecular de materiales *Elaeis guineensis* (Jacq.) procedentes de Angola. Fitotecnia colombiana 5: 1-10

Rodríguez, M. y A. Arencibia. 2002. Principales tipos de marcadores del polimorfismo de los ácidos nucleicos. Técnicas analíticas. En: Marcadores moleculares. Nuevos horizontes en la genética y selección de plantas. Félix Varela, La Habana, Cuba. Pp 13-35.

Rosas, R. 2006. Aspectos etnobotánicos y demográficos de *Parkinsonia praecox* (Ruiz y Pavon) Hawkins, especie útil de Zapotitlán Salinas, Puebla. Tesis (Maestría). FES Iztacala, UNAM. Tlalnepantla, Estado de México, México.

Rozzi, R., P. Feinsinger, F. Massardo y R. Primack. 2001. ¿Qué es la diversidad biológica?. En: Fundamentos de conservación biológica. Fondo de Cultura Económica. México D.F., México. Pp 59-97.

Sambrook, J.J., E.F. Fritsch y T. Maniatis. 1989. Molecular cloning. A laboratory manual. Cold Spring Harbour Laboratory Press. New York, USA.

Sánchez, L. 2007. Diagnóstico y consecuencias ecológicas de la extracción y consumo de la leña en Colonia San Martín, Valle de Zapotitlán, Pue. Tesis (Maestría). FES Iztacala, UNAM. Tlalnepantla, Estado de México, México.

Scarpa, G. 2002. Plantas empleadas contra trastornos digestivos en la medicina tradicional criolla del Chaco Noroccidental. Dominguezia 18: 36-50.

Secretaría de Comunicaciones y Transportes. 2009. Cronología de la Secretaría de Comunicaciones y Transportes. <http://www.sct.org.mx>. Consultada el 28 de marzo de 2009.

Slatkin, M. y N. Barton. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. Evolution 43: 1349-1368.

Sodré, S., J. Provan, C. Da Fonseca, L. Ramos, P. Gomes y M. Aires. 2005. High levels of genetic structuring as a result of population fragmentation in the tropical tree species *Caesalpinia echinata* Lam. *Biodiversity and conservation* 14: 1047–1057.

Tapia, H. 2008. Análisis de la diversidad genética del mezquite (*Prosopis laevigata*) en el valle de Tehuacán-Cuicatlán. Tesis (licenciatura). FES Iztacala, UNAM. Tlalnepantla, Estado de México, México.

Turner, I. 2001. The ecology of trees in the tropical Rain Forest. Cambridge University Press. Pp 298.

Ueno, S., S. Setsuko, T. Kawahara y H. Yoshimaru. 2005. Genetic diversity and differentiation of the endangered Japanese endemic tree *Magnolia stellata* using nuclear and chloroplast microsatellite markers. *Conservation genetic* 6: 563-574.

United State Department of Agriculture (USDA), 2007. Germplasm resources information network (GRIN), Base de datos en línea. <http://www.ars-grin.gov> Consultada el 22 de noviembre de 2007.

Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), 2007. Macroproyecto Manejo de ecosistemas y desarrollo humano, informe de actividades 2005-2007 (UNAM SDEI-PTID-02). <http://www.iztacala.unam.mx/mmrg/mega>. Consultada el 12 de agosto de 2008.

Vergara, C. 1999. Apoidea (Hymenóptera) del Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla. <http://www.conabio.gob.mx>. Consultada el 23 de enero de 2009.

Weising, K. y R. Gardner. 1999. A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. *Genome* 42: 9-19.

Wolfe, K., L. Li y P. Sharp. 1987. Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast and nuclear DNAs. *Proceeding of the national academy of sciences* 84: 9054-9658.

Wright, S. 1931. Evolution in mendelian populations. *Genetics* 16: 97-159.

Wright, S. 1978. Evolution and the genetics of populations. Vol. 4: variability within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago.

Yeh, F., R. Yang y T. Boyle. 1999. POPGENE Versión 1.31. University of Alberta and Centre for International Forestry Research.