



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES  
UNIDAD MORELIA**

**“DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE *Brosimum alicastrum* Sw.  
(Moraceae) EN MÉXICO”**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:  
**GABRIELA LÓPEZ BARRERA**

**TUTOR PRINCIPAL: DR. ALBERTO KEN OYAMA NAKAGAWA**  
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES, UNIDAD MORELIA, UNAM.

**COMITÉ TUTOR: DR. MAURICIO RICARDO QUESADA AVENDAÑO**  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD, UNAM.  
**DR. JUAN SERVANDO NÚÑEZ FARFÁN**  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM.

MORELIA, MICHOACÁN. NOVIEMBRE, 2018.



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.





**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES  
UNIDAD MORELIA**

**“DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE *Brosimum alicastrum* Sw.  
(Moraceae) EN MÉXICO”**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:  
**GABRIELA LÓPEZ BARRERA**

**TUTOR PRINCIPAL: DR. ALBERTO KEN OYAMA NAKAGAWA**  
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES, UNIDAD MORELIA, UNAM.

**COMITÉ TUTOR: DR. MAURICIO RICARDO QUESADA AVENDAÑO**  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD, UNAM.  
**DR. JUAN SERVANDO NÚÑEZ FARFÁN**  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM.

MORELIA, MICHOACÁN. NOVIEMBRE, 2018.



OFICIO CPCB/857/2018

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado.


Lic. Ivonne Ramírez Wence  
Directora General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que, en la reunión ordinaria del Subcomité de Biología Evolutiva y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 27 de agosto de 2018, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **LÓPEZ BARRERA GABRIELA** con número de cuenta **512011981** con la tesis titulada: "**Diversidad y Estructura Genética de *Brosimum alicastrum* Sw. (Moraceae) en México**" bajo la dirección del Dr. Alberto Ken Oyama Nakagawa:

Presidente:	Dr. Juan Francisco Ornelas Rodríguez
Vocal:	Dr. Antonio González Rodríguez
Secretario:	Dr. Mauricio Ricardo Quesada Avendaño
Suplente:	Dr. Eduardo Ruiz Sánchez
Suplente:	Dr. Juan Servando Núñez Farfán

Sin otro particular, quedo de usted.

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"**  
Cd. Universitaria, CDMX., a 20 de septiembre de 2018.

  
**DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA**  
**COORDINADOR DEL PROGRAMA**



## **AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES**

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACyT (Becario No. 262638).

A mi tutor principal el Dr. Alberto Ken Oyama Nakagawa.

A mi comité tutor el Dr. Mauricio Ricardo Quesada Avendaño y al Dr. Juan Núñez Farfán.

## **AGRADECIMIENTOS A TITULO PERSONAL**

Al Dr. Ken Oyama Nakagawa por todo el apoyo que siempre me ha brindado durante estos años, así como por su constante motivación para siempre superarnos y ser excelentes en nuestro trabajo.

A los miembros del comité tutor al Dr. Mauricio Ricardo Quesada Avendaño y al Dr. Juan Núñez Farfán por su tiempo, disposición y apoyo en este trabajo.

A los miembros del jurado de examen, al Dr. Juan Francisco Ornelas Rodríguez, al Dr. Antonio González Rodríguez, al Dr. Mauricio Ricardo Quesada Avendaño, al Dr. Eduardo Ruiz Sánchez y al Dr. Juan Servando Núñez Farfán por tomarse el tiempo en revisar mi trabajo y por todas las correcciones que sirvieron a la mejora de mi tesis.

Al Dr. Guillermo Ibarra Manríquez y al Dr. Emmanuel Pérez Calix por su trabajo en la determinación taxonómica de las muestras de herbario colectadas para este trabajo.

Al Dr. Víctor Rocha por su apoyo invaluable en el laboratorio que ayudo enormemente en la realización de este trabajo. Por su apoyo no solo en lo laboral sino en lo personal, gracias por ser siempre amigo y apoyarme en todo.

A Juan Manuel Peñaloza Ramírez, Francisco Alberto Rivera Ortiz, Rafael Aguilar Romero y Edgar Ismael Olvera Mendoza por todo su apoyo en el trabajo de campo.

A todos mis compañeros del laboratorio de Ecología Genética, a Juan, Ana, Rafa, Cesar, Will, Paco Beto, Lorena, Fernando, Vanesa, Esther, Reyna, Claudia y Beto.

A mi madre (Monita) por su infinito amor, comprensión y apoyo incondicional.

A mi familia Mario, Sandra, Nadia, Héctor, Rosario, Sofia y Matías, porque ustedes son el motivo que siempre me inspira y motiva a seguir adelante.

A mis wuares hermosas que tanto quiero Paulina y Liliana.

A Rafael Aguilar Romero por todo este tiempo juntos compartiendo la vida en sus diferentes facetas. Gracias por todo.

A las personas que tanto quiero pero que ahora están en un lugar muy especial, a mi papá Mario, Consuelo, Yolanda, Hugo, Jorge y Ángel.

A todas las personas que conocí en cada rincón de México durante mi trabajo de campo, por su trabajo, esfuerzo y tiempo para ayudarme a coleccionar. Este trabajo no hubiera sido posible sin ustedes.



*Con todo mi amor a las mujeres de mi vida  
Sandra, Consuelo, Yolanda y Rosalba.*

# ÍNDICE

RESUMEN .....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN .....	3
DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE .....	8
<i>Brosimum alicastrum</i> Swartz. ....	8
<i>Usos del “Ramón”</i> .....	13
OBJETIVO GENERAL .....	15
ANTECEDENTES.....	16
METODOLOGÍA .....	21
1. COLECTA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS .....	21
2. TRABAJO DE LABORATORIO .....	23
<i>EXTRACCIÓN DE ADN</i> .....	23
<i>AMPLIFICACIÓN DE MICROSATÉLITES</i> .....	24
3. ANÁLISIS GENÉTICO.....	26
<i>DIVERSIDAD GENÉTICA</i> .....	26
<i>ESTRUCTURA GENÉTICA</i> .....	29
RESULTADOS.....	33
<i>DIVERSIDAD GENÉTICA</i> .....	33
<i>ESTRUCTURA GENÉTICA</i> .....	35
DISCUSIÓN .....	42
CONCLUSIONES .....	50
BIBLIOGRAFÍA .....	51
APÉNDICE.....	64

## RESUMEN

Los bosques tropicales albergan el 60% de la biodiversidad global, por lo que son considerados los principales centros de riqueza biológica, de especiación y variabilidad genética. En México se localiza una de las extensiones más importantes de este tipo de vegetación. Sin embargo, nuestro país ha perdido más del 70% de sus bosques tropicales. La devastación y fragmentación forestal no sólo produce pérdida de la biodiversidad, sino que además pone en peligro la supervivencia a largo plazo de las especies, por lo que el mantenimiento de la variabilidad genética de las mismas es fundamental. En este sentido, los estudios sobre la variación genética, estructura genética y el flujo de genes, son esenciales para la generación de estrategias eficientes para la conservación de los recursos genéticos en los bosques tropicales. *Brosimum alicastrum* es un árbol tropical perennifolio de amplia distribución en México, el cual puede ser una especie dominante en algunos tipos de vegetación tropical. Esta especie ha sido empleada exitosamente en programas de conservación y restauración ecológica. Por otro lado, en algunas zonas del país, *B. alicastrum* conocida comúnmente como “ramón”, es empleada para diferentes usos con múltiples beneficios, por lo que ha sido considerada como una “planta tropical con potencial económico”. En este estudio se evaluó la diversidad y estructura genética de *Brosimum alicastrum* mediante el uso de microsatélites nucleares en poblaciones naturales a lo largo de su distribución en México. Los resultados mostraron que *B. alicastrum* presenta una alta variabilidad genética ( $H_o= 0.665/H_e= 0.585$ ) donde la mayor variación se encuentra dentro de las poblaciones. Se encontró una fuerte estructura genética ( $F_{ST}= 0.37$ ), con la presencia de tres grupos genéticos bien delimitados. Existe un mayor flujo génico entre las poblaciones geográficamente más cercanas, existiendo un patrón de aislamiento por distancia ( $r= 0.56$ ). *Brosimum alicastrum* presenta el mismo patrón que se observa en otras especies de árboles tropicales y plantas leñosas, es decir, altos niveles de variación genética. Por otro lado, nuestros datos no responden si la alta estructura genética que muestra la especie es un reflejo de una estructura genética histórica y barreras cripticas a la reproducción, por lo que se sugiere ampliamente la realización de un estudio filogeográfico para la especie en México.

## ABSTRACT

Tropical forests contain to 60% of global biodiversity and are considered the main centers of biological richness, speciation and genetic variability. One of the most important extensions of this vegetation type is located in México. However, our country has lost more than 70% of its tropical forests. Forest devastation and fragmentation not only leads to loss of biodiversity, but also endangers the long-term survival of species, so maintaining their genetic variability of these is fundamental. In this sense, studies on genetic variation, genetic structure and gene flow are essential for the generation of efficient strategies for the conservation of genetic resources in tropical forests. *Brosimum alicastrum* is a perennial tropical tree widely distributed in Mexico, which may become a dominant element in some tropical vegetation types. This species has been successfully used in conservation and ecological restoration programs. On the other hand, in some areas of the country, *Brosimum alicastrum* commonly known as “Ramón” is used for different applications with multiple benefits, so it has been considered as a “tropical plant with economic potential”. We evaluated the diversity and genetic structure of *Brosimum alicastrum* through the use of nuclear microsatellite molecular markers in natural populations throughout its distribution in Mexico. The results showed that *Brosimum alicastrum* presents a high genetic variability ( $H_o= 0.665/H_e= 0.585$ ), with greatest variation distributed within populations. We found a strong genetic structure ( $F_{ST}= 0.37$ ), with the presence of three well defined genetic groups. There is a greater gene flow among populations geographically closer, there is a pattern of isolation by distance ( $r= 0.56$ ). *Brosimum alicastrum* presents the same pattern observed in other species of tropical trees and woody plants, i.e. high levels of genetic variation. On the other hand, our data do not respond if the high genetic structure showing the species is a reflection of a historical genetic structure and cryptic barriers to reproduction, so it is widely suggested to carry out a phylogeographic study for the species in Mexico.

## INTRODUCCIÓN

Los bosques tropicales de tierras bajas, mejor conocidos como selvas, son los ecosistemas terrestres con la mayor diversidad biológica y complejidad ecológica del planeta (Richards, 1957; Terborgh, 1992; Martínez-Ramos *et al.*, 2012). Estos bosques son considerados los principales centros de mantenimiento de la biodiversidad, de especiación y de variabilidad genética del planeta (Gentry, 1988). Ocupan alrededor de 12 millones de km<sup>2</sup> donde se alberga el 60% de la biodiversidad del planeta, contribuyendo de una manera importante a la riqueza biológica global (Gentry, 1988; Myers, 1989; Mittermeier y Goettsch, 1992; Turner y Corlett, 1996; Koleff *et al.*, 2012). Por ejemplo, una sola hectárea de selva amazónica puede llegar a tener hasta 300 especies arbóreas y se estima que existen por lo menos unas 22,500 especies de árboles tan sólo en el bosque húmedo Neotropical (Dick, 2010). Las extensiones más importantes de bosques tropicales (60%) con la mayor riqueza biológica y ecológica, están localizadas principalmente en Colombia, Brasil, México, Perú, Costa Rica y Ecuador (Gentry, 1988; Reading *et al.*, 1995).

En México podemos encontrar ocho tipos de bosques tropicales agrupados en dos categorías, según la clasificación del INEGI (2005): los bosques tropicales perennifolios y los bosques tropicales caducifolios (Figura 1).

Los bosques tropicales perennifolios que incluyen a las selvas altas y medianas perennifolias y subperennifolias, se encuentran casi de manera exclusiva en la vertiente del Atlántico (planicies del Golfo de México, sur y este de la Península de Yucatán y el este de Chiapas) y algunas secciones en la Sierra Madre de Chiapas y en las faldas bajas de la Sierra Madre del Sur en Guerrero y Oaxaca (Challenger y Soberón, 2008). La vegetación de este tipo de bosque tropical es de afinidad Neotropical (Rzedowski, 1998) aunque con los últimos registros fósiles, se comienza a considerar la importancia de los elementos florísticos Neárticos propios de las Américas, ya que varios linajes denominados como Neotropicales parecen haber tenido ancestros muy antiguos cuya distribución natural incluía a América del Norte y México (Challenger y Soberón, 2008; Cevallos-Ferriz *et al.*, 2012). Las selvas húmedas tienen los valores más elevados de riqueza de especies que cualquier otro ecosistema terrestre, este tipo de vegetación aporta el 17% de la flora de México (5,000 a 30,000 especies) (Villaseñor, 2004; Challenger y Soberón, 2008) (Figura 1).

Por otro lado, los bosques tropicales caducifolios que incluyen a la selva baja caducifolia (vegetación que domina la costa del Pacífico y la Cuenca del Balsas), la selva baja subcaducifolia, la selva mediana caducifolia y subcaducifolia (típicas del centro-norte de la Península de Yucatán), se distribuyen principalmente a lo largo de la costa del Pacífico, en las faldas bajas y cañones en la Sierra Madre Occidental, en las llanuras, planicies y zonas bajas de la Península de Yucatán, planicies y al sur de Veracruz y Tabasco (Challenger y Soberón, 2008). Con respecto a su flora, este tipo de vegetación presenta un componente endémico muy importante y contribuye al país con el 20% de la flora (6,000 especies) (Rzedowski, 1998) (Figura 1).

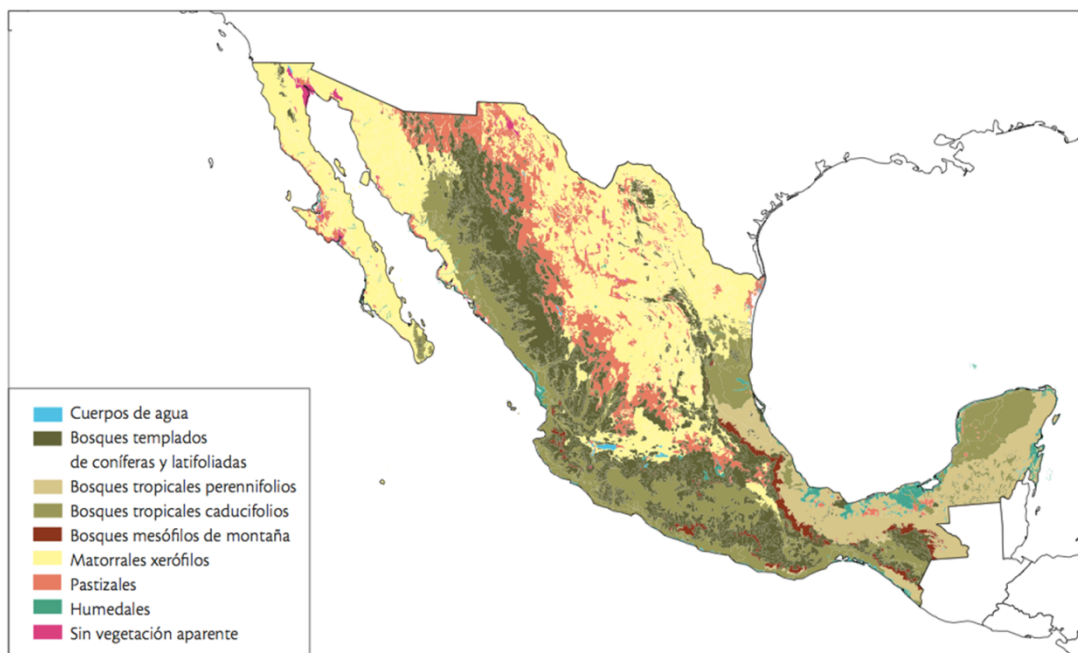


Figura 1. Agrupaciones de vegetación según clasificación del INEGI (2005). Tomado de Challenger y Soberón, 2008.

Sin embargo, las selvas han sufrido un fuerte proceso de deforestación y degradación, resultado de un complejo conjunto de factores socio-económicos y demográficos. Este fenómeno ha ocasionado la pérdida importante de estos tipos de vegetación en todo el mundo, estimándose que hoy en día abarcan menos del 50% de su cobertura original (Martínez-Ramos *et al.*, 2012).

Según datos de la FAO, México ocupa uno de los primeros lugares en tasas de deforestación a nivel mundial. En nuestro país, los bosques tropicales han sufrido una gran alteración, estimándose que entre el 80% y 90% han sido talados o alterados principalmente para

la actividad agropecuaria (Guevara *et al.*, 2004) (Figura 2). Hoy en día, México ha perdido más del 70% de sus selvas, estimándose que la cobertura actual es menos del 30.78% (Pennigton y Sarukhán, 2012) o incluso menos del 25% (Challenger y Soberón, 2008) lo que ha provocado su desaparición en gran parte del territorio (Cuadro 1).

Cuadro 1. Datos de la distribución original y actual de la vegetación tropical en México.

Categoría	Distribución original	Distribución actual
<i>Bosques Tropicales Perennifolios</i>	17.82 millones de hectáreas (9.1%) (INEGI, 2003)	3.16 millones de hectáreas (primaria) 6.31 millones de hectáreas (secundaria) (4.82%) (INEGI, 2005)
<i>Bosques Tropicales Caducifolios</i>	33.51 millones de hectáreas (INEGI, 2003)	7.93 millones de hectáreas (primaria) 14.19 millones de hectáreas (secundaria) (11.26%) (INEGI, 2005)

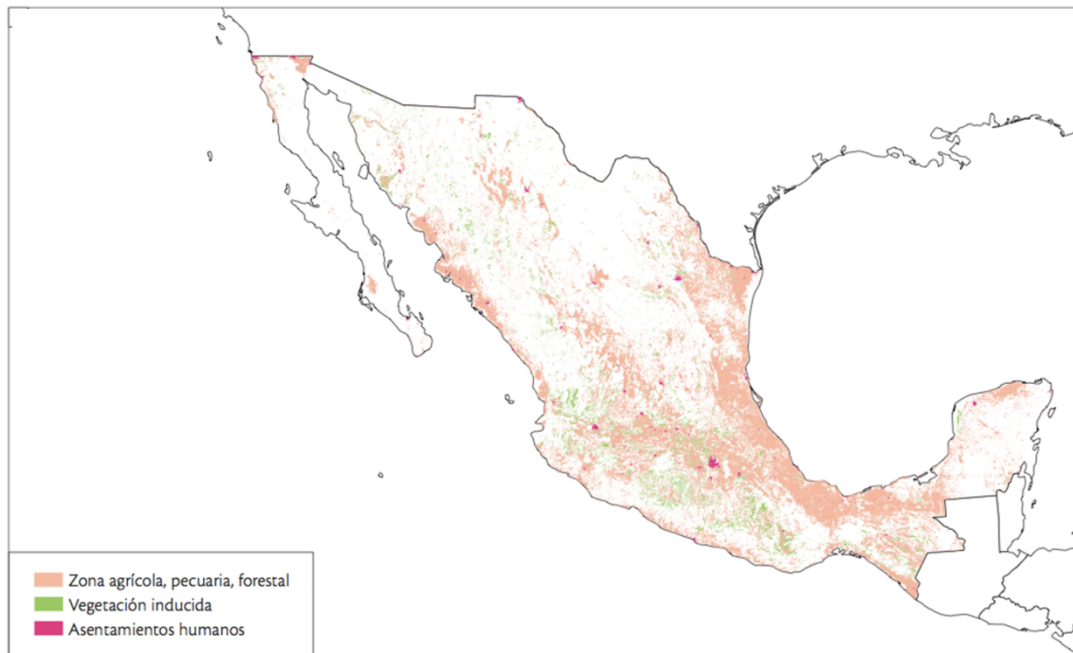


Figura 2. Uso de suelo y vegetación según datos del INEGI (2005). Tomado de Challenger y Soberón, 2008.

La fragmentación de los bosques tropicales ha cambiado el paisaje original a un mosaico de hábitats remanentes (Collevatti *et al.*, 2001; Aguilar-Aguilar, 2016), debido a la reducción del tamaño del bosque y el aislamiento espacial entre los parches, produciendo cambios en la

estructura de las poblaciones de plantas y animales (Aguilar-Aguilar, 2016). En este proceso, las poblaciones más grandes se reducen y subdividen, llegando posiblemente al aislamiento (Estrada *et al.*, 1993; Collevatti *et al.*, 2001).

La devastación y fragmentación forestal no sólo produce pérdida de la biodiversidad, sino que además pone en peligro la supervivencia a largo plazo de las especies, por lo que el mantenimiento de la variabilidad genética de las mismas es fundamental (Ferreira-Ramos *et al.*, 2008). La fragmentación puede reducir esta variabilidad, por eventos de cuellos de botella genéticos, mientras que posteriormente un efecto fundador, la deriva genética y el flujo génico restringido pueden aumentar el aislamiento genético poblacional y su divergencia (Collevatti *et al.*, 2001). Otros autores han encontrado que la fragmentación puede inducir cambios en la estructura genética, el flujo de genes y los patrones de apareamiento de las poblaciones de árboles tropicales (Collevatti *et al.*, 2001).

Las estrategias eficientes para la conservación de los recursos genéticos en los bosques tropicales son de gran importancia, debido a los impactos negativos derivados de la destrucción y reducción biológica en estos sistemas (Nazareno *et al.*, 2009). Los estudios ecológicos sobre el flujo de genes y la estructura genética de las poblaciones son esenciales para la conservación de las especies (Murdoch *et al.*, 2013). En este sentido, una aplicación primordial de los marcadores genéticos es la evaluación de los patrones de variación genética dentro y entre poblaciones, lo que ha mejorado en gran medida la comprensión acerca de los procesos que influyen en los patrones genéticos de las plantas de bosques tropicales (Finkeldey y Hattemer, 2007).

Los marcadores de microsatélites (SSR), segmentos cortos de ADN (1–6 pb) que se repiten en tándem de forma aleatoria en regiones no codificantes del genoma (Goldstein y Schlotterer, 1999; Aranguren-Méndez *et al.*, 2005), se han vuelto en una herramienta importante para la investigación. En este sentido, los microsatélites se han empleado exitosamente para la realización de estudios genéticos, debido a características particulares que los hacen ideales para este tipo de estudios, como por ejemplo, su alto polimorfismo, que son codominantes (pudiendo diferenciar los individuos homocigotos de los heterocigotos), selectivamente neutros, abundantes en los genomas, altamente reproducibles, presentan altas tasas de mutación y algunos tienen una alta capacidad de amplificar loci ortólogos en especies relacionadas (Aranguren-Méndez *et al.*, 2005; Nazareno *et al.*, 2009; Guidugli *et al.*, 2012). Esta última característica, resulta ser una propiedad importante, ya que los microsatélites desarrollados para una especie pueden detectar



polimorfismo y ser funcionales en especies relacionadas (Dayanandan *et al.*, 1999, Nazareno *et al.*, 2009). Por ejemplo, microsatélites desarrollados en especies de subgéneros distintos pueden ser funcionales en especies relacionadas, como en el caso de *Ficus citrifolia* y *Ficus eximia*, especies pertenecientes a dos subgéneros distintos de *Ficus* (Nazareno *et al.*, 2009), o incluso pueden ser funcionales en especies distantemente relacionadas que divergieron millones de años atrás como en el caso de *Ficus racemosa* y *Ficus rubiginosa* (Crozier *et al.*, 2007). La alta transferibilidad de los microsatélites en especies distintas, resulta ser una característica excepcionalmente útil sobre todo en árboles tropicales, ya que un número limitado de estudios han caracterizado microsatélites para este tipo de organismos (Dayanandan *et al.*, 1999). Además, debido a su alta diversidad alélica, estos marcadores llegan a tener un poder discriminatorio fuerte, por lo que actualmente se han convertido en una herramienta popular en las disciplinas como la genética de poblaciones y genética de la conservación (Dayanandan *et al.*, 1999), generando información sobre los patrones de variación genética, flujo genético, estructura genética y sistemas de apareamiento en poblaciones naturales (Brondani *et al.*, 2003; Finkeldey y Hattemer, 2007; Nazareno *et al.*, 2009).

El empleo de microsatélites en este tipo de estudios resulta ser de suma importancia para la generación de información genética, la cual resulta ser necesaria y útil en el planteamiento y desarrollo de mejores estrategias de manejo y conservación en especies arbóreas tropicales (Brondani *et al.*, 2003; Guidugli *et al.*, 2009).

## DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE.

### *Brosimum alicastrum* Swarts.

La Familia Moraceae presenta una distribución donde la mayoría de sus especies se localizan en las zonas intertropicales del mundo principalmente en Asia y en las islas del Indopacífico (Zerega *et al.*, 2005; Carvajal, 2007). Esta familia se compone de unas 1100 especies que corresponden a 37 géneros (Datwyler y Weiblen, 2004; Zerega *et al.*, 2005; Carvajal, 2007). En México podemos encontrar 10 géneros con 54–58 especies distribuidas a lo largo del territorio (Carvajal, 2007). Moraceae ha sido dividida en cinco tribus: Artocarpeae, Castilleae, Ficeae, Moreae y Dorstenieae, esta última de distribución Neotropical y africana que se conforma por ocho géneros entre ellos el género *Brosimum* (Datwyler y Weiblen, 2004; Zerega *et al.*, 2005).

El género *Brosimum* se conforma de 13 especies de distribución exclusiva en el Neotrópico, encontrándolas desde México hasta el sur de Brasil, y en Cuba, Jamaica y las Grandes Antillas (Berg, 1972; Carvajal, 2007). En México se distribuyen 5 especies, *Brosimum alicastrum*, *Brosimum lactescens*, *Brosimum guianense*, *Brosimum costaricanum* y *Brosimum terrabanum*, siendo *B. alicastrum* la especie con la distribución más amplia en nuestro país (Berg, 1972; Breedlove, 1986; Berg, 2001; Pérez, 2005; Carvajal, 2007; Gómez-Domínguez *et al.*, 2015; Villaseñor, 2016).

*Brosimum alicastrum* se distribuye en el continente Americano desde el norte de México, Centroamérica, hasta Sudamérica (Colombia, Perú, Venezuela) en el sur de Brasil en la cuenca del Amazonas, al este hacia Guyana y en las islas de las Antillas (Cuba, Jamaica, St. Vincent, Granadinas, Trinidad y Tobago) (Berg, 1972; Batis *et al.*, 1999; Meiners *et al.*, 2009). *Brosimum alicastrum* es una especie que puede llegar a ser dominante en las selvas de México y que presenta una distribución amplia en el país ya que la encontramos tanto en la vertiente del Pacífico como en la del Golfo de México hasta la Península de Yucatán. En la vertiente del Pacífico se distribuye desde el centro de Sinaloa hasta Chiapas, tanto en las laderas y barrancas de la Sierra Madre Occidental (400–800 metros sobre el nivel del mar; msnm) como en la planicie costera, aunque recientemente también se han registrado algunas poblaciones en cañones sombreados dentro de las zonas áridas del estado de Sonora. En la vertiente del Golfo de México se encuentra desde el sur de Tamaulipas hasta Quintana Roo, a lo largo de la Sierra Madre

Oriental y la Sierra de Chiapas hasta una altitud de 600 msnm y en gran parte de la planicie costera hasta la Península de Yucatán (Pennington y Sarukhán, 2005) (Figura 3).



Figura 3. Distribución de *Brosimum alicastrum* en México.

*Brosimum alicastrum*, comúnmente conocido como **ramón** (se han registrado hasta 50 nombres comunes), es un árbol perennifolio o subcaducifolio en las partes más secas de su distribución de hasta 40 metros de altura (Pennington y Sarukhán, 2005; Orantes-García *et al.*, 2012). Esta especie se ha reportado como dioica (Berg, 1972; Pennington y Sarukhán, 2005; Carvajal, 2007), ginodioica (Carvajal, 2007) o monoica (Berg, 1972; Pennington y Sarukhán, 2005), incluso se ha observado que algunos árboles cambian su sexualidad del estado femenino al masculino a partir de cierta etapa de su ciclo de vida, sobre todo cuando el árbol a alcanzado gran altura (Berg, 1972).

En algunas poblaciones (Nayarit, Tamaulipas y San Luis Potosí) colectadas para este estudio, se observó que los árboles se comportaban como dioicos, el resto de las poblaciones no pudimos asignar su sexualidad ya que eran muestras estériles.

Presenta un tronco recto de corteza gris clara que puede ser lisa o frecuentemente fracturada (Pennington y Sarukhán, 2005; Carvajal, 2007), contrafuertes grandes y bien desarrollados, abundante látex lechoso blanco o amarillento (Berg 1972; Pennington y Sarukhán, 2005; Carvajal, 2007), con ramas que son ascendentes y luego colgantes, de copa piramidal y densa (Pennington y Sarukhán, 2005). Presenta hojas simples y alternas con una estípula caediza para cada hoja; la lámina foliar puede ser ovado-lanceolada a ovado o elíptica, con margen entero o rara vez denticulado, de ápice agudo a notablemente acuminado, presenta un color verde oscuro y brillante en el haz el cual es glabro, mientras que el envés glabro o puberulento es verde grisáceo y blanquecino por la presencia de numerosas escamas blancas; la nervadura central es ligeramente prominente a plana, a veces ligeramente impresa en el haz y prominente por el envés la cual en ocasiones puede ser pubescente, las nervaduras secundarias y terciarias forman una nerviación de tipo broquidódroma (Berg 1972; Pennington y Sarukhán, 2005; Carvajal, 2007). Inflorescencias solitarias, geminadas o en ocasiones tres o más juntas, en cabezuelas axilares, cada cabezuela verdosa consiste en muchas flores masculinas y una sola flor femenina; la superficie de la cabezuela está cubierta por numerosas escamas peltadas persistentes en el fruto. Inflorescencias masculinas o estaminadas de 3–8 mm de diámetro con una (a veces más) flor pistilada central abortiva y varias flores masculinas, perianto ausente o rudimentario, un solo estambre de 1.5–2 mm de largo con la antera parda y peltada. Inflorescencias femeninas o pistiladas de 2–4 mm de diámetro, por lo general unifloras hundida en la cabezuela, estilo de 1.5–8.5 mm de longitud, a veces con algunos pelos uncinados, estigmas 2, desiguales en longitud, a veces 1 ausente, ovario ínfero con un sólo lóculo, uniovular. Infrutescencias (bayas) (sub) globosas de 2–2.5 cm de diámetro con pericarpio carnoso, verde amarillento a anaranjado rojizo cuando madura, de marcado sabor y olor dulce, cubierto en la superficie de numerosas escamas blancas, contiene una semilla 1.5–2 (12) mm de diámetro, cubierta de una testa papirácea amarillenta y dulce (Berg 1972; Pennington y Sarukhán, 2005) (Figura 4).

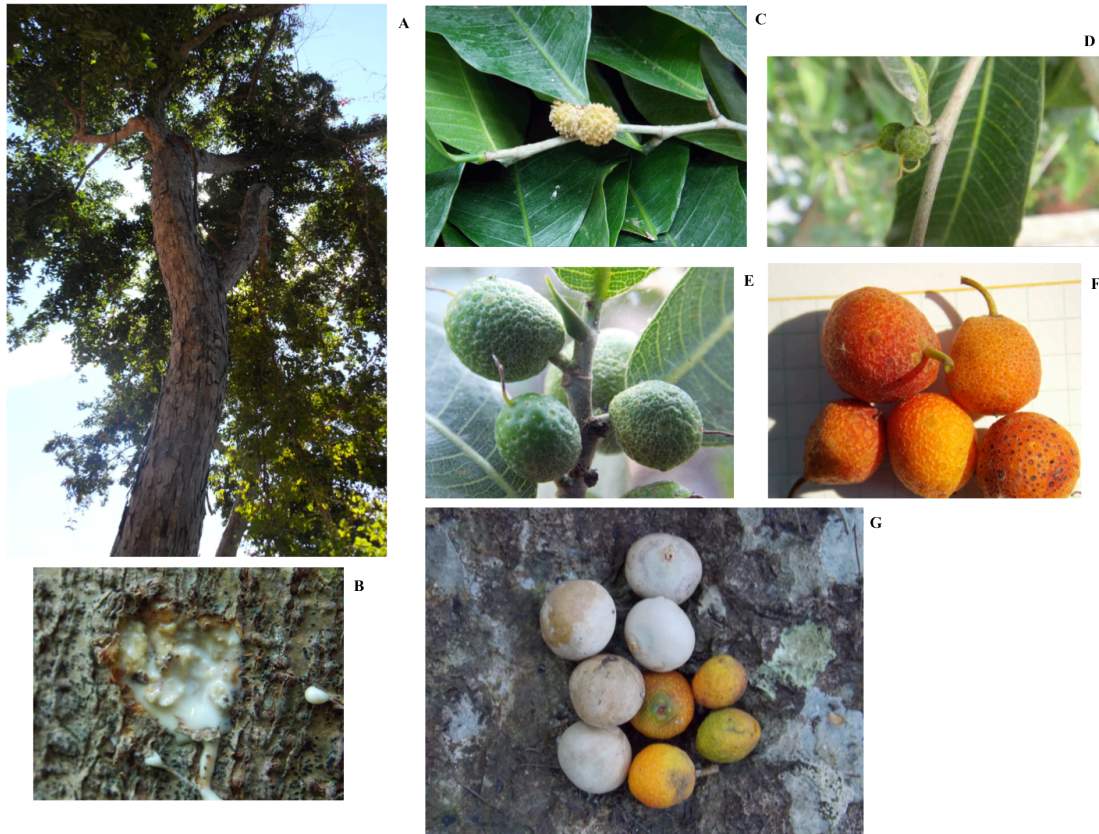


Figura 4. *Brosimum alicastrum*. A) Árbol adulto con su corteza fracturada; B) Látex lechoso blanquecino; C) Flores masculinas en cabezuelas; D) Flores femeninas; E) Frutos en desarrollo; F) Frutos maduros; G) Frutos maduros y semillas.

Se reporta que *B. alicastrum* es polinizado por el viento (anemófila) (Berg, 1972; Berg, 2001). Aunque se ha reportado que también es polinizado por pequeños insectos (Croat, 1978; Berg, 1990), se sugiere que las vivitas ocasionales de estos insectos (trips, moscas y pequeñas abejas) parecen funcionar más como robadores de polen que como polinizadores (Aguilar-Aguilar, 2016).

La floración de esta especie se puede dar en diferentes meses del año dependiendo de la región. En general se tienen registros de floración de noviembre a febrero (Pennington y Sarukhán, 2005). En el estado de Chiapas se han registrado periodos de floración de marzo a mayo (Orantes-García *et al.*, 2012), mientras que en la región de los Tuxtlas, Veracruz se presenta en los meses de octubre o incluso desde septiembre a febrero y de enero a mayo, mientras que en la Península de Yucatán la floración se da de enero a junio (Berg, 1972).

Las épocas de fructificación también varían a lo largo del año, pudiéndose encontrar frutos maduros de marzo a mayo (Pennington y Sarukhán, 2005), sin embargo, en la Península

de Yucatán podemos encontrar frutos de marzo o incluso desde febrero a junio y de abril a septiembre (Berg, 1972).

La dispersión de semillas se puede dar de manera primaria por una variedad de aves y mamíferos (monos y murciélagos) y una dispersión secundaria en el suelo por roedores, venados y otros animales (Berg, 1972; Croat, 1978). La fauna que se alimenta de esta especie es muy variada, ya que las semillas, frutos y hojas son consumidos por varias especies de murciélagos frugívoros, por lo menos unas 39 especies de aves, monos, roedores y coatíes. Las plántulas jóvenes son consumidas por venados cola blanca y venados temazate, tapires, pecaríes y otros animales (Meiners *et al.*, 2009).

*Brosimum alicastrum* presenta una tolerancia y adaptabilidad al ambiente que le permite estar presente en 18 estados de México y en diferentes tipos de vegetación tropical. Esta especie puede encontrarse en lugares húmedos a muy húmedos (precipitación media anual de 600–4000 mm, con estaciones secas de entre 3–7 meses) pero también resulta ser muy tolerante a la sequía pudiendo prosperar en micrositios húmedos dentro de regiones con muy poca humedad como los cañones en las zonas áridas de Sonora. Se le encuentra en ambientes que varían en tipos de suelo, humedad, temperatura y altitud. Por consiguiente, geográficamente, las poblaciones locales de *B. alicastrum* presentan una notable variación en sus características morfológicas como altura, diámetro del tronco, apariencia de la corteza, tamaño y forma de la hoja, fechas de floración y fructificación así como el tamaño de las semillas (Meiners *et al.*, 2009).

*Brosimum alicastrum* es un componente del dosel o estrato superior arbóreo donde en algunos tipos de vegetación tropical se vuelve una especie dominante. En la selva alta perennifolia aunque no es un componente arbóreo dominante, en algunas regiones donde la vegetación se encuentra en pendientes (ejemplo Pichucalco, Chiapas; Teapa, Tabasco) se vuelve el elemento principal. En la selva alta o mediana subperennifolia y subcaducifolia *B. alicastrum* es la especie que mejor caracteriza este tipo de vegetación, donde incluso llega a formar bosques llamados ramonales (Figura 5), como los que se encuentran en los estados de Nayarit, Hidalgo, San Luis Potosí, Veracruz y Puebla (Pennington y Sarukhán, 2005).

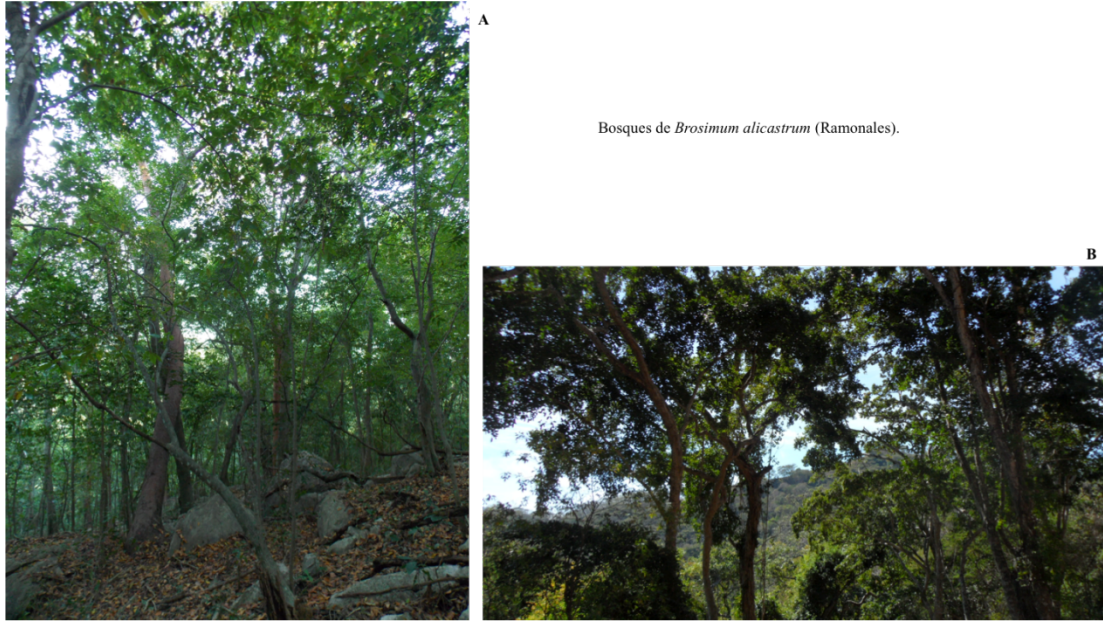


Figura 5. Bosques de *Brosimum alicastrum*. A) Ramonal en el estado de Tamaulipas; B) Ramonal en el estado de Nayarit.

### ***Usos del “Ramón”***

Se cree que el ramón fue parte de la dieta diaria y base alimenticia de algunas culturas precolombinas. El arqueólogo Dennis E. Puleston propuso que en la cultura Maya en su periodo clásico, el maíz junto con el “ramón” fueron posiblemente las principales fuentes de alimento para la civilización (Meiners *et al.*, 2009). Incluso hoy en día, en algunas regiones de México principalmente en la Península de Yucatán donde aún se encuentran algunos asentamientos mayas, esta especie se sigue cultivando y utilizando de la manera tradicional.

El ramón (del verbo “ramonear”) es una especie de la que se puede usar cada una de sus partes (Peters y Pardo-Tejeda, 1982; Orantes *et al.*, 2012) en una variedad de formas, por lo que se considera un recurso vegetal importante (Peters y Pardo-Tejeda, 1982). En este sentido, en 1975 la Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos incluyó a esta especie en la lista de “plantas tropicales con potencial económico” por su gran potencial para su uso y manejo (Peters y Pardo-Tejeda, 1982; Meiners *et al.*, 2009).

El follaje y los frutos son utilizados para alimentar al ganado (porcino, caprino, bovino y equino) principalmente cuando llega la época de sequía (Berg, 1972; Miranda, 1998). Las semillas se utilizan como alimento en diversos platillos (café, harinas, tortillas, atole, tamales) una vez seca, tostada y molida (Berg, 1972; Orantes-García *et al.*, 2012). El látex es empleado

como calmante del asma y sustituto de leche así como base para el chicle (Berg, 1972; Vázquez *et al.*, 1999; Benítez *et al.*, 2004). La corteza preparada en una infusión se puede usar como tónico (Burns y Mosquera, 1988). La madera se utiliza como combustible, en la fabricación de mangos para herramientas y en la fabricación de muebles (Berg, 1972; Benítez *et al.*, 2004). Además, sus frutos, hojas, látex y corteza también son usados en la medicina tradicional (Pardo-Tejeda y Sánchez-Muños, 1980; Meiners *et al.*, 2009; Orantes-García *et al.*, 2012).

El ramón es una especie que se puede usar exitosamente para la restauración. Las plántulas por ejemplo, poseen características fisiológicas que les permite el establecimiento en selvas de vegetación secundaria ayudando a la regeneración del bosque; los árboles adultos permiten también el establecimiento de plántulas de otras especies de árboles, como el palo mulato, el chicle y de diversos arbustos, sugiriéndose que favorece la regeneración de otras especies en el bosque y facilita la coexistencia de especies que forman parte del dosel. Por ser un árbol de madera densa y de lento crecimiento es una especie apta para usarse en la captura del carbono. La importancia de este árbol en la dinámica del bosque es importante (Berg, 1972; Meiners *et al.*, 2009).

Actualmente, existen plantaciones de *B. alicastrum* en algunos estados de México (ejemplo Nayarit, Jalisco, Yucatán, Quintana Roo) con el objeto de producir forraje para alimentar el ganado, para la producción de café así como de harinas, entre otros usos. Sin embargo, en algunos otros estados del país, como en Chiapas, donde se utiliza esta especie por sus múltiples beneficios, los pobladores explotan las poblaciones naturales, seleccionando los árboles con base en el uso que se les dará, por lo que algunos individuos o incluso gran parte de la población natural termina desapareciendo (Orantes-García *et al.*, 2012). En este sentido, es urgente el desarrollo de programas de conservación y aprovechamiento sustentables para esta especie.



## **OBJETIVO GENERAL**

Bajo este contexto, el presente estudio tiene como objetivo principal:

- Estimar los niveles de diversidad genética y el patrón de estructura genética del árbol tropical *Brosimum alicastrum* a lo largo de su distribución en México.

## ANTECEDENTES

La variabilidad genética es la materia prima para la evolución, le confiere a las especies la capacidad de responder a los posibles cambios ambientales, permitiendo la adaptación y por consiguiente la supervivencia en el largo plazo (Ayala y Kiger, 1980; Dobzhansky *et al.*, 1993; Griffiths *et al.*, 2000; Arias *et al.*, 2011).

La forma en cómo se distribuye la variación genética (dentro y entre poblaciones) así como el cambio de las frecuencias alélicas de una población a otra en el tiempo y el espacio, nos refleja la *estructura genética* de la especie. Esta estructura se ve afectada por diversos factores como los evolutivos (aquellos que favorecen la diferenciación como la selección natural y la deriva genética o aquellos que favorecen la homogenización como el flujo génico), ecológicos (tamaños efectivos poblacionales, sistemas de reproducción, fertilidad, características de la historia de vida, síndromes de polinización, tasas de dispersión de semillas) y ambientales (presencia de barreras geográficas, fragmentación de los hábitats) (Hamrick *et al.*, 1979; Hamrick y Godt, 1989; Hamrick *et al.*, 1993; Boshier *et al.*, 1995; Schierenbeck, 1997; Loveless *et al.*, 1998; Bartish *et al.*, 1999; Arias *et al.*, 2011) por lo que el balance entre el aislamiento y el flujo génico de las poblaciones va a determinar la estructura genética de una especie, la cual le permitirá adaptarse, generar nuevas subpoblaciones o nuevas especies (Nason, 2002). Todos estos factores son necesarios para entender cómo la variación y la estructura genética de las poblaciones van cambiando en espacio y tiempo y comprender mejor la dinámica de las poblaciones naturales (Hamrick *et al.*, 1979; Boshier *et al.*, 1995; Bonnin *et al.*, 1996; Schierenbeck *et al.*, 1997; Loveless *et al.*, 1998; González-Astorga *et al.*, 2009).

A pesar de que existe una mayor comprensión y conocimiento de los procesos genéticos en especies arbóreas, esta información se ha generado principalmente a partir de estudios en especies de bosques templados y boreales, como los pinos y robles (Dick, 2010), mientras que los estudios genéticos para especies arbóreas de sistemas tropicales siguen siendo escasos (Finkeldey y Hattemer, 2007). En un inicio, este tipo de estudios en las especies tropicales surgieron como una manera de explicar la gran diversidad de especies de árboles que existe y que caracteriza a este tipo de sistemas (Nason, 2002; Jones y Hubbell, 2006).

A partir de 1960, con el surgimiento de la electroforesis de isoenzimas, se comenzaron a tratar de explicar patrones de diversidad y estructura genética en poblaciones de plantas. Aunque

los procesos históricos y evolutivos juegan un papel determinante en los patrones de diversidad genética afectando la dinámica del flujo génico y con ello las frecuencias alélicas en las poblaciones (Nason, 2002; Jones y Hubbell, 2006), otros trabajos también tomaron en cuenta las características de historia de vida (sistemas de apareamiento, mecanismos de polinización y dispersión de semillas, modo de reproducción) y ecológicas (área de distribución, forma de vida) de las especies, como factores que influían en los patrones genéticos de las especies de plantas (Hamrick *et al.*, 1979; Loveless y Hamrick, 1984; Hamrick y Godt, 1989).

En este sentido, se ha corroborado que una gran proporción de la variación genética entre las especies de plantas es explicada por las características de historia de vida y ecológicas de las especies (Hamrick *et al.*, 1979; Hamrick *et al.*, 1992). Las plantas de vida larga, con grandes áreas geográficas de distribución y altas tasas de fecundidad suelen tener poblaciones grandes y estables, esto las hace ser más resistentes a los cambios en las fluctuaciones de las frecuencias génicas o genotípicas manteniendo mayor variación genética que aquellas especies que experimentan grandes fluctuaciones en sus tamaños poblacionales. La longevidad de las especies les asegura la presencia de varias cohortes dentro de una población, donde si diferentes alelos o genotipos se favorecen durante la fase de establecimiento de cada cohorte, los individuos que sobrevivan hasta la madurez mantendrán una proporción genética de ese evento dentro de la población, pudiendo pasar esta información genética a las siguientes generaciones y la supervivencia de estas cohortes retardaría la pérdida de variación genética. Las altas tasas de fecundidad, el exocruzamiento y la polinización por viento garantizan grandes tamaños de vecindarios y la producción de una variedad de genotipos derivados de la recombinación, donde la selección natural podría actuar para mantener esta variación a través de la evolución de los ecotipos adaptados localmente o a través de diversos tipos de selección balanceadora (Hamrick *et al.*, 1979). Bajo este contexto, se ha visto que aquellas especies con grandes áreas geográficas de distribución, que presentan altas tasas de fecundidad, fertilización cruzada como modo de reproducción, una polinización por viento o por animales, tiempos generacionales largos con estados sucesionales tardíos, tienen mayor variación genética que especies que presentan otro tipo de combinaciones en este tipo de características (Hamrick *et al.*, 1979; Hamrick *et al.*, 1992; Finkeldey y Hattemer, 2007; Porth y El-Kassaby, 2014).

Con estos trabajos se reconoció que existía una relación significativa entre las características de historia de vida y ecológicas de las especies con respecto a los niveles y

distribución de la variación genética, la cual principalmente se encontraba dentro de las poblaciones (Hamrick *et al.*, 1992). Aunque gran parte de la variación genética observada en las especies de plantas puede ser explicada por las características de historia de vida y ecológicas, sigue habiendo una cantidad significativa de esta variación que no es explicada por estos fenómenos (Hamrick *et al.*, 1979). Los sucesos históricos y/o la historia evolutiva de cada especie juegan un papel importante y determinante en el nivel y distribución de la diversidad genética (Hamrick *et al.*, 1979; Hamrick *et al.*, 1992; Porth y El-Kassaby, 2014).

La evolución le ha concedido a las plantas desarrollar adaptaciones que les permiten la dispersión del polen y semillas como los medios principales de transporte para la información genética, superando así las barreras de su vida sésil (Finkeldey y Hattermer, 2007; Meirmans, 2012). El transporte o dispersión del polen (flujo de genes) y semillas (migración), son los principales procesos que intervienen en la dispersión de genes para la mayoría de las especies de plantas y son dos factores primarios que determinan los patrones genéticos en las poblaciones (Finkeldey y Hattermer, 2007; Bizoux *et al.*, 2009). Los sistemas de reproducción son decisivos para la fusión de los gametos masculinos y femeninos, y el flujo de genes a través del polen es un proceso necesario para el apareamiento de dos plantas con semilla. La comprensión de los procesos genéticos durante la reproducción es crucial para el análisis de la dinámica temporal de la estructura genética dentro de las poblaciones, en particular para organismos de larga vida como los árboles (Finkeldey y Hattermer, 2007).

Estudios realizados en especies de árboles de diferentes familias han mostrado de manera general que estos presentan una alta diversidad genética dentro de las poblaciones y poca diferenciación genética, presentando valores bajos de estructura genética. Estos resultados se atribuyen a muchos factores como: a su alto flujo génico manteniendo así la conexión entre las poblaciones, a sus sistemas de reproducción (fertilización cruzada) y dispersión de semillas efectivos, a tamaños poblacionales grandes, a bajas tasas de mutación y de especiación así como características morfofisiológicas de la especie que permiten mantener esta diversidad: “los árboles poseen características que les permiten preservar la diversidad genética durante largos períodos de tiempo” (Petit y Hampe, 2006).

En árboles tropicales, algunos estudios han reportado altos valores de diversidad genética y niveles bajos de estructura genética que atribuyen a altos niveles de flujo génico entre las poblaciones, gracias a mecanismos eficientes de dispersión del polen y semillas como en

*Plathymenia reticulata* (Lacerda *et al.*, 2001), *Terminalia amazonia* (Pither *et al.*, 2003), *Ficus pumila* (Chen *et al.*, 2008), *Dendropanax arboreus* (Figueroa-Esquivel *et al.*, 2010), *Castanopsis sclerophylla* (Wang *et al.*, 2011) que permite el movimiento de genes a grandes distancias aunado a sistemas de reproducción cruzada como en *Protium spruceanum* (Vieira y Carvalho, 2009) y *Milicia excelsa* (Bizoux *et al.*, 2009; Ouinsavi *et al.*, 2009). Estos rasgos favorecen el cruzamiento lejano y probablemente contribuyen al mantenimiento de los altos niveles de diversidad genética. En poblaciones naturales los tamaños demográficos grandes así como la proximidad geográfica pueden facilitar también el flujo génico reduciendo a su vez la endogamia, la fijación de alelos y la deriva genética (Arias *et al.*, 2011). Otros resultados similares también han sido reportados para otras especies de árboles tropicales que presentan altos niveles de diversidad y bajos a moderados niveles de diferenciación genética (*Carica papaya*, Chávez-Pesqueira y Núñez-Farfán, 2016) incluso en especies donde sus poblaciones se encuentran separadas a varios kilómetros (Lacerda *et al.*, 2001; Nason, 2002).

Sin embargo, también se han reportado resultados donde las especies de árboles tropicales sufren una baja variabilidad genética con una fuerte estructura genética. En general estos resultados se atribuyen a tamaños poblacionales reducidos que agravan el efecto de la deriva genética y la endogamia; procesos como cuellos de botella o aislamiento de las poblaciones que limitan el flujo génico, aunado a mecanismos de dispersión de polen y semillas que no son tan eficientes para la especie y/o distribuciones geográficas limitadas a parches de hábitats o áreas geográficas pequeñas (*Tradescantia hirsuticaulis*, Godt y Hamrick, 1993; *Caryocar brasiliense*, Collevatti *et al.*, 2001; *Caesalpinia echinata*, Sodr e-Cardoso *et al.*, 2005; *Pterocarpus officinalis*, Rivera-Ocasio *et al.*, 2006; *Miconia calvescens*, Le Roux *et al.*, 2008; *Saraca asoca*, Senapati *et al.*, 2012). Además, los factores antropogénicos también han sido considerados como causantes en la disminución de la diversidad genética de las poblaciones (*Euterpe edulis*, Cardoso *et al.*, 2000; *Swietenia macrophylla*, Novick *et al.*, 2003).

*Brosimum alicastrum*, es un árbol tropical considerado un recurso vegetal importante por su gran potencial económico debido a su gran variedad de usos (madera, forraje, medicinal, alimento) por lo que los estudios realizados para la especie se han enfocado principalmente a su aprovechamiento, manejo y algunos a su ecología y conservación (Peters, 1989). Desde un enfoque genético se han realizado sólo tres estudios para la especie pero de éstos ninguno para México.

Poelchau y Hamrick (2013) en un estudio de filogeografía comparada de tres especies de árboles Neotropicales que se co-distribuyen en Centroamérica, encontraron que la estructura filogeográfica de *B. alicastrum* es altamente estructurada en cada región y que los haplotipos de Nicaragua eran distintos al resto de los haplotipos en el estudio, encontrando fuertes divisiones regionales para la especie. Además, concluyeron que los límites genéticos que obtuvieron corresponden en Costa Rica-Nicaragua (islas del Plioceno) y Nicaragua-El Salvador (refugios del Pleistoceno) con tiempos de divergencia que corresponden al Pleistoceno.

En un estudio de genética del paisaje, se encontró que la estacionalidad de la precipitación fue el mejor predictor de la distribución de la variación genética para *B. alicastrum*; sin embargo, los autores mencionan que este resultado debe ser interpretado con cuidado ya que encontraron que la estructura genética actual de la especie en Centroamérica se debe más a barreras históricas hacia el flujo génico así como a barreras crípticas reproductivas en la especie (Poelchau y Hamrick, 2012).

En un estudio filogeográfico para la especie en toda su distribución que se realizó con el objetivo de ubicar zonas de alta diversidad y proponer sitios de conservación, se encontró que la estructura de *B. alicastrum* presenta una muy fuerte regionalización de las poblaciones, dividiéndose en tres regiones: América Central (incluyendo a México), América del Sur y el Caribe. Los autores sugieren que la estructura de la especie se debe a la gran heterogeneidad del ambiente que ha contribuido al aislamiento genético y a la especialización del hábitat (Lander y Monro, 2015).

En los tres estudios encontraron que *B. alicastrum* presenta una alta variabilidad genética. Se sugiere que las características biológicas de la especie contribuyen al mantenimiento de la diversidad genética (Poelchau y Hamrick, 2012).

# METODOLOGÍA

## 1. COLECTA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS.

Para la realización de las colectas de muestras biológicas, primero se identificaron las poblaciones naturales de *Brosimum alicastrum* en México, esto se realizó mediante la consulta de bases de datos de diferentes herbarios, de donde se obtuvieron registros de colecta para la especie.

Se consultaron los ejemplares de herbario y/o registros de colecta de las bases de datos del Herbario Nacional de México (MEXU), Herbario del Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío (IEB) y del Global Biodiversity Information Facility (GBIF, <http://www.gbif.org/>). La lista de los registros de colecta que se obtuvieron para *B. alicastrum* fue depurada tomando en cuenta sólo los registros más recientes, con la finalidad de asegurar la existencia de la población en el campo. Se colectaron muestras biológicas de árboles adultos de las poblaciones naturales de *B. alicastrum* abarcando toda la distribución de la especie en México.

En cada punto de colecta que representa una población, se muestrearon 10 individuos de árboles adultos con una distancia entre ellos de al menos 50 m para reducir la probabilidad de muestreo de grupos familiares y de los cuales se colectaron entre 10 y 15 hojas de cada uno. Las muestras fueron conservadas en frío dentro de hieleras para su traslado al laboratorio y posterior almacenaje a -80 °C. De cada población se obtuvieron muestras de herbario, las cuales fueron depositadas en el Herbario del Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío (IEB).

Se muestrearon un total de 41 poblaciones de las cuales solo 33 se utilizaron para el análisis genético final (Cuadro 2), debido a que no se tenía certeza de que las ocho poblaciones restantes fueran poblaciones naturales, por lo cual fueron descartadas del análisis (Figura 6).

Cuadro 2. Lista de las poblaciones naturales de *Brosimum alicastrum* que se utilizaron para el análisis genético. En el cuadro se muestra el nombre de la población, su abreviación, estado donde fue colectada, coordenadas geográficas y la altitud.

No.	Población	Abrev.	Estado	Latitud	Longitud	Altitud
1	El Azteca	AZT	Tamaulipas	23.077	-99.1622	313 m.s.n.m.
2	El Ojital	OJI	Tamaulipas	22.9757	-99.152283	218 m.s.n.m.
3	El Sauz	SAU	SLP	21.9321	-99.20385	346 m.s.n.m.
4	Aquismón	AQU	SLP	21.62665	-99.039333	260 m.s.n.m.
5	Playa Bruja	BRU	SLP	21.257383	-98.8048	134 m.s.n.m.
6	Naranjos	NAR	Veracruz	21.332816	-97.65855	110 m.s.n.m.
7	Horcones	HOR	Veracruz	21.084316	-97.82065	338 m.s.n.m.
8	Monte Negro	MON	Veracruz	20.000233	-96.741866	292 m.s.n.m.
9	Jalcomulco	JAL	Veracruz	19.335033	-96.748533	356 m.s.n.m.
10	Los Tuxtlas	TUX	Veracruz	18.585133	-95.075133	190 m.s.n.m.
11	El Madrigal	MAD	Tabasco	17.495883	-92.825	111 m.s.n.m.
12	Copelchen	COP	Campeche	19.752583	-89.846216	105 m.s.n.m.
13	Uman	UMA	Yucatán	20.880366	-89.739783	29 m.s.n.m.
14	Izamal	IZA	Yucatán	20.9353	-89.033083	26 m.s.n.m.
15	Xcatalcoco	XCA	Yucatán	20.651866	-88.525083	42 m.s.n.m.
16	Tixcacalcupul	TIX	Yucatán	20.53716	-88.26977	35 m.s.n.m.
17	Xocen	XOC	Yucatán	20.602916	-88.173133	40 m.s.n.m.
18	Tikuch	TIK	Yucatán	20.701116	-88.1105	32 m.s.n.m.
19	Chunhuhux	CHU	Quintana Roo	19.57805	-88.591616	23 m.s.n.m.
20	El Ramonal	RAM	Quintana Roo	19.39905	-88.621116	41 m.s.n.m.
21	Los Divorciados	DIV	Quintana Roo	19.07875	-88.45575	53 m.s.n.m.
22	Crucero Corozal	CCO	Chiapas	16.760783	-91.007633	167 m.s.n.m.
23	C. Agua Azul	CAA	Chiapas	17.253	-92.113916	255 m.s.n.m.
24	Mazahua	MAZ	Oaxaca	16.628716	-94.948916	173 m.s.n.m.
25	R. Guiengola	GUI	Oaxaca	16.38693	-95.32621	435 m.s.n.m.
26	Chila	CHI	Michoacán	18.911694	-102.467	102 m.s.n.m.
27	Ahuacapan	AHU	Jalisco	19.667	-104.333	950 m.s.n.m.
28	Sta. Ma. Del Oro	LAG	Nayarit	21.361583	-104.57195	740 m.s.n.m.
29	El Capomal	CAP	Sinaloa	21.886	-105.098783	33 m.s.n.m.
30	La Concordia	CON	Sinaloa	23.347916	-105.9597	271 m.s.n.m.
31	Cosalá	COS	Sinaloa	24.391666	-106.602777	500 m.s.n.m.
32	El Rincón	RIN	Sinaloa	24.839366	-107.03425	318 m.s.n.m.
33	La Estancia	EST	Sinaloa	25.120583	-107.006216	194 m.s.n.m.





Figura 6. Poblaciones naturales de *Brosimum alicastrum* colectadas a lo largo de su distribución en México.

## 2. TRABAJO DE LABORATORIO.

### *EXTRACCIÓN DE ADN*

Se realizó la extracción de ADN de todos los individuos de cada población. Se pesó entre 110-120 mg de tejido foliar fresco prescindiendo de nervaduras y tallos, el cual se maceró con nitrógeno líquido. El tejido macerado se sometió a un protocolo de extracción de ADN para tejido fresco con CTAB (Doyle y Doyle, 1987). En la mayoría de los casos se obtenía una gran cantidad de ADN al precipitarlo con alcohol absoluto, por lo que se recuperaba y resuspendía en agua (1000  $\mu$ L) pasando directo a una limpieza con fenol-cloroformo. Se realizaron dos lavados de limpieza para cada muestra con el objetivo de eliminar la mayor cantidad de carbohidratos y proteínas obteniendo un ADN más limpio.

Para cada extracción de ADN se realizó la electroforesis en geles de agarosa al 1% para observar la presencia, la integridad y calidad del ADN obtenido, después se realizaron mediciones por espectrofotometría para cuantificar la concentración de ADN que se tenía por muestra, obteniendo en promedio 270 ng/ $\mu$ L.

## AMPLIFICACIÓN DE MICROSATÉLITES

Para la obtención de datos genéticos y sin contar en un inicio con marcadores de microsatélites diseñados para *Brosimum alicastrum*, se revisó la filogenia de la Familia Moraceae (Datwyler y Weiblen, 2004), con la finalidad de encontrar géneros cercanos a *B. alicastrum* que contaran con microsatélites diseñados y probarlos en esta especie. En este sentido, se probaron 16 marcadores de microsatélites diseñados para diferentes especies del género *Ficus*, tomándose en cuenta aquellos marcadores que tuvieran los niveles más altos en: número de alelos, porcentaje de polimorfismo, heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) (Zavodna *et al.* 2005; Vignes *et al.* 2006; Bandelj *et al.* 2007; Nazareno *et al.* 2009; Moe y Weiblen 2011).

Sin embargo, los resultados no fueron óptimos ya que de los 16 marcadores probados solo dos mostraron polimorfismo para la especie; cinco no presentaron variación entre individuos sólo entre poblaciones; seis fueron monomórficos para la especie y tres marcadores no amplificaron. A pesar de que Ficeae y Dorstenieae son dos tribus filogenéticamente cercanas, no existió transferibilidad de microsatélites entre las especies del género *Ficus* y *B. alicastrum* por lo que los marcadores no fueron funcionales para nuestro estudio.

Finalmente los datos genéticos se obtuvieron usando 15 loci de microsatélites diseñados para *Brosimum alicastrum* (Cuadro 3). Los marcadores aunque específicos para la especie se probaron primero en seis poblaciones para estandarizar las condiciones de amplificación y posteriormente amplificar el resto de las poblaciones.

Cuadro 3. Lista de marcadores moleculares de microsatélites diseñados para *Brosimum alicastrum*.

Locus	Secuencia	Motif	Producto esperado (pb)	T <sub>a</sub> (°C)
Bro5	ACATAGGTGTCGACATACCTC CTGGAAGAAGAATTGGGTTG	(AG)11	109-125	60.1
Bro7	TTGCCATAAAGCAATTTCCA CACGTGTGAGAGGTGATGATG	(GA)16	184-242	60.1
Bro9	CTTGCTCCGGTGATGAGTG CAAGGAGCACA ACTATAAT TAAAAGAA	(CT)10	114-210	60.1
Bro10	GTACTACTCACATCGTCACATA ATTGTTTGT CATT TTTGCTTC	(AG)19	112-148	53.8
Bro11	TTGATTCCCAACCCCACTAA TTGCCATTTGATGTTACGACA	(CA)10	100-130	58.1
Bro12	AAGAAAATCACCAAGCAAGG CGCACTCCTGAACAAAATAA	(GT)9	126-162	59.5
Bro13	GAGTTCGCCTGTGTTTGGTT CCTTCCCCATCTTATTCTTTGA	(CA)11	172-206	45.8
Bro14	CAACAAAACAACCCCTTTC	(TC)9	102-122	45.8

	GCGACTCCTTTTCCTTCACA			
Bro15	TCCAGTCAACCCAAAAAGAA CAGGCTTTTCCTGATCTTGC	(TG)11	100-130	59.5
Bro16	CCGTAGGTGCAGTGTCAAAA TCCTCCTGGTCTGGATGAAG	(GA)14	194-230	60.1
Bro17	ATCCGGTTCCTTCTCACCTC CCTGCTTGTTGCTCAATTCC	(GA)13	184-206	60.1
Bro18	CCAAACAGTGGAATAATCG AGTCTTCCAATCTGCTGTCA	(GT)9	180-228	59.5
Bro20	TCGGATTGTCACTTGGAGAA TCCCTCCAACGTCTTTTGAC	(AG)14	172-206	48.4
Bro24	ATGGGGGAATGGAGATGAAG GCCACTCAATAAGCCATTTTC	(GA)11	138-178	48.4
Bro28	CGGCTTGCAGAGAACAGAAT CGCAGATCGACATTTGGAAT	(TG)21	84-130	48.4

Las amplificaciones se realizaron mediante la técnica de *reacción en cadena de la polimerasa* (PCR) utilizando el siguiente programa: una temperatura inicial de desnaturalización de 95° por 15 minutos; 35 ciclos que se conforman de una temperatura de desnaturalización de 95° por 15 segundos, una temperatura de alineamiento que varía según el locus que se amplifique por 30 segundos y una temperatura de extensión de 72° por 1 minuto; un periodo de elongación de 72° por 10 minutos y un periodo de incubación de 4° ∞ una vez terminado el programa. La reacción para la PCR se conformó de: 1 µL de ADN templado (20-25 ng/µL), 0.5 µL de primer en sentido Forward (10 mM), 0.5 µL de primer en sentido Reverse (10 mM) y 3 µL de Multiplex (QUIAGEN) obteniendo un volumen final de 5 µL. Se realizaron electroforesis de los productos de PCR en geles de agarosa al 1.2% que se observaron en un transiluminador para corroborar la presencia o ausencia del producto de amplificación. Los productos de amplificación fueron preparados para su visualización en el secuenciador mediante la preparación de placas de PCR que contenían 1 µL de producto de PCR, 0.3 µL de GeneScan Liz 500 (Applied Biosystems) y 10 Ll de Hi-Di Formamida.

La asignación de los alelos o de los genotipos se realizó usando el programa Peak Scanner v. 2.0. (Applied Biosystems). Las asignaciones de los genotipos se revisaron con el programa MICROCHECKER (Van Oosterhout *et al.*, 2004). Este programa nos ayuda a identificar errores de genotipificación debido a lecturas erróneas por alelos nulos y/o errores de asignación por stuttering y large allele drop-out, lo que podría ocasionar sesgos en los análisis genéticos.

### 3. ANÁLISIS GENÉTICO

#### *DIVERSIDAD GENÉTICA*

La variación genética dentro de las poblaciones se puede calcular o caracterizar utilizando medidas que sólo toman en cuenta la aparición de diferentes tipos genéticos (medidas de multiplicidad genética) pero no de sus frecuencias, y de medidas de diversidad genética que si consideran las frecuencias de los diferentes tipos genéticos (alelos o genotipos) (Finkeldey y Hattemer, 2007).

#### *Proporción de loci polimórfico.*

Se calcula dividiendo el número de loci polimórficos (PL) por el número loci evaluados, incluyendo aquellos que no mostraron variación o monomórficos (ML):

$$PPL = PL/(PL + ML)$$

La PPL es a menudo reportada como un porcentaje después de multiplicarlo por 100. Algunos autores consideran un locus polimórfico sólo si la frecuencia del alelo más frecuente o común está por debajo del 95% (o 99%) y otros autores consideran polimorfismo si se presentan al menos dos tipos de variaciones genéticas (independientemente de sus frecuencias).

#### *Número promedio de alelos.*

El número promedio de alelos por locus se calcula contando el número de alelos ( $n_i$ ), sumando sobre todos los loci evaluados y dividiendo este número total de alelos por el número de loci  $L$ .

$$\text{Número de alelos por locus} = \frac{\sum_{i=1}^L n_i}{L}$$

La probabilidad de observar un alelo (raro) en una población depende en gran medida del tamaño de la muestra, los efectos en las diferencias de tamaños de las muestras se toman en cuenta cuando se calcula la riqueza alélica ( $A$ ).

### ***Riqueza alélica.***

Es una medida del número de alelos que es independiente del tamaño de la muestra, por lo que permite hacer comparaciones entre muestras que presentan diferentes tamaños. Se calcula estimando el número esperado de alelos en una sub-muestra de  $2n$  genes, dado que  $2N$  genes han sido muestreados ( $N > n$ ),  $n$  es fijado como el número más pequeño de individuos para un locus en una muestra, entonces la riqueza alélica (por locus y muestra) se calcula como:

$$R_s = \sum [1 - ((2N - N_i) / 2n) / (2N - 2n)]$$

donde  $N_i$  es el número de alelos del tipo  $i$  entre los genes  $2N$ . Para la riqueza alélica por todas las muestras ( $R_i$ ), la  $N$  es el número de todas las muestras de individuos genotipados en el locus bajo consideración (Goudet 2002).

### ***Número de alelos efectivos.***

El número de alelos efectivos de un locus también ha sido definido como la diversidad alélica  $v$  de una población en ese locus. Si  $n$  es el número total de alelos en un locus y  $p_i$  son las frecuencias relativas de los alelos, entonces:

$$1 \leq v = \frac{1}{\sum_i p_i^2} \leq n$$

El número de alelos efectivos  $v$  alcanza su valor máximo para un  $n$  dado si las frecuencias de todos los alelos son idénticas ( $1/n$ ). La diversidad alélica  $v$  disminuye con la frecuencia creciente de un alelo que hace que disminuya las frecuencias de los alelos restantes.

### ***Heterocigosidad.***

Debido a que los individuos de especies diploides son heterocigotos u homocigotos en un locus dado, la medida de heterocigosidad suele ser biológicamente útil siendo la más común para medir la variación genética en una población (Hedrick, 2000).

### ***Heterocigosidad esperada.***

La heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) es la medida de diversidad genética dentro de las poblaciones más usada. Esta medida se basa en el supuesto de que los alelos se combinan aleatoriamente en los genotipos, es decir, que la población se encuentra bajo equilibrio de Hardy-Weinberg. En este caso es posible calcular la frecuencia  $P_{ii}$  de un homocigoto particular con un genotipo  $A_i A_i$  como  $P_i^2$  ( $P_i$  es la frecuencia del alelo  $A_i$ ). La frecuencia de la homocigosidad esperada se calcula sumando sobre todos los alelos ( $\sum P_i^2$ ) siendo el resto la heterocigosidad esperada. Entonces, la heterocigosidad esperada se calcula como:

$$H_e = 1 - \sum_i P_i^2$$

Los valores de heterocigosidad esperada del pool génico es la media aritmética de los valores de los loci individuales. Nei (1987) llamó a esta medida *diversidad genética* y es particularmente útil, ya que es aplicable para genes de diferentes niveles de ploidía y en organismos con diferentes sistemas reproductivos.

### ***Heterocigosidad observada.***

Una medida simple de diversidad genética es la proporción de todos los heterocigotos en una población. El valor de la heterocigosidad observada ( $H_o$ ) para el pool génico se calcula como la media aritmética de la  $H_o$  de los loci individuales. Entonces bajo equilibrio Hardy-Weinberg la heterocigosidad observada está dada como:

$$H_o = \frac{\text{individuos heterocigotos}}{\text{número total de individuos analizados}}$$

Entonces, las medidas de diversidad genética para los alelos privados, el porcentaje de loci polimórficos (P), el número promedio de alelos ( $N_a$ ), número de alelos efectivos ( $N_e$ ), heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) y heterocigosidad observada ( $H_o$ ) así como el índice de fijación (F) fueron calculados en el programa GenAlEx v. 6.501 (Peakall y Smouse, 2006); los valores

para la riqueza alélica (A) se calcularon en el programa MSA v. 4.05 (Dieringer y Schlötterer, 2003).

### ***ESTRUCTURA GENÉTICA***

Para evaluar el patrón de estructura genética de las poblaciones de *Brosimum alicastrum* se evaluó si existían desviaciones de las proporciones del equilibrio de Hardy-Weinberg mediante una prueba análoga a la prueba exacta de Fisher empleando algoritmos de cadenas de Markov ( $10^6$  pasos) con 100,000 demorizaciones, donde la prueba de hipótesis indica que los genotipos diploides observados son el producto de una unión aleatoria de los gametos. De igual manera se evaluó el desequilibrio de ligamiento por pares de loci, donde la prueba de hipótesis establece que los genotipos de un locus son independientes de los genotipos de otro locus, es decir, analiza la presencia de una asociación significativa entre pares de loci, el método se basa en el procedimiento de las cadenas de Markov aplicando una prueba análoga de la prueba exacta de Fisher utilizándose 10,000 permutaciones con un criterio de significancia de 0.05 comparando locus por locus entre todas las poblaciones. Ambas pruebas se realizaron en el programa ARLEQUIN v. 3.1 (Excoffier, *et al.*, 2005).

Se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) con 10,000 permutaciones en el programa ARLEQUIN v. 3.1 (Excoffier, *et al.*, 2005), el cual se basa en un análisis de varianza de frecuencias de genes. En este análisis podemos definir grupos de poblaciones los cuales van a definir la manera en cómo se evaluará la estructura genética ya que la varianza total se va dividir en componentes de covarianza debido a diferencias intra-individuales, inter-individuales y/o diferencias inter-poblacionales. Estos componentes de covarianza son usados para calcular los índices de fijación definidos por Wright (1951, 1965), los cuales describen la estructura genética a diferentes niveles como: población, subpoblación e individuo. Los estadísticos  $F$  son tres:  $F_{IS}$  que está dado por  $F_{IS} = (H_s - H_I) / H_s$ ;  $F_{IT}$  definido como  $F_{IT} = (H_T - H_I) / H_T$  y  $F_{ST}$  dado por  $F_{ST} = (H_T - H_s) / H_T$ ; donde  $H_I$  es la heterocigosidad observada de un individuo en una subpoblación dada;  $H_s$  es la heterocigosidad esperada de un individuo en una subpoblación donde todos los apareamientos ocurren al azar y  $H_T$  es la heterocigosidad esperada de un individuo en una población total que no se encuentra subdividida y donde se presentan apareamientos al azar. El estadístico  $F_{ST}$  es la medida de diferenciación genética entre las subpoblaciones, el cual presenta

valores positivos que van de 0 a 1, donde 0 indica que no existe diferenciación genética entre las poblaciones mientras que los valores diferentes de cero y estadísticamente significativos nos indican diferenciación genética entre subpoblaciones que puede ir de leve a muy grande. El  $F_{IS}$  y  $F_{IT}$  son medidas de la desviación de las proporciones del equilibrio Hardy-Weinberg dentro de las subpoblaciones y en la población total respectivamente; estos índices pueden reportar valores de -1 a 1, donde los valores de 0 indican que las poblaciones se encuentran en las proporciones esperadas si los apareamientos fueran estrictamente al azar (equilibrio HW), los valores positivos indican desviación del equilibrio HW debido a una deficiencia de heterocigotos pudiendo llegar a valores de 1 si sólo se encuentran individuos homocigos en la población (resultado de una endogamia extrema) y los valores negativos indican desviación del equilibrio HW debido a un exceso de heterocigos. Sin embargo, para marcadores genéticos como los microsatélites, se han propuesto otras medidas de diferenciación genética como el  $R_{ST}$  propuesto por Slatkin (1995), el cual desarrolló explícitamente basándose en el modelo de mutación por pasos (*stepwise mutation model*), modelo que parece subyacer la variación de los marcadores de microsatélites (Balloux y Lugon-Moulin, 2002). El  $R_{ST}$  es un estimador que no se ve afectado por una alta tasa de mutación y un disminuido flujo de migrantes, situaciones que si afectan los valores de  $F_{ST}$  disminuyéndolos (Balloux y Lugon-Moulin, 2002; Novick *et al.*, 2003). Slatkin (1995) define el  $R_{ST}$  como:  $R_{ST} = (S - S_w) / S$ , donde  $S_w$  y  $S$  son el promedio de la diferencia de cuadrados en el tamaño de los alelos entre pares de genes dentro de las poblaciones y entre pares de genes tomados de una muestra de  $P$  poblaciones, respectivamente.

Las estimaciones del intercambio genético fueron calculadas en el programa MIGRATE 3.6.11 (Beerli y Felsenstein, 2001), el cual estima tasas de migración y tamaños efectivos poblacionales usando datos genéticos. La estimación del flujo genético se realizó con el método de inferencia Bayesiana mediante la estimación de teta, así como la cantidad y la dirección del flujo de genes entre todas las poblaciones. La migración se expresó como  $M$  (migrantes por generación entre poblaciones).  $M = N_e m$  donde  $m$  es la proporción de la población compuesta por migrantes. Cada locus se analizó independientemente con el modelo Browniano para microsatélites (Beerli, 2002). La estrategia de búsqueda con un intervalo de confianza del 95% se realizó mediante 10 cadenas cortas con 500 genealogías muestreadas cada una y 3 cadenas largas con 5000 genealogías muestreadas cada una, con un burn-in de 10000 genealogías (valores por defecto); el calentamiento se estableció con 4 temperaturas (1.0, 1.5, 3.0, 10000.0).



También se empleó un método de agrupamiento Bayesiano para inferir el número de grupos genéticos ( $K$ ) a partir de la información genotípica. Se utilizó el programa STRUCTURE v. 2.1 (Pritchard *et al.*, 2000) donde el programa supone un modelo donde  $X$  denota a los genotipos de los individuos colectados,  $Z$  las poblaciones de origen de los individuos y  $P$  las frecuencias alélicas en todas las poblaciones. De esta manera, a partir de la distribución de probabilidad  $\Pr(Z, P|X) \propto \Pr(Z) \Pr(P) \Pr(X|Z, P)$  se utilizan Cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC) para inferir  $Z$  y  $P$  en base a las probabilidades *a posteriori*. Las simulaciones se llevaron a cabo bajo un modelo de mezcla y frecuencias alélicas correlacionadas entre poblaciones sin ninguna información previa. Las MCMC consistieron en  $1 \times 10^6$  pasos con un burn-in de 500,000 pasos. Se probaron valores de  $K$  de 1 a 34 con 10 iteraciones para cada valor con el fin de determinar el valor máximo de la probabilidad posterior [ $\ln P(D)$ ]. Se determinó el valor más probable de  $K$  usando el valor máximo de  $\Delta K$  según Evanno *et al.*, (2005) implementando Structure Harvester v. 0.6.94. (Earl y VonHoldt, 2012). Una vez obtenido el valor de  $K$ , se utilizaron las frecuencias de pertenencia de cada grupo genético para cada población para realizar gráficas de pais las cuales ubicamos en un mapa de México y poder observar el patrón de distribución de los grupos genéticos en el espacio geográfico.

Para visualizar las posibles discontinuidades genéticas entre las poblaciones de *B. alicastrum* se utilizó el programa BARRIER v. 2.2 (Manni *et al.*, 2004). Este programa nos permite detectar rupturas genéticas entre muestras tomando en cuenta la posición geográfica de cada sitio. El programa genera una triangulación de Delaunay a partir de las coordenadas geográficas de los sitios, donde las barreras para cada conexión se calculan utilizando el algoritmo de máxima diferencia de Monmonier en base a los valores máximos de matrices de distancias genéticas pareadas. La robustez de las barreras generadas se hizo mediante un bootstrap de 100 matrices al azar de los datos de distancias genéticas. Las distancias genéticas se calcularon en el programa Microsatellite Analyzer v. 4.05. (MSA) (Dieringer y Schlötterer, 2003).

Se realizó un análisis de coordenadas principales (PCoA) con las distancias genéticas de Nei entre las poblaciones. Este análisis es una técnica multivariada que permite visualizar la variación entre elementos en una matriz, este se calculó con el programa GenAlEx v. 6.501 (Peakall y Smouse, 2006).

Para evaluar si existe un modelo de aislamiento por distancia en nuestras poblaciones se realizó una prueba de Mantel para ver si existía una correlación entre las distancias geográficas y las distancias genéticas (aislamiento por distancia) utilizando el programa Alleles in Space v. 1.0 (Miller, 2005). El test de Mantel estima el grado de correlación entre dos matrices X e Y por procedimientos de permutaciones al igual que su significancia, que en este caso utilizamos 1,000 permutaciones. La prueba de hipótesis del test de Mantel postula que las distancias/similitudes entre las variables de la matriz de respuesta Y no están linealmente correlacionados con las correspondientes distancias/similitudes en la matriz modelo X, es decir, nuestra hipótesis nula  $H_o$  indica que no existe una relación entre las matrices mientras que nuestra hipótesis alterna  $H_a$  nos indica que sí existe una relación entre las matrices y al existir la relación entre las distancias genéticas con las distancias geográficas nos indica la presencia de un modelo de aislamiento por distancia (Mantel, 1967). Un modelo de aislamiento por distancia nos indica que el flujo génico es limitado y localizado, lo cual origina que las poblaciones más cercanas en el espacio presenten más flujo génico y sean genéticamente más parecidas que las poblaciones más distantes, ya que los individuos geográficamente más cercanos tienden a aparearse más de lo que se esperaría si los apareamientos fueran al azar en toda la distribución de la especie (Wright, 1943).

Para especies que presentan una distribución geográfica amplia como *B. alicastrum*, se espera que las poblaciones geográficamente más cercanas sean las poblaciones genéticamente más parecidas, ya que se espera que el flujo génico sea mayor entre las poblaciones contiguas que entre las poblaciones más lejanas.

## RESULTADOS

De las 33 poblaciones utilizadas para el análisis, se evaluaron un total de 328 individuos con 15 loci de microsatélites nucleares. La asignación de los genotipos realizada con el programa Peak Scanner v. 2.0 se revisó en el programa Micro Checker v. 2.2.3 (Van Oosterhout *et al.*, 2004) el cual no indicó errores de lectura o de asignación en los genotipos.

Los 15 loci de microsatélites usados fueron polimórficos para la especie. Los valores de diversidad genética para los marcadores de microsatélites se muestran en el apéndice A.

### ***DIVERSIDAD GENÉTICA***

Las poblaciones de *Brosimum alicastrum* mostraron valores de heterocigosidad observada ( $H_o$ ) que variaron entre 0.610 y 0.787 con una media de  $H_o = 0.665$  (EE 0.008), mientras que la heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) obtuvo valores que variaron de 0.503 a 0.694 con una media de  $H_e = 0.585$  (EE 0.006). En general los valores de heterocigosidad observada fueron mayores que los de la heterocigosidad esperada, dándonos valores negativos para el índice de fijación (F) con una media de -0.158 (EE 0.013) indicándonos un exceso de individuos heterocigotos.

La población de Cascadas de Agua Azul (CAA) obtuvo los valores más altos tanto para la heterocigosidad observada (0.787) como para la heterocigosidad esperada (0.694).

Las poblaciones de Cerro Guiengola (GUI), Ahuacapán (AHU) y el Ramonal (RAM) después de CAA obtuvieron los valores más altos de heterocigosidad observada ( $H_o$ ) con 0.780, 0.727 y 0.722, respectivamente, mientras que las poblaciones de Xocén (XOC) y Cosalá (COS) tuvieron los valores más bajos con 0.610 y 0.613. En cuanto a la heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) la población de la Estancia (EST) obtuvo el valor más bajo con 0.503, aunque la mayoría de las poblaciones tienen valores por arriba de 0.5; CAA obtuvo el valor más alto y enseguida la población de los Tuxtlas (TUX) con 0.694 y 0.663 respectivamente (Cuadro 4).

Cuadro 4. Valores de diversidad genética para las poblaciones de *Brosimum alicastrum*. Promedio de alelos privados, número promedio de alelos ( $N_a$ ), número de alelos efectivos ( $N_e$ ), heterocigosidad observada ( $H_o$ ), heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) e índice de fijación (F) así como la media y su error estándar.

Población	Alelos Privados	$N_a$	$N_e$	$H_o$	$H_e$	F
AZT	0.067	4.133	2.759	0.687	0.619	-0.126
OJI	-	4.467	3.007	0.660	0.632	-0.062
SAU	0.200	4.667	3.177	0.644	0.645	-0.030
AQU	0.067	4.200	2.819	0.689	0.615	-0.140
BRU	-	4.133	2.765	0.627	0.617	-0.027
NAR	-	3.800	2.645	0.659	0.588	-0.154
HOR	-	4.267	2.600	0.647	0.583	-0.142
MON	-	4.733	2.961	0.667	0.640	-0.058
JAL	0.067	4.600	2.670	0.633	0.579	-0.111
TUX	0.667	5.800	3.436	0.660	0.663	-0.009
MAD	0.067	4.533	3.042	0.679	0.621	-0.103
COP	0.067	4.333	2.662	0.670	0.579	-0.185
UMA	-	3.600	2.412	0.640	0.552	-0.165
IZA	0.200	4.133	2.505	0.637	0.545	-0.177
XCA	-	3.400	2.336	0.620	0.524	-0.183
TIX	0.133	3.667	2.613	0.640	0.574	-0.109
XOC	0.067	4.067	2.557	0.610	0.578	-0.076
TIK	-	3.600	2.611	0.686	0.594	-0.185
CHU	-	3.800	2.365	0.684	0.535	-0.281
RAM	-	3.800	2.401	0.722	0.561	-0.236
DIV	-	3.733	2.485	0.671	0.560	-0.232
CCO	0.200	4.400	2.608	0.633	0.581	-0.089
CAA	0.267	5.333	3.765	0.787	0.694	-0.166
MAZ	-	4.267	2.664	0.632	0.580	-0.097
GUI	-	3.800	2.874	0.780	0.619	-0.295
CHI	-	3.400	2.324	0.667	0.541	-0.252
AHU	0.200	3.800	2.664	0.727	0.595	-0.252
LAG	-	3.467	2.531	0.669	0.580	-0.165
CAP	-	3.600	2.766	0.635	0.573	-0.148
CON	0.067	3.667	2.458	0.673	0.565	-0.227
COS	-	3.267	2.458	0.613	0.525	-0.196
RIN	-	3.267	2.401	0.653	0.530	-0.265
EST	0.200	3.400	2.257	0.639	0.503	-0.293
<b>Media</b>		4.034	2.685	0.665	0.585	-0.158
<b>EE</b>		0.066	0.042	0.008	0.006	0.013

Los valores en el número promedio de alelos ( $N_a$ ) varió entre el valor más bajo de 3.267 para las poblaciones de COS y RIN al valor más alto de 5.800 para la población de los TUX, mientras que la población de CAA reportó el segundo valor más alto con 5.333, teniendo una media de 4.034 (EE 0.066) para todas las poblaciones. El promedio en el número de alelos efectivos ( $N_e$ ) fue de 2.685 (EE 0.042) teniendo para CAA y TUX los valores más altos con 3.765 y 3.436 mientras que la población EST registró el valor más bajo con 2.257 (Cuadro 4).

Las poblaciones de *B. alicastrum*, aunque compartieron alelos entre ellas para todos los loci, encontramos un número elevado de alelos privados con 37 en total, en donde 15 de las 33 poblaciones presentaron por lo menos un alelo privado y donde la población de los TUX fue la que presentó el mayor número con 10 alelos privados.

De forma general observamos que los valores de diversidad genética entre las poblaciones de *B. alicastrum* estuvieron en rangos muy similares, mostrando valores de moderados a altos entre sus poblaciones, donde la población de CAA fue la que obtuvo los valores más altos en varios de los estadísticos. En promedio para la especie existe una diversidad genética alta ( $H_o=0.665/H_e=0.585$ ).

### ***ESTRUCTURA GENÉTICA***

Los resultados de la prueba para evaluar las desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg no registraron desviaciones significativas; mientras que en la prueba de desequilibrio de ligamiento (DL) no encontramos asociación significativa entre los pares de loci.

Con respecto al análisis jerárquico de varianza molecular (AMOVA) para evaluar cómo se encuentra distribuida la variación en las poblaciones de *Brosimum alicastrum*, se reportó que el 62.94% de la variación se encuentra dentro de las poblaciones y el 37.06% de la variación se encuentra entre poblaciones (Cuadro 5A). Se realizó también un segundo análisis de varianza molecular (AMOVA) donde se definieron 3 subestructuras para las poblaciones que delimitamos en base a los resultados obtenidos del programa STRUCTURE (las subestructuras se denominaron como Golfo, Península y Pacífico), donde se reportó que el 58.87% de la variación se encuentra dentro de las poblaciones, el 23.11% de la variación se encuentra entre los grupos y el 18.02% de la variación entre las poblaciones dentro de los grupos (Cuadro 5B). Ambas pruebas fueron significativas y en ambas pruebas el mayor porcentaje de la variación genética se encuentra dentro de las poblaciones.

El índice de fijación resultado del AMOVA general mostró un valor alto ( $F_{ST} = 0.37$ ). Wright (1978) sugirió intervalos para los valores de este índice que ayudan en su interpretación: los valores que van de 0-0.05 indica que existe poca diferenciación genética, de 0.05-0.15 indican moderada diferenciación genética, de 0.15-0.25 indican diferenciación genética grande y

los valores  $>0.25$  indican una diferenciación genética muy grande. En este sentido, *B. alicastrum* presenta una diferenciación genética muy grande.

Tabla 5A. Análisis de varianza molecular (AMOVA) general para la especie. Distribución de la variación genética entre poblaciones y dentro de las poblaciones de *B. alicastrum* en México. \*  $P < 0.05$ .

Origen de la variación	g. l.	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	% de la variación
Entre poblaciones	32	280680.041	406.50800 Va	37.06*
Dentro de las poblaciones	623	430187.978	690.51040 Vb	62.94
Total	655	710868.018	1097.01840	
Índice de Fijación				
FST:	0.37			

Tabla 5B. Análisis de varianza molecular (AMOVA). Distribución de la variación genética entre grupos, entre poblaciones dentro de los grupos y dentro de las poblaciones de *B. alicastrum* en México. \*  $P < 0.05$ .

Origen de la variación	g. l.	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	% de la variación
Entre grupos	2	21755.457	46.07050 Va	23.11*
Entre poblaciones dentro de los grupos	30	24952.138	35.93754 Vb	18.02*
Dentro de las poblaciones	623	73127.472	117.37957 Vc	58.87*
Total	655	119835.067	199.38760	
Índices de Fijación				
FST:	0.41			
FSC:	0.23			
FCT:	0.23			

Con respecto a la diferenciación genética pareada, la prueba se hizo tanto para las poblaciones (cuadro de valores mostrado en el apéndice B) como para las regiones (Cuadro 6). La diferenciación genética pareada ( $F_{ST}$ ) entre poblaciones mostró valores de 0 a 0.69, donde los valores más bajos de diferenciación genética fueron entre poblaciones geográficamente cercanas, mientras que los valores más altos fueron de las poblaciones que se ubican en la parte noroeste y occidente del Pacífico (poblaciones 26 a la 33) con respecto al resto de las poblaciones, mostrando una diferenciación genética muy grande. De las 33 poblaciones, la población de los

Tuxtlas mostró siempre valores altos de  $F_{ST}$  (0.40-0.60) con respecto a las 32 poblaciones de estudio. La diferenciación genética pareada ( $F_{ST}$ ) entre regiones, mostró que la menor diferenciación genética fue entre las poblaciones del Golfo y la Península ( $F_{ST} = 0.09$ ) con una moderada diferenciación genética, mientras que las poblaciones del Pacífico en relación con las de la Península y el Golfo mostraron una diferenciación genética muy grande ( $F_{ST} = 0.34$  y  $F_{ST} = 0.24$  respectivamente) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Valores pareados de diferencias genéticas ( $F_{ST}$ ).

$F_{ST}/N_m$	Golfo	Península	Pacífico
Golfo	-		
Península	0.09	-	
Pacífico	0.24	0.34	-

Los niveles de intercambio genético detectados con el programa MIGRATE mostraron valores de flujo génico bajos, moderados y altos ( $N_m = 0.25-7.25$ ) (Cuadro de valores de flujo génico mostrados en el apéndice C). El flujo génico fue mayor entre las poblaciones dentro de cada región, donde los valores más altos se dieron entre poblaciones que son geográficamente más cercanas. En general, los valores más bajos de donantes fueron de las poblaciones en la región del Pacífico hacia las poblaciones de las otras dos regiones, mientras que los valores moderados a altos fueron entre las poblaciones de la región del Golfo y de la Península de Yucatán.

En cuanto a los resultados obtenidos por el método Bayesiano con el programa STRUCTURE v. 2.1, la probabilidad posterior más alta que se obtuvo de la probabilidad bayesiana [ $\ln P(K)$ ] y el  $\Delta K$  reveló que el número efectivo de grupos genéticos es de  $K=3$  (Figura 7).

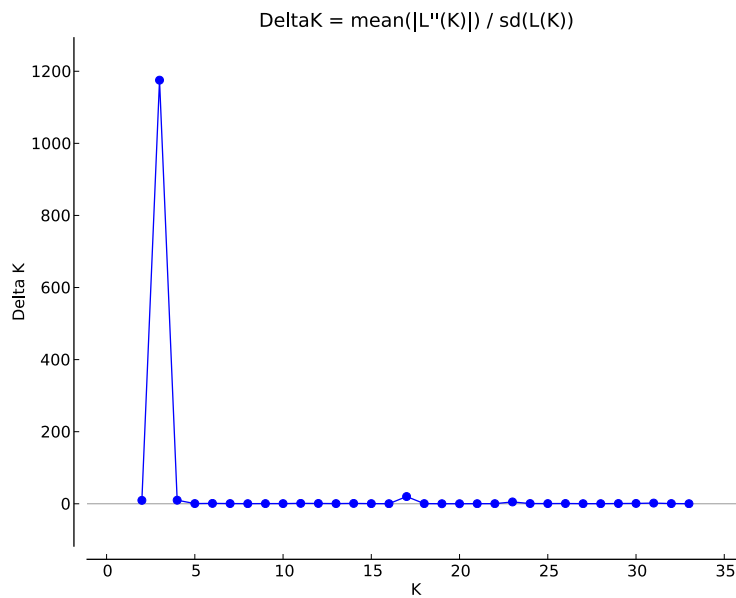


Figura 7. Resultados del  $\Delta K$  donde indica el número efectivo de grupos genéticos.

Los bar-plots generados por el programa claramente muestran 3 grupos genéticos representados por los colores azul, verde y rojo. El plot, se desglosa en 33 líneas verticales que representan las 33 poblaciones de *B. alicastrum* que se conforman por  $K$  segmentos coloreados que representan la fracción de pertenencia estimada de cada población en cada uno de los  $K$  clusters inferidos (coeficientes de pertenencia estimados para cada individuo de cada grupo) (Figura 8).

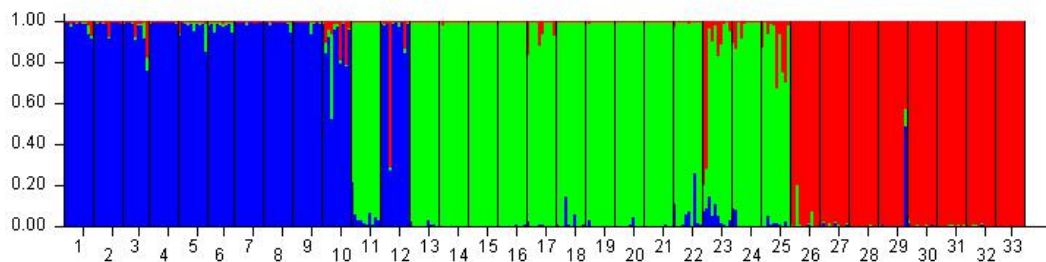


Figura 8. Bar-Plot generado en el programa STRUCTURE. Se muestran los tres grupos genéticos en base al  $\Delta K$  así como el plot desglosado por poblaciones donde se indican cada una de las 33 poblaciones y su proporción de cada grupo genético.

Con las proporciones de pertenencia de cada grupo genético para cada población, se graficó la distribución de los grupos genéticos en el espacio geográfico (Figura 9).



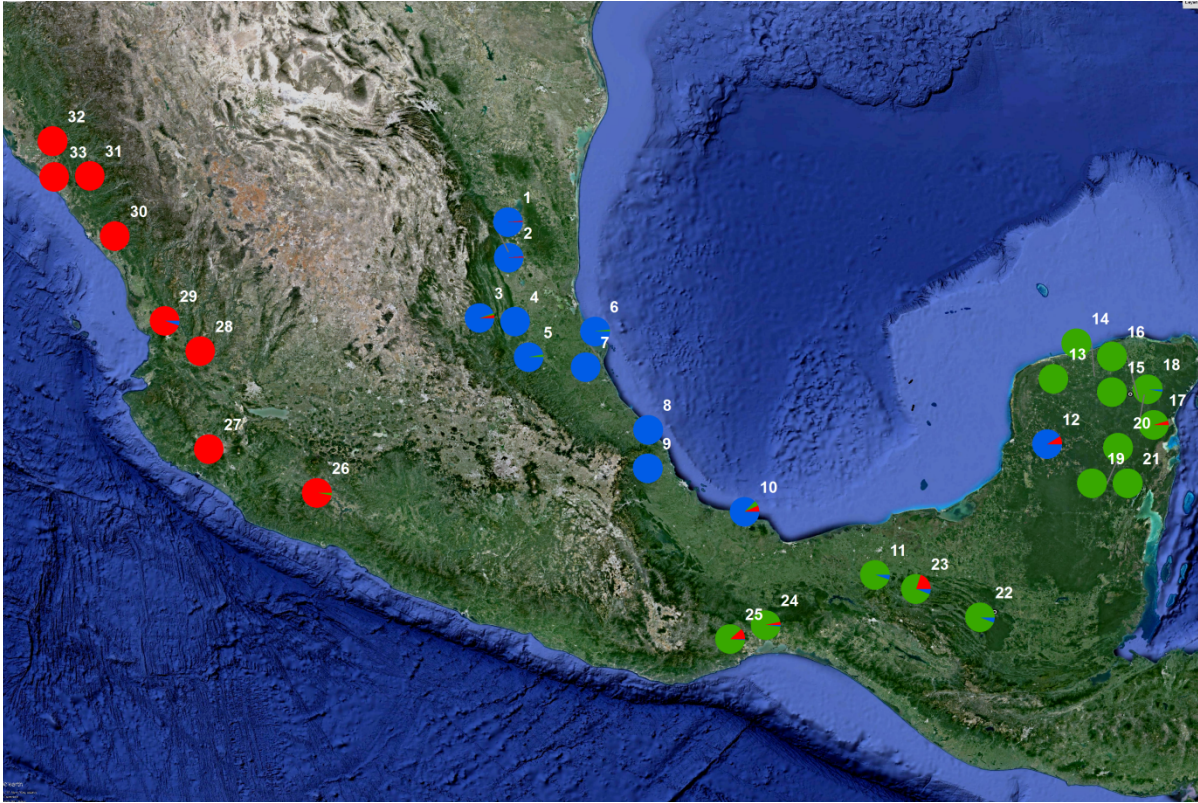


Figura 9. Distribución de los grupos genéticos de *B. alicastrum* en México.

Observamos que cada población se compone de un grupo genético predominante siendo este el de mayor proporción, además, cada grupo genético se localiza en una región específica de México. El grupo genético azul se ubica en la región del Golfo de México, mientras que el grupo genético verde se localiza principalmente en la región de la Península de Yucatán así como también en la región Sur del país, finalmente el grupo genético rojo se encuentra localizado en la región del Pacífico Mexicano limitándose a la región noroeste que corresponde al estado de Sinaloa y a la región occidente conformada por los estados de Nayarit, Jalisco, Colima y Michoacán.

Con los resultados del programa BARRIER, encontramos que se presentan 5 discontinuidades genéticas, que a excepción de la barrera que corresponde al Altiplano Mexicano, el resto no corresponde a una discontinuidad genética evidente (Figura 10).



Figura 10. Barreras genéticas obtenidas para *Brosimum alicastrum*.

El análisis de componentes principales PCoA, mostró que el componente 1 explica el 33.85% de la variación, mientras que el componente 2 explica el 23.83%. El PCoA muestra también el agrupamiento de las poblaciones como se muestra en el agrupamiento bayesiano. En el componente 1 a la izquierda encontramos las poblaciones de la Península, mientras que en el componente 2 arriba del eje X encontramos las poblaciones del Golfo, mientras que por debajo de este eje están las poblaciones del noroeste y occidente del Pacífico, mientras que las poblaciones del sur quedan entre ambos componentes (Figura 11).

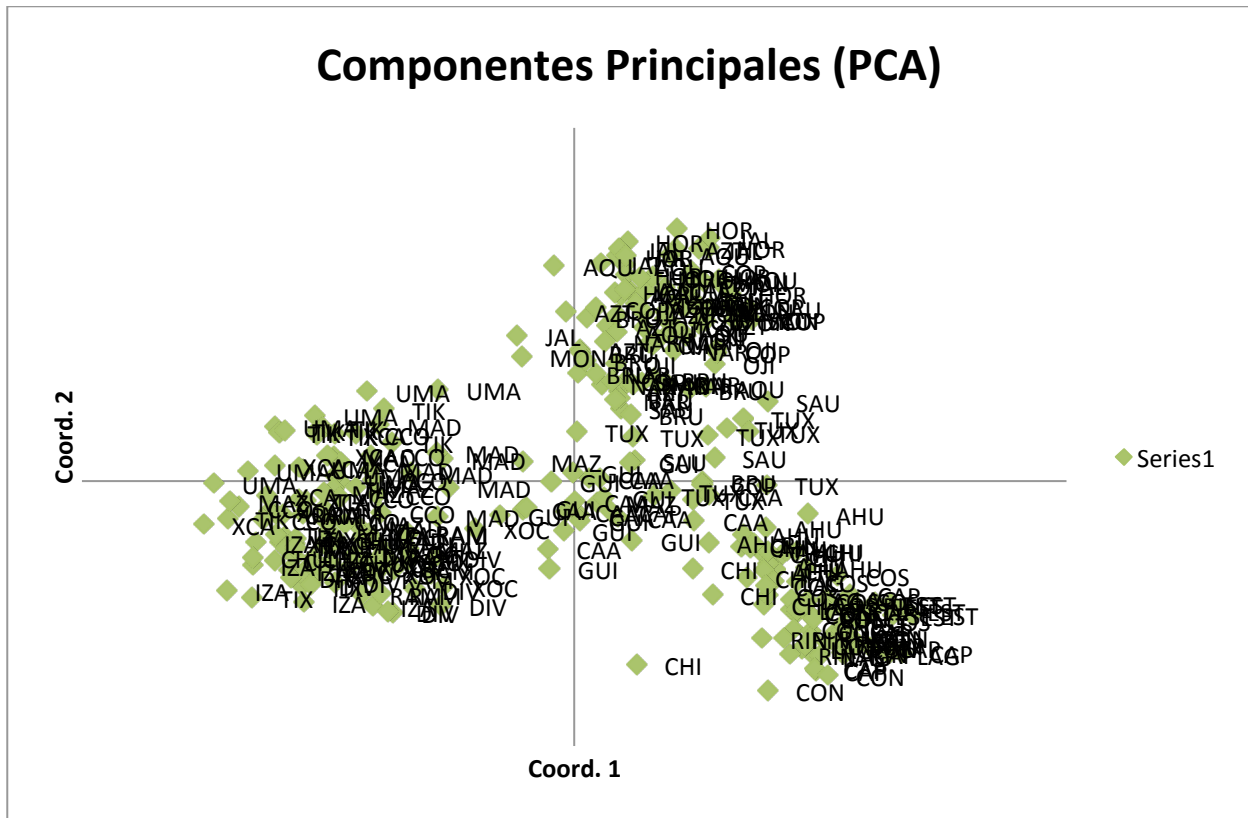


Figura 11. Análisis de componentes principales (PCoA).

En cuanto a los resultados de la prueba de Mantel, encontramos una correlación positiva entre las distancias genéticas con respecto a las distancias geográficas, por lo que la diferenciación genética que encontramos en las poblaciones de *B. alicastrum* obedece a un patrón de aislamiento por distancia ( $r= 0.56$ ,  $p= 0.00099$ ) (Cuadro 7).

Cuadro 7. Resultados de la prueba de Mantel.

Prueba de Mantel		
	<i>r</i>	<i>P</i>
Región Golfo	0.46	0.00099
Región Península de Yucatán	0.49	0.00099
Región Pacífico	0.71	0.00099
General	0.56	0.00099

Realizamos también otras tres pruebas de Mantel, una para cada región en que se agruparon las poblaciones y los resultados fueron significativos, mostrando que las poblaciones dentro de sus regiones presentan también un patrón de aislamiento por distancia (Cuadro 7).

## DISCUSIÓN

*Brosimum alicastrum* presentó valores de diversidad genética altos ( $H_o= 0.665/H_e= 0.585$ ). Estos resultados son muy similares a los encontrados en un estudio realizado con la especie en la región de Chamela, Jalisco (Aguilar-Aguilar, 2016), donde tanto los adultos como la progenie mostraron valores altos de diversidad genética ( $H_e= 0.63$  y  $H_e=0.60$ , respectivamente), además de que no se encontraron diferencias significativas en la diversidad para los hábitats continuos y fragmentados. *Milicia excelsa*, otra Moraceae polinizada por viento mostró valores de diversidad también altos ( $H_e= 0.547$ ) (Bizoux *et al.*, 2009).

El mantenimiento de la variación genética durante la reproducción se debe a las características particulares del flujo de genes y mecanismos de migración así como a los sistemas de apareamiento (Finkeldey y Hattemer, 2007). En los taxa dioicos como *B. alicastrum*, el sistema de apareamiento es 100% cruzado. El sistema de apareamiento por exocruzamiento, representa una manera efectiva de mantener la variación genética en las especies (Loveless y Hamrick, 1984; Bizoux *et al.*, 2009).

También se ha visto, que el rango geográfico tiene una correlación importante con la variación genética dentro de la población (Loveless, 1992); las especies con una distribución amplia como *B. alicastrum* presentan mayor diversidad genética que las especies con distribuciones más restringidas (Hamrick *et al.*, 1979; Hamrick y Godt, 1989; Loveless, 1992); y se ha visto que mientras las especies tengan una distribución sucesivamente mayor mostraran también una variación genética progresivamente mayor (Loveless, 1992).

El análisis de la varianza molecular (AMOVA) mostro que el mayor porcentaje de la variación genética para *B. alicastrum*, se encuentra dentro de las poblaciones (58.87%). Se sugiere que las plantas mantengan altos niveles de variación genética dentro de sus poblaciones, ya que la naturaleza sésil de su forma de vida a menudo conduce a la evolución de ecotipos adaptados localmente (Antonovics, 1971). Sorprendentemente se han reportado que para la mayoría de las plantas leñosas y de especies de árboles forestales tropicales, los altos niveles de variación genética se encuentran dentro de las poblaciones (Hamrick *et al.*, 1979; Hamrick y Godt, 1989; Hamrick *et al.*, 1992; Loveless, 1992; Finkeldey y Hattemer, 2007) y otra pequeña fracción de la diversidad se encuentra entre las poblaciones (Finkeldey y Hattemer, 2007); también, aquellas especies que presentan un amplio rango de distribución presentan mayor

variabilidad genética dentro de las poblaciones que las especies que presentan una distribución más restringida (Loveless, 1992; Finkeldey y Hattemer, 2007).

*Brosimum alicastrum* presenta una muy fuerte estructura genética que se ve reflejada en el alto valor del índice de fijación ( $F_{ST}= 0.37$ ), dándonos una diferenciación genética muy grande. Los factores ecológicos que afectan la reproducción y la dispersión (polen y semillas) son particularmente importantes en la determinación de la estructura genética (Loveless y Hamrick, 1984; Bizoux *et al.*, 2009). En este sentido, el flujo génico (polen y semillas) y los sistemas de apareamiento se han referido como los determinantes más importantes que dictan los patrones de la estructura genética en las poblaciones de plantas (Loveless y Hamrick, 1984; Hamrick y Murawski, 1990; Bizoux *et al.*, 2009).

Bajo este contexto, la alta estructura genética de *B. alicastrum* podría ser explicada por características de la historia de vida de la especie, como los eventos asincrónicos en los periodos de floración. La asincronía en la floración restringe severamente el apareamiento, y los individuos temporalmente aislados pueden presentar autofecundación que terminara con el tiempo subdividiendo la población en linajes aislados (Loveless y Hamrick, 1984). Por otro lado, *B. alicastrum* presenta una polinización por viento, mecanismo que en los arboles tropicales resulta ser poco común (sólo 1-2% de las especies tropicales presentan este mecanismo de dispersión). En los bosques templados o en regiones abiertas a menudo áridas la polinización por viento puede ser eficiente, pero en comunidades relativamente cerradas como los bosques tropicales la polinización por animales es la más común (Levin y Kerster, 1971) y más eficiente que la polinización por viento, ya que las bajas densidades de las especies, la hiperdispersión de los individuos y los estratos tan cerrados, principalmente en las selvas húmedas, pueden evitar la dispersión del polen a grandes distancias (Bawa, 1976; Loveless, 1992; Dick *et al.*, 2008; Bizoux *et al.*, 2009). La dispersión de polen y semillas son los dos factores primarios que determinan los patrones genéticos en las poblaciones de plantas (Bizoux *et al.*, 2009) ya que los métodos principales para el transporte de la información genética en las plantas son por estos dos medios (Finkeldey y Hattemer, 2007). El intercambio de genes entre poblaciones homogeniza las frecuencias de los alelos, impidiendo la adaptación local y evitando la diferenciación genética (Barton y Hewitt 1985; Balloux y Lugon-Moulin, 2002).

En el estudio realizado por Aguilar-Aguilar (2016) con *B. alicastrum* en la región de Chamela, Jalisco; se reporto que el movimiento de polen se daba principalmente en distancias

menores a los 600 metros aunque también reporto movimientos de polen en distancias mayores a 1 km mientras que en zonas fragmentadas incluso hubo movimientos mayores a 2 km. Sin embargo, en otras especies polinizadas por viento como la especie de árbol tropical *Milicia excelsa* (Moraceae), han mostrado niveles muy bajos en los patrones de estructura genética espacial, atribuyendo este patrón al movimiento a larga distancia de genes a través del polen y la dispersión de semillas (dispersión por murciélagos) (Bizoux *et al.*, 2009). En este estudio la dispersión de polen se estimó entre 1-7.1 km, reportándose distancias de dispersión mayores que en otros estudios incluso para especies de árboles tropicales que son polinizadas por insectos (100-500 metros) (Hardy *et al.*, 2006; Born *et al.*, 2008; Bizoux *et al.*, 2009). Probablemente los mecanismos de dispersión de esta especie sean eficientes por varias razones: 1) *Milicia excelsa* se encuentra en hábitats tropicales caducifolios secos y sabanas, 2) la época de floración de esta especie, que además de ser sincrónica, se da al final de la temporada seca cuando los árboles han perdido sus hojas, donde muy probablemente el viento pueda ser un buen vector de movimiento de polen llevándolo a grandes distancias, pudiéndose evitar la diferenciación genética de las poblaciones.

Ahora bien, *B. alicastrum* presento una regionalización muy fuerte de sus poblaciones, agrupándolas en tres grupos genéticos bien delimitados (Golfo, Península y Pacífico) (Figura 11). El análisis del AMOVA mostro que la diferenciación genética entre las poblaciones fue muy alta y que las regiones definidas fueron significativamente diferentes entre sí ( $F_{CT}= 0.23$ ) (Cuadro 5B). En cuanto a los  $F_{ST}$  pareados calculados para las regiones, observamos que existe una baja estructura genética entre las poblaciones del Golfo y las poblaciones de la Península ( $F_{ST}= 0.09$ ), mientras que las de la Península y las del Pacífico son genéticamente más distintas ( $F_{ST}= 0.34$ ). Estos resultados se apoyan con los obtenidos por el programa MIGRATE donde el flujo génico fue mayor entre las poblaciones Golfo-Península teniendo valores de moderados a grandes, mientras que el flujo génico entre poblaciones Pacífico-Golfo y Pacífico-Península fue bajo. El programa BARRIER identificó que una de las discontinuidades genéticas a la especie corresponde a la zona del Altiplano Mexicano que separa la región del Golfo de la región del Pacífico, sin embargo, otra discontinuidad se limita solo a aislar la población de los Tuxtlas y una tercera discontinuidad se encuentra entre Campeche y Tabasco donde no existen barreras físicas evidentes en estas áreas (Figura 10).

Aunque la diferenciación genética depende mucho de la biología y de la historia de vida de cada especie, en los estudios que contemplan una menor área geográfica se puede esperar una menor diferenciación genética medida como  $F_{ST}$  que en estudios que abarcan un área geográfica muy grande (Piñero *et al.*, 2008) como en el caso de *B. alicastrum*. Ahora bien, recordemos también que los límites septentrionales de la distribución de *B. alicastrum* es en México. Los patrones de variación genética en algunas especies se encuentra ligada a la amplitud de su distribución geográfica y las diferencias en las características ambientales (Alía *et al.*, 2003). Con respecto a esto, se ha observado que hay una disminución gradual en la abundancia desde el centro hacia la periferia de la distribución de la especie donde las poblaciones son menos abundantes (Stott, 1981; Brown, 1984; Sagarin y Gaines, 2002) y las condiciones ambientales son menos favorables en la periferia de la distribución, por lo que las poblaciones serán menos abundantes, presentaran tamaños poblaciones pequeños y sufrirán un fuerte aislamiento ya que se limitaran a los parches de hábitats adecuados (Brown, 1984). Si estas poblaciones sufren de una reducción del flujo génico con las poblaciones centrales, sufrirán pérdida de la diversidad genética y fijación de alelos debido a la deriva genética y a la endogamia (Brown, 1984; Ellstrand y Elam, 1993) y eventualmente el aislamiento espacial y la acción de la deriva genética pueden contribuir a una muy alta diferenciación genética entre las poblaciones (Stott 1981; Brown 1984; Templeton *et al.*, 1990). Sin embargo, otros argumentan que la diversidad genética puede ser mayor en las poblaciones periféricas debido a las presiones ambientales inestables y fluctuantes pudiendo favorecer la selección direccional y por consiguiente a ciertos genotipos (Lesica y Allendorf, 1995).

En este sentido, en el estudio filogeográfico realizado por Lander y Monro (2015) para *B. alicastrum* en toda su distribución, encontraron que la especie presenta una alta variabilidad genética la cual se encontraba en mayor porcentaje según el análisis de AMOVA dentro de las poblaciones; pero las poblaciones que se encontraban en Panamá, Costa Rica y Colombia presentaban la más alta diversidad genética con respecto al resto de las poblaciones, además los autores sugieren que las poblaciones periféricas de la distribución del Ramón (México y Brasil) deben ser de especial interés para la conservación genética ya que presentaban haplotipos genéticos únicos.

Ahora bien, en escalas geográficas grandes, la estructura genética de muchas especies se caracteriza por un patrón de aislamiento por distancia (IBD) ya que en la mayoría de las

especies, la dispersión es limitada (Wright, 1943; Meirmans, 2012). En este sentido, las distribuciones geográficas de las especies son típicamente más amplias que la capacidad de dispersión de un individuo, por lo que las poblaciones son a menudo genéticamente diferenciadas a través del aislamiento por distancia (Wright, 1943; Collevatti *et al.*, 2001; Balloux y Lugon-Moulin, 2002). Debido a la limitada dispersión, los individuos geográficamente cercanos tienden a ser genéticamente más similares que los individuos que están más distantes (Balloux y Lugon-Moulin, 2002; Meirmans, 2012) ya que el flujo génico es limitado y localizado o geográficamente restringido generando una estructura genética, debido a que la deriva genética actúa localmente (Hardy y Vekemans, 1999; Collevatti, 2001) lo que tiene importantes consecuencias sobre la distribución de la variación genética (Meirmans, 2012). En este sentido, el mismo principio funciona también en escalas geográficas grandes donde suele existir una relación positiva entre la distancia genética y la distancia geográfica entre las poblaciones (Meirmans, 2012).

Las pruebas de Mantel realizadas para *B. alicastrum* fueron significativas tanto para la prueba general de la especie en México ( $r= 0.56$ ,  $p= 0.00099$ ) como en las pruebas realizadas para cada región (Golfo, Península, Pacífico) (Cuadro 7) encontrando un patrón de aislamiento por distancia en la especie, además, los índices de fijación también encontraron diferencias genéticas entre poblaciones dentro de los grupos ( $F_{SC}= 0.23$ ), además los resultados de flujo génico mostraron que los valores más grandes de flujo se dieron entre las poblaciones dentro de las regiones y de estas principalmente entre las poblaciones que eran más cercanas geográficamente. Los resultados de estas pruebas nos sugieren que el flujo génico es limitado y localizado, lo que origina que las poblaciones más cercanas sean genéticamente más similares porque el flujo génico es mayor que con aquellas poblaciones que se encuentran más alejadas.

En otros estudios de especies de árboles tropicales que se han hecho en escalas geográficas grandes, se ha observado que la estructura genética que presentan obedece a un patrón de aislamiento por distancia. En un estudio realizado en poblaciones de caoba (*Swietenia macrophylla*) que abarca 6 países de Mesoamérica, resultó que aunque las poblaciones mostraban una diferenciación genética moderada ( $\theta= 0.109$  y  $\rho= 0.177$ ) presentaban un patrón de aislamiento por distancia ( $r^2= 0.624$ ;  $p= 0.005$  para  $\theta$  y  $p= 0.000$  para  $\rho$ ) el cual explican que puede deberse más por la geografía de la región que por la distancia *per se*, ya que las poblaciones de caobas pueden formar grupos naturales basados en aislamientos geográficos, lo



que sugiere que la biogeografía histórica en esta región probablemente ha jugado un papel importante sobre la estructura de las poblaciones (Novick *et al.*, 2003). Se encontró que la alta diferenciación genética de las poblaciones de *Caryocar brasiliense* en el Cerrado Brasil obedece a un proceso de aislamiento por distancia ( $r = 0.518$ ,  $p = 0.0396$ ) el cual se ve aun más marcado por factores antropogénicos como la fragmentación que han ocasionado que aumente el aislamiento de las poblaciones (Collevatti *et al.*, 2001). En este sentido, Cardoso *et al.* (2000) sugiere que las poblaciones de *Euterpe edulis* en la selva atlántica de Brasil pudieron pasar por múltiples generaciones aisladas como consecuencia de la fragmentación del hábitat, ya que en esta zona de Brasil se estima que existe una historia de manejo de la tierra de por lo menos 1500 años realizada por los nativos de la región los cuales causaban la deforestación y fragmentación del bosque que además asociado con las características de historia de vida de la especie han determinado los patrones de flujo génico y en consecuencia moldeado la estructura genética de sus poblaciones.

Aunque una gran parte de la variación y estructura genética de las especies se puede explicar bajo las características ecológicas y de historia de vida de las especies, los sucesos históricos a los cuales han sido sometidas las poblaciones pueden explicar otra gran parte e influir la estructura genética actual de las especies.

Los procesos geológicos históricos aunado a los ciclos glaciares del Pleistoceno, pueden haber afectado los patrones pasados de la estructura genética de las especies, estructura que en la actualidad puede persistir si aún no se ha alcanzado el equilibrio entre la migración-deriva, ya que este puede tomar muchas generaciones cuando el tamaño de las poblaciones son grandes pero las tasas de migración son bajas (Poelchau y Hamrick, 2012). Estudios en algunos árboles tropicales en Centroamérica han encontrado patrones de estructura genética que pudieron haber sido moldeados por las interacciones de barreras actuales-barreras históricas al flujo génico (Novick *et al.*, 2003; Dick y Heuertz, 2008; Poelchau y Hamrick, 2012). En este sentido, los patrones de estructura genética derivados de datos genéticos nucleares pueden reflejar patrones por barreras históricas, por lo que es importante considerar la influencia histórica cuando se evalúan los efectos de las barrera actuales al flujo génico para explicar las causas de la diferenciación genética de las poblaciones (Poelchau y Hamrick, 2012).

Bajo este marco, en un estudio realizado para 3 especies que se co-distribuyen ampliamente por Centroamérica (*Bursera simaruba*, *Ficus insipida* y *Brosimum alicastrum*)

encontraron que el patrón de estructura genética actual dado por un marcador nuclear (AFLP) para *Brosimum alicastrum* (Poelchau y Hamrick, 2012) presentaba una similitud con la estructura genética histórica mostrada por el cpDNA (Poelchau y Hamrick, 2013). Las pruebas para corroborar los efectos históricos sobre la estructura genética nuclear, resultaron ser altamente significativas, sugiriendo que no hay un equilibrio entre migración-deriva para esta especie (Poelchau y Hamrick, 2012). Encontraron que la divergencia genética pleistocénica dada por el patrón de cpDNA, coincide con las áreas donde se da la diferenciación genética nuclear, que carece de barreras contemporáneas evidentes para el flujo génico.

Se calcula que la divergencia entre las poblaciones de Costa Rica y Nicaragua pudo haber ocurrido hace tan solo 25,000 años y que la divergencia entre las poblaciones de Nicaragua y El Salvador pudo haber ocurrido hace solo 11,000 años (Poelchau y Hamrick, 2013). Si los eventos del Pleistoceno que potencialmente causaron la estructura genética de las poblaciones son demasiado recientes para que las poblaciones alcancen un equilibrio entre la migración-deriva y si además se dan bajos niveles de flujo génico entre las regiones anteriormente divergentes, entonces las asociaciones entre la distancia genética de cpDNA y AFLP podrían persistir por generaciones y ser reflejadas en la actualidad (Poelchau y Hamrick, 2012). Además, se sugiere que las agrupaciones que se dan en el análisis de PCoA y el de estructura (Figura 14, B y C) corresponden a subespecies de *B. alicastrum* (Poelchau y Hamrick, 2012). Se ha documentado que en las poblaciones más al norte se presentan periodos de fructificación distintos, además se han encontrado variedades de la especie en Centroamérica y que incluso en la distribución más meridional de la especie se reconoce la subespecie *Brosimum alicastrum* var. *bolivarense* (Croat, 1978), pudiendo existir barreras crípticas para el flujo de genes en esta especie (Poelchau y Hamrick, 2012). Debido a esto, con los resultados en estos trabajos se sugiere que las poblaciones para *B. alicastrum* en Centroamérica presentan patrones de estructura genética que probablemente reflejan interacciones de procesos históricos y contemporáneos además de barreras reproductivas crípticas que pueden estar reflejando la estructura genética actual de la especie al menos en esta zona.

Aunque nuestros datos no pueden respondernos si la estructura actual de *B. alicastrum* en México es el reflejo de una estructura histórica, si podemos observar que las poblaciones en nuestro país también se comportan como las poblaciones de su distribución en Centroamérica y Sudamérica donde son altamente estructuradas y regionalizadas, en este sentido, se podría

sugerir ampliamente realizar el estudio filogeográfico para la especie en México, tratando de explicar la historia de esta especie en nuestro país y ver si los patrones son los mismos para toda su distribución.

## CONCLUSIONES

*Brosimum alicastrum* presentó valores de diversidad genética altos, misma que en su mayor porcentaje se encontró dentro de las poblaciones. El resultado que obtuvimos concuerda con el patrón mostrado en otras especies de árboles tropicales y plantas leñosas, donde los altos niveles de variación genética se encuentran dentro de las poblaciones.

*B. alicastrum* presentó una estructura genética estadísticamente significativa, dividiendo a las poblaciones en tres grupos genéticos bien diferenciados y geográficamente delimitados: Golfo, Península y el Pacífico.

La especie presenta valores de flujo génico que va de bajo (0.23) a alto (29.70) aunado a un patrón de asilamiento por distancia.

Las poblaciones que se encuentran en el Golfo y en la Península presentan mayor flujo génico, mientras que las poblaciones de la región del Pacífico mantienen un flujo génico más restringido con ambas regiones.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar-Aguilar, M. J. (2016). *Genética de la conservación del árbol tropical dioico Brosimum alicastrum*. Tesis de Maestría, UNAM, México.
- Alía, R., Agúndez, D., Alba, N., González Martínez, S. C., y Soto, A. (2003). Variabilidad genética y gestión forestal. *Ecosistemas*, 12, 1-7.
- Antonovics, J. (1971). The effects of a heterogeneous environment on the genetics of natural populations: the realization that environments differ has had a profound effect on our views on the origin and role of genetic variability in populations. *American Scientist*, 59, 593-599.
- Aranguren-Méndez, J. A., Román-Bravo, R., Isea, W., Villasmil, Y., y Jordana, J. (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, D. M., Albarrán-Lara, A. L., González-Rodríguez, A., Peñaloza-Ramírez, J., Dorado, O., y Leyva, E. (2011). Genetic diversity and structure of wild populations of the tropical dry forest tree *Jacaratia Mexicana* (Brassicales: Caricaceae) at local scale in Mexico. *Revista de Biología Tropical (International Journal of Tropical Biology and Conservation)*, 60, 1-10.
- Ayala, F. J., y Kiger, J. A. (1980). *Modern Genetics*. 1ª ed. Benjamin/Cummings: Menlo Park, California.
- Bandelj, D., Javornik, B., y Jakse, J. (2007). Development of micosatellite markers in the common fig, *Ficus carica* L. *Molecular Ecology Notes*, 7, 1311-1314.
- Balloux, F., y Lugon-Moulin, N. (2002). The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology*, 11, 155-165.
- Bartish, I. V., Jeppsson, N., y Nybom, H. (1999). Population genetic structure in the dioecious pioneer plant species *Hippophae rhamnoides* investigated by random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Molecular Ecology*, 8, 791-802.
- Barton, N. H., y Hewitt, G. M. (1985). Analysis of hybrid zone. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 16, 113-148.

- Batis, A. I., Alcocer, M. G. M. I., Sánchez, C., y Vázquez, Y. C. (1999). *Árboles y arbustos nativos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación*. CONABIO, Instituto de Ecología, UNAM, D. F, México.
- Bawa, K. S. (1976). Breeding of tropical hardwoods: and evaluation of underlying bases, current status and future prospects. En: Burley, J., y Styles, B. T. (eds.). *Tropical trees: Variation, Breeding and Conservation*. Linnean Society Symposium Series No. 2 (London: Academic Press). pp. 43-59.
- Benítez, G., Pulido-Salas, M. T. P., y Equihua, M. (2004). *Árboles multiusos nativos de Veracruz para reforestación, restauración y plantaciones*. CONAFOR, Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz, México.
- Beerli, P., y Felsenstein, J. (2001). Maximum likelihood estimation of a migration matrix and effective population sizes in n subpopulations by using a coalescent approach. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 4563-4568.
- Beerli, P. (2002). *MIGRATE documentation*. Version 1.6. <http://evolution.genetics.washington.edu/lamarc/migrate.html>
- Berg, C. C. (1972). Olmedieae, Brosimeae (Moraceae). *Flora Neotropica*, 7, 1-228.
- Berg, C. C. (1990). Reproduction and evolution in Ficus (Moraceae): traits connected with the adequate rearing of pollinators. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, 55, 169-185.
- Berg, C. C. (2001). Moreae, Artorcapeae and Dorstenia (Moraceae) with introductions to the family and Ficus and with additions and corrections to Flora Neotropica Monograph 7. *Flora Neotropica*, 83, 1-346.
- Bizoux, J. P., Daïnou, K., Bourland, N., Hardy, O. J., Heuertz, M., Mahy, G., y Doucet, J. L. (2009). Spatial genetic structure in *Milicia excelsa* (Moraceae) indicates extensive gene dispersal in a low-density wind-pollinated tropical tree. *Molecular Ecology*, 18, 4398-4408.
- Bonnin, I., Prosperi, J. M., Olivieri, I. (1996). Genetic markers and quantitative genetic variation in *Medicago truncatula* (Leguminosae): a comparative analysis of population structure. *Genetics*, 143, 1795-1805.

- Born, C., Hardy, O. J., Chevallier, M. H., Ossari, S., Attéké, C., Wickings, E. J., Hossaert-Mickey, M. (2008). Small-scale spatial genetic structure in the Central African rainforest tree species *Aucoumea klaineana*: a stepwise approach to infer the impact of limited gene dispersal, population history and habitat fragmentation. *Molecular Ecology*, 17, 2041-2050.
- Boshier, D. H., Chase, M. R., y Bawa, K. S. (1995). Population genetics of *Cordia alliodora* (Boraginaceae) a Neotropical tree. 3. Gene flow, neighborhood and population substructure. *American Journal of Botany*, 82, 484-490.
- Breedlove, D. E. (1986). *Flora de Chiapas. Listados florísticos de México IV*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Brondani, R. P. V., Gaiotto, F. A., Missiaggia, A. A., Kirst, M., Gribel, R., y Grattapaglia, D. (2003). Microsatellite markers for *Ceiba pentandra* (Bombacaceae), an endangered tree species of the amazon forest. *Molecular Ecology Notes*, 3, 177-179.
- Brown, J. H. (1984). On the relationship between abundance and distribution of species. *The American Naturalist*, 124, 255-279.
- Burns, R. M., y Mosquera, M. (1988). *Árboles útiles de la parte tropical de América del Norte*. Comisión Forestal de América del Norte. Publicación 3. Washington DC, EE-UU.
- Cardoso, S. R. S., Eloy, N. B., Provan, J., Cardoso, M. A., y Ferreira, P. C. G. (2000). Genetic differentiation of *Euterpe edulis* Mart. populations estimated by AFLP analysis. *Molecular Ecology*, 9, 1753-1760.
- Carvajal, S. (2007). Moraceae. *Flora del Bajío y de Regiones Adyacente*, 147, 1-59.
- Cevallos-Ferriz, S. R. S., González-Torres, E. A., y Calvillo-Canadell, L. (2012). Perspectiva paleobotánica y geológica de la biodiversidad en México. *Acta Botánica Mexicana*, 100, 317-350.
- Challenger, A., y Soberón, J. (2008). Los Ecosistemas terrestres. En: *Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad*. CONABIO, México, pp. 87-108.
- Chase, M. R., Boshier, D. H., Bawa, K. S. (1995). Population genetics of *Cordia alliodora* (Boraginaceae) a Neotropical tree. 1. Genetic variation in natural populations. *American Journal of Botany*, 82, 468-475.

- Chavéz-Pesqueira, M., y Núñez-Farfán, J. (2016). Genetic diversity and structure of wild populations of *Carica papaya* in Northern Mesoamerica inferred by nuclear microsatellites and chloroplast markers. *Annals of Botany*, 118, 1293-1306.
- Chen, Y., Shi, M-M., Ai, B., Gu, J. M., Chen, X. Y. (2008). Genetic variation in island and mainland populations of *Ficus pumila* (Moraceae) in eastern Zhejiang of China. *Symbiosis*, 45, 1-8.
- Collevatti, G. R., Grattapaglia, D., y Hay, D. J. (2001). Population genetic structure of the endangered tropical tree species *Caryocar brasiliense*, based on variability at microsatellite loci. *Molecular Ecology*, 10, 349-356.
- Croat, B. T. (1978). *Flora of Barro Colorado Island*. Stanford University Press, Stanford, California.
- Crozier, Y. C., Jia, X. C., Yao, J. Y., Field, A. R., Cook, J. M., y Crozier, R. H. (2007). Microsatellite primers for *Ficus racemosa* and *Ficus rubiginosa*. *Molecular Ecology Notes*, 7, 57-59.
- Datwyler, S. L., y Weiblen, G. D. (2004). On the origin of the fig: phylogenetic relationship of Moraceae from *ndhF* sequences. *American Journal of Botany*, 91, 767-777.
- Dayanandan, S., Dole, J., Bawa, K., y Kesseli, R. (1999). Population structure delineated with microsatellite markers in fragmented populations of a tropical tree, *Carapa guianensis* (Meliaceae). *Molecular Ecology*, 8, 1585-1592.
- Dick, C. W., y Heuertz, M. (2008). The complex biogeographic history of a widespread tropical tree species. *Evolution*, 62, 2760-2774.
- Dick, C. W., Hardy, O. J., Jones, F. A., y Petit, R. J. (2008). Spatial scales of pollen and seed-mediated gene flow in tropical rain forest trees. *Tropical Plant Biology*, 1, 20-33.
- Dick, C. W. (2010). Phylogeography and population structure of tropical trees. *Tropical Plant Biology*, 3, 1-3.
- Dieringer, D., y Schlötterer, C. (2003). Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Molecular Ecology Notes*, 3, 167-169.
- Dobzhansky, T., Ayala, F. J., Stebbins, G. L., y Valentine, J. W. (1993). *Evolución*. Omega, Barcelona.
- Doyle, J., y Doyle J. L. (1987). Genomic plant DNA preparation from fresh tissue-the CTAB method. *Phytochem Bull*, 19:11.



- Earl, D. A., y VonHoldt, B. M. (2012). Structure Harvester: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4 (2), 359-361.
- Ellstrand, N. C. (1992). Gene flow by pollen: implications for plant conservation genetics. *Oikos*, 63, 77-86.
- Ellstrand, N. C., y Elam, D. R. (1993). Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 24, 217-242.
- Estrada, A., Coates-Estrada, R., y Meritt, D. (1993). Bat species richness in abundance in tropical rain forest fragments and in agricultural habitats at Los Tuxtlas, Mexico. *Ecography*, 16, 309-318.
- Evanno, G., Regnaut, S., y Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14, 2611-2620.
- Excoffier, L., Laval, G., y Schneider, S. (2005). Arlequin (versión 3.0): A integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics*, 1, 47-50.
- Feria-Ortiz, M., y Nieto-Montes de Oca, A. (2003). Genética de poblaciones, una perspectiva histórica. *Ciencias*, 71, 33-42.
- Ferreira-Ramos, R., Laborda, P. R., de Oliveira-Santos, M., Mayor, M. S., Mestriner, M. A., de Souza, A. P., y Alzate-Marin, A. L. (2008). Genetic analysis of forest species *Eugenia uniflora* L. through of newly developed SSR markers. *Conservation Genetics*, 9, 1281-1285.
- Figuroa-Esquivel, E. M., Puebla-Olivares, F., Eguiarte, L. E., Núñez-Farfán, J. (2010). Genetic structure of a bird-dispersed tropical tree (*Dendropanax arboreus*) in a fragmented landscape in México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 81, 789-800.
- Finkeldey, R., y Hattemer, H. H. (2007). *Tropical Forest Genetics*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- García, F., Noyer, J. L., Risterucci, A. M., y Chevallier, M. H. (2004). Genotyping of mature trees of *Entandrophragma cylindricum* with microsatellites. *Journal of Heredity*, 95(5), 454-457.

- Gentry, A. H. (1988). Changes in plant community diversity and floristic composition on environmental and geographical gradients. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 75, 1-34.
- Godt, M. J. W., y Hamrick, J. L. (1993). Genetic diversity and population structure in *Tradescantia hirsuticaulis* (Commelinaceae). *American Journal of Botany*, 80, 959-966.
- Goldstein, D. B., y Schlotterer, C. (1999). *Microsatellite: Evolution and Applications*. Oxford University Press, New York.
- Gómez-Domínguez, H., Pérez-Farrera, M. A., Espinoza-Jiménez, J. A., y Marquez-Reynoso, M. I. (2015). Listado florístico del Parque Nacional Palenque, Chiapas, México. *Botanical Sciences*, 93, 559-578.
- González-Astorga, J., Vergara-Silva, F., Vovides, A. P., Nicolalde-Morejón, F., Cabrera-Toledo, D., y Pérez-Farrera, M. A. (2009). Diversity and genetic structure of the endangered cycad *Dioon sonorense* (Zamiaceae) from Sonora, Mexico. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36, 891-899.
- Goudet, J. (2002). FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (v. 2.9.3.2). Institute of Ecology, Lausanne, Suiza.
- Griffiths, A. J. F., Miller, J. H., Suzuki, D. T., Lewontin, R. C., y Gelbart, W. M. (2000). *An introduction to genetic analysis*. 7<sup>a</sup> ed. W. H. Freeman, New York.
- Guevara, S., Laborde, J., y Sánchez-Ríos, G. (2004). Rain forest regeneration beneath the canopy of fig trees isolated in pastures of Los Tuxtlas, México. *Biotropica*, 36, 99-108.
- Guidugli, M. C., de Campos, T., de Sousa, A. C. B., Feres, J. M., Sebbenn, A. M., Mestriner, M. A., Contel, E. P. B., y Alzate-Marin, A. L. (2009). Development and characterization of 15 microsatellite loci for *Cariniana estrellensis* and transferability to *Cariniana legalis*, two endangered tropical tree species. *Conservation Genetics*, 10, 1001-1004.
- Guidugli, M. C., Ferreira-Ramos, R., de Sousa, A. C. B., Cidade F. W., Marconi, T. G., Mestriner, M. A., Groppo, M., y Alzate-Marin A. L. (2012). Genetic diversity of *Metrodorea nigra* (Rutaceae) from a small forest remnant in Brazil assessed with microsatellite markers. *Genetics and Molecular Research*, 11, 10-16.
- Hamrick, J. L., Linhart, Y. B., y Mitton, J. B. (1979). Relationships between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 10, 173-200.

- Hamrick, J. L., y Godt, M. J. W. (1989). Allozyme diversity in plant species. En: Brown, A. H. D., Clegg, M. T., Kahler, A. L., y Weir, B. S. (eds.). *Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources*. Sinauer Press, Sunderland, Mass.
- Hamrick, J. L., y Murawski, D. A. (1990). The breeding structure of tropical tree populations. *Plant Species Biology*, 5, 157-165.
- Hamrick, J. L., Godt, M. J. W., y Sherman-Broyles, S. L. (1992). Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests*, 6, 95-124.
- Hamrick, J. L., Murawski, D. A., y Nason, J. D. (1993). The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. *Vegetatio*, 107/108, 281-297.
- Hardy, O. J., y Vekemans, X. (1999). Isolation by distance in a continuous population: reconciliation between spatial autocorrelation analysis and population genetics models. *Heredity*, 83, 145-154.
- Hardy, O. J., Maggia, L., Bandou, E., Breyne, P., Caron, H., Chevallier, M. H., Doligez, A., Dutech, C., Kremer, A., Latouche-Hallé, C., Troispoux, V., Veron, V., y Degen, B. (2006). Fine-scale genetic structure and gene dispersal inferences in 10 neotropical tree species. *Molecular Ecology*, 15, 559-571.
- Hart, D. L., y Clark, A. G. (1989). *Principles of populations genetics*. 2<sup>a</sup> ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 682 p.
- Hedrick, P. W. (2000). *Genetics of populations*. Jones and Bartlett Pub, Mass.
- INEGI. (2003). Conjunto de datos vectoriales de la carta de vegetación primaria 1:1 000 000. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, Aguascalientes.
- INEGI. (2005). Conjunto de datos vectoriales de la carta de uso de suelo y vegetación: escala 1:250 000. Serie III (continuo nacional). Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Información, Aguascalientes.
- Jones, F. A., y Hubbell, S. P. (2006). Demographic spatial genetic structure of the Neotropical tree, *Jacaranda copaia*. *Molecular Ecology*, 15, 3205-3217.
- Koleff, P., Urquiza-Haas, T., y Contreras, B. (2012). Prioridades de conservación de los bosques tropicales en México: reflexiones sobre su estado de conservación y manejo. *Ecosistemas*, 21, 6-20.

- Lacerda, D. R., Acedo, M. D. P., Lemos-Filho, J. P., y Lovato, M. B. (2001). Genetic diversity and structure of natural populations of *Plathymenia reticulata* (Mimosoideae), a tropical tree from the Brazilian Cerrado. *Molecular Ecology*, *10*, 1143-1152.
- Lander, T. A., y Monro, A. (2015). Conservation of *Brosimum alicastrum*, an underutilized crop and keystone forest tree species; a potential win-win for conservation and development in Latin America. *Biodiversity and Conservation*, *24*, 1917-1930.
- Le Roux, J. J., Wieczorek, A. M., y Meyer, J. Y. (2008). Genetic diversity and structure of the invasive tree *Miconia calvescens* in Pacific islands. *Diversity and Distributions*, *14*, 935-948.
- Lesica, P., y Allendorf, F. W. (1995). When are peripheral populations valuable for conservation? *Conservation Biology*, *9*, 753-760.
- Levin, D. A., y Kerster, H. W. (1971). Neighborhood structure in plants under diverse reproductive methods. *The American Naturalist*, *105*, 345-354.
- Loveless, M. D., y Hamrick, J. L. (1984). Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *15*, 65-95.
- Loveless, M. D. (1992). Isozyme variation in tropical trees: patterns of genetic organization. *New Forests*, *6*, 67-94.
- Loveless, M. D., Hamrick, J. L., y Foster, R. B. (1998). Population structure and mating system in *Tachigali versicolor*, a monocarpic neotropical tree. *Heredity*, *81*, 134-143.
- Manni, F., Guerard, E., y Heyer, E. (2004). Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: How barriers can be detected by using Monmonier's algorithm. *Human Biology*, *76*, 173-190.
- Mantel, N. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, *27*, 209-220.
- Martínez-Ramos, M., y Álvarez-Buylla, E. (1995). Ecología de poblaciones de plantas en una selva húmeda de México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, *56*, 121-153.
- Martínez-Ramos, M., Barraza, L., Balvanera, P., Benítez-Malvido, J., Bongers, F., Castillo-Álvarez, A.,...Zermeño-Hernández, I. (2012). Manejo de bosques tropicales: bases científicas para la conservación, restauración y aprovechamiento de ecosistemas en paisajes rurales. *Investigación Ambiental Ciencia y Política Pública*, *4*, 111-129.

- Mayers, N. (1989). Deforestation rates in tropical forests and their climatic implications. Friends of the Earth, London.
- Meiners, M. C., Sánchez, G., y De Blois, S. (2009). El ramón: fruto de nuestra cultura y raíz para la conservación. *Biodiversitas*, 87, 7-10.
- Meirmans, G. P. (2012). The trouble with isolation by distance. *Molecular Ecology*, 21, 2839-2846.
- Miller, M. P. (2005). Alleles in Space: computer software for the joint analysis of interindividual spatial and genetic information. *Journal of Heredity*, 96, 722-724.
- Miranda, F. (1998). *La vegetación de Chiapas*. 3ª edición. Consejo Estatal para la Cultura y las Artes de Chiapas, México.
- Mittermeier, R. A., y Goettsch, de M. C. (1992). La importancia de la diversidad biológica de México. En: Sarukhán, J. y Dirzo, R. (Comp.). *México ante los retos de la biodiversidad*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, pp. 63-73.
- Moe, A. M., y Weiblen, G. D. (2011). Development and characterization of microsatellite loci in dioecious figs (*Ficus*, Moraceae). *American Journal of Botany*, 98, 25-27.
- Murdoch, K. C., Ndangalasi, H. J., LeCaptain, M. K., Clement, W. L., Feldheim, K. A., y Cordeiro, N. J. (2013). Isolation and development of 13 new, polymorphic microsatellite loci for a threatened, understory tree, *Mesogyne insignis*, (Moraceae) from the Eastern Arc Mountains. *Conservation Genetics Resources*, 5, 275-277.
- Nason, J. D. (2002). La estructura genética de las poblaciones de árboles. En: Guariguata, M. R., y Kattan, G. H. (Eds.). *Ecología y Conservación de Bosques Neotropicales*. Libro Universitario Regional (LUR), Cartago, Costa Rica, pp. 299-328.
- Nazareno, A. G., Pereira, R. A. S., Feres, J. M., Mestriner, M. A., y Alzate-Marin, L. (2009). Transferability and characterization of microsatellite markers in two neotropical *Ficus* species. *Genetics and Molecular Biology*, 32(3), 568-571.
- Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, Nueva York.
- Novick, R. R., Dick, C. W., Lemes, M. R., Navarro, C., Caccones, S., y Bermingham, E. (2003). Genetic structure of Mesoamerican populations of big-leaf mahogany (*Swietenia macrophylla*) inferred from microsatellite analysis. *Molecular Ecology*, 12, 2885-2893.

- Orantes-García, C., Caballero-Roque, A., y Velázquez-Méndez, M. A. (2012). Aprovechamiento del árbol nativo *Brosimum alicastrum* Swartz (Moraceae) en la Selva Zoque Chiapas, México. *LACANDONIA*, 6, 71-82.
- Ouinsavi, C., Sokpon, N., Bousquet, J., Newton, C. H., y Khasa, D. P. (2006). Novel microsatellite DNA markers for the threatened African endemic tree species, *Milicia excelsa* (Moraceae), and cross-species amplification in *Milicia regia*. *Molecular Ecology Notes*, 6, 480-483.
- Ouinsavi, C., Sokpon, N., y Khasa, D. P. (2009). Genetic diversity and population structure of a threatened African tree species, *Milicia excelsa*, using nuclear microsatellites DNA markers. *International Journal of Forestry Research*, 2009, 8 pp.
- Pardo-Tejeda, E., y Sánchez-Muñoz, C. (1980). *Brosimum alicastrum* (ramón, capomo, ojite, ojoche) recurso silvestre tropical desaprovechado. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Xalapa, Veracruz, Tomo 3, 5-27 pp.
- Peakall, R., y Smouse, P.E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288-295.
- Pennington, T. D., y Sarukhán, J. (2005). *Árboles tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies*. 3ª ed. Universidad Nacional Autónoma de México. Fondo de Cultura Económica, México.
- Pennington, T. D., y Sarukhán, J. (2012). *Árboles tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies*. 3ª ed. Universidad Nacional Autónoma de México. Fondo de Cultura Económica, México.
- Pérez, I. A., Sousa, S., Hanan, A. M., Chiang, F., y Tenorio, P. (2005). Vegetación terrestre. En: Bueno, J., Álvarez, F., y Santiago, S. (Eds.). *Biodiversidad del estado de Tabasco*. Instituto de Biología, UNAM-CONABIO. México, pp. 65-110.
- Peters, C. M., y Pardo-Tejeda, E. (1982). *Brosimum alicastrum* (Moraceae): uses and potential in México. *Economic Botany*, 36, 166-175.
- Peters, C. M. (1989). *Reproduction, growth and the population dynamics of Brosimum alicastrum Sw. in a moist tropical forest of central Veracruz, México*. Thesis PhD, Yale University, New Haven, CT, USA.
- Petit, R. J., y Hampe, A. (2006). Some evolutionary consequences of being a tree. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 37, 187-214.

- Piñero, D., Barahona, A., Eguiarte, L., Rocha, O. A., y Salas, L. R. (2008). La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México. En: *Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad*. CONABIO, México, pp. 415-435.
- Pither, R., Shore, J. S., y Kellman, M. (2003). Genetic diversity of the tropical tree *Terminalia Amazonia* (Combretaceae) in naturally fragmented populations. *Heredity*, 91, 307-313.
- Poelchau, M. F., y Hamrick, J. L. (2012). Differential effects of landscape-level environmental features of genetic structure in three codistributed tree species in Central America. *Molecular Ecology*, 21, 4970-4982.
- Poelchau, M. F., y Hamrick, J. L. (2013). Comparative phylogeography of three common Neotropical tree species. *Journal of Biogeography*, 40, 618-631.
- Porth, I., y El-Kassaby, Y. A. (2014). Assessment of the genetic diversity in forest tree populations using molecular markers. *Diversity*, 6, 283-295.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., y Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945-959.
- Reading, A. J., Thompson, R. D., y Millington, A. C. (1995). *Humid Tropical Environments*. Cambridge, United Kingdom.
- Richards, P. W., (1957). *The tropical rain forest: an ecological study*. Cambridge, Gran Bretaña: Cambridge University.
- Risterucci, A. M., Duval, M. F., Rohde, W., y Billotte, N. (2005). Isolation and characterization of microsatellite loci from *Psidium guajava* L. *Molecular Ecology Notes*, 5, 745-748.
- Rivera-Ocasio, E., Aide, T. M., y McMillan, W. O. (2002). Patterns of genetic diversity and biogeographical history of the tropical wetland tree, *Pterocarpus officinalis* (Jacq.), in the Caribbean basin. *Molecular Ecology*, 11, 675-683.
- Rzedowski, J. (1998). Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. En: Ramamoorthy, T. P., Bye, R., Lot, A., y Fa, J. (eds.). *Diversidad Biológica de México: orígenes y distribución*. Instituto de Biología, UNAM, México, pp 129-145.
- Sagarin, R. D., y Gaines, D. (2002). The “abundant centre” distribution: To what extent is it a biogeographical rule? *Ecology Letters*, 5, 137-147.

- Schierenbeck, K. A., Skupski, M., Lieberman, D., y Lieberman, M. (1997). Population structure and genetic diversity in four tropical tree species in Costa Rica. *Molecular Ecology*, 6, 137-144.
- Senapati, S. K., Das, G. K., Aparajita, S., y Rout, G. R. (2012). Assessment of genetic variability in the Asoka tree of India. *Biodiversity*, 13, 16-23.
- Slatkin, M. (1993). Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution*, 47, 264-279.
- Slatkin, M. (1995). A measure a population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics Society of America*, 139, 457-462.
- Sodré-Cardoso, S. R., Provan, J., Fonseca-Lira, C. D., Ramos-Pereira, L., Gomes-Ferreira, P. C., y Aires-Cardoso, M. (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.
- Stott, P. A. (1981). *Historical plant geography: an introduction*. Allen and Unwin, London, United Kingdom.
- Templeton, A. R., Shaw, K., Routman, E., y Davis, S. K. (1990). The genetic consequences of habitat fragmentation. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 77, 13-27.
- Terborgh, J. (1992). Maintenance of diversity in tropical forests. *Biotropica*, 24, 283-292.
- Turner, I. M., y Corlett, R. T. (1996). The conservation value of small, isolated fragments of lowland tropical rain forest. *Trends in Ecology and Evolution*, 11, 330-333.
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. M., Shipley, P. (2004). MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4, 535-538.
- Vázquez, Y. C., Bátis, M. A. I., Alcocer, S. M. I., Gual, D. M., y Sánchez, D. C. (1999). *Árboles y arbustos nativos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación*. CONABIO, Instituto de Ecología, UNAM, D. F, México.
- Vignes, H., Hossaert-Mickey, M., Beaune, D., Fevre, D., Anstett, M. -C., Borges, R. M., Kjellberg, F., y Chevallier, M. H. (2006). Development and characterization of microsatellite markers for a monoecious *Ficus* species, *Ficus insipida*, and cross-species amplification among different sections of *Ficus*. *Molecular Ecology Notes*, 6, 792-795.



- Vieira, F., y Carvalho, D. (2009). Genetic differentiation of the Neotropical tree species *Protium spruceanum* (Benth.) Engler (Burseraceae) between fragments and vegetation corridors in Brazilian Atlantic forest. *Acta Botanica Brasilica*, 23, 1180-1185.
- Villaseñor, J. L. (2004). Los géneros de plantas vasculares de la flora de México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 75, 105-135.
- Villaseñor, J. L. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. Catálogo de las plantas vasculares nativas de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87, 559-902.
- Wang, R., Compton, S. G., y Chen, X. Y. (2011). Fragmentation can increase spatial genetic structure without decreasing pollen-mediated gene flow in a wind-pollinated tree. *Molecular Ecology*, 20, 4421-4432.
- Wright, S. (1943). Isolation by distance. *Genetics*, 28, 114-138.
- Wright, S. (1951). The genetical structure of populations. *Annals of human genetics*, 15, 323-354.
- Wright, S. (1965). The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19, 395-420.
- Wright, S. (1978). *Evolution and the genetics of populations. Vol. 4. Variability within and among natural populations*. University of Chicago Press, Chicago.
- Yang, C. -H., Ding, Y. -Y., y Tong, X. (2014). Development and characterization of polymorphic microsatellites in *Ficus sarmentosa* var. *henryi*. *Conservation Genetics Resources*, 6, 907.
- Zavodna, M., Arens P., Van Dijk P. J., y Bosman B. (2005). Development and characterization of microsatellite markers for two dioecious *Ficus* species. *Molecular Ecology Notes*, 5, 355-357.
- Zerega, N. J., Clement, W. L., Datwyler, S. L., y Weiblen, G. D. (2005). Biogeography and divergence times in the mulberry family (Moraceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37, 402-416.
- Zhao, W., Miao, X., Jia, S., Pan, Y., y Huang, Y. (2005). Isolation and characterization of microsatellite loci from the mulberry, *Morus L.* *Plant Science*, 168, 47-55.

## APÉNDICE

### Apéndice A

Valores de diversidad genética para los 15 pares de marcadores genéticos de microsatélites diseñados para *Brosimum alicastrum*. En el cuadro se indica el locus con su rango en pares de bases, la temperatura de alineamiento, número de alelos totales, la riqueza alélica (A), número promedio de alelos ( $N_a$ ), número de alelos efectivos ( $N_e$ ), la heterocigosidad observada ( $H_o$ ), la heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) y el índice de fijación (F) así como la media y su error estándar.

Locus	Rango (pb)	$T_a$ (°C)	Número		A	$N_a$	$N_e$	$H_o$	$H_e$	F
			de	Alelos						
Bro5	109-125	60.1	11		4.716	2.879	2.161	0.681	0.516	-0.343
Bro7	184-242	60.1	27		9.097	5.242	3.278	0.662	0.661	-0.014
Bro9	114-210	60.1	9		4.362	2.636	1.966	0.675	0.472	-0.416
Bro10	112-148	53.8	18		4.802	4.212	2.622	0.738	0.591	-0.263
Bro11	100-130	58.1	14		3.222	4.909	3.244	0.728	0.666	-0.104
Bro12	126-162	59.5	19		8.936	4.364	2.675	0.736	0.610	-0.223
Bro13	172-206	45.8	18		8.503	3.818	2.436	0.599	0.538	-0.135
Bro14	102-122	45.8	11		6.961	3.121	2.342	0.707	0.543	-0.329
Bro15	100-130	59.5	16		8.361	4.818	3.197	0.639	0.635	-0.032
Bro16	194-230	60.1	18		6.844	4.394	2.823	0.686	0.590	-0.189
Bro17	184-206	60.1	16		6.474	3.727	2.636	0.521	0.545	0.047
Bro18	180-228	59.5	22		5.892	4.485	2.765	0.605	0.605	-0.011
Bro20	172-206	48.4	18		7.359	3.848	2.586	0.530	0.560	0.035
Bro24	138-178	48.4	18		8.037	3.879	2.536	0.672	0.587	-0.163
Bro28	84-130	48.4	19		8.076	4.182	3.003	0.794	0.648	-0.263
<b>Media</b>						4.034	2.685	0.665	0.585	-0.158
<b>EE</b>						0.066	0.042	0.008	0.006	0.013

## Apéndice B

Valores pareados de FST para las 33 poblaciones de *Brosimum alicastrum* estimados con el programa ARLEQUIN. El número de la población corresponde al nombre de la población como se muestra en el Cuadro 2.

Pop.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33		
1	*																																		
2	0.05	*																																	
3	0.02	0.03	*																																
4	0.04	0.01	0.02	*																															
5	0.01	0.06	0.03	0.08	*																														
6	-0.0	0.08	0.06	0.10	0.03	*																													
7	0.00	0.04	0.06	0.05	0.01	0.04	*																												
8	0.01	0.04	0.04	0.07	0.07	0.06	0.00	*																											
9	0.05	0.02	-0.01	0.03	0.02	0.10	0.02	0.05	*																										
10	0.50	0.41	0.43	0.42	0.46	0.52	0.50	0.51	0.40	*																									
11	0.06	0.08	0.07	0.07	0.01	0.15	0.06	0.14	0.03	0.45	*																								
12	0.04	0.09	0.13	0.15	0.07	0.10	0.02	-0.01	0.10	0.52	0.19	*																							
13	0.09	0.11	0.11	0.14	0.10	0.08	0.05	0.06	0.13	0.49	0.17	0.06	*																						
14	0.08	0.16	0.21	0.23	0.11	0.10	0.06	0.07	0.19	0.60	0.25	0.06	0.06	*																					
15	0.28	0.28	0.28	0.31	0.28	0.27	0.24	0.25	0.30	0.52	0.33	0.26	0.05	0.28	*																				
16	0.03	0.06	0.12	0.10	0.07	0.06	0.05	0.02	0.08	0.51	0.15	0.00	0.10	0.04	0.29	*																			
17	0.04	0.07	0.14	0.13	0.05	0.01	-0.00	0.02	0.11	0.57	0.19	0.05	0.05	0.01	0.25	0.04	*																		
18	0.02	0.06	0.06	0.09	0.04	0.03	0.00	0.01	0.06	0.49	0.11	0.02	-0.00	-0.00	0.18	0.02	0.00	*																	
19	0.15	0.15	0.25	0.22	0.18	0.19	0.10	0.07	0.18	0.55	0.27	0.08	0.09	0.05	0.28	0.03	0.03	0.01	*																
20	0.19	0.24	0.30	0.29	0.20	0.19	0.18	0.13	0.25	0.60	0.35	0.09	0.13	0.10	0.30	0.07	0.06	0.09	0.08	*															
21	0.11	0.06	0.18	0.11	0.16	0.15	0.09	0.07	0.12	0.49	0.18	0.09	0.12	0.16	0.31	0.01	0.05	0.04	0.04	0.13	*														
22	0.01	0.04	0.00	0.02	0.00	0.06	0.02	0.08	0.00	0.48	0.00	0.16	0.13	0.21	0.32	0.09	0.13	0.06	0.24	0.30	0.14	*													
23	0.20	0.22	0.19	0.13	0.15	0.23	0.17	0.27	0.16	0.43	0.13	0.30	0.24	0.36	0.36	0.29	0.24	0.21	0.62	0.39	0.25	0.13	*												
24	0.09	0.10	0.06	0.06	0.04	0.10	0.01	0.12	0.06	0.51	0.09	0.17	0.12	0.18	0.29	0.15	0.12	0.07	0.22	0.29	0.17	0.03	0.11	*											
25	0.16	0.17	0.16	0.18	0.12	0.17	0.13	0.18	0.12	0.53	0.15	0.29	0.23	0.31	0.36	0.20	0.21	0.18	0.32	0.35	0.25	0.13	0.26	0.12	*										
26	0.56	0.54	0.61	0.58	0.51	0.58	0.58	0.62	0.56	0.55	0.55	0.64	0.51	0.65	0.52	0.60	0.61	0.55	0.66	0.65	0.54	0.62	0.56	0.60	0.60	*									
27	0.59	0.56	0.63	0.59	0.54	0.59	0.59	0.63	0.58	0.57	0.60	0.64	0.52	0.66	0.52	0.61	0.60	0.57	0.66	0.63	0.56	0.64	0.57	0.61	0.62	0.08	*								
28	0.55	0.46	0.57	0.53	0.50	0.56	0.55	0.58	0.50	0.43	0.55	0.62	0.44	0.64	0.44	0.56	0.58	0.50	0.64	0.63	0.52	0.59	0.55	0.57	0.58	0.21	0.19	*							
29	0.55	0.46	0.59	0.55	0.48	0.56	0.55	0.59	0.51	0.45	0.56	0.62	0.45	0.64	0.47	0.57	0.56	0.51	0.65	0.63	0.54	0.61	0.55	0.57	0.60	0.25	0.18	0.03	*						
30	0.55	0.46	0.55	0.52	0.49	0.53	0.53	0.57	0.50	0.49	0.54	0.60	0.47	0.62	0.50	0.56	0.54	0.51	0.62	0.61	0.52	0.57	0.53	0.54	0.55	0.31	0.22	0.04	0.04	-0.00	*				
31	0.52	0.43	0.53	0.49	0.45	0.52	0.50	0.56	0.46	0.48	0.48	0.59	0.45	0.60	0.48	0.53	0.54	0.47	0.60	0.60	0.48	0.53	0.48	0.50	0.50	0.28	0.27	0.06	0.12	0.09	*				
32	0.51	0.40	0.52	0.49	0.44	0.50	0.49	0.53	0.46	0.47	0.50	0.57	0.43	0.59	0.47	0.51	0.51	0.47	0.60	0.59	0.47	0.55	0.51	0.51	0.52	0.28	0.22	0.01	0.02	-0.01	0.06	*			
33	0.61	0.52	0.63	0.60	0.54	0.62	0.60	0.64	0.57	0.52	0.60	0.67	0.52	0.60	0.53	0.63	0.62	0.57	0.69	0.68	0.59	0.65	0.58	0.62	0.65	0.29	0.20	0.06	0.00	0.02	0.17	0.09	*		

## Apéndice C

Valores de intercambio genético estimados con el programa MIGRATE-n. Tasas de migración pareadas entre 33 poblaciones de *Brosimum alicastrum* distribuidas en México. Las poblaciones donantes y receptoras están por debajo y arriba de la diagonal respectivamente. Las tasas de migración se dan como el valor del número efectivo de migrantes por generación ( $Nm$ ). El número de la población corresponde al nombre de la población como se muestra en el Cuadro 2.

Pop.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
1	---	5.97	5.76	10.50	1.57	16.96	5.90	11.12	9.47	0.68	2.81	7.69	3.63	2.60	9.40	2.61	1.51	13.80	4.73	2.54	3.98	4.05	1.37	1.30	3.15	0.27	3.63	1.71	0.13	2.54	4.80	0	2.33
2	3.64	---	2.52	9.03	3.66	2.68	14.65	6.75	6.34	5.77	6.26	6.75	7.65	2.84	3.62	3.88	3.41	2.68	5.86	7.48	7.48	7.24	3.01	2.27	1.46	0.56	2.27	1.87	0	2.36	3.17	1.38	0.32
3	2.32	1.71	---	2.46	3.76	5.85	8.46	6.50	1.59	0.86	7.15	0.65	3.18	4.41	4.04	0.65	4.26	6.94	2.16	1.95	3.18	5.96	1.55	4.62	3.18	6.36	1.87	1.66	1.80	4.84	3.39	2.02	2.38
4	3.17	5.23	1.81	---	3.17	3.45	12.46	17.16	11.72	1.18	15.63	2.83	4.47	2.88	6.06	5.04	1.64	3.96	10.70	3.90	5.21	8.21	3.28	6.85	2.60	0.34	4.70	0.56	0	0	0	0.39	0.34
5	1.08	1.15	1.11	1.48	---	4.15	2.78	4.00	2.07	1.06	5.98	7.96	2.18	0.86	8.51	2.58	5.17	1.92	3.75	3.34	3.44	6.84	4.05	2.43	0.91	1.01	2.94	0.55	1.97	0.25	1.26	1.62	1.01
6	2.12	1.42	1.60	1.43	2.10	---	4.66	3.47	3.78	0.46	2.69	1.03	6.11	2.59	8.02	1.60	2.12	7.00	3.83	1.08	2.02	1.86	4.20	3.05	2.95	2.85	0.88	0.88	4.09	4.56	6.79	2.07	1.76
7	7.25	4.97	3.12	5.44	1.49	2.20	---	17.61	19.32	1.62	7.34	6.95	11.36	6.02	10.35	8.73	10.89	8.11	14.91	7.34	7.57	10.81	3.01	4.48	5.95	2.93	12.44	3.24	0	1.77	4.55	1.54	0.54
8	3.02	2.47	2.86	2.71	1.10	1.43	4.81	---	4.68	0.74	8.56	7.02	3.45	7.12	14.46	5.15	5.47	5.42	7.61	6.96	5.37	1.59	0.90	4.46	0.69	1.32	9.78	0.90	2.76	3.56	1.06	3.77	0.05
9	4.20	3.58	2.38	3.43	1.39	1.25	6.51	3.31	---	0.56	6.99	4.94	7.34	1.97	5.01	4.58	1.76	4.58	7.06	2.40	8.40	4.66	1.20	10.16	0.91	1.12	8.26	4.94	0.77	4.37	1.62	1.20	1.41
10	0.84	1.09	1.02	0.97	1.13	0.74	0.80	1.32	1.11	---	1.12	1.58	0.22	0.22	1.63	0.73	3.55	0.73	1.24	2.93	0.05	0.50	1.18	1.24	0.96	0.62	0.28	1.07	0.45	1.01	1.84	1.35	0
11	2.10	2.29	1.88	2.33	1.30	1.18	2.51	1.65	2.52	0.68	---	4.96	2.95	2.34	7.38	4.22	5.57	3.89	0.33	4.22	8.32	9.19	2.28	7.11	3.02	2.88	2.75	2.61	0.80	2.68	0.06	4.56	1.07
12	1.87	2.48	1.42	1.37	0.94	0.99	2.13	3.11	1.80	1.01	1.54	---	0.99	24.99	19.16	5.74	15.33	2.75	6.89	17.78	5.21	1.60	0.30	4.21	2.14	1.22	4.06	1.83	6.74	8.43	9.19	6.59	5.74
13	2.34	2.50	1.28	1.47	1.04	1.55	2.70	1.52	1.83	0.52	2.59	1.96	---	20.22	14.60	12.33	10.46	17.25	6.40	12.57	16.08	9.60	1.24	9.91	6.24	1.71	0.54	5.77	1.71	4.29	5.15	5.07	5.15
14	1.43	1.62	1.08	1.12	1.07	1.67	1.57	1.85	1.13	0.73	1.65	2.08	2.96	---	19.41	25.14	23.05	7.35	14.69	6.65	19.96	3.94	5.57	10.67	9.59	13.92	3.55	16.47	2.24	4.41	4.71	7.96	12.68
15	1.54	1.28	1.51	1.06	0.89	1.53	1.85	1.74	1.45	0.73	2.12	1.46	2.82	2.35	---	9.87	20.16	24.04	19.32	5.99	4.38	10.54	1.09	4.47	4.55	1.01	9.70	0.08	4.38	4.64	7.76	5.23	4.89
16	1.34	1.41	1.40	1.11	1.01	1.11	1.40	1.98	1.13	0.68	1.87	1.66	2.17	4.65	1.71	---	16.14	10.47	12.28	14.33	5.98	5.04	2.75	3.54	6.30	2.44	4.25	1.96	5.75	3.22	2.83	0.86	4.25
17	1.70	1.22	1.40	0.96	1.05	2.90	1.54	1.15	0.78	0.61	1.12	1.31	1.77	2.20	2.64	1.61	---	17.88	14.01	11.08	0.68	6.66	0.40	4.69	0.95	2.04	1.70	6.44	1.97	10.13	8.16	4.48	0.81
18	1.60	1.58	1.00	1.10	0.99	1.87	1.95	1.37	1.78	0.53	1.56	1.28	4.22	2.32	3.37	2.30	1.54	---	0.85	3.26	9.51	11.28	1.27	0.85	6.52	0.56	2.83	2.98	2.48	0.35	4.25	4.04	1.63
19	1.46	1.44	1.19	1.68	0.97	0.91	1.95	1.79	1.26	0.55	1.55	1.72	2.09	3.13	1.41	3.96	1.01	1.48	---	8.26	18.09	7.03	9.90	6.55	6.76	1.02	11.88	1.36	0.27	3.68	1.36	1.36	2.11
20	1.21	1.21	1.01	1.28	1.10	0.94	1.50	1.49	1.22	0.60	1.45	1.87	2.45	3.02	1.40	5.74	1.11	1.75	4.78	---	13.08	11.87	1.60	1.84	4.81	0.08	0.32	3.69	4.65	3.45	4.41	2.72	0.96
21	1.11	0.98	0.98	0.87	0.78	1.06	1.05	1.24	0.82	0.59	1.24	0.88	1.07	1.86	1.22	3.26	1.27	1.28	1.61	2.08	---	6.15	1.18	5.87	10.45	4.29	5.65	5.59	4.40	1.63	10.45	10.79	2.09
22	1.77	1.56	1.44	1.63	0.73	0.91	2.20	1.19	1.70	0.61	2.58	0.98	2.55	1.30	2.34	1.23	1.20	1.64	1.24	1.33	0.85	---	0.28	7.47	4.70	1.63	0.71	2.56	0.21	2.70	1.42	2.77	0.78
23	1.10	1.01	0.66	1.02	1.44	1.67	0.94	0.71	0.86	0.65	1.01	0.57	1.02	1.07	0.58	0.66	0.78	0.89	0.75	0.73	0.80	0.87	---	2.97	14.02	0.33	4.26	1.17	2.97	0.05	4.42	0.78	0.50
24	1.38	1.35	1.04	1.39	1.05	1.11	1.40	1.07	1.42	0.53	2.29	0.97	2.03	2.65	2.21	1.60	1.29	1.22	1.95	1.78	1.18	2.46	1.26	---	13.12	3.80	8.87	0.63	1.35	0.36	0.45	1.35	2.08
25	1.11	0.87	0.83	0.83	0.89	1.92	0.86	0.64	0.87	0.43	1.20	0.50	1.40	1.97	0.87	1.19	0.90	1.28	1.03	1.21	1.16	1.20	2.50	2.06	---	2.13	5.05	3.10	1.15	3.01	2.04	0.44	0.35
26	0.54	0.40	0.85	0.31	0.32	0.54	0.45	0.43	0.47	0.34	0.42	0.31	0.49	0.62	0.37	0.57	0.55	0.40	0.33	0.53	0.52	0.53	0.47	0.43	0.60	---	13.19	13.76	7.67	8.42	12.82	18.81	5.80
27	0.58	0.45	0.97	0.44	0.50	0.60	0.50	0.59	0.55	0.47	0.57	0.42	0.44	0.63	0.40	0.65	0.44	0.32	0.47	0.67	0.61	0.45	0.56	0.56	0.54	4.16	---	10.26	5.77	6.95	20.96	24.81	8.34
28	0.39	0.39	0.60	0.32	0.34	0.28	0.33	0.32	0.33	0.46	0.29	0.35	0.34	0.41	0.28	0.49	0.33	0.27	0.28	0.43	0.39	0.34	0.41	0.32	0.36	1.31	1.33	---	14.14	29.70	22.47	23.73	18.86
29	0.53	0.40	0.56	0.32	0.43	0.32	0.35	0.45	0.45	0.51	0.41	0.58	0.37	0.54	0.41	0.50	0.51	0.30	0.33	0.41	0.47	0.33	0.56	0.35	0.32	1.05	1.00	4.13	---	11.86	22.05	11.86	18.70
30	0.63	0.45	0.72	0.44	0.46	0.30	0.42	0.42	0.52	0.52	0.47	0.47	0.40	0.43	0.38	0.59	0.47	0.32	0.41	0.53	0.58	0.43	0.57	0.49	0.37	1.10	1.48	4.21	4.36	---	16.92	16.82	19.46
31	0.78	0.51	0.71	0.39	0.71	0.56	0.51	0.55	0.65	0.66	0.61	0.48	0.62	0.99	0.56	0.90	0.49	0.60	0.53	0.69	0.75	0.51	0.63	0.57	0.86	1.45	1.25	1.82	1.66	1.69	---	10.32	10.32
32	0.60	0.38	0.69	0.34	0.63	0.41	0.42	0.53	0.46	0.82	0.50	0.64	0.33	0.60	0.52	0.54	0.55	0.34	0.36	0.41	0.62	0.38	0.45	0.37	0.35	1.03	1.12	4.04	4.84	3.79	3.35	---	21.43
33	0.41	0.35	0.54	0.25	0.36	0.32	0.28	0.43	0.31	0.46	0.38	0.53	0.29	0.52	0.34	0.53	0.50	0.23	0.26	0.38	0.49	0.24	0.35	0.24	0.26	1.36	1.65	3.58	4.96	4.13	1.59	3.61	---